HPLC-光敏二极管阵列检测法测定人参单体皂甙的研究

保定市药品检验所(071000)　刘　军*
河北大学理化分析中心　王燕桓　傅承光

摘　要　讨论了流动相为异丙醇-甲醇非水体系配合极性柱分离人参单体皂甙的情况。试验中选用了极性较强的 NH_2 基键合相柱，以甲醇-异丙醇(62∶38 V/V)为流动相，选择二极管阵列检测器，UV 204 nm 处检测，分离了单体皂甙 Re、Rg_1、Rb_1，方法操作简单、快速、重现性好，线性范围宽，检出限低，可用于人参及各种制剂的分析。

关键词　HPLC　人参单体皂甙 Re、Rg_1、Rb_1　人参

人参是我国的名贵药材，人参皂甙是其最重要的生理活性成分，有关人参及其制剂中人参皂甙的分离、分析的方法较多，有分光光度法[1]，比色法[2]，气相色谱法[3]，薄层扫描法[4]，高效液相色谱法[5~8]等等。但是，HPLC 法在分离人参皂甙 Rg_1 和 Re 与其它单体皂甙时，目前普遍使用的 ODS 柱需要两种流动相系统[8]或梯度洗脱[7]，操作繁杂，分离亦不甚理想。我们首次应用异丙醇与甲醇组成非水流动相与 NH_2 基键合相柱，选择光敏二极管阵列检测器，所得谱图保证了定性的准确性和可靠性。UV204 nm 检测，将 Rg_1、Re 和 Rb_1 同时检测出来。流动相简单，精密度高，分离效果好，准确，快速，并分析了人参中主要单体皂甙的含量，结果满意。

1　实验部分

1.1　仪器和试剂：岛津 LC-9A 型液相色谱仪，SPD-M6A 型 UV-VIS 检测器，7125 型注射进样阀，氨基键合相柱，Nucleosil NH_2 (5 μm 250 mm×4.6 mm)自装柱；486 微机数据处理系统。试剂：甲醇为优级纯，异丙醇、乙醚均为分析纯，水饱和正丁醇，人参皂甙 Re、Rg_1、Rb_1(中国药品生物制品检定所)，水为三蒸水。人参样品：生晒参须根、西洋参、高丽参(市售商品，保定市药检所中药室鉴定)。

1.2　样品处理：将生药样品 60℃烘干，研磨，取粉末 1 g，加甲醇 25 mL，加热回流 7 h，放冷，过滤，用甲醇 20 mL 分 5 次洗涤残渣，每次用甲醇 4 mL，洗液及滤液合并于 50 mL 容量瓶中，并定容。取滤液 2 mL，蒸干，残渣用 2 mL 水溶解，每次加乙醚 2 mL 提取 4 次，弃去乙醚液，然后用水饱和正丁醇提取水相 3 次，每次用水饱和正丁醇 1 mL，合并提取液，用水洗 2 次，每次用水 2 mL。将水饱和正丁醇减压蒸干，残渣用甲醇稀释成 1 mL，供进样分析用。

1.3　HPLC 分析：色谱条件：采用氨基键合相柱，Nucleosil NH_2 (5 μm 250 mm×4.6 mm)自装柱。流动相：甲醇-异丙醇＝62∶38 (V/V)；流速∶0.5 mL/min；紫外检测波长：λ＝204 nm；人参单体皂甙 Re、Rg_1、Rb_1 对照品的色谱图见图 1。

2　结果与讨论

2.1　分离检测条件：采用氨基键合相柱，甲

* Address：Liu Jun，Baoding Provincial Institute for Drug Control，Baoding
刘　军　女，1989 年毕业于河北大学化学系分析化学专业。1994 年～1997 年在河北大学理化分析中心攻读硕士研究生，获硕士学位。期间在导师傅承光教授等的指导下主要从事高效液相色谱法在药物分析中的应用研究，取得系列成果，论文曾在《药物分析杂志》、《中国药学杂志》等多家刊物上发表，并在第七届国际精细化学与功能高分子学术研讨会上交流，录入论文集。现为保定市药检所主管药师。

