

竹节参中人参皂甙含量分析

向其柏 欧惠英 乐美麟

(南京林业大学, 南京 210037)

邬安珍

(南京师范大学, 南京 210024)

摘要 本文报道了竹节参中二种主要皂甙(R_{b1} 和 R_{g1})的HPLC定性和定量测定法。结果表明:人参皂甙 R_{b1} 和 R_{g1} 的含量较高。 R_{b1} 和 R_{g1} 的相对标准偏差分别为3.05%和3.18%, R_{b1} 和 R_{g1} 的回收率分别为86.5~110.1%和94.7~102.7%。

关键词 竹节参; 人参皂甙 R_{b1} , R_{g1} ; 高效液相色谱法

Analysis of ginsenosides content of *Panax japonicus* C. A. Meyer Xiang Qi-Bai, Ou Hui-Ying and Le Mei-Lin (Nanjing Forestry University, Nanjing 210037), Wu An-Zheng (Nanjing Normal University, Nanjing 210024), *J. Plant Resour. & Environ.* 1992, 1(4): 54~56

This paper describes the methods for qualitative and quantitative determination of ginsenosides (R_{b1} , R_{g1}) in *Panax japonicus* using HPLC. It shows that the content of ginsenosides (R_{b1} , R_{g1}) is high. The relative standard deviation of R_{b1} and R_{g1} is 3.05% and 3.18%, and their recovery is 86.5~110.1% and 94.7~102.7%, respectively.

Key words *Panax japonicus* C. A. Meyer; ginsenosides R_{b1} , R_{g1} ; HPLC

竹节参(*Panax japonicus* C. A. Meyer)为五加科人参属植物,是我国常用的中药,具有滋补强壮,止血化淤及消肿镇痛等功能^[1]。

国内外学者对竹节参的化学成分已做了不少研究,从其根茎提取物中分离得到竹节参皂甙(Chikustsu saponin)及甾体皂甙,前者为人参二醇型,人参三醇型和齐墩果酸型^[1~3,5,6]。本文在薄层分析的基础上,用高效液相色谱法定性确定了竹节参中含有人参皂甙 R_{b1} 和 R_{g1} ,并用最佳的色谱条件及人参皂甙 R_{b1} 和 R_{g1} 标样,对竹节参中的 R_{b1} 和 R_{g1} 进行了定量测定。

材料与 方法

1. 样品来源及样品溶液的制备

(1) 样品来源 汤庚国采自西藏。

(2) 样品溶液制备 取粉碎的竹节参根茎0.500g,加20%乙醇溶液10ml于具塞的比

色管中,超声波振荡处理 40 min, 2 hr 后,再用超声波振荡 30 min,过滤,滤液待用。

2. 仪器和试剂

(1) 仪器 岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,SPD-6AV 紫外及可见分光光度计检测器,SLC-6A 系统控制器,C-R3A 数据处理系统。

(2) 试剂 乙腈(光谱纯),中国科学院上海脑研究所提供,重蒸馏去离子水(自制)。

以上试剂在临用前均经 0.2 μm 微孔滤膜过滤及超声波脱气。

(3) 标样 人参皂甙 R_{b1} , R_{g1} (中国药品生物制品检定所中药室提供)。

3. 色谱分析条件

(1) 色谱柱 YWG-NH₂(4 mm I. D×250 mm)

(2) 流动相 乙腈-水(75:25)

(3) 流速 1 ml/min

(4) 检测波长 200 nm

(5) 柱温 室温

4. 竹节参中人参皂甙 R_{b1} , R_{g1} 的 HPLC 定性

用人参皂甙 R_{b1} , R_{g1} 标准样品对照法和加入纯物质(R_{b1} , R_{g1})增加峰高法定性。

(1) 标准样品对照法 R_{b1} 和 R_{g1} 混合标样和竹节参样品在 CLC-CN 柱和 YWG-NH₂ 两柱上,相同的色谱条件下测量,结果表明竹节参中含有 R_{b1} 和 R_{g1} 。

(2) 加入纯物质(R_{b1} 和 R_{g1})增加峰高法 在竹节参样品中加入 R_{b1} 和 R_{g1} , 出峰时, R_{b1} 组分的峰增高了,同样 R_{g1} 组分的峰也增高了,说明竹节参中含有 R_{b1} 和 R_{g1} 。

