

不同生长年限重庆庙党 3 种成分的动态变化

杨军宣¹, 郭振宇¹, 张毅², 吕志勇¹, 何先元¹ (1.重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016; 2.重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121)

摘要: 目的 研究不同生长年限重庆庙党 3 种活性成分的动态变化, 为庙党的标准化种植、采收及质量控制等提供参考。方法 采用 UV 测定 1~5 年生重庆庙党多糖及总皂苷的含量变化, 采用 HPLC 测定党参炔苷的含量变化。结果 重庆庙党 1~4 年生长过程中, 多糖含量随着生长年限的增加而增大, 与第 1 年比较, 第 4 年增长约 100%, 第 5 年增长约 90% (第 5 年与第 4 年比较, 负增长 10%); 总皂苷及党参炔苷呈逐年递增趋势, 第 5 年总皂苷合计增长约 57%, 党参炔苷合计增长约 42%。重庆庙党生长过程中多糖、总皂苷及党参炔苷三者含量无明显相关性。结论 考虑活性成分的增长趋势、生产成本、生产效率、药材产量等因素, 重庆庙党种植 4 年采收即可。

关键词: 庙党; 生长年限; 多糖; 总皂苷; 党参炔苷

中图分类号: R285.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2018)01-0098-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.01.022

引用本文: 杨军宣, 郭振宇, 张毅, 等. 不同生长年限重庆庙党 3 种成分的动态变化[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(1): 98-102.

Study on Dynamic Changes of Three Components of Miaoyu *Codonopsis Pilosula* at Different Growth Stages

YANG Junxuan¹, GUO Zhenyu¹, ZHANG Yi², LYU Zhiyong¹, HE Xianyuan¹ (1.TCM School of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2.Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the dynamic changes of three active components of Chongqing Miaoyu *Codonopsis pilosula* with different growth years, and to provide references for the standardized planting, harvesting and quality control. **METHODS** UV method was used to determine the content of polysaccharides and total saponins, and HPLC was used to determine the content of lobetyolin. **RESULTS** In 1-4 years, the content of polysaccharide increased with the increase of growth years. Compared with first year, the content of polysaccharide in fourth year increased about 100%. However, compared with the fourth year, the content decreased about 10% in fifth year. In 1-5 years, the total saponins and the glycosides of *codonopsis pilosula* increased year by year, compared with first year, total saponins increased by about 57% and lobetyolin increased by about 42% in fifth year. The content growth of polysaccharides, total saponins and lobetyolin were not significantly correlated. **CONCLUSION** According to the growth trend of active ingredients, production cost, production efficiency and yield of medicinal herbs, Chongqing Miaoyu *Codonopsis pilosula* should be harvested after 4 years' growth.

KEY WORDS: Miaoyu *Codonopsis pilosula*; growth years; polysaccharide; total saponins; lobetyolin

重庆庙党属川党参 (*Codonopsis tangshen* Oliv.), 主要产于重庆市巫溪县、巫山县、奉节县等地, 以质柔润、参气浓烈、味甘甜、嚼之化渣而著称, 热销于华南以及东南亚地区。2010 年重庆庙党获得国家“地理标志产品”称号。党参主要含有糖类、苷类、甾体类、挥发油、三萜类、倍半萜内酯类等成分, 其中, 党参多糖、皂苷、党参炔苷等为其活性成分^[1]。现代研究表明, 许多植物的药效成分是其所含的次生代谢产物, 而这些药效成分的形成、积累及分布与植物生长发育

存在一定关系^[2]。重庆庙党野生资源由于连年大量采挖, 已濒临枯竭, 目前已开展 GAP 种植。党参栽培年限一般为 3~5 年, 不同栽培年限对党参质量有显著影响。而由于受经济利益等驱使, 重庆庙党种植区有些药农采挖种植 2 年的党参作为药材, 这可能导致药材质量并未达到最佳即被采挖, 从而影响临床疗效。本实验以重庆庙党所含的多糖、总皂苷、党参炔苷等成分的含量为评价指标, 考察重庆庙党不同生长年限(1~5 年)的 3 种成分的动态变化, 为其标准化种植、采收及质量控制提

基金项目: 国家药典委员会项目(ZG2016-2-06); 重庆市卫生和计划生育委员会中医药科技项目(ZY201702132)

