

- 9 陈福勇,等.中兽医学杂志,1987,(4):5
- 10 南通市第三人民医院.中草药通讯,1974,5(2):51
- 11 朱学.江苏中医,1991,12(12):34
- 12 吴友仁.曲靖医药资料,1985,(1):32
- 13 马云鹏,等.中国肿瘤临床.1989,16(5):309
- 14 张国凤.南通医学院学报,1987,7(3):51
- 15 北京市第二传染病院,等.医药卫生资料,1977,(1):15
- 16 高开泉.中医杂志,1990,31(8):38
- 17 吕桂兰,等.中国兽药杂志,1992,26(3):17

(1996-01-23 收稿)

人参化学成分分析方法的研究进展

国家医药管理局天津药物研究院(300193) 靳朝东*

摘 要 简要介绍了人参成分人参皂甙、挥发油、脂肪酸和其它成分分析测定方法的研究。

关键词 人参 化学成分 分析方法

人参,作为一种珍贵的古老中药,以其多方面的独特的药理和生物活性,在全球范围内被广泛地研究和应用。诸如用于滋补、镇静、抗疲劳、抗胃溃疡和抗溶血等。人参的药理活性成分众多,常用于复方之中,为此,其成分的分析鉴别引起了人们极大的关注,方法日益增加。本文综述近几年国内外人参成分分析鉴定方法的研究。

1 人参皂甙的分析

人参皂甙是人参中主要的活性成分,目前,已知的人参皂甙超过 30 种^[1],而人参根中存在约 25 种^[2],其主要的分析方法包括比色法,TLC-光密度法,GC,HPLC 等等,其中以 HPLC 及 TLC 方法应用得较多。

人参皂甙的提取分离一般是先以醚或氯仿脱脂后,以醇、稀醇(甲醇或乙醇)或水饱和正丁醇提取。提取物直接分析,或再以 C_{18} 柱或大孔吸附树脂处理,也可以水饱和正丁醇反复萃取净化后,蒸干,以醇或流动相定容后再进行分析。

1.1 HPLC 法: 紫外分光光度法检测在 HPLC 中最为常用,而人参皂甙的测定因其缺乏发色团,被限制于使用较低的紫外检测波长,比较典型的是使用 203nm。

Kanazawa 等^[3]以 MPG-ODS 柱分离酸性和中性人参皂甙,以乙腈-50mmol/L $K_2H_2PO_4$ (25.5 : 74.5) 为流动相,203nm 检测,同时分析了丙二酸人参皂甙 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_c 和 R_d 与人参皂甙 R_o 、 R_f 、 R_{i2} 、 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_c 和 R_d 等。并且研究比较了 MPG-ODS 和 ODS 柱分析 10 种人参皂甙的性质^[4],实验表明:10 种人参皂甙的容量因子(capacity factors) MPG-ODS 柱小于 ODS 柱,人参皂甙- R_{g1} 和 R_e 之间的分离度前者好于后者。

Makhan'kov 等^[5]用两根填充有 Spherisorb ODS $5\mu m$ 的反相柱,先以恒溶剂系统,后以梯度洗脱,或以两个连续的梯度程序乙腈-水(20 : 80→25 : 75)和(27 : 73→50 : 50)洗脱,204nm 检测,成功地分离了 9 种人参皂甙,并且比较了不同地区的野生和种植人参中各皂甙的含量,考察了其它 ODS 柱的分离特性。

用 Superspher RP_{18} 柱,202nm 检测,以 a) $CH_3CN-H_2O-0.1\%H_3PO_4$ (21 : 72 : 8 v/v); b) CH_3CN 线性梯度洗脱分离了 22 种人参皂甙,并测定了其中 17 种人参皂甙的回收率为 99.42%~102.87%,检出限 0.1 μg ,但 R_o 和 R_c 为 0.2 μg ^[2]。

* Address: Jin Chaodong, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, State Pharmaceutical Administration of China Tianjin

用 Cosmosil 5C₁₈ 加 Novapak silica 保护的方法,以磷酸二氢盐缓冲液和 far-UV 级乙腈作线性梯度洗脱,在 45min 内直接进样分析了人参 50%乙醇提取物中的人参皂甙 R_{b1}、R_{b2}、R_c、R_d、R_e、R_f、R_{g1}、R_{g2}、R_o 和丙二酸人参皂甙 R_{b1}、-R_{b2} 和 R_c,讨论了缓冲液浓度,检测波长等影响因素并比较了 11 种柱的选择性,结果在 198nm 波长检测,灵敏度是 203nm 检测的 1.5 倍^[1]。

