

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.05.018

# 高效液相色谱法同时测定党参中3种指标性成分含量\*

陈娟, 陈瑞明, 孟雪, 杨智峰, 王娣, 鲁文静, 蒙麦侠, 张红<sup>△</sup>

(陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710061)

**摘要:**目的 建立同时测定党参中紫丁香苷、党参炔苷和苍术内酯Ⅲ含量的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈(A) - 0.1% 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~20 min 时 10% A, 20~30 min 时 10% A~30% A, 30~50 min 时 30% A~70% A), 流速为 0.8 mL/min, 柱温为 30 ℃, 检测波长为 220 nm, 进样量为 10 μL。结果 紫丁香苷、党参炔苷和苍术内酯Ⅲ在各自的质量浓度范围内线性关系良好( $r \geq 0.9989$ ,  $n=6$ ), 平均回收率分别为 101.58%, 101.83%, 99.65%, RSD 分别为 0.70%, 0.84%, 1.20% ( $n=6$ )。结论 该方法分离效果和重复性均良好, 回收率高, 可用于党参药材的质量控制。

**关键词:** 党参; 高效液相色谱法; 紫丁香苷; 党参炔苷; 苍术内酯Ⅲ; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2021)05-0069-04

## Simultaneous Determination of Three Index Components in *Codonopsis pilosula* by HPLC

CHEN Juan, CHEN Ruiming, MENG Xue, YANG Zhifeng, WANG Di, LU Wenjing, MENG Maixia, ZHANG Hong

(Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi, China 710061)

**Abstract: Objective** To establish a high-performance liquid chromatography(HPLC) method for the simultaneous determination of syringin, lobetyolin, atractylenolide III in *Codonopsis pilosula*. **Methods** The chromatographic column was Kromasil C<sub>18</sub> column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile(A) - 0.1% phosphoric acid aqueous solution(B) with gradient elution(0-20 min, 10% A; 20-30 min 10% A-30% A; 30-50 min, 30% A-70% A), the flow rate was 0.8 mL/min, the column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 220 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** The syringin, lobetyolin, atractylenolide III showed good linear relationships within their own range( $r \geq 0.9989$ ,  $n=6$ ), the average recoveries were 101.58%, 101.83% and 99.65% with RSDs of 0.70%, 0.84% and 1.20% ( $n=6$ ). **Conclusion** The method has a good separation effect, repeatability and high recovery, which can be used for the quality control of *Codonopsis pilosula*.

**Key words:** *Codonopsis pilosula*; HPLC; syringin; lobetyolin; atractylenolide III; content determination

党参为桔梗科植物党参 *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, 具有补中益气、健脾益肺功效<sup>[1]</sup>。现代药理学研究表明, 党参可调节血糖及胃肠功能, 提高造血机能, 抗溃疡, 抗炎, 抗疲劳, 抗肿瘤, 延缓衰老, 增强机体免疫

\*基金项目: 陕西省重点研发计划[2019SF-298]; 陕西省中医药研究院科研课题[2018-03]; 2018年中医药公共卫生服务补助资金资助项目[财社[2018]43号]。

第一作者: 陈娟, 女, 博士研究生, 助理研究员, 研究方向为药物制剂的质量标准与活性成分, (电子信箱)chenjuan\_2007jie@163.com。

<sup>△</sup>通信作者: 张红, 女, 博士研究生, 研究员, 研究方向为中药药效物质基础与质量控制, (电子信箱)zhanghong919919@163.com。

的含量[J]. 中国药师, 2013, 16(10): 1510-1512.

[6] 郭淑英, 郝乘仪, 冯波. RP-HPLC法测定银翘解毒丸中连翘苷的含量[J]. 中国药房, 2009, 20(24): 1896-1897.

[7] 罗曼, 周兰, 申瑾, 等. 银翘解毒丸特征图谱初步研究[J]. 中成药, 2012, 34(11): 2162-2166.

[8] 贺倩, 黄宝明, 陈威, 等. 银翘散煎剂与5种银翘解毒成药HPLC特征图谱的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(3): 303-307.

