

# 人参药材中 7 种人参皂苷的提取与检测

## 背景

人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey) 为五加科植物人参的干燥的根和根茎, 具有“百草之王”的美誉, 具有补益脾肺、生津养血、安神益智等多种功效。现代药理学研究已证明人参皂苷是人参中的主要有效成分, 因此历年中国药典都是采用测定人参药材中人参皂苷的含量来控制人参药材的品质, 但是药典中给出的测定方法样品前处理过程花费时间较长, 需进行放置过夜处理, 并且只测定 4 种人参皂苷的含量, 缺乏全面性。本文优化了人参样品的前处理方法, 样品经过固相萃取后可测定 7 种人参皂苷的含量 (人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2 和 Rd), 前处理时间从之前的近 8 h 缩短到目前的 1.5 h, 并且也不需要用到三氯甲烷脱脂, 减少有毒溶剂的使用。同时还优化了液相色谱分析方法, 分析时间缩短了 20min。人参样品经纳谱分析的固相萃取柱 SelectCore HR-C18 处理后, 目标峰不受杂质干扰, 回收率良好, 搭配使用纳谱分析的 ChromCore 300 C18 色谱柱, 色谱图峰型好、分离度高。

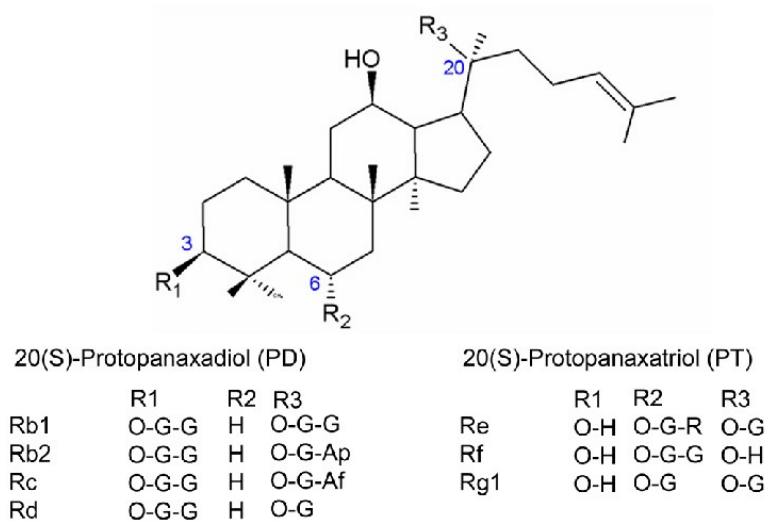


图 1 7 种人参皂苷结构式图

缩略语 Af: arabinofuranose; Ap: arabinopyranose; G: glucopyranose; R: rhamnopyranose

## 适用范围

参考中国药典 2020 版中人参的含量测定方法, 优化了样品前处理方法及液相色谱方法。本方法适用于人参药材中人参皂苷含量的测定。

## 实验步骤

### 1、2020 版药典提取方法

称取样品 1 g, 精密称定, 置索氏抽提器中, 加三氯甲烷加热回流 3 h, 弃去三氯甲烷液, 药渣挥干溶剂, 连同滤纸筒移入 100 mL 锥形瓶中, 精密加水饱和和正丁醇 50 mL, 密塞, 放置过夜, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 25 mL, 置于蒸发皿中蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

### 2、固相萃取方法

提取步骤: 称取样品 1 g 于 50 mL 离心管中, 加入 50 mL 甲醇, 超声提取 20 min, 过滤, 精密量取续滤液 25 mL 置于蒸发皿中水浴蒸干, 残渣加 10 mL 水溶解混匀备用。

净化步骤: 活化: SelectCore HR-C18 500mg/6mL 固相萃取柱, 依次使用 5.0 mL 甲醇、5.0 mL 水活化;

上样：将步骤 1 中制备好的溶液全部转移至固相萃取柱上，弃去流出液；

淋洗：依次使用 10.0 mL 水、10.0 mL 的 40% 甲醇淋洗，弃去淋洗液；

洗脱：用 4 mL 80% 甲醇溶液洗脱，收集全部洗脱液，并用 80% 甲醇定容至 5.0 mL，混匀；

洗脱液过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔有机滤膜过滤，取续滤液使用高效液相色谱仪进行测定。