用 MPG-ODS 柱,乙腈-水-乙酸铵(改性剂)为流动相,204nm 检测,15min 内较好分离了人参皂甙 R_{g2}、R_{b1}、R_c、R_d、R_{g1}、R_e 等^[6]。

制剂中人参皂甙的 HPLC 分析方法的研究也有报道,但一般分离测定的皂甙种类较少。用反相柱,乙腈-0.05%磷酸为流动相,203nm 检测,分析了古方生脉散中的 R_{g1} 含量^[7]。用 Shim-park CLC-ODS 柱,甲醇为流动相,203nm 检测,分析了洋参露中的西洋参总皂甙^[8]。

由于人参皂甙的检测波长较低,所以受背景和其它化合物的干扰较大。Park 等^[9]研究了光致还原荧光检测的方法分析人参皂甙,方法是选用 NH₂ 柱,以乙腈和 2-特丁基蒽醌(t-BAQ)溶液为流动相,色谱洗脱液通过一个缠绕在 10W-UV 灯上的 45cm-PTFE 毛细管,使 t-BAQ 还原为高荧光的二羟基蒽衍生物,然后以荧光检测,对 R_{g1} 的检出限为 130ng,与 UV 法的检出限相当。此法降低了其它紫外吸收化合物的影响,对人参皂甙表现出了良好的选择性。Park 等还研究了离子色谱分离,脉中电流检测(IC/PAD)分析人参皂甙的方法^[10];以 1mol/L NaOH 作流动相,在 Carbpark PAI 或 AS₄A 阴离子交换柱上分析了人参皂甙 R_c、R_{g1}、R_f、R_{g2}、R_{b1}、R_{b2}、R_e 和 R_d,得到了较高的检测灵敏度。检出限 R_c 为 0.8ng, R_{g1} 为 1.0ng。

1.2 TLC 法: TLC 用于人参皂甙的鉴别,实用、简便、费用低。其主要的展开剂系统为氯仿-甲醇-水,正丁醇-乙酸乙酯-水以及在这两个系统上稍加改进的展开溶媒。显色方法

一般是喷以硫酸乙醇溶液,然后加热显色。

用二维 TLC 分离了人参茎叶中的总皂甙,并且采用标准随行法,对 R_c 做了二维薄层扫描定量。以自制的沉降硅胶 H 板,氯仿-甲醇-水(下层)为第一方向,正丁醇-乙酸乙酯-水为第二方向展开,香草醛-浓硫酸显色,共分得 35 个斑点^[11]。

李义侠等^[12]认为西洋参含有 24(R)-F₁₁ 是其显著的标志,并以正丁醇-乙酸乙酯-水-乙醚(4:1:0.5:0.1)为展开剂,解决了以往 TLC 条件下 F₁₁ 难以与 R_g 和 R_c 分离,故无法鉴别的问题,该展开剂只是对 R_{g1} 与 R_{g2} 分离稍差,其余分离良好。蒋婉芳等^[13]认为:西洋参不含 R_f 而含有 F₂ 和 F₁₁,而人参则相反,故以检出 F₁₁ 而未检出 R_f 判定为西洋参。李晶晶等^[14]也以人参中含 R_f 而西洋参不含 R_f 对二者进行鉴别,尹笠笠等^[15]则认为西洋参果中含有 R_{b3} 和 F₁₁ 特异斑点而人参果中不含此斑点。

对于制剂中的人参皂甙,徐宇等^[16]测定了生脉散颗粒剂中的 R_{g1}、R_c、R_{b1} 的含量。以水饱和正丁醇提取样品,过大孔树脂柱处理净化,氯仿-甲醇-水(下层)作展开剂,回收率为 R_{g1} 99.9%(n=3, RSD=0.95%); R_c 105%(n=3, RSD=0.83%); R_{b1} 95.7%(n=3, RSD=1.67%)。杨美林等^[17]用大孔树脂柱以 0.5mol/L NaOH 洗去杂质,然后水洗至中性,以乙醇洗脱人参皂甙,测定了消栓通络胶囊中的 R_{g1}。黎阳等^[18]分析了寿星口服液中的 R_{g1},前处理为样品在水饱和正丁醇提取后,醇层以氨试液洗 3 次除去酸性皂甙部分并抑制单体间的转化,克服乳化现象。R_{g1} 的回收率为 98.91%(RSD=2.62%)。

1.3 比色法:比色法一般用于人参总皂甙的测定。显色的主要方法有 a)香草醛-高氯酸-冰醋酸;b)香草醛-高氯酸-80%磷酸;c)香草醛-70%硫酸水溶液。最大吸收波长为 560、540 和 544nm。也有以硫酸显色紫外分光光度法进行测定的。