[9] 殷世宁, 张春辉, 王海英. 板蓝根特征图谱及3种成分含量测定研究[J]. 中国药业, 2018, 27(24): 15-18.

[10] 翟宏宇, 王海洋, 杨献玲, 等. 保心宁片HPLC特征图谱研究及8个指标性成分的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(9): 1633-1639.

[11] 蒋艳, 范晓磊, 李恒, 等. 复方百部止咳糖浆特征图谱建立及4个建立成分含量测定[J]. 中药材, 2019, 42(8): 1846-1850.

[12] 胡素连, 刘红宇. 《中国药典》方法比较青翘、老翘中连翘苷和连翘酯苷A的含量[J]. 中医药导报, 2017, 23(19): 41-44.

[13] 王浩兵, 邓力, 马元春, 等. 基于UHPLC的金银花和山银花的鉴别及测定研究[J]. 中草药, 2017, 48(12): 2516-2521.

[14] 吴飞燕, 冯宋岗, 曾建国. 金银花和山银花的鉴别与归属研究[J]. 中草药, 2014, 45(8): 1150-1156.

[15] 高珊, 郭月秋, 刘斯亮. 现时金银花与山银花比较鉴别分析[J]. 中国医药科学, 2017, 7(1): 52-55.

[16] 冷方南. 中国基本中成药(一部)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 5-6.

[17] 鹿维荣, 赵平, 刘养清, 等. 不同生长期的连翘中连翘酯苷及芦丁含量动态研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(5): 277-279.

(收稿日期: 2020-02-20; 修回日期: 2020-07-18)

功能<sup>[2-5]</sup>。其主要化学成分为甾醇类、多糖类、苷类、萜类、生物碱类等<sup>[6-7]</sup>。2015年版《中国药典(一部)》仅收录了党参的显微和薄层鉴定方法,未收录指标性成分含量测定项。党参炔苷为党参的指标性成分,对乙醇所致胃黏膜损伤有很好保护作用,与党参补中益气功效相符,是党参保护胃黏膜的活性成分<sup>[8]</sup>。杨静等<sup>[9]</sup>比较了不同产地党参中苍术内酯Ⅲ和党参炔苷的成分,发现苍术内酯Ⅲ可代表党参的道地性,具有抗炎、调节胃肠道、促进营养物质吸收的作用<sup>[10]</sup>,与党参的药理作用有相关性,可作为指标性成分。胡春阳等<sup>[11]</sup>以党参炔苷和紫丁香苷为指标性成分评价和鉴定党参白条党,发现紫丁香苷具有抗疲劳、抗脑缺血、增强适应性等功效<sup>[12]</sup>,也可作为指标性成分。为了进一步提升党参临床用药的有效性和安全性,本研究中拟采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定党参中紫丁香苷、党参炔苷和苍术内酯Ⅲ 3种成分的含量,为其质量评价提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);KH-300D 型数控超声波清洗机(昆山禾创超声仪器有限公司,功率为 300 W,频率为 40 kHz);BT25S 型电子天平(精度为十万分之一),BS210S 型电子天平(精度为万分之一),均购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

### 1.2 试剂

紫丁香苷对照品(批号为 CHB180530,纯度 $\geq 98\%$ ),党参炔苷对照品(批号为 CHB180122,纯度 $\geq 98\%$ ),苍术内酯Ⅲ对照品(批号为 CHB180224,纯度 $\geq 98\%$ ),均购自成都克洛玛生物科技有限公司;乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。党参药材(批号分别为 202000301, 202000302, 202000303)采收自陕西省宜君县,经陕西省中医药研究院杨智峰研究员鉴定均为党参 *Codonopsis pilosula* Franch. 的干燥根。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~20 min 时 10% A, 20~30 min 时 10% A→30% A, 30~50 min 时 30% A→70% A);检测波长:220 nm;柱温:30℃;流速:0.8 mL/min;进样量:10 μL。紫丁香苷、党参炔苷、苍术内酯Ⅲ的分离度均不低于 1.5,理论板数按紫丁香苷峰计均不低于 5 000。

