

石柱参中 8 种人参皂苷的含量测定

高俊杰¹, 翟延君^{1*}, 王荣祥¹, 王谷强², 王冰¹, 张慧¹

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 大连 116600;

2. 宽甸县石柱野山参发展有限公司, 辽宁 丹东 118000)

[摘要] 目的:测定石柱参中 8 种人参皂苷 $Rg_1, Re, Rf, Rg_2, Rb_1, Rc, Rb_3, Rd$ 的含量,并建立同时测定 8 种人参皂苷含量的方法。方法:采用 HPLC Agilent TC-C18 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05% 磷酸水,梯度洗脱,体积流量 1 mL · min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 203 nm。结果:8 种人参皂苷 $Rg_1, Re, Rf, Rg_2, Rb_1, Rc, Rb_3, Rd$ 质量分数分别为 1.32, 2.08, 0.72, 0.24, 2.12, 1.06, 0.35, 0.55 mg · g⁻¹。结论:首次对石柱参药材中的人参皂苷进行了含量测定,所建立的方法分离度高,方法学验证符合要求,可作为参类药材同时测定 8 种人参皂苷含量的方法。

[关键词] 石柱参;人参皂苷;HPLC;含量测定

石柱参为人参野生变家种的优良品种,来源于五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey 的干燥根,产于辽宁省丹东市宽甸县振江乡石柱子村。药用历史悠久,距今已有 300 多年的栽培历史^[1]。石柱参的参池建在 30°以上山坡上,坡度较陡,虽为栽培,但在管理上不施肥,不打药,与野山参生长环境相近。本品的性状特点为芦头细长,个小体灵,皮老纹深,须长而清晰,其上有珍珠疙瘩,酷似野山参。石柱参作为人参的独特栽培品种,迄今未见有关其含量测定的报道。本实验采用 HPLC 对人参药理活性较强的 8 种人参皂苷 $Rg_1, Re, Rf, Rg_2, Rb_1, Rc, Rb_3, Rd$ 进行了含量测定研究^[2-3],建立了同时测定 8 种人参皂苷的含量测定方法,为石柱参的进一步研究和质量评价提供科学参考。

1 材料

高效液相色谱仪(Agilent 1100 型,安捷伦公司);紫外检测器(G2170BA 型,安捷伦科技);KT-230A 型柱温箱(泰兴市艾谱化工设备有限公司);超声波清洗器(KH-300B 型,昆山禾创超声仪器有限公司);分析天平(CP225D 型,北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

人参皂苷 Rg_1 (批号 110703-200703), Rf (批号

11719-200703)对照品购于中国药品生物制品检定所,人参皂苷 $Re, Rb_1, Rd, Rc, Rg_2, Rb_3$ 对照品购于北京慧德易科技有限公司(峰面积归一化法测定,纯度 ≥ 98%);乙腈和甲醇为色谱纯,其他试剂均为市售分析纯,水为高纯水;石柱参采自辽宁省丹东市宽甸县振江乡石柱子村,经辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为五加科植物人参 *P. ginseng* 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相 乙腈(A)-0.05% 磷酸水(B),梯度洗脱:0 ~ 10 min, 0% ~ 21% A; 10 ~ 22 min, 21% ~ 23% A; 22 ~ 32 min, 23% ~ 31% A; 32 ~ 40 min, 31% ~ 33% A; 40 ~ 46 min, 33% ~ 30% A; 46 ~ 52 min, 30% ~ 35% A; 52 ~ 55 min, 35% ~ 37% A; 55 ~ 60 min, 37% ~ 40% A; 体积流量 1 mL · min⁻¹;柱温 30 °C,检测波长 203 nm,理论塔板数按 Rg_1 峰计算不低于 6 000,进样量 15 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷各对照品适量,加甲醇配制成每 1 mL 含 $Rg_1, Re, Rf, Rg_2, Rb_1, Rc, Rb_3, Rd$ 分别为 1.010, 0.609, 0.504, 0.138, 1.032, 0.512, 0.235, 0.161 mg 的溶液,作为对照品溶液储备液,分别取上述对照品 Rg_1, Rf, Rg_2, Rb_3 储备液 1 mL,对照品 Re, Rb_1, Rc, Rd 储备液 2 mL,置 5 mL 量瓶中,作为对照品溶液,密封置 4 °C 冰箱保存。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过 4 号筛)