颜玉贞等^[19]以 R_{b1} 为对照品,硫酸显色,

272nm 测定吸收度分析了人参、西洋参及其制剂中的人参总皂甙。他们以 70%乙醇提取,以 C_{18} 小柱净化。先以水洗,后 30%甲醇以及甲醇各 10ml 洗脱,收集甲醇部分,蒸干后加入硫酸处理后进行测定。

以柱色谱(中性氧化铝)-高氯酸比色法测定西洋参茎叶中的西洋参总皂甙。结果:茎中总皂甙量为主根的 1/3~1/2,叶中总皂甙量为主根的 1.5~4 倍^[20]。对照品 R_e 分别用 TLC-比色法测定人参总皂甙的含量^[14,21]。

以 Al_2O_3 柱消除干扰, R_{g1} 为对照品,比色测定了香砂六君子丸、散、汤剂中的人参总皂甙含量^[22]。以 R_e 作对照品,测定了君春乐胶囊中人参总皂甙的含量^[23]。

1.4 其它方法:岩上正藏等^[24]以胶束电动毛细管色谱(MECC)分离测定了人参中的 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_c 、 R_d 、 R_e 、 R_f 和 R_{g1} ,并对测定的条件进行了研究。Yamamoto 等^[25]以 SIMS-偶合扫描分析(linked scanning analysis)鉴别了人参及其制剂中的人参皂甙 R_{b1} 。

2 挥发油和脂肪酸的分析

人参挥发油的分析一般是以乙醚提取,经适当纯化后,以 GC-MS 分析鉴别。卫永第等^[26]测定了中国雪参中的挥发油成分,以 GC-MS 分离出了 132 种化合物,并初步鉴定了 49 种,占挥发油总量的 87.73%,其中 28 种化合物尚未见报道。阎吉昌等^[27]对人参挥发油(含量为人参的 0.96%)以 GC 分离出了 132 种化合物,用 GC-MS 鉴定了其中 76 种化合物。

对于人参脂肪酸的分析,一般也是以乙醚提取,经纯化后再甲酯化进行分析,例如张宏桂等^[28]研究了长白山人参中的脂肪油成分。样品以甲醇和乙醚先后各提取 3 次,每次 2h,甲醇回收后,提取物醚水分配,醚层与乙醚液合并,浓缩后以 $NaHCO_3$ 溶液萃取 3 次,乙醚反萃取 1 次,水液加 HCl 至 pH1~2,乙醚提取 3 次,醚层水洗至中性,蒸干乙醚得总脂肪酸,经甲酯化后以 GC-MS 分析鉴定出了 16 种脂肪酸甲酯。

3 其它成分的分析

人参中还含有如糖,多糖,微量元素,芳香酸等许多其它成分,有着不同的生物和药理活性,对它们的分析鉴定同样具有重要意义。

用离子色谱法,电导检测器,对人参不同部位的氟含量的分布情况进行了分析^[29]。用 μ Bondapak C_{18} 柱,以 $MeOH-H_2O = 1:9$ ($0.005mol/L$ NaAc)为流动相,210nm 检测分析测定了不同品类的人参及红参不同部位的焦谷氨酸含量,并对其进行了比较^[30]。

总之,随着人参及其制品的更加广泛的应用,其成分的分析方法及检测手段也将得到进一步的开拓和发展。

参考文献

- 1 Chuang W C, et al. J Chromatogr A, 1994, 685(2): 243
- 2 Samukawa K I, et al. Chem Pharm Bull, 1995, 43(1): 137
- 3 Kanazawa H, et al. J Chromatogr A, 1993, 630: 408
- 4 Kanazawa H, et al. J Chromatogr A, 1993, 632: 79
- 5 Makhan'kov V V, et al. Chem Nat Comp, 1994, 29(2): 196
- 6 顾光华,等.色谱,1994,12(1):40
- 7 马 鹏,等.华西药理学杂志,1995,10(1):21
- 8 张继昆,等.中成药,1995,17(9):15
- 9 Park M K, et al. J Liq Chromatogr, 1995, 18(10): 207
- 10 Park M K, et al. J Liq Chromatogr, 1994, 17(5): 117
- 11 邱 欣,等.色谱,1994,12(3):173
- 12 李义侠,等.中草药,1995,26(10):540
- 13 蒋皖芳,等.中成药,1995,17(9):16
- 14 李晶晶,等.中国中药杂志,1995,20(4):197
- 15 尹笠笠,等.中成药,1994,16(9):40
- 16 徐 宇,等.华西药理学杂志,1995,10(3):17
- 17 杨美林,等.药物分析杂志,1995,15(3):53
- 18 黎 阳,等.中成药,1995,17(5):15
- 19 颜玉贞,等.中药新药与临床药理,1994,5(4):37
- 20 王 健,等.中成药,1995,17(1):36
- 21 刘健明,等.中国药理学杂志,1995,30(2):76
- 22 张桂燕,等.中成药,1994,16(10):22
- 23 王 林,等.中国药理学杂志,1995,30(6):364
- 24 岩上正藏,等.生药学杂志,1992,46(4):339
- 25 Yamamoto M, et al. 生药学杂志,1992,46(4):394
- 26 卫永第,等.分析化学,1994,22(3):308
- 27 阎吉昌,等.分析测试通报,1994,13(3):46
- 28 张宏桂,等.白求恩医科大学学报,1994,20(4):365