### 2.2 溶液制备

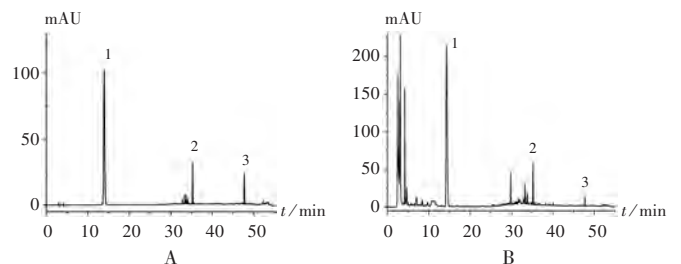
混合对照品溶液:精密称取各对照品适量,加甲醇制

成含紫丁香苷 0.670 mg/mL、党参炔苷 0.231 mg/mL、苍术内酯Ⅲ 0.108 mg/mL 的对照品贮备溶液。精密吸取上述对照品贮备溶液各 1 mL,置 10 mL 容量瓶中,加入 75% 甲醇溶解,定容,摇匀,即得。

供试品溶液:取党参样品粉末(过 40 目筛)1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理 45 min,放冷,再称定质量,用 75% 甲醇补足减失的质量,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 方法学考察

专属性试验:分别吸取 2.2 项下混合对照品溶液和供试品溶液各 10 μL,按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱紫丁香苷、党参炔苷、苍术内酯Ⅲ相应位置上有相应色谱峰,且与其他杂质峰分离良好。色谱图见图 1。



1. 紫丁香苷 2. 党参炔苷 3. 苍术内酯Ⅲ  
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. syringin 2. lobetyolin 3. atractylenolide III  
A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察:分别精密吸取对照品贮备溶液 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mL, 置 10 mL 容量瓶中,加 75% 甲醇稀释至刻度,摇匀,按 2.1 项下色谱条件进样 10 μL,以溶液质量浓度( $X, \mu\text{g}$ )为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归。结果见表 1。

表 1 各成分线性关系考察结果( $n=6$ )

Tab. 1 The linear relationship of each component( $n=6$ )

成分	线性回归方程	$r$	线性范围( $\mu\text{g}$ )
紫丁香苷	$Y = 1393.5X + 1927.5$	0.9989	0.1340 ~ 1.3400
党参炔苷	$Y = 1986.3X - 4.0653$	0.9999	0.04620 ~ 0.4620
苍术内酯Ⅲ	$Y = 4241.6X + 15.693$	0.9990	0.02166 ~ 0.2166

精密度试验:精密吸取 2.2 项下同一混合对照品溶液 10 μL,按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次。结果紫丁香苷、党参炔苷、苍术内酯Ⅲ峰面积的 RSD 分别为 0.40%, 0.54%, 0.08% ( $n=6$ ),表明仪器精密程度良好。

重复性试验:取同一批(批号为 202000301)样品 6 份,精密称定,依法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件

进样分析。结果紫丁香苷、党参炔苷、苍术内酯Ⅲ含量的RSD分别为0.24%, 0.16%, 0.15% ( $n=6$ ), 表明方法重复性良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液,室温放置,分别于0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h时按2.1项色谱条件下进样10  $\mu$ L。结果紫丁香苷、党参炔苷、苍术内酯Ⅲ峰面积的RSD分别为0.42%, 0.45%, 1.44% ( $n=7$ ), 表明供试品溶液在12 h内稳定。

加样回收试验:取各已知成分的党参样品(批号为202000301)0.5 g,精密称定,共6份,依法制备供试品溶液,分别精密加入各对照品适量,按2.1项下色谱条件进样测定,并计算紫丁香苷、党参炔苷、苍术内酯Ⅲ的加样回收率。结果见表2。

表2 各成分加样回收试验结果( $n=6$ )

