

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.03.017

巫山庙宇党参地上部分主要有效成分研究*

郑慧慧¹, 徐冲¹, 祝慧凤^{2△}

(1. 重庆市中医院, 重庆 400021; 2. 西南大学, 重庆 400716)

摘要:目的 为巫山庙宇党参地上部分的开发利用提供参考。方法 采用高效液相色谱法测定巫山庙宇党参地上部分和地下部分党参炔苷的含量;采用苯酚-硫酸比色法测定党参多糖的含量;以香草醛-高氯酸为显色剂,采用紫外-可见分光光度法测定党参总皂苷的含量。结果 巫山庙宇党参地下部分党参炔苷、党参多糖、党参总皂苷含量分别为(1.446±0.073)mg/g、(334.998±4.465)mg/g、(46.838±9.985)mg/g,地上部分含量分别为(0.621±0.222)mg/g、(32.337±0.541)mg/g、(13.584±0.717)mg/g,地上部分含量分别占地下部分含量的42.95%、9.65%、29.00%。结论 巫山庙宇党参地上部分含有主要有效成分党参炔苷、党参多糖、党参总皂苷,可进一步开发利用。

关键词: 巫山庙宇党参;地上部分;党参炔苷;党参多糖;党参总皂苷

中图分类号:R932;R284.2

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2023)03-0076-04

Main Active Ingredients in Aboveground Part of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan

ZHENG Huihui¹, XU Chong¹, ZHU Hui Feng²

(1. Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing, China 400021; 2. Southwest University, Chongqing, China 400716)

Abstract: Objective To provide a reference for the development and utilization of the aboveground part of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan. **Methods** The content of lobetyolin in the aboveground and underground parts of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The content of polysaccharide from Codonopsis Radix in the above parts was determined by the phenol-sulfuric acid colorimetry method. With vanillin-perchloric acid as the chromogenic reagent, the content of total saponin from Codonopsis Radix in the above parts was determined by the ultraviolet-visible spectrophotometry method. **Results** The contents of lobetyolin, polysaccharide from Codonopsis Radix and total saponin from Codonopsis Radix in the underground part of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan were (1.446±0.073) mg/g, (334.998±4.465) mg/g and (46.838±9.985) mg/g respectively. The contents of the above three active ingredients in the aboveground part of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan were (0.621±0.222) mg/g, (32.337±0.541) mg/g and (13.584±0.717) mg/g respectively, accounting for 42.95%, 9.65% and 29.00% in the underground part respectively. **Conclusion** The aboveground part of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan contains the main active ingredients such as lobetyolin, polysaccharide from Codonopsis Radix and total saponin from Codonopsis Radix, which can be further developed and utilized.

Key words: Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan; aboveground part; lobetyolin; polysaccharide from Codonopsis Radix; total saponin from Codonopsis Radix

* 基金项目: 重庆市科卫联合中医药科技项目[ZY201801002]; 校地合作项目-武陵山区庙宇党参产业链工程[104290-41003012]。

第一作者: 郑慧慧, 女, 硕士研究生, 主管中药师, 研究方向为中药学, (电子信箱)zheng_huihui@163.com。

△通信作者: 祝慧凤, 女, 博士研究生, 教授, 研究方向为药食同源中药的开发、中药与脑血管疾病, (电子信箱)zhfbsci@126.com。

[3] 王红, 潘海龙, 严东珍, 等. 成都生物制品研究所实验室生物安全柜使用调查[J]. 职业卫生与病伤, 2011, 26(4): 207-209.
[4] GB 19489—2008, 实验室生物安全通用要求[S].
[5] YY 0569—2011, 中华人民共和国医药行业标准 II级生物安全柜[S].
[6] 陆龙喜, 林军明, 顾华. 生物安全实验室中生物安全柜使用现状调查[J]. 中国消毒学杂志, 2010, 27(4): 376-378.
[7] 许新建, 张志芳, 汤栋生. 医用生物安全柜质量控制的研究[J]. 中国医学装备, 2017, 14(11): 44-46.
[8] 蒋征刚, 顾华, 蔡高峰, 等. 浙江省BSL-2实验室生物安全柜年检情况分析[J]. 预防医学, 2017, 29(5): 533-534.
[9] 马骏. II级生物安全柜流入气流测量结果不确定度评定[J].

品牌与标准化, 2020(6): 64-66.