丹参水溶部分药理研究进展

四川省中药研究所(重庆 630065) 张白嘉* 刘 榴

摘 要 概述丹参水溶部分具有抗氧化、抗凝、抗血栓、抗心脑血管缺血及调血脂作用,对多种动物实验性心、肝、肺等组织损伤均有明显保护作用,且有抗炎、增强免疫功能等多方面药理活性。

关键词 丹参 水溶部分 药理作用

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 为唇形科鼠尾草属多年生草本植物。以根入药,能活血通经,祛瘀止痛、清心除烦。丹参的化学成分有脂溶性的二萜醌和水溶性的酚性酸两大类。本文中丹参水溶部分为丹参水提物,丹参注射液、原儿茶醛(3,4-二羟基苯甲醛)、原儿茶酸、D(+)-B-(3,4-二羟基苯基)乳酸(称丹参素或丹参酸甲)、丹参酸乙、丹参酸丙、迷迭香酸、丹酚酸 A、丹酚酸 B、咖啡酸、镁-丹参酚性酸 B(LSA-B)等。它们的化学和药理作用有很多不同,现将近年来有关丹参水溶部分的药理研究概况作一综述。

1 抗氧化作用

张力等报道,丹参素为超氧阴离子(O_2^-)清除剂,其清除 O_2^- 的作用优于超氧化物歧化酶(SOD)^[1]。丹参注射液对 H_2O-Fe^{2+} 体系中的羟自由基的清除率为 65%,对黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶体系中氧阴离子的清除率为 100%^[2]。丹参水溶性提取物可显著抑制 Fe^{2+} -半胱氨酸引起的大鼠心、肝、脑、睾丸组织中线粒体和微粒体的脂质过氧化。还可明显抑制由 Fe^{2+} -Vit C 体系和 Triton X-100 引起的大鼠心、肝、脑、肾脏线粒体肿胀,推测其保护作用与抗氧化作用有关^[3]。刘耕陶等报道,从丹参水溶性部分分离出的 7 种酚类化合物:丹酚酸 A、丹酚酸 B、原儿茶醛、原儿

茶酸、丹参素、咖啡酸及迷迭香宁酸对生物膜过氧化损伤均具有很强的保护作用,其中以丹酚酸 A 的抗氧化活性尤为显著^[4]。丹酚酸 A、B 和丹罗酚酸、对 Vit C-NADPH 或由 Fe^{2+} -半胱氨酸诱发的大鼠脑、肝、肾微粒体的脂质过氧化都有很强的抑制效应,其作用比抗氧化剂 Vit E 的作用强百倍至千倍。机制之一是这些成分有效地清除超氧阴离子^[5]。丹参注射液能显著提高老龄小鼠红细胞及肝中 SOD 活性,显著降低血清及肝中过氧化脂质含量,与 Vit E 比较作用稍强^[6]。以上结果提示丹参能清除有害的氧自由基,防止脂质过氧化反应,可能是其重要药理机制之一。

2 抗凝及抗血栓作用

邹正午等用迷迭香酸给大鼠静脉注射,能显著抑制其静脉血栓形成,阻抑胶原诱导的血小板聚集,促进纤维蛋白溶解^[7]。丹参水溶性有效成分 764-3 体外或体内给药均能明显抑制 AA 和 ADP 诱导的兔和人血小板聚集。还能明显促进 6-keto-PGF_{1α} 的生成,提示可能有利于 TXA₂/PGI₂ 平衡的调节^[8]。丹参注射液能促进牛内皮细胞分泌纤溶酶原激活物,提高 PGI₂ 的产生量,降低纤溶酶原激活物的抑制物活性,人工合成的丹参素也具有同样作用。此外,丹参注射液还能增加牛内皮

* Address: Zhang Baijia, Sichuan Provincial Institute of Traditional Chinese Materia Medica, Chongqing