醇-异丙醇非水二元体系，对人参单体皂甙实现了良好分离，流动相中异丙醇与甲醇配比选择见图 2。

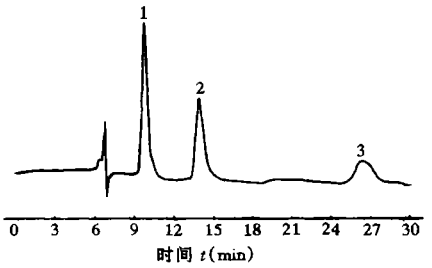

图 1　人参单体皂甙 Re、Rg_1、Rb_1 谱图
峰号：1-Rg_1　2-Re　3-Rb_1

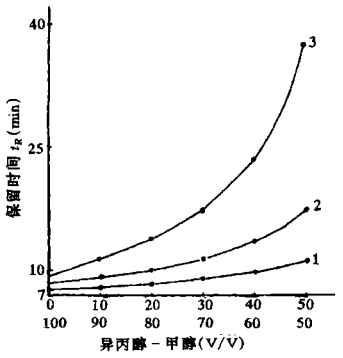

图 2　流动相组成对人参皂甙保留时间的影响
1-Rg_1　2-Re　3-Rb_1

当异丙醇-甲醇＝20∶80(V/V)时，人参皂甙 Rg_1、Re、Rb_1 实现基线分离，分离时间在 15 min 内，氨基键合相是一种极性较强的固定相，其中-NH_2 基具有强的氢键结合能力，氨基可与人参单体皂甙分子中的羟基间有选择性的相互作用。实验中采用甲醇-异丙醇作流动相，改善了人参皂甙分子的溶解性能，使该体系对 3 种皂甙的相互作用存在差异，因而对人参皂甙这种多官能团化合物有较好的分离能力，在这一体系中使单体人参皂甙 Re、Rg_1、Rb_1 实现了良好的基线分离。选用 UV 204 nm 波长检测，改善了检测灵敏度，获得了较低的检出限。

实验工作中还检验了 PE-ODS 柱与甲醇-水、甲醇-乙腈-水、甲醇-异丙醇-水等体系，当以 UV 204 nm 检测时，以甲醇-水效果最好，当采用甲醇-水＝65∶35(V/V)，磷酸调 pH 3.90 为流动相时，对 Re、Rg_1 分离较好，但与 Rb_1 的保留时间相差太大，因此未采用 ODS 柱与甲醇-水流动相组成的反相体系，而选用了甲醇-异丙醇的非水二元体系作为流动相配合 NH_2 基柱。在测定人参样品时，考虑到人参成分较复杂，为了确保色谱峰定性的准确可靠，将流动相中甲醇-异丙醇组成比例改变，同时采用三维谱图定性，结果，当甲醇-异丙醇为 62∶38(V/V)时即可很好地分离样品中的主要人参单体皂甙，而且保留时间适中。

2.2　标准工作曲线的回归方程、最低检出限、线性范围、重复性：用甲醇配制单体人参皂甙 Re、Rg_1、Rb_1 的标准混合溶液，浓度均为 1 mg/mL，作为贮备液，并稀释成一定浓度，取一定量进样，分别进样 3 次，按选定的条件进行实验，Re、Rg_1、Rb_1 以平均峰高对单体皂甙的含量(μg)，求得回归方程，以二倍信噪比计算最低检出限，结果见表 1。

将标样重复进样，测得人参皂甙 Re、Rg_1、Rb_1 的相对标准偏差 RSD 分别为 1.4%、1.0%、2.2%(n=7)。

表 1　标准工作曲线的回归方程、线性范围、最低检出限

组分	线性范围 (μg)	回归方程	相关系数 (r)	最低检出限 (ng)
Rg_1	0.2～30	Y=1.758+22.38X	0.9999	120
Re	0.3～30	Y=3.326+15.58X	0.9999	167
Rb_1	0.4～30	Y=0.9583+9.820X	0.9999	297

结果表明，已建立的分析方法线性关系很好，而且重现性也很好，适于含人参皂甙样品的定量分析。

2.3　人参样品的色谱分析：人参样品分析的色谱图见图 3。表 2 列出几种生药的定量分析结果。

表 2　样品中单体皂甙含量的测定结果

样品	含量 (% g/g)		
	Rg_1	Re	Rb_1
生晒参根须	0.47	0.43	0.98
西洋参	0.72	0.19	0.31
高丽参	0.40	0.32	0.74