[10] 邢旭, 耿淑秋, 吴悦. 生物安全柜的测量不确定度的评定[J]. 计量与测试技术, 2020, 47(1): 102-105.
[11] 宋金辉, 陈群飞, 金晖, 等. 论生物安全柜高效过滤器完整性的现场检测[J]. 机电信息, 2020, 618(12): 100-101.
[12] 李峥. II级生物安全柜使用及测试问题探讨[J]. 广州化工, 2020, 48(17): 116-118.
[13] 张灿有, 夏辉, 成君. II级生物安全柜在结核病实验室中的检测及报告要求[J]. 中国防痨杂志, 2020, 42(9): 903-909.
[14] 孙畅, 曹国妹, 曹瑜, 等. 某区医疗机构检验科生物安全现状的调查[J]. 中国医药指南, 2014(26): 363-364.

(收稿日期: 2022-04-06; 日期: 2022-09-16)

庙宇党参又名“单枝党”，主要产地为重庆市巫山县庙宇镇、红椿土家族乡、笃坪乡等。党参药材药用历史悠久，首载于清代《增订本草备要》^[1]，为临床常用大宗中药材，味甘，性平，归脾、肺经，有健脾益肺、养血生津功效^[2]。作为多年生常用中药材，党参的生长周期较长，最佳采收年限为3年，最佳采收期为当年9月至次年1月^[3-5]。党参多以地下根部入药。研究显示，其地上部分(包括茎、叶、花、果)具有一定的药理作用和功效，有助于根的生长^[6]。党参茎、叶可促进猪和肉仔鸡的生长发育^[7]；党参花可调节人体机能，增进食欲，改善睡眠^[8]。但党参地上部分较少被有效利用，造成了中药资源的浪费。前期研究中，本课题组比较了巫山庙宇党参芦头、根、茎、叶化学成分的差异，发现茎、叶、根化学成分差异较小，故巫山庙宇党参被弃之为废的地上部分可能具有较好的生物活性，具备进一步开发利用的潜力^[6]。本研究中比较了巫山庙宇党参地上部分和地下部分的主要有效成分党参炔苷、党参多糖、党参总皂苷的差异，为其地上部分的开发利用提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

仪器:Agilent1260型液相色谱仪(安捷伦科技<中国>有限公司);MS205DU型电子天平(重庆市瑞利电子仪器有限公司,精度为0.0001g);QUINTIX65-1CN型电子天平(赛多利斯科学仪器<北京>有限公司,精度为0.01mg);AS系列超声波清洗机(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);QH-101-2A型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);AXLM1820-2型实验室超纯水机(重庆阿修罗科技发展有限公司,功率为180W,频率为50kHz);UV-2450型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);DRHH-S6型数显恒温水浴锅(上海双捷实验设备有限公司);SL-100型和SL-1000A型高速多功能粉碎机(永康市松青五金厂)。

试剂:党参炔苷标准品(批号为111732-201607,

纯度 $\geq 98\%$),D-无水葡萄糖标准品(批号为110833-201506,纯度为99.9%),人参皂苷Re标准品(批号为110754-201827,纯度为93.4%),均购自中国食品药品检定研究院;香草醛(成都市科龙化工试剂厂,批号为201804190);水饱和正丁醇^[9]、5%香草醛-冰醋酸溶液^[9]、5%苯酚溶液^[10](实验室自制);甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯;乙醇、苯酚、硫酸、正丁醇、石油醚、高氯酸、冰醋酸均为分析纯;党参分别采自重庆市巫山县庙宇镇、红椿土家族乡、笃坪乡,经重庆市中药研究院彭锐研究员鉴定为桔梗科川党参的地上部分和地下部分。

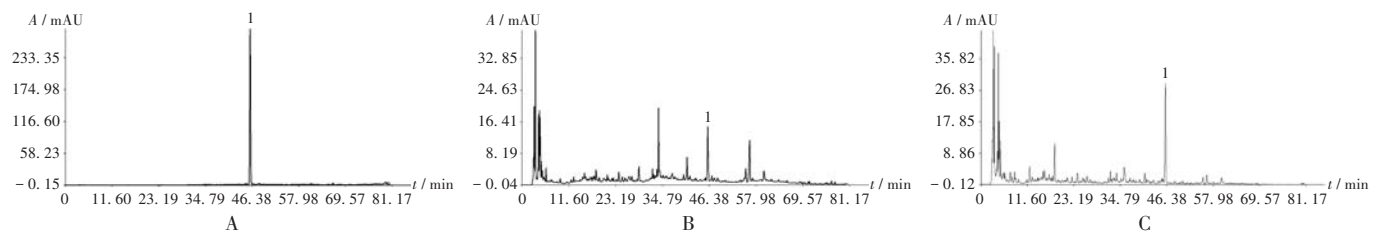
2 方法与结果

2.1 党参炔苷含量测定

色谱条件与系统适用性试验:色谱柱为DIKMA C₁₈柱(250mm×4.6mm,5 μ m);流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~5min时5%A,5~10min时5%A→10%A,10~25min时10%A→15%A,25~30min时15%A→20%A,30~51min时20%A→28%A,51~70min时28%A→50%A,70~80min时50%A→70%A);流速为0.8mL/min;检测波长为267nm;柱温为30.0℃;进样量为10 μ L。在此色谱条件下的色谱图见图1。