作者简介: 杨军宣, 男, 博士, 副研究员 Tel: (023)65712064 E-mail: yjxhawk@sina.com

供参考。

1 材料

LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 色谱柱: Agilent C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); UV-2000 紫外可见分光光度计(UNICO 公司); ME104 电子天平(瑞士梅特勒-托利多); SK8300G 超声波清洗器(上海科导公司); HH-6 数显恒温水浴锅(常州市万合仪器公司); ZDHW-1000 电热套(北京中兴伟业); RT-25小型高速粉碎机(北京兴时利和公司)。

D-无水葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110833-201205, 供含量测定用); 人参皂苷 Re(四川省维克奇生物科技有限公司, 批号: 130324, HPLC≥98%); 党参炔苷(重庆高仁生物科技有限公司, 批号: GR20140601-01, HPLC≥98%); 乙腈为色谱纯; 水为双蒸水; 其他试剂为分析纯。

庙党药材采集于重庆市巫山县, 经重庆医科大学中医药学院何先元教授鉴定为中国药典 2015 年版一部收载的桔梗科植物川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 多糖含量测定^[3]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取 105 ℃干燥至恒重的 D-无水葡萄糖对照品 3.4 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取党参药材细粉 0.2 g, 置圆底烧瓶中, 加 80%乙醇 150 mL 加热回流提取 1 h, 趁热滤过, 残渣用 80%热乙醇洗涤 3 次, 每次 10 mL, 弃去乙醇液。将残渣及滤纸置圆底烧瓶中, 加水 150 mL 加热回流提取 1 h, 趁热滤过, 残渣及烧瓶用热水洗涤 4 次, 每次 10 mL, 合并滤液与洗液, 放冷, 转移至 250 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.3 线性关系考察 精密量取“2.1.1”项下对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL, 分别置 10 mL 刻度试管中, 各精密加入一定量的蒸馏水至 2 mL, 摇匀, 再缓慢滴加 0.2%蒽酮-硫酸溶液至 10 mL(保持冰水浴), 混匀, 然后 100 ℃条件下保温 10 min, 取出, 立即冷却(冰水浴 10 min), 取出, 测定吸光度(*A*), 测定波长为 582 nm。以吸光度(*A*)为纵坐标, 含量(*M*)为横坐标, 绘制标准曲

线, 并计算回归方程 $A=3.6029M+0.0441$ ($r=0.9991$)。结果表明, 本试验条件下, D-无水葡萄糖在 0.034~0.204 mg 内与吸光度值的线性关系良好。

2.1.4 精密度及稳定性试验 取对照品溶液连续测定 6 次, 结果吸光度值 RSD=1.59%, 表明仪器精密度良好; 精密量取供试品溶液 1 mL, 按“2.1.3”, 自“分别置 10 mL 刻度试管中”起, 制得样品溶液, 测定吸光度值, 并依次放置 2, 4, 8, 12 h 并测定。结果吸光度值 RSD=2.73%, 表明供试品溶液在 12 h 内测定基本稳定。

2.1.5 重复性试验 取同一批药材样品 6 份, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液。精密量取 1 mL, 置 10 mL 具塞干燥试管中, 按“2.1.3”项下方法测定吸光度。结果 6 份样品中多糖的平均含量为 289 mg·g⁻¹, RSD=2.34%, 表明方法重复性良好。

2.1.6 加样回收率试验 取同一批药材样品 6 份, 精密称定, 分别精密加入一定量的 D-无水葡萄糖对照品, 按“2.1.2”方法制备供试品溶液。精密量取 1 mL, 置 10 mL 具塞干燥试管中, 按“2.1.3”方法测定吸光度, 计算加样回收率, 结果见表 1。结果表明, 本方法加样回收率良好。

表 1 多糖加样回收率试验结果表($n=6$)

Tab. 1 Results of recovery test of polysaccharide($n=6$)

取样量/ mg	样品中 的量/mg	加入对照 品量/mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均 值/%	RSD/ %
9.87	2.852 4	2.72	5.492 6	97.07	96.93	1.52
9.69	2.800 4	2.72	5.393 0	95.32		
10.16	2.936 2	2.72	5.644 5	99.57		
10.04	2.901 6	2.72	5.505 1	95.72		
10.01	2.892 9	2.72	5.516 3	96.45		
9.96	2.878 4	2.72	5.529 5	97.47		