#### 4、药典方法液相色谱仪器条件

Column: ChromCore 300 C18, 5  $\mu\text{m}$

Dimension: 4.6 $\times$ 250 mm

Mobile Phase: A) 水

B) 乙腈

Gradient:	t(min)	A	B
	0	81	19
	35	81	19
	55	71	29
	70	71	29
	100	60	40

Flow rate: 1.3 mL/min

Temperature: 30  $^{\circ}\text{C}$

Injection: 10  $\mu\text{L}$

Detection: UV 203 nm

#### 实验谱图

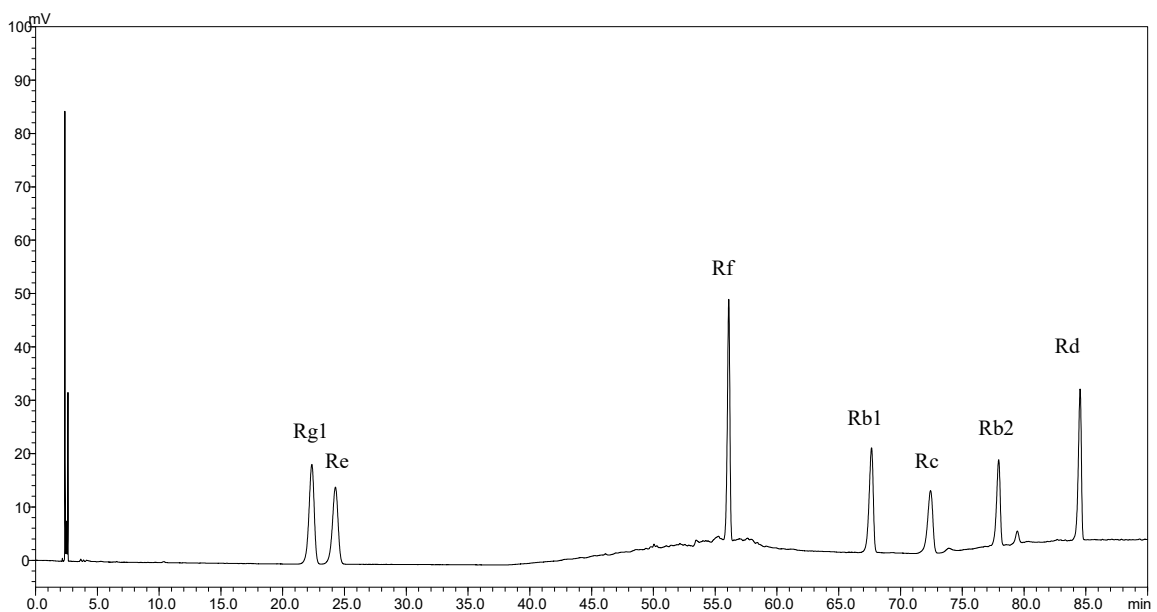


图 2：7 种人参皂苷标准品色谱图

