

# 党参药材活性成分党参炔苷的化学稳定性研究

廖江敏<sup>1</sup>,李林玉<sup>1</sup>,瞿云安<sup>2</sup>,杨雪峰<sup>1</sup>,杨军宣<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>重庆医科大学中医药学院,重庆 400016;<sup>2</sup>成都晶富医药科技有限公司,成都 610041

**摘要:**应用 HPLC 方法测定党参炔苷单体及党参药材提取液经不同条件(温度、受热时间、光照、pH 等)处理后党参炔苷的含量变化,考察各种因素对其主要活性成分化学稳定性的影响。结果党参炔苷单体在 60 ℃以下稳定性良好,在 60 ℃以上其含量随温度的升高及受热时间的延长而显著降低( $P < 0.05$ );对光照敏感,80 Klx 光照 72 h 后含量明显降低( $P < 0.05$ );在实验设计的不同酸碱度溶液中的稳定性良好,但 pH > 12 时,含量逐渐降低。结果表明,党参炔苷对温度及光照敏感,且在党参药材提取液中的稳定性较单一成分(单体)更好。在药材加工处理、饮片炮制及中成药生产等过程中应注意控制温度、光照及处理时间。

**关键词:**党参;党参炔苷;稳定性;高效液相色谱法

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)3-0385-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.3.005

## Study on the stability of lobetyolin in *Codonopsis pilosula*

LIAO Jiang-min<sup>1</sup>, LI Lin-yu<sup>1</sup>, QU Yun-an<sup>2</sup>, YANG Xue-feng<sup>1</sup>, YANG Jun-xuan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> TCM School of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

<sup>2</sup> Chengdu Jingfu Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Chengdu 610041, China

**Abstract:** HPLC method was used to monitor the content changes of lobetyolin after being treated with different conditions (temperature, heating time, light, pH, etc.). Result showed the stability of lobetyolin was good under 60 ℃. When the temperature was over 60 ℃, the content of lobetyolin decreased significantly with the increase of temperature and the extension of heating time ( $P < 0.05$ ). After 72 hours of irradiation with 80 Klx, the content of lobetyolin decreased significantly ( $P < 0.05$ ), which would also decrease in the solution with pH > 12. In conclusion, the stability of the pure product of lobetyolin was not as good as that in the extract of *Codonopsis pilosula*, temperature and light had significant effects on the stability of lobetyolin.

**Key words:** *Codonopsis pilosula*; lobetyolin; stability; HPLC

党参属于我国传统补益中药,其味甘、性平、归脾、肺经,具有补中益气、健脾益肺的功效。现代药理研究表明,党参能够调节血糖、提高造血机能、抗疲劳、抗应激、抗缺氧、抗衰老、增强机体免疫力、保护胃肠道黏膜、调节胃收缩功能、抗溃疡等<sup>[1]</sup>。党参的主要成分有糖类、苷类、萜类、生物碱类及聚炔类等,其主要活性成分党参炔苷属于聚乙炔类化合物,由于含有共轭三键,因而具有不饱和性和活泼性,易发生加成、氧化等反应,但党参炔苷又带有醇官能团,使其三键变得相对稳定<sup>[2,3]</sup>。2015 年版中国药典中收载党参来源为桔梗科植物党参 *Codonop-*

*sis pilosula* ( Franch. ) Nannf. 、素花党参 *C. pilosula* Nannf. var. *modesta* ( Nannf. ) L. T. Shen 或川党参 *C. tangshen* Oliv. 的干燥根,药材质量控制仅收载了薄层色谱的定性鉴别方法,尚未收载党参炔苷等活性成分的定量检测方法<sup>[4]</sup>。而目前亦缺乏党参炔苷稳定性的深入研究。本研究采用 HPLC 方法,测定党参炔苷对照品及党参提取液经不同条件(温度、受热时间、光照强度、pH)处理后的党参炔苷含量变化,考察各种因素对党参炔苷化学稳定性的影响,为药材质量标准研究、药材炮制加工及中成药生产等提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器和试剂

Agilent-1200 型高效液相色谱仪(安捷伦公司); LS-220A 电子天平(瑞士 Precisa 公司),

收稿日期:2019-10-28 接受日期:2020-04-01

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)

\*通信作者 Tel:86-23-65712064;E-mail:yjxhaw@ sina. com

ES225SM-DR 双量称天平(瑞士 Precisa 公司);Q/BKYY31-2000 电热恒温水浴锅(上海跃进医疗器有限公司);ULUP-IV-20T 优普系列超纯水机(四川优普超纯科技有限公司);KQ5200DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