溶液制备:取党参炔苷标准品4.08mg,精密称定,置10mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,配制成质量浓度为0.408mg/mL的对照品溶液。取巫山庙宇党参地上部分和地下部分,分别切段,60℃恒温干燥,打粉,过4号筛(65目)。取地上部分和地下部分粉末各1.0g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入30%甲醇30mL,称定质量,超声提取(功率为180W,频率为50kHz,下同)30min,放冷,再称定质量,用30%甲醇补足减失的质量。摇匀,静置,滤过,取滤液,用0.45 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

方法学考察:1)线性关系考察。精密量取对照品溶



1. 党参炔苷
A. 对照品溶液 B,C. 供试品溶液(巫山庙宇党参地上部分、地下部分)

图1 高效液相色谱图

1. Lobetyolin

A. Reference solution B,C. Test solution (aboveground and underground parts of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

液0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mL, 置10 mL容量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 用0.45 μm微孔滤膜滤过, 按拟订色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以峰面积(Y)为纵坐标、进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 1\,036.3X - 6.1695 (R^2 = 0.9995, n = 7)$ 。结果表明, 党参炔苷进样量在0.0408~0.8160 μg范围内与峰面积线性关系良好。2) 精密度试验。相对保留时间的 RSD 为0.02%, 相对峰面积的 RSD 为0.87%, 表明仪器精密度良好。3) 稳定性试验。相对保留时间的 RSD 为0.05%, 相对峰面积的 RSD 为0.71%, 表明党参炔苷供试品溶液在24 h内稳定性良好。4) 重复性试验。相对保留时间的 RSD 为0.14%, 相对峰面积的 RSD 为0.38%, 表明方法重复性良好。5) 准确度试验。平均加样回收率为99.76%, RSD 为0.76%, 表明方法准确性良好。

2.2 党参多糖含量测定

测定方法: 采用苯酚-硫酸比色法测定党参多糖的含量, 采用紫外可见分光光度计扫描 D -无水葡萄糖标准品溶液在440~540 nm波长间的吸光度, 最终确定最佳吸收波长为490 nm^[10-12]。

溶液制备: 将 D -无水葡萄糖标准品置电热恒温鼓风干燥箱(温度为105 ℃)中干燥至恒定质量, 取11.60 mg, 精密称定, 加超纯水溶解, 定容至100 mL, 摇匀, 配制成质量浓度为0.116 mg/mL的对照品溶液。取巫山庙宇党参地上部分和地下部分, 分别切段, 60 ℃恒温干燥, 打粉, 过4号筛(65目)。取地下部分粉末0.1 g、地上部分粉末0.2 g, 精密称定, 各3份, 分别置250 mL具塞锥形瓶中, 加80%乙醇50 mL, 超声提取30 min, 滤过; 滤渣和滤纸置锥形瓶中, 加超纯水80 mL, 超声提取30 min, 滤过, 重复1次, 洗涤滤渣和滤纸2次, 合并水提液和洗液, 置250 mL容量瓶中定容, 即得供试品溶液。

方法学考察: 1) 线性关系考察。精密量取对照品溶液0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mL, 分别置具塞试管中, 加超纯水至2.0 mL, 同时以2.0 mL超纯水为空白溶液。精密加入5%苯酚溶液1 mL, 摇匀, 迅速精密加入浓硫酸5 mL, 摇匀, 室温放置10 min, 置40 ℃恒温水浴锅中保温15 min, 取出, 迅速冷却至室温。采用紫外可见分光光度计于490 nm波长处测定吸光度^[13], 以最大吸光度(Y)为纵坐标、质量浓度($X, \mu\text{g}$)为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 0.0135X - 0.058 (R^2 = 0.9993, n = 7)$ 。结果表明, 对照品溶液的质量浓度在11.600~81.200 μg/mL范围内与吸光度线性关系良好。2) 精密度试验。结果的 RSD 为0.06%, 表明仪器精密度良好。

3) 稳定性试验。结果的 RSD 为1.49%, 表明供试品溶液在6 h内稳定性良好。4) 重复性试验。结果的 RSD 为1.56%, 表明方法重复性良好。5) 准确度试验。平均加样回收率为99.91%, RSD 为1.77%, 表明方法准确性良好。

