

党参壮根灵对党参质量影响的研究*

陈玉武¹, 永辉², 李成义³, 陈奋旗⁴, 杨水涛⁵, 陈静⁴, 李硕³, 高晓昱¹

(1. 甘肃省定西市药品检验所, 定西 743000 2 甘肃省食品药品监督管理局, 兰州 730000 3 甘肃中医学院, 兰州 730000

4 甘肃省定西市食品药品监督管理局, 定西 743000 5 甘肃省定西市科学技术局, 定西 743000)

摘要 目的: 以党参的产量、浸出物与党参炔苷含量为观察指标, 评价党参种植中喷施党参壮根灵对其质量的影响。方法: 以重量法计算产量, 热回流法测定浸出物, HPLC法测定党参炔苷含量。结果: 重量法能切实反映其产量; 热回流法能准确测定浸出物; HPLC法测定党参炔苷含量, 党参炔苷进样量在 0.19~0.96 μg 范围内呈良好的线性关系 ($r=0.9997$), 精密度试验的 RSD 为 1.2% ($n=5$), 重复性试验的 RSD 为 1.6% ($n=6$), 平均回收率为 99.4% (RSD=1.8%, $n=6$)。结论: 喷施党参壮根灵使党参单位种植面积的产量平均提高 36%, 单位质量的浸出物维持不变, 而单位质量的党参炔苷含量平均降低 20%, 这为科学种植和保证党参质量提供了参考依据。

关键词: 党参壮根灵; 党参; 产量; 浸出物; 党参炔苷

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)02-0254-04

Study on effects of Dangshen Zhuanggenling on quality of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.*

CHEN Yu-wu¹, DING Yong-hui², LI Cheng-yi³, CHEN Fen-qi⁴,
YANG Shui-tao⁵, CHEN Jing⁴, LI Shuo³, GAO Xiao-yu¹

(1. Dingxi City Institute for Drug Control Dingxi 743000, China 2 Gansu Food and Drug Administration, Lanzhou 730000, China

3 Gansu College Traditional Chinese Medicine Lanzhou 730000 China 4 Bureau of Science and Technology of Dingxi City, Dingxi 743000, China

5 Dingxi Food And Drug Administration, Lanzhou 730000 China)

Abstract Objective To evaluate the effect of Dangshen Zhuanggenling on quality of *Codonopsis pilosula* according to the extracts of codonopsis and the content of lobetyolin. **Methods** Yield was calculated by gravimetric method, extract was determined by thermal reflux and the content of lobetyolin was analyzed by HPLC. **Results** These methods were applied to determine yield, extracts of codonopsis and the content of *Codonopsis pilosula*. A good linearity was demonstrated between 0.19–0.96 μg ($r=0.9997$). The RSDs of precision and repeatability were 1.2% ($n=5$) and 1.6% ($n=6$), respectively. The average recovery was 99.4% with RSD of 1.8% ($n=6$). **Conclusions** Yields of *Codonopsis pilosula* on unit acreage increased by about 36% after using Dangshen Zhuanggenling, the extracts remained constant while the content of lobetyolin reduced by 20%. This study provides a reference for the quality control and scientific cultivation of *Codonopsis pilosula*.

Key words Dangshen Zhuanggenling *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.; yield, extracts, lobetyolin

党参壮根灵 (以下简称壮根灵) 是近年来药农用于种植党参增产的专用肥料, 其主要化学成分有氮、五氧化二磷、氧化钾, 是通过抑制党参原药材茎叶的生长发育, 控制党参不结籽或少结籽, 减少植物养分消耗, 延缓叶片衰老, 增强光合效率, 促进地下

根的生长, 达到提高党参商品等级、增产增收的目的。其使用方法是在党参盛花初期叶面喷施, 以一瓶壮根灵 (500 mL) 兑水 15 kg (背负式喷雾器装满), 喷施半亩地喷施约 333 m^2 的党参种植地。