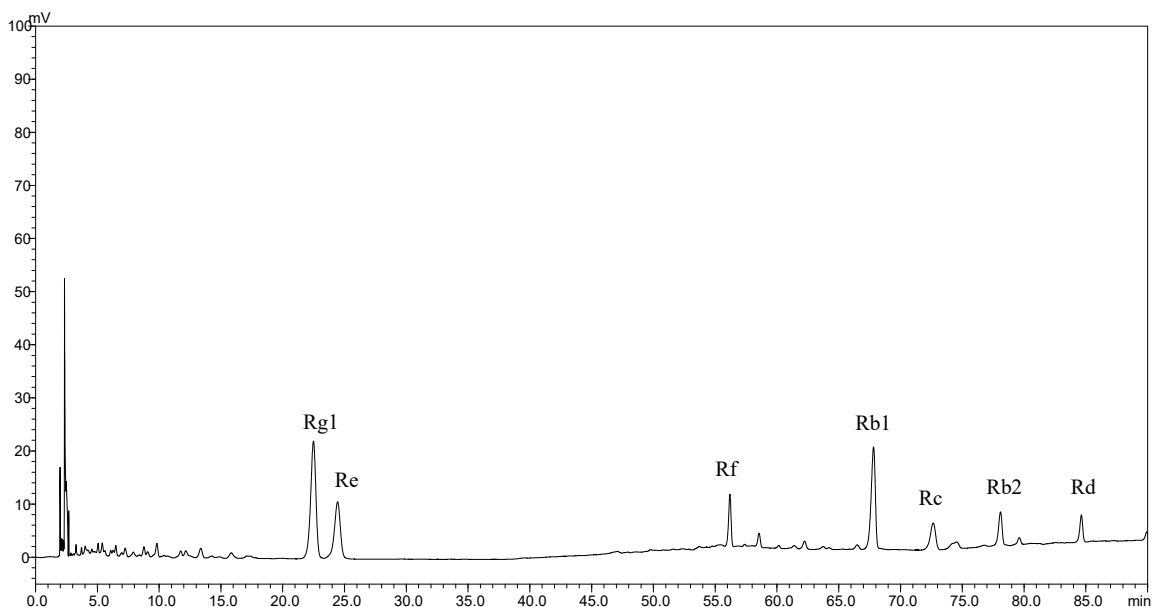


图 3：人参样品固相萃取方法色谱图

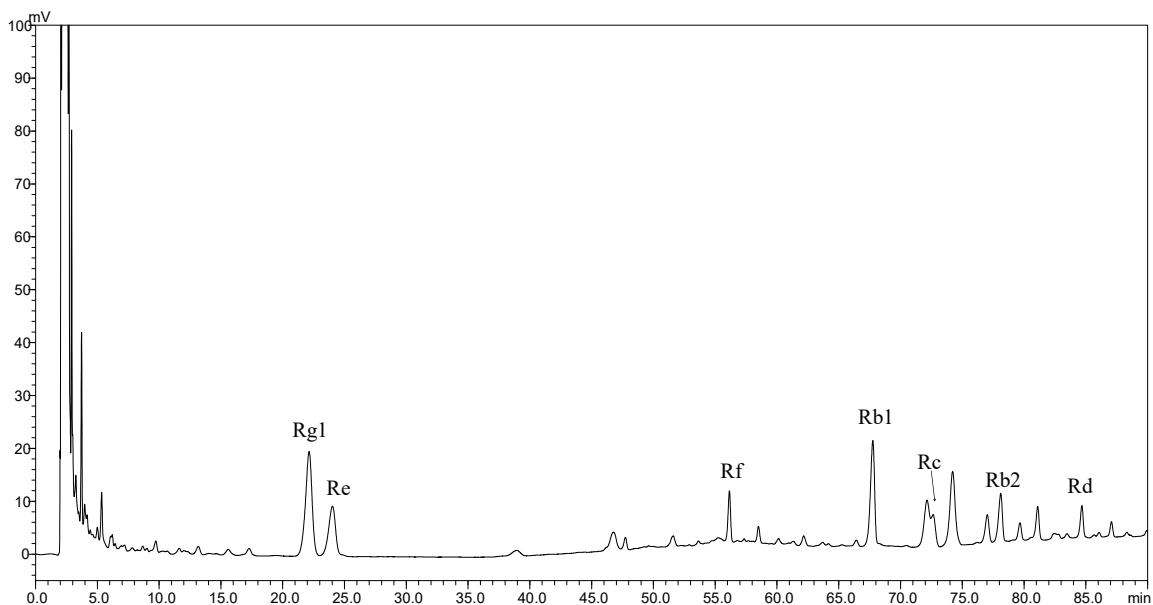


图 4：人参样品药典方法色谱图

### 固相萃取方法回收率

提取步骤：称取样品 0.5 g 于 50 mL 离心管中，精密加入人参皂苷对照品溶液一定体积，使得 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2 和 Rd 加入量分别是 1.01mg、0.65mg、0.18mg、0.83mg、0.37mg、0.35mg 和 0.14mg，加入 50 mL 甲醇，超声提取 20 min，过滤，精密量取续滤液 25mL 置于蒸发皿中水浴蒸干，残渣加 10 mL 水溶解混匀备用。净化方法同固相萃取方法中净化步骤。