2.3 党参总皂苷含量测定

测定方法: 选择香草醛-高氯酸作为显色剂, 采用紫外可见分光光度计测定党参总皂苷的含量, 参考文献[9, 14], 以人参皂苷Re作为对照品, 确定最佳吸收波长为560 nm。

溶液制备: 取人参皂苷Re对照品9.410 mg, 精密称定, 置5 mL容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 配制成质量浓度为1.882 mg/mL的对照品溶液。取巫山庙宇党参地上部分和地下部分, 分别切段, 60 ℃恒温干燥, 打粉, 过4号筛(65目)。取地上部分粉末1.0 g、地下部分粉末0.2 g, 精密称定, 各加入甲醇30 mL, 超声提取30 min, 滤过; 滤液挥干溶剂, 加10 mL超纯水溶解, 加入相同体积石油醚, 萃取3次, 弃去石油醚液, 下层液用等量水饱和正丁醇萃取3次, 合并萃取液, 挥干正丁醇, 加入甲醇, 置10 mL容量瓶中并定容, 即得供试品溶液。

方法学考察: 1) 线性关系考察。精密量取对照品溶液40, 80, 120, 160, 200 μL, 置干燥具塞试管中, 分别补足甲醇至200 μL, 同时以200 μL甲醇为空白溶液。置冰水浴中, 滴加新配的5%香草醛-冰醋酸溶液200 μL和高氯酸溶液800 μL, 混匀, 置60 ℃水浴中保温15 min, 取出, 立即置冰水浴中冷却5 min, 取出, 加冰醋酸5 mL。采用紫外可见分光光度计于560 nm波长处测定吸光度^[13], 以最大吸光度(Y)为纵坐标、含量($X, \mu\text{g}$)为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 0.0018X - 0.0509 (R^2 = 0.9977, n = 5)$ 。结果表明, 人参皂苷Re含量在75.28~376.40 μg范围内与吸光度线性关系良好。2) 精密度试验。结果的 RSD 为0, 表明仪器精密度良好。3) 稳定性试验。结果的 RSD 为1.68%, 表明人参皂苷Re供试品溶液在6 h内稳定性良好。4) 重复性试验。结果的 RSD 为2.06%, 表明方法重复性良好。5) 准确度试验。平均加样回收率为99.16%, RSD 为1.29%, 表明方法准确性良好。

2.4 地上部分与地下部分含量比较

巫山庙宇党参地上部分和地下部分均含有主要有效成分党参炔苷、党参多糖及党参皂苷。其中, 地上部分党参炔苷的含量约占地下部分的42.95%; 党参多糖的含量约占地下部分的9.65%; 党参总皂苷的含量约占地下部分的29.00%。详见表1。

表1 巫山庙宇党参地上部分和地下部分主要有效成分含量比较 ($\bar{X} \pm s, \text{mg/g}, n=3$)

Tab. 1 Comparison of the contents of main active ingredients in the aboveground and underground parts of Miaoyu Codonopsis Radix in Wushan ($\bar{X} \pm s, \text{mg/g}, n=3$)

成分	产地	地上部分	\bar{X}	地下部分	\bar{X}
党参炔苷	a	0.315 ± 0.254		1.265 ± 0.183	
	b	1.056 ± 0.621	0.621 ± 0.222	1.807 ± 0.314	1.446 ± 0.073
	c	0.491 ± 0.220		1.267 ± 0.195	
党参多糖	a	31.573 ± 2.180		299.480 ± 11.562	
	b	31.838 ± 1.145	32.337 ± 0.541	332.763 ± 15.878	334.998 ± 4.465
	c	33.601 ± 1.393		372.752 ± 6.950	
党参皂苷	a	14.408 ± 0.436		39.982 ± 3.173	
	b	13.103 ± 0.522	13.584 ± 0.717	58.294 ± 1.657	46.838 ± 9.985
	c	13.240 ± 0.365		42.237 ± 4.479	

注: a为红椿土家族乡, b为庙宇镇, c为笃坪乡。

Note: a refers to Hongchun Tujia Township, b refers to Miaoyu Town, and c refers to Duping Township.