中国药典 2010年版一部收载的党参为桔梗科

* 甘肃省定西市科学技术局重点科技项目 (2009-01-02)

第一作者 Tel: 13139329649; E-mail: cww-1012@163.com

植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf、素花党参 *Codonopsis pilosula* Nannf var *modesta* (Nannf) L. T. Shen 或川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根。其化学成分复杂, 主要含多糖类、木脂素苷类、萜类(苍术内酯)、甾类等。性平, 味甘, 具补中益气、健脾益肺之效。现行中国药典规定以党参炔苷作对照进行薄层色谱分析鉴别党参, 浸出物(不得少于 55.0%), 但无党参炔苷含量测定的标准^[1]。

近年来, 有关文献报道了测定党参药材中党参炔苷含量的方法^[2~6], 而研究壮根灵对党参药材产量、浸出物与党参炔苷含量影响的文章未见报道。笔者采用重量法计算产量, 热回流法测定浸出物^[7], HPLC 法测定党参炔苷含量, 分别对喷施与未喷施壮根灵党参的单位面积产量、单位质量的浸出物与党参炔苷含量进行测定, 对比分析实验结果, 评价壮根灵对党参质量的影响, 为科学种植党参和保证其质量提供参考依据。

1 仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪、G131513 二极管阵列检测器, 岛津 AUW 220D 型十万分之一电子分析天平, LC-150 型超声清洗机, QE-02A 型粉碎机 (25000 r·min⁻¹), W e202 型电热干燥箱, HC·TP12B·10 架盘药物天平 (最大称量 1000 g, 感量灵敏度 1 g)。

党参壮根灵, 批准文号: 甘农肥 [2002] 准字 063 号; 执行标准: Q /GKY01-2006。

2 样品与试药

2.1 供试样品

2.1.1 样品种植 分别于甘肃定西市六县一区 10 个乡(镇)设立党参试验种植基地, 将同一块试验种植基地采用地沟分隔成 2 个区域, 在党参种植季节(3 月分)选择健壮匀称的党参种苗(1 年生)以纵、横 10 cm 的间距种植, 每 1 m² 约种 100 根, 出苗率约达 95% ~ 100%, 待党参盛花初期(7 月中旬), 选其中 1 区叶面喷施壮根灵(按壮根灵使用说明), 并标示, 以相同的方式进行样品田间管理。

2.1.2 样品采集 于党参采挖季节(11 月中旬)采样, 样品均为 2 年生。分别对喷施与未喷施壮根灵的党参样品以单位面积(m²)采收样品, 备用。样品经甘肃省中医学院李成义教授鉴定, 均为 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf 的根。

2.2 试药 党参炔苷对照品, 纯度 ≥ 98%, 购于上海友思生物技术有限公司; 乙腈、甲醇均为色谱纯, 乙醇为分析纯, 纯化水 (AXL 型超纯水机自制)。

3 方法

3.1 党参产量计算 分别将采集的党参鲜样除去泥土, 对喷施与未喷施壮根灵的样品称重, 计算其单位面积的鲜重(kg·m⁻²), 再将称定鲜重的样品晒干, 烘干法测定水分^[8]并扣除, 计算其单位面积的干重(kg·m⁻²), 出干率(%)及增产率(%), 结果见表 1。通过对表 1 数据分析得知, 在党参种植过程中喷施壮根灵能使党参单位种植面积样品的干样平均增产 36%。

表 1 党参产量与增产率

Tab 1 The yield and increase rate of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf

产地 (place of origin)	鲜重 (fresh weight) / kg·m ⁻²		干重 (dry weight) / kg·m ⁻²		出干率 (drying rate) / %		增产率 (increase rate) / %
	施壮根灵	未施壮根灵	施壮根灵	未施壮根灵	施壮根灵	未施壮根灵	
	(used Dangshen Zhuanggenling)	(unused Dangshen Zhuanggenling)	(used Dangshen Zhuanggenling)	(unused Dangshen Zhuanggenling)	(used Dangshen Zhuanggenling)	(unused Dangshen Zhuanggenling)	
陇西县云田 (Yuntian Longxi county)	2.06	1.52	0.64	0.45	31	30	42
陇西县通安 (Tong'an Longxi county)	1.62	1.24	0.47	0.35	29	28	34
陇西县福星 (Fuxing Longxi county)	1.38	0.98	0.36	0.27	26	28	32
渭源县北寨 (Beizai Weiyuan county)	1.36	0.94	0.38	0.29	28	31	31
渭源县莲峰 (Lianfeng Weiyuan county)	1.48	1.11	0.40	0.31	27	28	30
临洮县连儿湾 (Lian'erwan Lintao county)	1.80	1.27	0.54	0.38	30	29	41
岷县中寨 (Zhongzai Min county)	2.21	1.5	0.66	0.48	30	32	38
漳县草滩 (Caotian Zhang county)	1.71	1.17	0.48	0.35	28	30	37
通渭县常河 (Changhe Tongwei county)	2.19	1.57	0.68	0.47	31	30	45
安定区黑山 (Heishan Anding region)	1.15	0.89	0.30	0.24	26	28	26

3.2 浸出物的测定 分别将喷施与未喷施壮根灵的党参药材样品粉碎(过 2 号筛), 取粉末约 2 g 精

密称定, 以 45% 乙醇溶液作溶剂, 按药典附录热浸法^[7]进行测定, 结果见表 2。

表 2 党参浸出物与党参炔苷含量 (%)
Tab 2 The content of the extract of codonopsis and lobetyolin

产地 (place of origin)	浸出物 (extract)		党参炔苷 (lobetyolin)	
	施壮根灵	未施壮根灵	施壮根灵	未施壮根灵
	(used Dangshen Zhuanggenling)	(unused Dangshen Zhuanggenling)	(used Dangshen Zhuanggenling)	(unused Dangshen Zhuanggenling)
陇西县云田 (Yuntian Longxi county)	69.2	71.2	0.0918	0.1108
陇西县通安 (Tong'an Longxi county)	71.3	70.8	0.0906	0.1073
陇西县福星 (Fuxing Longxi county)	70.6	72.7	0.0917	0.1073
渭源县北寨 (Beizai Weiyuan county)	72.7	73.1	0.1146	0.1531
渭源县莲峰 (Lianfeng Weiyuan county)	75.3	74.6	0.1102	0.1286
临洮县连儿湾 (Lian'erwan Lintao county)	71.9	69.2	0.0888	0.1101
岷县中寨 (Zhongzai Min county)	68.2	70.2	0.0932	0.1177
漳县草滩 (Zhongzai Min county)	72.8	73.2	0.0606	0.0734
通渭县常河 (Changhe Tongwei county)	73.1	72.5	0.1324	0.1778
安定区黑山 (Heishan Anding region)	64.2	64.7	0.0823	0.1089

3.3 党参炔苷的测定

3.3.1 色谱条件 色谱柱: Agilent TC - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 水 (30: 70); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 267 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。在上述色谱条件下, 理论塔板数按党参炔苷计算为 4.6 × 10³; 党参炔苷峰与相邻峰的分度为 1.8。

3.3.2 对照品溶液的制备 取党参炔苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.96 mg · mL⁻¹ 的储备溶液, 再用甲醇稀释成 96 μg · mL⁻¹ 的对照品溶液。

3.3.3 供试品溶液的制备 分别将党参药材粉碎 (过 4 号筛), 取样约 2 g 精密称定, 置 150 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 超声 (250 W, 50 kHz) 提取 30 min 补足减失重量, 摇匀, 滤过, 精密吸取滤液 25 mL, 置水浴上蒸干溶剂, 将残渣用甲醇溶解并分次转移到 10 mL 量瓶中, 定容, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

