

基于 HPLC 与化学计量法的不同年限林下参茎、叶中皂苷类成分比较分析

刘星彤¹, 刘婧影¹, 康忠禹², 赵丽明², 刘莉^{1*}, 齐滨^{1*}

1. 长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130000

2. 长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 吉林 长春 130000

摘要: 目的 采用 HPLC 法对不同年限人参 *Panax ginseng* (林下参) 茎、叶中 10 种人参皂苷类成分含量进行测定, 结合化学模式识别比较含量差异。方法 采用 HPLC 法对 10、15、20、25 年林下参茎、叶中人参皂苷 Rg₁、Re、Rf、Rg₂、Ro、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd 含量进行测定, 采用化学计量学方法对结果进行分析。结果 HPLC 结果显示, 在林下参茎中未检测到人参皂苷 Rb₂、Rb₃, 林下参叶中 10 种皂苷含量远高于林下参茎中。在 4 种年限林下参叶中, 10 种人参皂苷总量在 60~100 mg/g, 20 年时含量最高; 在 4 种年限林下参茎中, 除人参皂苷 Rb₂、Rb₃ 外的 8 种人参皂苷总量在 20 年最高; 原人参二醇型皂苷在 20 年林下参叶中最高。原人参三醇型皂苷在 15 年林下参叶中皂苷含量最高; 4 种年限林下参茎、叶中差异性成分为人参皂苷 Re、Rd、Rg₁ 和 Rc。结论 不同生长年限的林下参茎、叶中皂苷含量存在差异, 为林下参非药用部位资源的开发与利用提供理论依据。

关键词: 林下参; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rf; 人参皂苷 Rg₂; 人参皂苷 Ro; 人参皂苷 Rb₁; 人参皂苷 Rc; 人参皂苷 Rb₂; 人参皂苷 Rb₃; 人参皂苷 Rd; HPLC; 化学计量学

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)15-5238-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.15.023

Comparative analysis of ginsenosides in stems and leaves of understory *Panax ginseng* of different ages based on HPLC and chemometric methods

LIU Xingtong¹, LIU Jingying¹, KANG Zhongyu², ZHAO Liming², LIU Li¹, QI Bin¹

1. School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130000, China

2. Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130000, China

Abstract: Objective The contents of 10 species of ginsenosides in the stems and leaves of understory Renshen (*Panax ginseng* C. A. Mey.) of different ages were measured by HPLC method, and the content differences were compared by chemical pattern recognition. **Methods** The contents of ginsenoside Rg₁, Re, Rf, Rg₂, Ro, Rb₁, Rc, Rb₂, Rb₃ and Rd in the stems and leaves of understory *P. ginseng* at 10, 15, 20 and 25 years were measured by HPLC method, and the results were analyzed by chemometric method. **Results** HPLC results showed that no ginsenosides Rb₂ and Rb₃ were detected in understory *P. ginseng* stems, and the content of 10 saponins in understory *P. ginseng* leaves was much higher than that in understory *P. ginseng* stems. Among the four kinds of understory *P. ginseng* leaves, the total amount of ginsenosides of 10 species was 60—100 mg/g, and the content was the highest at 20 years. Among the four kinds of understory *P. ginseng* stems, the total amount of ginsenosides in eight except ginsenosides Rb₂ and Rb₃ was the highest in 20 years. Protopanaxadiol (PPD) -type saponins were the highest in understory *P. ginseng* in 20 years, and protopanaxatriol (PPT) -type saponins had the highest content of saponins in understory *P. ginseng* leaves in 15 years. The different components in the stems and leaves of understory *P. ginseng* under the four ages were ginsenosides Re, Rd, Rg₁ and Rc. **Conclusion** There are differences in saponin content in the stems and leaves of understory *P. ginseng* under different growth years, which provides a theoretical basis for the development and utilization of non-medicinal parts of understory *P. ginseng*.