[收稿日期] 2009-10-10

[通信作者] * 翟延君, Tel: 13019499386, E-mail: lnzyzyj@sohu.com

[作者简介] 高俊杰, 硕士, 主要从事中药鉴定与质量评价研究, Tel: 13889593895, E-mail: mn8e@163.com

约 1 g,精密称定,置索氏提取器中,加三氯甲烷适量加热回流 3 h,药渣挥干溶剂,连同滤纸筒移入 100 mL 锥形瓶中,精密加入水饱和正丁醇 50 mL,密塞,放置过夜,超声提取 30 min,滤过,精密量取续滤液 25 mL,置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,即得。

表 1 8 种人参皂苷的线性范围和线性关系

对照品	线性方程	线性范围/ μg	r
Rg ₁	$Y=415.88X-113.800$	1.010~20.020	0.999 9
Re	$Y=351.71X-77.148$	0.609~12.180	0.999 8
Rf	$Y=361.31X+67.000$	0.504~10.080	0.999 8
Rg ₂	$Y=397.02X-7.200$	0.138~2.752	0.999 9
Rb ₁	$Y=277.26X+66.900$	1.032~20.640	0.999 8
Rc	$Y=317.44X-17.680$	0.512~10.240	0.999 8
Rb ₃	$Y=257.40X+3.969$	0.235~4.700	0.999 7
Rd	$Y=348.17X-23.938$	0.161~3.224	0.999 9

2.5 精密度试验 精密吸取样品溶液 15 μL ,连续重复进样 5 次,记录峰面积,测得 Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₃, Rd 含量的 RSD 分别为 0.36%, 0.26%, 0.52%, 1.2%, 0.32%, 0.96%, 1.0%, 0.99%, 仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一份样品,平行制备 5 份供试品溶液,分别进样 15 μL ,测定上述 8 种人参皂苷含量并计算 RSD 分别为 1.5%, 2.1%, 1.3%, 1.2%, 1.6%, 1.9%, 1.2%, 1.8%, 表明该方法重复性好。

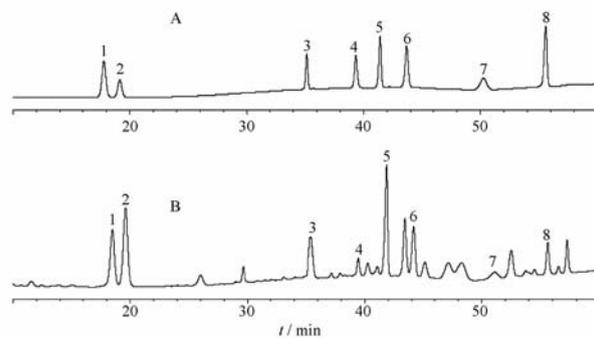
2.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 8, 12, 20, 24 h 测定 8 种人参皂苷的峰面积。结果显示 8 种人参皂苷 Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₃, Rd 峰面积的 RSD 均小于 2%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验 取石柱参药材 6 份,每份约 0.5 g,精密称定,每份精密加入人参皂苷混合对照品溶液 1 mL(其中含人参皂苷 Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₃, Rd 分别为 0.655, 1.056, 0.408, 0.119, 1.078, 0.528, 0.202, 0.306 mg)制备供试品溶液,分别进样 15 μL ,注入液相色谱仪,测定并计算加样回收率和 RSD, 8 种人参皂苷 Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₃, Rd 的平均回收率和 RSD ($n=6$) 分别 98.54% (1.5%), 98.28% (0.98%), 99.14% (2.2%), 98.51% (1.2%), 100.13% (1.7%), 98.15% (0.80%), 98.76% (1.0%), 98.95% (2.2%)。

2.9 样品含量测定 按 2.3 项下方法制备供试品

2.4 线性关系考察 分别精密吸取各对照品储备液,以 1, 5, 10, 15, 20 μL 按上述色谱条件连续进样,测得峰面积积分值。以进样量(μg)为横坐标(X),色谱峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归。结果表明,各组分在各自浓度范围内线性关系良好,线性方程、线性范围及相关系数见表 1。