3.3.4 线性关系考察 分别吸取“3.3.2”项下的对照品溶液 (96 μg · mL⁻¹) 2, 4, 6, 8, 10 μL, 进样测定, 以峰面积对对照品的进样量做工作曲线, 得回归方程为:

$$Y = 5.607 \times 10^5 X - 20.74 \quad r = 0.9997$$

结果表明党参炔苷进样量在 0.19~0.96 μg 范围呈良好的线性关系。在信噪比为 3 时, 测得党参炔苷的检测限为 2.6 ng 在信噪比为 10 时, 测得党参炔苷的定量限为 8.3 ng。

3.3.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 测得峰面积的 RSD (n = 5) 为 1.2%。

3.3.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 分别在 0, 5, 10, 15, 20, 25 h 进样测定。结果峰面积的 RSD (n = 6) 为 2.2%, 表明供试品溶液中党参炔苷在 25 h 内稳定。

3.3.7 重复性试验 按“3.3.3”项下方法制备供试品溶液 6 份, 分别精密吸取 10 μL 进样测定。结果党参炔苷含量均值 (n = 6) 为 0.1102%, RSD 为 1.6%。

3.3.8 加样回收率试验 精密称取已测定含量 (0.1108%) 的样品粉末 6 份, 每份约 1 g 置 150 mL 具塞锥形量瓶中, 加入 96 μg · mL⁻¹ 的党参炔苷对照溶液 2.00 mL, 按“3.3.3”项下方法制得供试溶液, 分别吸取 10 μL 进样测定, 计算回收率。结果平均回收率 (n = 6) 为 99.4%, RSD 为 1.8%。

3.3.9 样品测定 按“3.3.3”项下方法制备供试品溶液, 在本文色谱条件下进样测定, 按外标法计算党参炔苷含量, 结果见表 2 党参炔苷对照品及样品的色谱图见图 1。通过比较表 2 数据得知, 20 批样品中, 喷施壮根灵并未影响党参药材单位质量浸出物的含量, 而使党参药材单位质量的党参炔苷含量平均降低了 20%。

4 讨论

4.1 供试品溶液的制备方法的选择 对参考文献 [2~5] 进行综合比较分析, 本文参考了文献 [4] 的提取方法, 此法省时、简便。

4.2 色谱条件的选择 流动相、检测波长、柱温参考了文献 [2], 但为了缩短党参炔苷主峰的出峰时间, 本文将流动相乙腈 - 水的比例 22: 78 调整为 30: 70 柱温确定为 30 °C, 防止因室内温差变化影响主

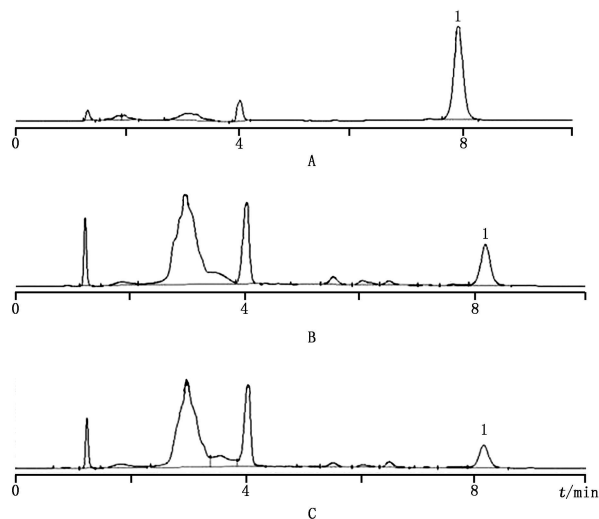


图 1 对照品 (A)、未喷施壮根灵样品 (B) 及喷施壮根灵样品 (C) 的 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), sample not sprayed Dangshen Zhuanggenling (B), and sample sprayed Dangshen Zhuanggenling (C)