党参炔苷(购于四川省维克奇生物科技有限公司,批号为 wkq18072501, 纯度为 HPLC  $\geq 98\%$ ) ; 党参药材自采于重庆市巫山县, 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 年版一部川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根; 乙腈和甲醇为色谱纯, 水为双蒸水。

## 1.2 党参炔苷 HPLC 测定方法建立

采用 HPLC 方法测定党参炔苷含量<sup>[5]</sup>, 并参考文献进行了方法学考察<sup>[4,6]</sup>。

### 1.2.1 色谱条件及系统适应性

色谱柱为 SinoChrom ODS-BP C<sub>18</sub> (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) ; 流动相为乙腈-水(25: 75); 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 267 nm; 进样体积为 10  $\mu\text{L}$ ; 柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 按党参炔苷峰计算理论塔板数应不低于 2 000。

### 1.2.2 方法学考察

#### 1.2.2.1 对照品溶液的制备

精确称取党参炔苷对照品 5.08 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 即得对照品溶液。

#### 1.2.2.2 供试品溶液的制备

取党参药材适量, 称定重量, 加入 8 倍量水, 煎煮 2 次, 每次 1 小时, 合并煎液, 浓缩至 1:1(g/mL), 放冷, 加入乙醇至含醇量为 50%, 静置过夜,

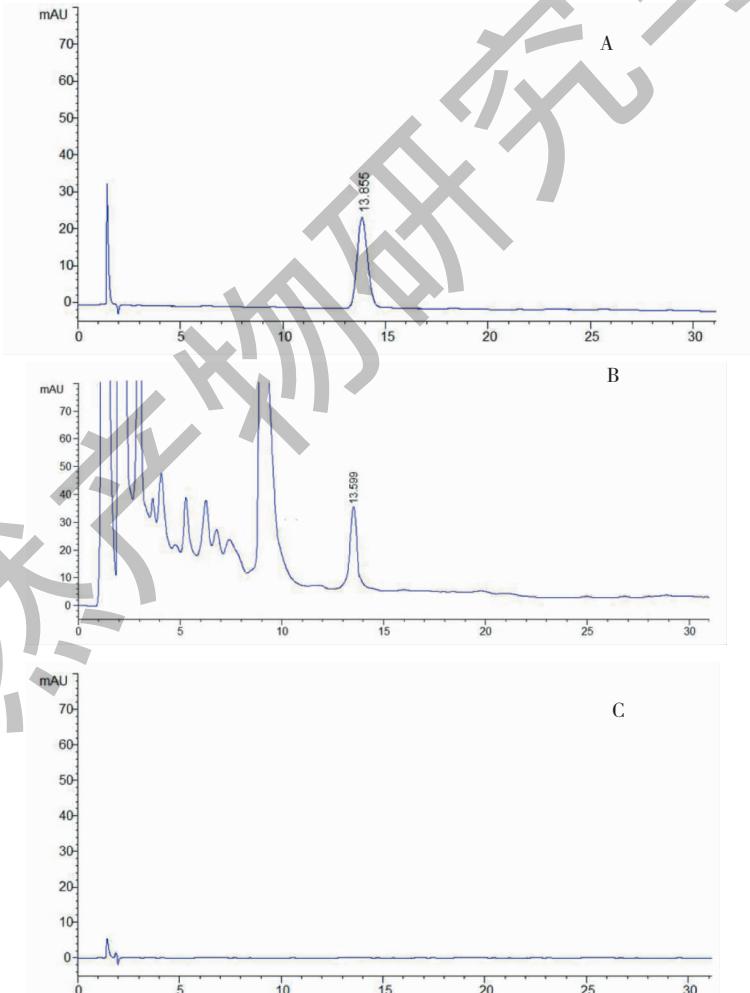


图 1 对照品溶液(A)、供试品溶液(B)及阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of standard solution(A), sample solution(B) and blank control(C)

过滤,滤液回收乙醇,浓缩至1:1(g/mL),即得样品溶液。精确量取样品溶液2mL,置25mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,过滤,取续滤液,即得供试品溶液。

### 1.2.2.3 专属性考察

取党参炔苷对照品溶液、党参药材提取液制备的供试品溶液及空白溶剂按“1.2.1”色谱条件进样检测,结果见图1,表明阴性无干扰。

### 1.2.2.4 线性关系考察

精密吸取对照品溶液2、4、8、10、15、20μL进样,每个体积分别重复进样3次,以进样量(μg)为X轴,峰面积值A为Y轴来绘制标准曲线,计算得到回归方程为 $Y=539\ 847X + 8\ 090.8, r=0.9993$ ,表明党参炔苷进样量在0.1016~1.0160 μg范围时,进样量与峰面积值有良好的线性关系。

