

# 人参药材中人参皂苷的提取和快速液相方法

## 背景

人参皂苷作为人参药材中的重要活性成分，高效快速的提取和测定方法必不可少。中国药典（2015 版、2020 版）中的液相色谱测定方法所需时间均为 100 min，加之药典方法对人参样品进行提取的过程中需要放置过夜，才能进行液相色谱分析，这极大地影响了检测效率。本文建立了人参药材中人参皂苷测定的快速液相方法，采用色谱柱 ChromCore 300 C18（3  $\mu\text{m}$ ，3.0 $\times$ 100 mm），分析时间仅需 20 min 即可，加快了人参皂苷分析速度，并且该方法色谱图峰型好、分离度高；在对人参样品进行处理时采用固相萃取方法，处理时间不到 2 h，可进一步加快实验进程。

## 适用范围

本方法适用于人参药材中人参皂苷的提取和含量的快速测定。

## 实验步骤

### 1、药典提取方法

对照品溶液的制备：精密称取人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb1 对照品，加甲醇制成每 1 mL 各含 0.2 mg 的混合溶液，摇匀，即得。

供试品溶液的制备：供试品称取样品 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、药典液相方法色谱仪器条件

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

### 3、固相萃取方法

前处理步骤：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：将提取步骤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，取续滤液作为固相萃取方法供试品使用高效液相色谱仪进行测定。