溶液,在上述色谱条件下,进样量 15 μL ,测得峰面积,根据标准曲线计算样品中 8 种人参皂苷的含量,结果 8 种人参皂苷 Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₃, Rd 质量分数分别为 1.32, 2.08, 0.72, 0.24, 2.12, 1.06, 0.35, 0.55 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 见图 1。



1. Rg₁; 2. Re; 3. Rf; 4. Rg₂; 5. Rb₁; 6. Rc; 7. Rb₃; 8. Rd。

图 1 混合对照品(A)、石柱参(B) HPLC 图

3 讨论

本研究首次采用 HPLC 法对石柱参所含的 8 种人参皂苷 Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₃, Rd 进行了含量测定,建立了同时测定 8 种人参皂苷的含量测定方法。该方法稳定可靠,简单易行,快速准确,可为石柱参的质量分析方法提供参考,同时也可用于参类药材各人参皂苷的定量分析。

实验中发现以甲醇为溶媒进行提取,人参皂苷的含量较高,但同时提取的杂质也多,必须经纯化处理,处理后皂苷含量不仅有损失,与药典方法测定的

含量结果相近;而且还因杂质多导致部分色谱峰的分
离度不合格,不能同时测定 8 种人参皂苷的含量。
故本研究仍采用药典法制备供试品溶液,结果各色
谱峰均达到了良好的分离效果。

2005 年版《中国药典》中人参含量测定项下的
流动相为乙腈和水,本实验将水相改为 0.05% 磷酸
水后,基线稳定,样品峰对称性高,分离度好。

目前报道的有关同时测定多种人参皂苷含量所
使用的色谱柱,大都是长度 250 mm,粒径 5 μm 或长
度 100 mm,粒径 3.5 μm 。本研究首次使用长度 150
mm,粒径 5 μm 的 Agilent TC-C18 色谱柱,石柱参的
色谱峰依然达到了良好的分离效果,且分析时间较

短,又同时测定了 8 种人参皂苷的含量。

迄今尚未发现有关石柱参含量测定的研究报
道,实验结果可以看出石柱参中 Rb_1 , Re 的含量偏
高,对石柱参不同生长年限、不同采收期中各人参皂
苷的含量变化有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 王荣祥,赵建东,许亮.石柱参的历史考证[J].辽宁中医学院学报,2005,7(3):269.
- [2] 张萍,王金东,肖新月,等.人参化学成分分析方法的研究进展[J].中草药,2004,35(12):1429.
- [3] 张萍,张南平,肖新月,等.人参皂苷类成分的化学分析[J].药物分析杂志,2004,24(3):229.

Determination of eight kinds of ginsenosides in Shizhu ginseng

GAO Junjie¹, ZHAI Yanjun^{1*}, WANG Rongxiang¹, WANG Guqiang², WANG Bing¹, ZHANG Hui¹

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;

2. Dandong City, Liaoning Province Shizhu Wild Kuandian County Development Co., Ltd., Dandong 118000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the method for determining simultaneously eight kinds of ginsenoside Rg_1 , Re , Rf , Rg_2 , Rb_1 , Rc , Rb_3 and Rd and their contents in Shizhu ginseng. **Method:** HPLC was carried out on Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm) with acetonitrile -0.05% phosphoric acid, gradient elution, the volume of flow 1 mL \cdot min⁻¹, column temperature 30 $^\circ\text{C}$ and detection wavelength 203 nm. **Result:** The contents of eight kinds of ginsenosides in Shizhu ginseng were 1.32, 2.08, 0.72, 0.24, 2.12, 1.06, 0.35, 0.55 mg \cdot g⁻¹, respectively. **Conclusion:** The contents of ginsenoside ingredients in Shizhu ginseng were determined in the first time. The established method can be used in determining the contents of multiple ginsenosides in herb ginseng simultaneously.

[Key words] Shizhu ginseng; ginsenosides; HPLC; determination

doi: 10.4268/cjcm20100810

[责任编辑 周驰]