### 1.2.2.5 精密度试验

取同一份党参炔苷对照品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积,计算RSD值为0.43%,表明仪器精密度良好。

### 1.2.2.6 稳定性试验

按“1.2.2.2”方法制备供试品溶液,室温下放置,按“1.2.1”项下色谱条件分别于0、2、4、6、8、24 h进样测定,记录峰面积,计算RSD值为0.62%。

### 1.2.2.7 重复性试验

按“1.2.2.2”方法平行制备6份供试品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件进样测定含量,计算RSD值为0.89%。

### 1.2.2.8 准确度试验

采用加样回收法,精确量取“1.2.2.2”项下提取浓缩后的样品溶液1mL,共9份,分成3组,每组3份,分别加入0.8、1.0、1.2倍的党参炔苷对照品,制备供试品溶液,进样测定,计算党参炔苷含量,按下式计算加样回收率,结果平均加样回收率为100.04%,RSD=1.26%。

$$\text{加样回收率} = \frac{\text{测得值(mg)} - \text{样品中的量(mg)}}{\text{加入对照品的量(mg)}} \times 100\%$$

## 1.3 党参炔苷的稳定性考察

### 1.3.1 温度的影响

精密称取适量党参炔苷对照品,置25mL容量瓶中,加塞密闭,共5份;另取党参药材提取样品溶液2mL,置25mL容量瓶中,加塞密闭,共5份。取供试品分别置50、60、70、80、90℃的恒温水浴锅中,加热5h,放冷后,分别加甲醇溶解并稀释至刻度,摇

匀,过滤,取续滤液,即得党参炔苷单体的供试液及党参药材提取制备的供试液。按“1.2.1”色谱条件测定,按下式计算党参炔苷的相对含量(RC),考察党参炔苷随温度的变化情况。

$$RC = (C_i/C_0) \times 100\%$$

式中 $C_i$ :每一检测点样品测定的含量,μg/mL; $C_0$ :每一样品的初始含量,μg/mL。

### 1.3.2 受热时间的影响

同“1.3.1”方法,分别取党参炔苷对照品及党参药材提取液样品适量,按“1.3.1”筛选所得的敏感温度条件下分别加热1、2、3、4、5 h,制备供试液后,按“1.2.1”色谱条件测定,计算相对含量(RC),考察党参炔苷随加热时间的变化情况。

### 1.3.3 光照的影响

同“1.3.1”方法,分别取党参炔苷对照品及党参药材提取液样品适量,分别在避光条件下及强光照(80 Klx)条件下放置12、24、36、48、72 h,分别制备供试液。按“1.2.1”色谱条件测定,计算相对含量(RC),考察党参炔苷随光照的变化情况。

### 1.3.4 pH值的影响

同“1.3.1”方法,分别取党参炔苷对照品及党参药材提取液样品适量,分别用pH值为2、7、10、12的PBS液溶解并稀释至刻度,于60℃水浴6 h,放冷,补足减失的溶剂,得到供试液。按“1.2.1”色谱条件测定,计算相对含量(RC),考察党参炔苷随pH值的变化情况。

## 2 结果

### 2.1 温度的影响

按“1.3.1”进行实验并检测,结果见图2。

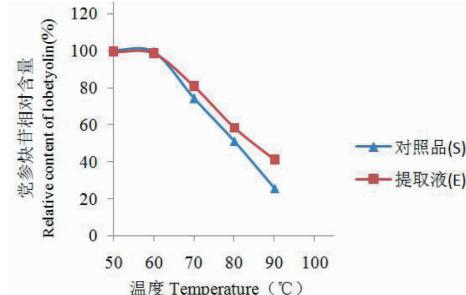


图2 党参炔苷含量随温度变化图

Fig. 2 Diagram of lobetiolin content changing with temperature

注:S:Standard solution; E:Extracting solution,下同。

结果表明,党参炔苷在60℃的温度下加热5 h含量无明显变化;超过60℃加热时含量发生明显变化,70℃加热5 h后,含量下降约26%,80℃加热5

h, 含量下降约 49%, 90 ℃ 加热 5 h, 含量下降约 75%, 温度对党参炔苷含量有显著影响( $P < 0.05$ )。党参药材提取液 90 ℃ 加热 5 h, 党参炔苷含量下降约 59%, 变化不如对照品单体明显。