#### 4、快速液相方法色谱仪器条件

Column: ChromCore 300 C18, 3  $\mu\text{m}$

Dimension: 3.0 $\times$ 100 mm

Mobile Phase: A) 水

B) 乙腈

Gradient:	t(min)	A	B
	0	81	19
	7	81	19
	20	60	40

Flow rate: 0.8 mL/min

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

Injection: 2  $\mu\text{L}$

Detection: UV 203 nm

#### 实验谱图及加标回收率数据

#### 实验谱图

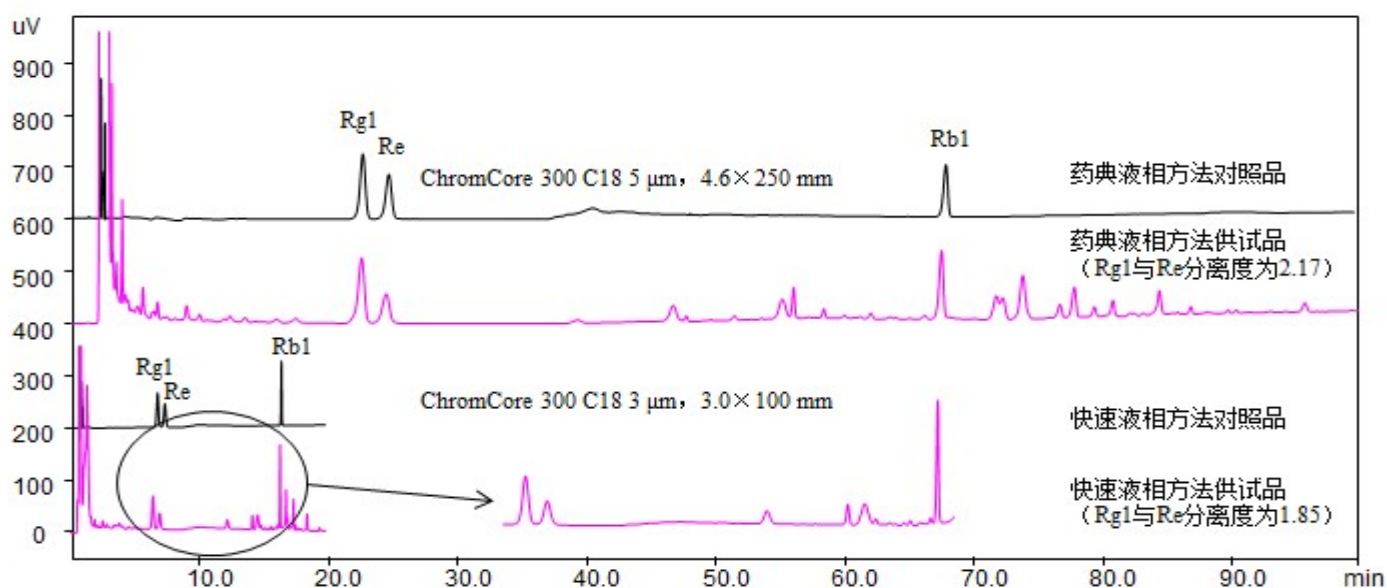


图 1：药典液相方法与快速液相方法对照品、供试品对比色谱图

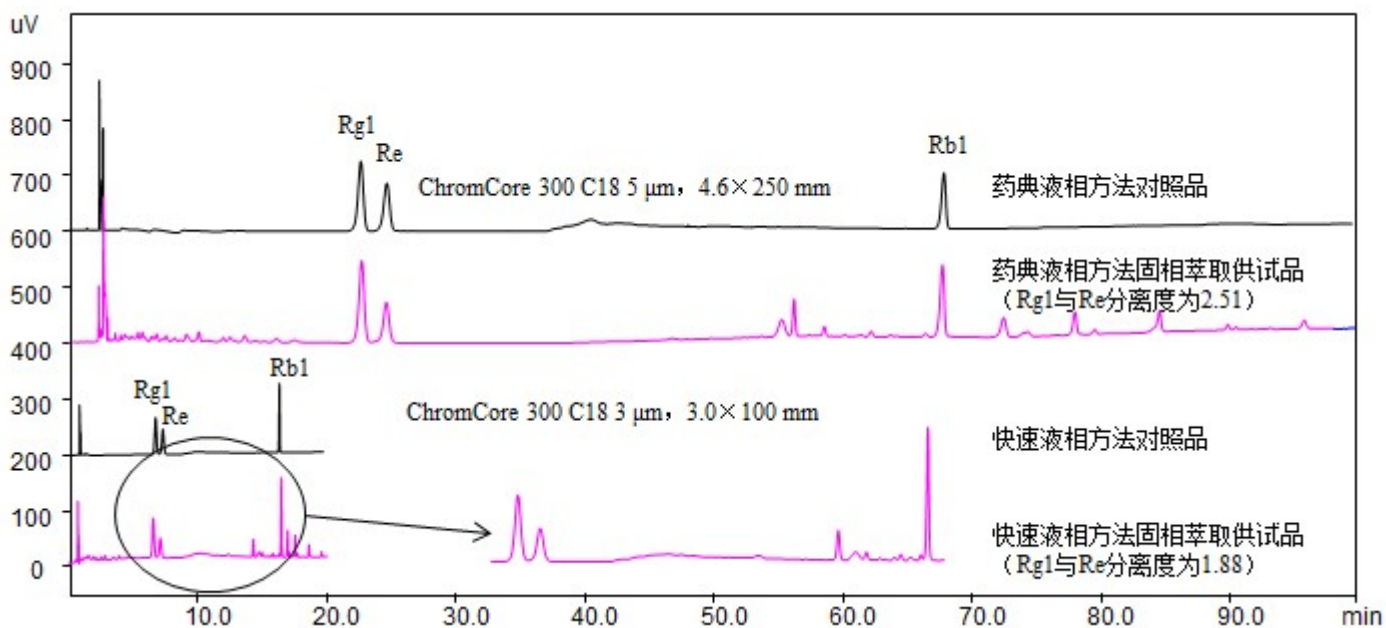


图 2：药典液相方法与快速液相方法对照品、固相萃取供试品对比色谱图

### 人参药材固相萃取处理结合快速液相分析的加标回收率

化合物	Rg1	Re	Rb1
加标回收率（1: 1 添加）	94.89%	91.52%	95.35%

### 实验结论

按照药典提取方法对人参药材样品进行处理后，采用药典液相方法在进行液相色谱分析时，结合药典液相方法和实验谱图 1 可以看出，流动相流速在较快的情况下（流速：1.3 mL/min），分析所需时长为 100 min；而采用快速液相方法色谱方法，色谱柱选择 ChromCore 300 C18（3 μm，3.0×100 mm），流动相流速为 0.8 mL/min 时，所需时间仅为 20 min，3 种人参皂苷和其他皂苷成分就已全部出峰，色谱分析时间缩短了 4/5、流动相体积减少了 7/8，柱压大约为 26 Mpa，可满足常规液相色谱仪器耐压要求。经过我们改进的固相萃取方法对人参药材样品进行前处理后，固相萃取处理时间不超过 2 h，有机溶剂也由毒性较大的三氯甲烷和正丁醇改为甲醇。由实验谱图 2 可以看出，经固相萃取处理后的人参药材样品结合快速液相方法进行分析时也可以保证目标物的分离度和峰型，并且 3 种人参皂苷的加标回收率均大于 90%，符合检测要求。

2020 中国药典方法	固相萃取结合快速液相方法
三氯甲烷回流脱脂 3 小时	甲醇 50 mL 超声提取 20 min
水饱和正丁醇提取 50 mL 放置过夜	
前处理时间 9 小时	前处理时间 2 小时
分析时间 100 min	分析时间 20 min
流动相体积 130 mL	流动相体积 16 mL