5. 竹节参中人参皂甙 R_{b1} 和 R_{g1} 的 HPLC 定量

(1) 标准曲线 R_{b1} 和 R_{g1} 用甲醇(HPLC 级)分别配成 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 4 种浓度,分别进样 10 μl (重复 3 次)。得峰面积($\times 10^{-3}$)与含量(μg)的回归方程:

$$R_{b1}: Y = -21.5 + 222.5X \quad r = 0.9997$$

$$R_{g1}: Y = 70 + 368.3X \quad r = 0.9996$$

(2) 测试方法的精密度和回收率

1) 精密性:取一定量的样品进样,重复 7 次,测得峰面积,计算 R_{b1} 和 R_{g1} 的相对标准偏差分别为 3.05% 和 3.18%。

2) 回收率:在已测含量的样品中,加不同浓度标样,测得 R_{b1} 和 R_{g1} 回收率分别为 86.5~110.1%, 94.7~102.7%。

结果与讨论

样品测定结果表明竹节参根茎提取液中人参皂甙 R_{b1} 和 R_{g1} 的含量分别为 2.46% 和 2.61%, 相对标准偏差分别为 3.65% 和 3.83% (9 次重复), 根据文献^[1]: 白参(Fusong) 和 红参(Korca) 中的人参皂甙 R_{b1} 分别为 0.56% 和 0.77%, 而 R_{g1} 分别为 0.16% 和 0.143%, 美国参(Imported) 中 R_{b1} 为 5.22%, R_{g1} 为 0.56%, 可见竹节参中人参皂甙 R_{b1} 和 R_{g1} 的含量比较高, 这对我国药物的开发具有实际意义。

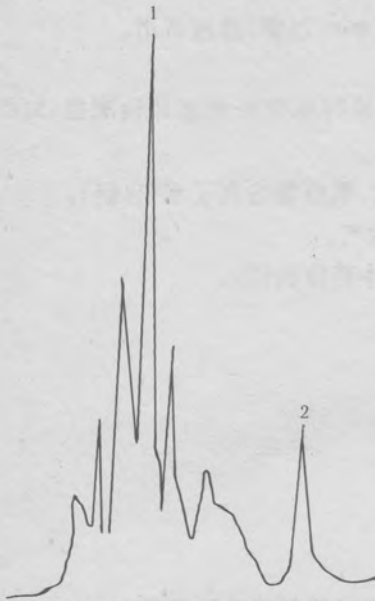


图1 竹节参根茎提取液的高效液相色谱图

峰1为 R_{g1} ，峰2为 R_{b1}

Fig 1 HPLC diagram of the root stocks extract of *Panax*

japonicus C. A. Meyer Peak identification: 1= R_{g1} , 2= R_{b1}

本方法曾选用 CLC-CN 柱, CLC- C_8 柱及乙腈; 水各种配比的流动相试验, 分离效果却不佳, 最后选用 YWG-NH₂, 75% 乙腈作流动相, 因为组分具有极性, 所以选用极性柱 (YWG-NH₂) 较合适。

由于组分在一般的紫外区无特征吸收, 若用衍生方法引进一个紫外吸收基因很麻烦, 示差检测器虽是一种通用检测器, 但要达到基线平衡往往需要很长时间, 且对操作环境的要求甚高。另外用示差检测器不能用梯度洗脱, 不能分离复杂组分的样品, 而在低波长 185~200 nm, 大多数的化合物都可显示检测灵敏度, 本试验中 R_{b1} 和 R_{g1} 在 200 nm 下检测灵敏度达到 10^{-4} ~ 10^{-5} (S/N 5:1), 但是在如此短的波长下检测, 选择流动相较困难。在可选择的溶剂中, 光谱纯乙腈是较理想的, 而光谱纯乙腈价格昂贵, 但我们采取废液回收重蒸的办法, 只要二瓶乙腈, 可反复使用, 解决了试剂昂贵问题。

参 考 文 献

- 1 蔡平, 肖倬股, 魏均娴. 1982; 中草药 13(8): 1~2.
- 2 魏均娴, 王菊芬, 张良玉等. 1980; 药学报 15(6): 359~364.
- 3 云南省植物研究所. 1975; 植物分类学报 13(2): 29~45.
- 4 周志华, 章观德. 1988; 药学报 23(2): 137~141.
- 5 Lin T D, N Kondo, J Shoji. 1976; Chem. Pharm. Bull. 24(2): 253~261.
- 6 Yahara S, R Kasai, O Tanaka. 1977; Chem. Pharm. Bull. 25(8): 2041~2047.

(责任编辑: 管晓春)