## 2.2 受热时间的影响

按“1.3.2”进行实验并检测, 结果见图 3。

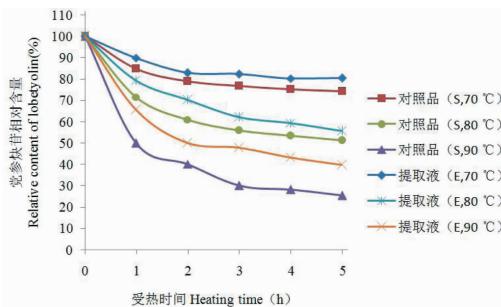


图 3 党参炔苷含量随受热时间变化图

Fig. 3 Diagram of lobetyolin content changing with heating time

结果表明, 随加热时间的增加, 党参炔苷单体及党参药材提取液中的含量呈持续降低趋势, 相同条件下党参药材提取液中党参炔苷含量的变化不如对照品单体明显。

## 2.3 光照的影响

按“1.3.3”进行实验并检测, 结果见图 4。

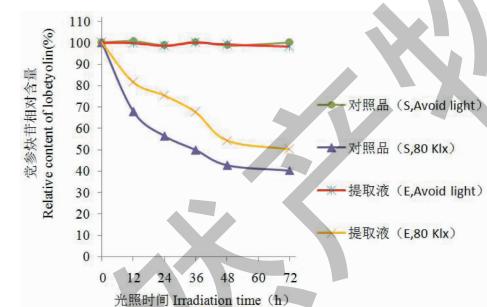


图 4 党参炔苷含量随光照时间变化图

Fig. 4 Diagram of lobetyolin content changing with irradiation time

结果表明, 光照对党参炔苷含量有显著影响( $P < 0.05$ )。避光条件下, 党参炔苷单体及党参药材提取液含量 3 天内无明显改变; 80 KLx 照射 3 天, 党参炔苷对照品含量降低约 60%, 党参药材提取液中党参炔苷含量降低约 50%。

## 2.4 pH 值的影响

按“1.3.4”进行实验并检测, 结果见图 5。

结果表明, 党参炔苷在实验设计的不同酸碱度

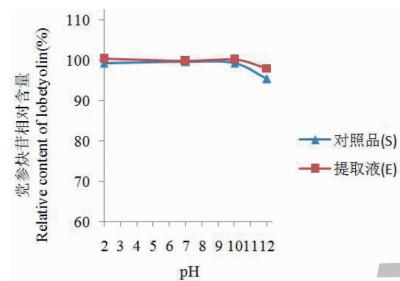


图 5 党参炔苷含量随 pH 值变化图

Fig. 5 Diagram of lobetyolin content changing with pH

溶液中稳定性良好, 但  $pH > 12$  时, 含量有逐渐降低趋势。

## 3 讨论与结论

党参作为传统补益中药, 应用广泛。本研究表明, 党参药材的主要活性成分党参炔苷无论是单体溶液还是在提取液中, 对温度及光照均较敏感, 60 ℃ 以下党参炔苷稳定性良好, 超过 60 ℃ 条件下含量随温度的升高及受热时间的延长而显著降低( $P < 0.05$ ), 提示在党参药材加工处理、饮片炮制及中成药生产等过程中温度应控制在 60 ℃ 以下, 且不宜长时间受热处理; 同时, 光照对党参炔苷含量有显著影响( $P < 0.05$ ), 避光条件下利于党参活性成分的保存; 此外, 党参炔苷在不同酸碱度溶液中的稳定性良好, 但 pH 值偏高( $\geq 12$ )时, 含量逐渐降低。

通过对比研究发现, 上述相同条件下党参药材提取液中党参炔苷含量的变化不如对照品单体明显, 表明党参药材中的某些成分可以提高党参炔苷的稳定性, 其保护机制有待进一步研究。本研究发现在相同处理条件下, 党参炔苷溶液状态及固态的含量变化不一致, 具体变化规律及其机制有待进一步研究; 不同光照强度的不同照射时间及不同 pH 条件下更长处理时间对党参炔苷稳定性的影响有待进一步研究; 同时, 上述条件下党参炔苷的反应动力学亟待进一步深入研究, 以便考察其半衰期并预测有效期, 为药材质量控制提供参考和依据。

## 参考文献

- Huang YY, Zhang Y, Kang LP, et al. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Codonopsis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2018, 49:239-250.
- Fan Q, Xia PF, Peng XJ, et al. Enrichment of atracylenolide I and atracylenolide II from *Codonopsis pilosula* with macroporous resin[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29:1602-1607.