2.2 总皂苷含量测定 经预试, 参考文献方法^[4]进行测定。

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 105 ℃干燥至恒重的人参皂苷 Re 对照品 6.1 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 经考察, 得供试品溶液的制备方法: 精密称取党参药材粉末 0.2 g, 加入 20 mL 石油醚(60~90 ℃), 超声处理 20 min, 滤过。滤渣中加入 50%的乙醇溶液 20 mL, 超声处理 2 次, 每次 30 min, 滤过, 滤液置于 50 mL 量

瓶中,加入 50%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀即得。

2.2.3 线性关系考察 精密量取“2.2.1”项下对照品溶液 0.25, 0.5, 0.75, 1.5, 2.0, 2.5 mL, 分别置 10 mL 刻度试管中,加甲醇至刻度,摇匀。再分别取上述溶液 1 mL, 60 ℃水浴挥干。以空白试剂为对照,加入新配制的 5%香草醛-冰醋酸 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL, 摇匀, 60 ℃水浴加热 20 min, 取出,立即置冰水浴中冷却 5 min。取出,加冰醋酸至 5 mL, 摇匀,在 535 nm 波长处测定吸光度。将吸光度(*A*)对人参皂苷 Re 含量(*C*/μg)作线性回归,得线性回归方程 $A=9.679 \times 10^{-3}C-0.0306$, $r=0.9987$ 。结果表明,本试验条件下人参皂苷 Re 在 15.25~152.5 μg 内与吸光度值的线性关系良好。

2.2.4 精密度及稳定性试验 取对照品溶液连续测定 6 次,结果吸光度值 RSD=0.94%,表明仪器精密度良好;精密量取供试品溶液 1 mL,按“2.2.3”项下自“分别置 10 mL 刻度试管中”起,制得样品溶液,测定吸光度值,此时为 0 时,往后依次放置 2, 4, 6, 8 h 并测定,结果吸光度值 RSD=1.40%,表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.2.5 重复性试验 取同一批药材样品 6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。精密量取 1 mL,按“2.2.3”项下方法测定吸光度,结果 6 份样品中总皂苷平均含量为 $78.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD=3.01%,表明方法重复性良好。

2.2.6 加样回收率试验 取同一批药材样品 6 份,精密称定,分别精密加入一定量的人参皂苷 Re 对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。精密量取 1 mL,按“2.2.3”项下方法测定吸光度,计算加样回收率,结果见表 2。结果表明,本方法加样回收率良好。

表 2 总皂苷加样回收率试验结果表($n=6$)

Tab. 2 Results of recovery test of total saponins($n=6$)

取样量/ mg	样品中 的量/mg	加入对照 品量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD/ %
9.92	0.775 7	0.61	1.358 8	95.59		
10.02	0.783 6	0.61	1.378 1	97.46		
10.11	0.790 6	0.61	1.379 7	96.57	96.79	1.33
10.04	0.785 2	0.61	1.371 0	96.03		
9.97	0.779 6	0.61	1.383 9	99.16		
10.02	0.783 6	0.61	1.368 7	95.92		

2.3 党参炔苷含量测定^[5]

2.3.1 色谱条件 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(28 : 72); 流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长为 269 nm; 温度为 30 ℃; 进样量为 10 μL。理论板数按党参炔苷峰计算应≥3 000。在此色谱条件下,党参炔苷 HPLC 色谱图见图 1。

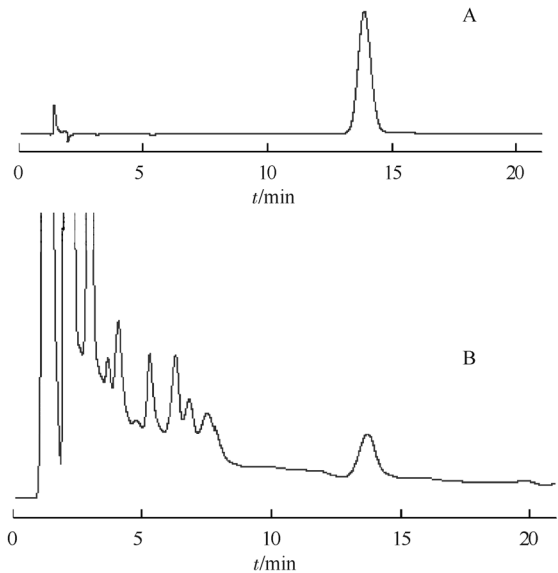


图 1 党参炔苷 HPLC 图

A-党参炔苷对照品; B-党参药材。

Fig. 1 HPLC chromatogram of lobetyolin

A-lobetyolin; B-sample.