1 党参炔苷 (lobetyolin)

峰保留时间的一致。本文中出现的对照品和供试品保留时间差异略大的原因是由手动进样后对图谱采集操作的时间误差所致, 在今后操作中应引起注意。

4.3 近年来, 壮根灵在党参种植中已大面积推广使用, 以能提高党参产量, 增加经济收入, 很受药农的青睐。壮根灵对党参药材的质量是否有影响, 笔者针对这一现状, 以党参的产量、浸出物及党参炔苷含量为观察指标, 评价了壮根灵对党参药材质量的影响。从实验数据表明, 20 批样品中, 喷施党参壮根灵使党参单位种植面积的产量平均提高 36%, 单位质量的浸出物维持不变, 而单位质量的党参炔苷含量平均降低 20%, 这为 GAP 种植和保证党参质量提供了参考依据。

4.4 从表 1、表 2 数据说明, 党参药材中浸出物与党参炔苷含量间不成正相量化关系。喷施壮根灵虽能提高党参产量, 生产出符合现行中国药典要求的药材, 但降低了单位质量的党参炔苷含量。据文献报道^[6,7], 党参饮片中党参炔苷和党参内酯的含量成正相量化关系, 党参炔苷对胃黏膜具有保护作用。

从而推断出喷施壮根灵也会相应降低单位质量的党参内酯含量, 造成党参单位用药量中党参炔苷含量不足, 浸出物并不能对其所含化学成分 (活性成分) 全面反映, 建议进一步完善党参质控标准, 确保党参的质量和道地性。

4.5 本文建立了 HPLC 法测定党参炔苷含量的方法, 在液相色谱图中, 对照品与样品主峰的保留时间一致, 也可作为党参中党参炔苷鉴别的方法。

4.6 党参主含成分为多糖类、木脂素苷类、萜类 (苍术内酯)、甾类等, 本文仅以其产量、浸出物及党参炔苷含量进行了比较研究, 全面评价壮根灵对党参药材质量的影响有待进一步研究。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2010 Vol II (一部): 264
- 2 HE Qing(贺庆), ZHU En-yuan(朱恩圆), WANG Zheng-tao(王峥涛), *et al* Determination of lobetyolin in Radix Codonopsis by high-performance liquid chromatography (党参中党参炔苷 HPLC 分析). *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2005, 40(1): 56
- 3 WANG Run-sheng(王润生), LU Yang-qing(刘养清), GUO Ji-long(郭继龙), *et al* Analysis of the contents of lobetyolin in Codonopsis pilosula from Shanxi (山西党参药材中党参炔苷的含量分析). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2007, 27(8): 1229
- 4 PENG Rui(彭锐), MA Peng(马鹏), LI Long-yun(李隆云), *et al* HPLC fingerprint of Codonopsis tangshen from different habitats (不同产地川党参药材的 HPLC 指纹图谱). *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2010, 35(2): 183
- 5 LIU Yang-qing(刘养清), ZHAO Ping(赵平), WU Jian-feng(巫剑峰), *et al* Study on correlation between atractylenolide and lobetyolin in decoction pieces of Codonopsis pilosula (党参饮片中党参内酯和党参炔苷的相关性研究). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2008, 28(1): 1841
- 6 SONG Dan(宋丹), WANG Zheng-tao(王峥涛), LI Long-yun(李隆云), *et al* Protective effect of lobetyolin on gastric mucosa of experimental gastric ulcer in rats (党参炔苷对胃溃疡模型大鼠胃粘膜损伤保护作用的研究). *J Emerg Tradit Chin Med* (中国中医急症), 2008, 17(7): 963
- 7 ChP(中国药典). 2010 Vol II (一部): Appendix(附录) X A
- 8 ChP(中国药典). 2010 Vol II (一部): Appendix(附录) IX A

(本文于 2010 年 5 月 6 日收到)