### 加标回收率

人参皂苷	Rg1	Re	Rf	Rb1	Rc	Rb2	Rd
加标回收率	93.52%	94.36%	95.06%	95.77%	96.12%	92.88%	93.43%

## 梯度优化后的色谱图对比

原梯度时间需要 100min 以上，我们选择了乙腈和 0.1%磷酸作为流动相，并对梯度进行了一些微调，时间缩短到 70min 内。

Column: ChromCore 300 C18, 5  $\mu$ m

Dimension: 4.6 $\times$ 250 mm

Mobile Phase: A) 0.1%磷酸水溶液

B) 乙腈

Gradient:	t(min)	A	B
	0	81	19
	25	78	22
	70	64	36

Flow rate: 1.3 mL/min

Temperature: 30  $^{\circ}$ C

Injection: 10  $\mu$ L

Detection: UV 203 nm

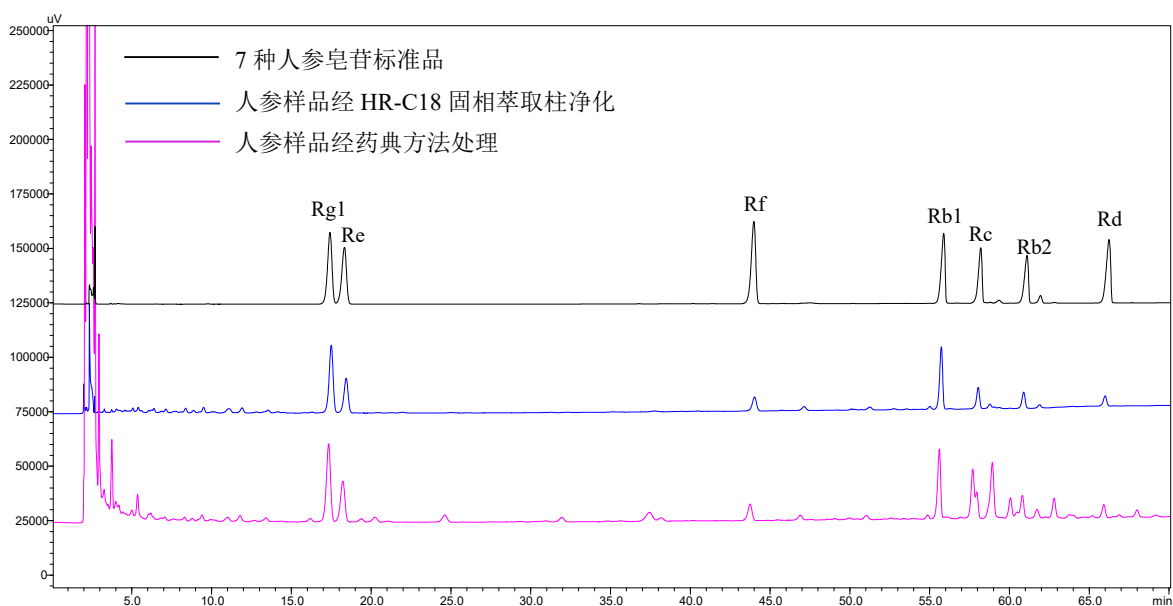


图 5: 优化后的液相色谱方法测定的人参皂苷混标、人参样品固相萃取方法、人参样品药典方法处理对比色谱图

## 实验结论

人参样品经过优化后的方法进行前处理，整个过程不超过 2 小时，节约了前处理操作时间，所用到的溶剂种类也减少了，没有操作复杂的加热回流和液液萃取操作，只需简单的超声、水浴蒸干即可。对比人参样品经 HR-C18 固相萃取柱净化和药典方法处理的液相色谱图，可以看出，人参样品经 HR-C18 固相萃取柱净化后的样品图谱基线稳定，谱图更加干净，目标物受干扰少，特别是人参皂苷 Rc 与干扰峰可以达到基线分

离。由加标回收率表格也可看出，7种人参皂苷加标回收率均大于90%，符合检测要求。图4使用的为优化后的液相色谱方法，选择纳谱分析的色谱柱 ChromCore 300 C18 进行液相色谱分析，分析时间缩短到70 min 时也可保证7个人参皂苷目标成分的分度良好。