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取党参炔苷对照品 5 mg, 置 20 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取药材粉末 2.0 g, 置 100 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定重量,超声处理 30 min,静置至室温,称定重量,用甲醇补足减失重量,摇匀,过滤,精密量取续滤液 25 mL,水浴蒸干,用甲醇溶解并定容至 10 mL,摇匀,即得。临用前用 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.2”项下对照品溶液 2, 4, 8, 10, 15, 20 μL, 进样,以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程为 $Y=603.201X-4.5022$ ($r=0.9999$),结果表明,本试验条件下,党参炔苷在 0.56~5.6 μg 内与峰面积值的线性关系良好。

2.3.5 仪器精密度及稳定性试验 取对照品溶液 10 μL,连续进样 6 次,记录峰面积, RSD=0.39%,

表明仪器精密度良好；取供试品溶液，分别于 0，2，4，6，8，12 h 测定，记录峰面积，RSD=1.77%，表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.3.6 重复性试验 取同一批药材样品 6 份，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液。按“2.3.1”项下方法测定峰面积。结果 6 份样品中党参炔苷的平均含量为 0.97 mg·g⁻¹，RSD=2.26%，表明方法重复性良好。

2.3.7 加样回收率试验 取同一批药材粉末 1.0 g，共 6 份，精密称定，分别精密加入一定量的党参炔苷对照品，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液。按“2.3.1”项下方法测定峰面积，计算加样回收率，结果见表 3。结果表明，本方法加样回收率良好。

表 3 党参炔苷加样回收率试验结果表(n=6)

Tab. 3 Results of recovery test of lobetyolin(n=6)

取样量/ g	样品中的 量/mg	加入对照 量/mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均值/ %	RSD/ %
0.997 9	0.968 0	0.84	1.809 0	100.12	98.12	1.46
1.023 3	0.992 6	0.84	1.804 4	96.64		
1.003 8	0.973 7	0.84	1.807 9	99.31		
1.015 1	0.984 6	0.84	1.812 5	98.56		
1.024 8	0.994 1	0.84	1.807 5	96.83		
0.990 0	0.960 3	0.84	1.777 2	97.25		

2.4 样品的测定

采集 1~5 年不同生长年限的重庆庙党药材，测定多糖、总皂苷、党参炔苷的含量。结果表明，重庆庙党 1~4 年生长过程中，多糖含量随着生长年限的增加而增大，与第 1 年比较，第 2 年增长约 42%，第 3 年增长约 70%，第 4 年增长约 100%，第 5 年增长约 90%(与第 4 年比较，负增长 10%)；重庆庙党 1~5 年生长过程中，总皂苷及党参炔苷均呈逐年递增趋势，与第 1 年比较，第 5 年总皂苷合计增长约 57%，党参炔苷合计增长约 42%。结果见表 4。

3 讨论

现代研究表明，党参具有调节胃肠运动、抗溃疡、抗辐射、抗缺氧、保肝、增强机体免疫、降压、延缓衰老、保护脑缺血性损伤等药理作用，其中，党参多糖、总皂苷、党参炔苷等是其主要活性成分^[6-14]。所以，本实验以党参多糖、总皂苷、党参炔苷的含量变化为评价指标，研究 1~5 年不

同生长年限的重庆庙党 3 种活性成分动态变化，从而为重庆庙党标准化种植、采收及质量控制等提供参考。

表 4 不同生长年限药材的化学成分含量(n=3)

Tab. 4 Determination of chemical components in medicinal materials with different growth years(n=3)

生长年限/年	多糖	总皂苷	党参炔苷
1	169.81	53.79	0.78
2	240.75	69.52	0.95
3	289.17	78.26	0.98
4	340.62	80.46	1.05
5	323.29	84.33	1.11