3 讨论

党参药理作用有效且广泛,对机体的神经系统、内分泌系统、免疫系统、消化系统等均有影响^[15-16]。党参多糖具有提高抵抗力、增强造血功能、降低血糖、抗辐射损伤的功效;对动物常压缺氧、组织细胞缺氧、循环障碍缺氧及增加耗氧所致缺氧均有良好的对抗或耐受作用,对心、脑等重要器官缺氧有保护作用;还可消除细胞自由基、延迟细胞凋亡^[17-18]。党参炔苷是党参质量评价的指标性成分之一,除具有抗癌、抗菌、抗炎等作用外,还能有效保护机体胃黏膜损伤^[19]。党参皂苷不仅具有较好的抗氧化作用^[20],还能调节细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫^[21-24]。本研究结果显示,巫山庙宇党参地上部分和地下部分均含有党参多糖、党参炔苷及党参皂苷,仅含量有差异,故巫山庙宇党参地上部分可能具有地下部分相似的药理作用。

党参地下部分药理作用丰富而突出,市场和临床使用量较大;地上部分尽管产出量大,研究却严重滞后,未能得到充分利用。若进一步对巫山庙宇党参地上部分进行综合开发与利用,作为地下部分的替代品或应用于其他方面,如制成兽用饲料、添加剂等,有望促进动物的生长发育,改善肉质,提高动物抗病能力等,具有重要的开发价值和广阔的应用前景。

参考文献

[1] 陈蔚文. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2012:365-366.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:281-282.
[3] 胡涛. 不同生长年限与采收期川党参中主要成分含量的比较研究[J]. 药学研究,2017,36(10):571-574.

[4] 刘莎,任振丽,刘付松,等. 基于生产年限与党参产质量的关系探讨市场对党参种植产业的影响[J]. 中国药理学杂志,2018,53(21):1821-1825.
[5] 潘丽珠,王跃进,王有为. 板桥党参最佳采收期的研究[J]. 武汉植物学研究,2006,24(1):67-70.
[6] 郑慧慧. 川党参地上部分作为饲料添加剂的物质基础和功效评价[D]. 重庆:西南大学,2020.
[7] 严显进,王永,王彩云,等. 控制地上部生长对党参光合特性及产质量的影响[J]. 北方园艺,2016(17):143-146.
[8] 郭福存,刘端庄,张礼华,等. 麦饭石沙棘叶党参茎叶对鸡日粮中蛋白质代谢的影响[J]. 中兽医医药杂志,1994,13(4):13-14.
[9] 方志娥. 党参总皂苷的提取纯化及对大鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2010.
[10] 窦武宇,崔治家,侯嘉,等. 甘肃不同产地党参药材中多糖含量测定[J]. 中兽医医药杂志,2016,35(3):55-59.
[11] 关琳静. 不同来源党参成分含量测定及党参 HPLC 特征图谱研究[D]. 太原:山西医科大学,2015.
[12] 针娴,高建平,曹玲亚. 潞党参多糖含量测定[J]. 中华中医药学刊,2014,32(3):498-500.
[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(三部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:39.
[14] 窦武宇,崔治家,侯嘉,等. 甘肃不同产地党参药材总皂苷含量测定[J]. 中兽医医药杂志,2015,34(6):59-62.
[15] 谢琦,程雪梅,胡芳弟,等. 党参化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 上海中医药杂志,2020,54(8):94-104.
[16] 王超楠,高军,王隶书,等. 中药党参药效活性成分的质量控制研究进展[J]. 中国药师,2021,24(1):127-132.
[17] 李思维,卫倩倩,宋宵,等. 党参多糖的抗氧化及降糖活性研究[J]. 临床医学研究与实践,2020,5(32):8-11.
[18] 武冰峰. 党参多糖的分离纯化、理化性质与生物活性研究[D]. 贵阳:贵州大学,2007.
[19] 宋丹,王峰涛,李隆云,等. 党参炔苷对胃溃疡模型大鼠胃黏膜损伤保护作用的研究[J]. 中国中医急症,2008,17(7):963-964.
[20] 蔡兴航,孙晓春,孙安敏,等. 党参茎叶总皂苷提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国农学通报,2018,34(26):146-151.
[21] 刘红梅,王志鹏,刘志刚. 党参总皂苷通过调控 miR-142-3p/MARCH7 轴影响乳腺癌细胞 MCF-7 增殖和凋亡[J]. 毒理学杂志,2021,35(6):465-469.
[22] 曹发昊,王艳萍. 党参总皂苷纳米乳对小鼠免疫功能的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2019,47(5):125-131.
[23] 方志娥,李艳艳,杨雅琳,等. 党参总皂苷对人肝癌 SMMC-7721 细胞的抑制作用及其机制[J]. 中国药房,2015,26(10):1356-1359.
[24] 俞星,韩春姬,朴惠善,等. 党参皂苷 D 对 HepG-2 细胞增殖时间效应和细胞周期的影响[J]. 吉林大学学报(医学版),2012,38(2):236-239.

(收稿日期:2022-06-13;修回日期:2022-08-11)