组分	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
紫丁香苷	0.500 0	1.142 1	1.105 5	2.265 0	101.57	101.58	0.70
	0.492 2	1.124 3	1.105 5	2.261 7	102.89		
	0.500 2	1.142 5	1.105 5	2.265 4	101.57		
	0.500 0	1.142 1	1.105 5	2.263 2	101.41		
	0.500 4	1.143 0	1.105 5	2.262 9	101.30		
	0.501 2	1.144 8	1.105 5	2.258 5	100.74		
党参炔苷	0.500 0	0.203 3	0.208 0	0.415 9	102.21	101.83	0.84
	0.492 2	0.200 1	0.208 0	0.414 6	103.12		
	0.500 2	0.203 3	0.208 0	0.415 5	102.02		
	0.500 0	0.203 3	0.208 0	0.412 5	100.58		
	0.500 4	0.203 4	0.208 0	0.414 6	101.54		
	0.501 2	0.203 7	0.208 0	0.414 8	101.49		
苍术内酯Ⅲ	0.500 0	0.030 86	0.032 50	0.062 8	98.28	99.65	1.20
	0.492 2	0.030 38	0.032 50	0.063 0	100.37		
	0.500 2	0.030 87	0.032 50	0.063 1	99.17		
	0.500 0	0.030 86	0.032 50	0.062 9	98.58		
	0.500 4	0.030 89	0.032 50	0.063 4	100.03		
	0.501 2	0.030 93	0.032 50	0.063 9	101.45		

## 2.4 样品含量测定

取不同批次(批号分别为202000301, 202000302, 202000303)党参样品各1.0 g,精密称定,依法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果见表3。

表3 样品含量测定结果(mg/g,  $n=3$ )

批号	紫丁香苷	党参炔苷	苍术内酯Ⅲ
202000301	2.281 9	0.405 3	0.060 50
202000302	2.286 6	0.407 0	0.061 63
202000303	2.286 7	0.406 6	0.061 78

## 3 讨论

### 3.1 检测波长选择

采用紫外检测器在200~400 nm波长范围内对党参3种指标性成分进行扫描,结果紫丁香苷在220, 265 nm波长处有最大吸收,党参炔苷在220, 232, 267, 283 nm波长处有最大吸收,苍术内酯Ⅲ在220 nm波长处有最大吸收。胡涛<sup>[13]</sup>在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中发现,紫丁香苷、党参苷I和党参炔苷的最大吸收峰为267 nm;杨静等<sup>[9]</sup>研究不同产地党参苍术内酯Ⅲ和党参炔苷含量时发现,苍术内酯Ⅲ在220 nm波长处有最大吸收,均与本研究结果一致。本研究中,紫丁香苷和党参炔苷在267 nm波长处也有最大吸收峰,但苍术内酯Ⅲ在267 nm波长处的吸收峰远小于220 nm波长处,故选择220 nm为检测波长。

### 3.2 流动相选择

考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液等流动相系统,以党参3个指标性成分的分度、峰形、基线的平稳情况进行综合考察,结果以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱时色谱峰的基线平稳、峰形好和分离度均好,能满足检测要求。

### 3.3 提取溶剂和提取方法选择

考察了超声提取和回流提取2种方法,提取效果差异不明显,故选择便于操作的超声提取法。考察了甲醇和乙醇及不同体积分数的甲醇和乙醇的提取效果,结果75%甲醇提取效果最佳。考察了30, 45, 60 min时的提取效果,结果超声提取45 min的效果最佳。

### 3.4 方法评价

本研究中建立的同时测定党参中3种指标性成分的HPLC法,分离效果和重复性均良好,回收率高,能全面评价党参药材的质量,可为党参的质量控制提供参考。

## 参考文献

- [1] 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.
- [2] 胡志航, 赵建斌, 柴建新, 等. 党参的毒理学试验研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(19): 2325-2329.
- [3] 樊长征, 洪巧瑜. 党参对人体各系统作用的现代药理研究进展[J]. 中国医药导报, 2016, 13(10): 39-43.
- [4] 许朋, 余兰, 冯昆. 党参多糖的提取及体内免疫作用的研究[J]. 哈尔滨医药, 2018, 38(4): 301-303.
- [5] 黄圆圆, 张元, 康利平, 等. 党参属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(1): 239-250.
- [6] 张霞, 李建宽, 曹玲亚, 等. 不同基源、产地对党参总糖中低分子量果聚糖的影响[J]. 中成药, 2020, 42(1): 145-149.