本实验研究结果表明，重庆庙党生长过程中，多糖的含量变化最明显，总皂苷和党参炔苷增加趋势较平缓。在 1~4 年生长过程中，多糖含量随着生长年限的增加而增大，第 4 年达到最高(增加 1 倍左右)，而第 5 年出现负增长(-10%)，这可能是随着生长年限的延长，多糖在其代谢过程中有一部分作为能量物质被消耗；总皂苷及党参炔苷均呈逐年递增趋势，总皂苷在第 3 年后增加不明显，党参炔苷在第 2 年后增势放缓；且重庆庙党的生长过程中多糖、总皂苷及党参炔苷三者的含量无明显的相关性。根据本研究结果，重庆庙党种植 4 年采收最好。

不同产地、不同采收时期的党参药材，由于生长环境以及栽培模式等的不同必然会造成化学成分含量的差异^[15-16]，本实验暂未对重庆庙党不同产地及不同采收时间有效成分的含量差异进行考察，这有待进一步研究。

REFERENCES

[1] SUN Z H, SHAO J, GUO M. Research progress of *Codonopsis pilosula* chemical component and pharmacological effects [J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2015, 43(33): 174-176.

[2] SU W H, ZHANG G F, LI X H, et al. Relationship between accumulation of secondary metabolism in medicinal plant and environmental condition [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2005, 36(9): 1415-1418.

[3] 中国药典. 一部 [S]. 2015: 307.

[4] SHI J, MA F L, WANG X Y, et al. Correlation of lobetyolin, total polysaccharides and total saponins from different region of *Radix Codonopsis* [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2011, 29(12): 2779-2781.

[5] LI C Y, WEI X M, LI S, et al. Influence of plant growth regulator-Zhuanggenling on content of lobetyolin in crude Dangshen(*Radix Codonopsis Pilosulae*) [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2011, 34(11):

- 766-768.
- [6] FENG P P, LI Z X, YUAN Z, et al. Review on the phytochemical and pharmacological study of *Codonopsis genus* [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2012, 29(4): 307-309.
 - [7] ZOU L, QIU B X, LIU K, et al. Content of polysaccharide and 5-hydroxymethyl furfural (5-HMF) in *Codonopsis Radix* after cooked with rice and its impact on rabbit gastrointestinal smooth muscle *in vitro* [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2017, 48(1): 149-154.
 - [8] MA F L, SHEN X M, SHI J. Effect of codonopsis polysaccharide on gastrointestinal tract of experimental rats and mice [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2014, 18(9): 1626-1630.
 - [9] SONG D, WANG Z Y, LI L Y. Protective effect of lobetyolin on gastric mucosa of experimental gastric ulcer in rats [J]. J Emerg Tradit Chin Med(中国中医急症), 2008, 17(7): 963-964.
 - [10] ZHANG Y J, LIANG Z Y, ZHANG L X. Study on composition and immunological activities of crude polysaccharide isolated from the *Codonopsis pilosula* [J]. J Northwest A&F Univ (Nat Sci Ed)(西北农林科技大学学报: 自然科学版), 2012, 40(7): 199-202.
 - [11] ZHU R. Analyses and anti-tumor activities of the polysaccharides from *Codonopsis pilosula* [D]. Northeast Normal University, 2013.
 - [12] FU P P, HONG T, YANG Z. Effect of polysaccharides from *Radix Codonopsis* on insulin resistance in diabetic mice [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2008, 19(10): 2414-2416.
 - [13] ZHENG C J, YU X, HAN C J. Protective effect of *Codonopsis lanceolata* saponin on DNA damage in liver cells induced by diethylnitrosamine [J]. Food Sci(食品科学), 2013, 34(11): 254-257.
 - [14] GONG Q H, TAN D F, LI F, et al. Protective effects of total saponin of *Radix Codonopsis* on cerebral ischemia in rats [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2011, 30(5): 339-342.
 - [15] REN F M, XIE X M, ZHANG W W, et al. Study on quality evaluation of *Codonopsis pilosula* from different habitats [J]. J Pract Tradit Chin Med(实用中医药杂志), 2014, 30(3): 241-242.
 - [16] MA Q G, AN P K, WANG Y Q. Dynamic changes of the contents of lobetyolin contained in dangshen at different sampling periods [J]. West J Tradit Chin Med(西部中医药), 2014, 27(2): 23-25.

收稿日期: 2017-07-12

(本文责编: 蔡珊珊)