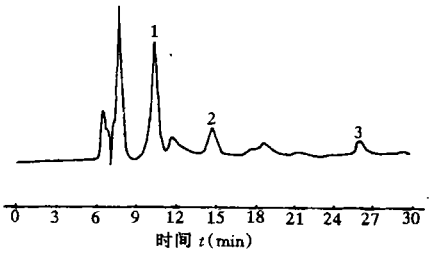

图 3　西洋参色谱图

峰序号同图 1

2.4　方法的精密度和回收率试验：以生晒参根须为样品，分别准确称取 5 份参根粉，进行精密度试验，结果 Re、Rg_1、Rb_1 的 RSD 分别为 2.30%、1.25%、2.85%（$n=5$）。

以西洋参根为样品，准确称取 4 份，将其中的 3 份分别入加一定量的单体皂甙标准品，进行回收率试验，结果表明，样品的回收率在 94%～102%之间。

3　结论

本文建立了高效液相色谱紫外检测人参单体皂甙的定量分析方法。该方法快速、简便、准确，可用于人参生药的测定。选择合适的甲醇-异丙醇的比例，可测定各种人参制剂中的人参皂甙。

致谢：保定市药检所中药室的张建英、田桂敏、谢超群等同志提供对照品和帮助，特此致谢。

参 考 文 献

1　阎天午，等．中成药，1993，15(11)：14
2　王　林，等．中国药学杂志，1995，30(6)：364
3　板本征则，他．薬学雑誌，1975，95(12)：146
4　刘高峰，等．中国中药杂志，1996，21(9)：542
5　马　鹏，等．华西药学杂志，1995，10(1)：21
6　周志华，等．药学学报，1988，23(2)：137
7　Kanazawa H, *et al*. J Chromatogr, 1990, 507: 327
8　顾光华，等．色谱，1994，12(1)：40

（1997-01-03 收稿）

Determination of Ginseng Saponins by HPLC-Photodiode Assay UV-VIS Detection

Liu Jun (Baoding Institute for Drug Control, Baoding 071000)
Wang Yanhuan, Fu Chengguang (Centre of Physical Chemical Analysis, Hebei University)

Abstract　A study on HPLC determination of ginsenosides (Rg_1, Re, Rb_1) in Ginseng with photodiode assay UV-VIS detection has been proposed. The ginsenosides can be separated on Nucleosil NH_2 column with methanol-isopropyl alcohol (62 : 38) as eluent. The effect of the composition of mobile phase on the separation of ginsenosides was investigated. This method was simple, sensitive, accurate and precise, and has been applied in the determination of the ginsenoside content of white Ginseng hair root, American Ginseng and Korean Ginseng, with satisfactory results.

Key Words　HPLC-Photodiode　Assay　ginsenosides Rg_1、Rb_1、Re

·书　讯·

由孙文基、绳金房为主编，杨世林、索润堂、李严巍为副主编，赵守训、李华祥、杭秉茜教授主审的《天然活性成分简明手册》一书（约 150 万字），于 1998 年元月由中国医药科技出版社出版。全书共收载了 2 838 个天然化合物，分别来自植物、动物、微生物和矿物，主要是植物成分。它是截止 1996 年世界上天然药物成分活性记录种类最多、范围最广的工具书。全书逐条编写，每个化合物项分为英文名、中文名、异名、结构式、分子式和分子量、来源、活性（或用途）、参考文献。书末有化合物中文名称索引、化合物英文名称索引、活性索引、分子式索引，纲目分明。全书按化合物英文字母顺序排列，查找方便。

本书是药厂新产品开发、医院制剂、天然产物化学和中药药理教学及科研必备的工具书。

欲购者请与孙文基、杨世林先生联系。

孙文基：地址：西安市朱雀大街南段 187 号　陕西省药品检验所
　　邮编：710061　　电话：(029)5239844

杨世林：地址：北京市海淀区西北旺　　中国医学科学院药用植物研究所
　　邮编：100094　　电话：(010)62896772