Key words: understory *Panax ginseng*; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Re; ginsenoside Rf; ginsenoside Rg₂; ginsenoside Ro; ginsenoside Rb₁; ginsenoside Rc; ginsenoside Rb₂; ginsenoside Rb₃; ginsenoside Rd; HPLC; chemometrics

收稿日期: 2023-11-06

基金项目: 吉林省教育科学项目 (JKH20230979KJ); “十四五”国家重点研发计划 (2021YFD1600903-02); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202210199018X)

作者简介: 刘星彤 (1998—), 女, 满族, 吉林四平人, 硕士研究生, 研究方向中药炮制关键技术及科学内涵研究。E-mail: 2994324397@qq.com

*通信作者: 刘莉 (1978—), 女, 副教授, 博士, 从事中药饮片质量标准的研究。E-mail: Li_Liu0203@126.com

齐滨 (1978—), 男, 教授, 博士, 从事中药质量标准化的研究。E-mail: qibin88@126.com

人参首载于《神农本草经》，性味甘、微苦、微温，归脾、肺、心、肾经，具有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津养血、安神益智的功效。人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根及根茎^[1]。栽培人参俗称“园参”，播种在山林野生状态下自然生长的称林下山参，习称“籽海”^[2]，林下参有人为干扰少、生长周期长和绿色安全的优点。

人参皂苷有多种生物学活性，为人参中主要有效成分，同时也被认为是人参的药效物质基础^[3-4]。人参皂苷根据皂苷元的结构分为原人参二醇型、原人参三醇型、齐墩果酸型3类。原人参二醇型包括人参皂苷 Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd，原人参三醇型包括人参皂苷 Rg₁、Re、Rf、Rg₂，齐墩果酸型包括人参皂苷 Ro^[5-10]。近年来，国内外学者对于人参化学成分的研究逐渐向非药用部位发展^[11]。有研究表明，人参花蕾和人参茎叶中的部分皂苷含量远远高于人参根中^[6-8]。据统计，我国每年人参茎叶总产量可达人参产量的40%~48%，且近年来产量逐年增加，市场价格却只有人参的1/50。研究发现，林下山参茎叶中含有更为丰富的化学成分^[7,10,12-13]，其药用价值优于园参茎叶。因此，深度开发林下参茎叶对人参资源的综合开发具有十分重要意义^[14]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(美国赛默飞公司)；Q-600E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)；AB135-S 型十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)；DHG-90700A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 材料

人参皂苷 Rg₁ 对照品(批号 DSTDR000901，质量分数≥98%)，人参皂苷 Rg₂ 对照品(批号 DSTDR001001，质量分数≥98%)，人参皂苷 Ro 对照品(批号 DST191226-031，质量分数≥98%)，人参皂苷 Rb₁ 对照品(批号 DSTDR000601，质量分数≥98%)，人参皂苷 Rb₃ 对照品(批号 DSTDR000804，质量分数≥98%)，以上均购自乐天美医药德思特生物有限公司；人参皂苷 Rd 对照品(批号 Z09A9X67397，质量分数≥98%)，人参皂苷 Re 对照品(批号 B10M8S35243，质量分数≥98%)，人参皂苷 Rf 对照品(批号 P13S9L70209，质量分数≥98%)，人参皂苷 Rc 对照品(批号

M1M9S61061，质量分数≥98%)，人参皂苷 Rb₂ 对照品(批号 P25D8F51140，质量分数≥98%)，均购自上海源叶生物科技有限公司。乙腈(批号 F22M9J202)色谱纯，购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司。甲醇(批号 20201205)分析纯，购自天津市江杭化工科技有公司。磷酸(批号 20201110)分析纯，购自福晨(天津)化学试剂有限公司。水为屈臣氏饮用水，购自广州屈臣氏食品饮料有限公司。课题组于2022年9月在吉林省长白山采摘10、15、20、25年林下参茎叶，所有样品经长春中医药大学肖井雷副教授鉴定为五加科植物人参 *P. ginseng* C. A. Mey. 的茎、叶。趁鲜将林下参的茎、叶分开，其中10年生林下参茎(编号 J1~J6)，15年生林下参茎(编号 J7~J12)，20年生林下参茎(编号 J13~J18)，25年生林下参茎(编号 J19~J24)；10年生林下参叶(编号 Y1~Y6)，15年生林下参叶(编号 Y7~Y12)，20年生林下参叶(编号 Y13~Y18)，25年生林下参叶(编号 Y19~Y24)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

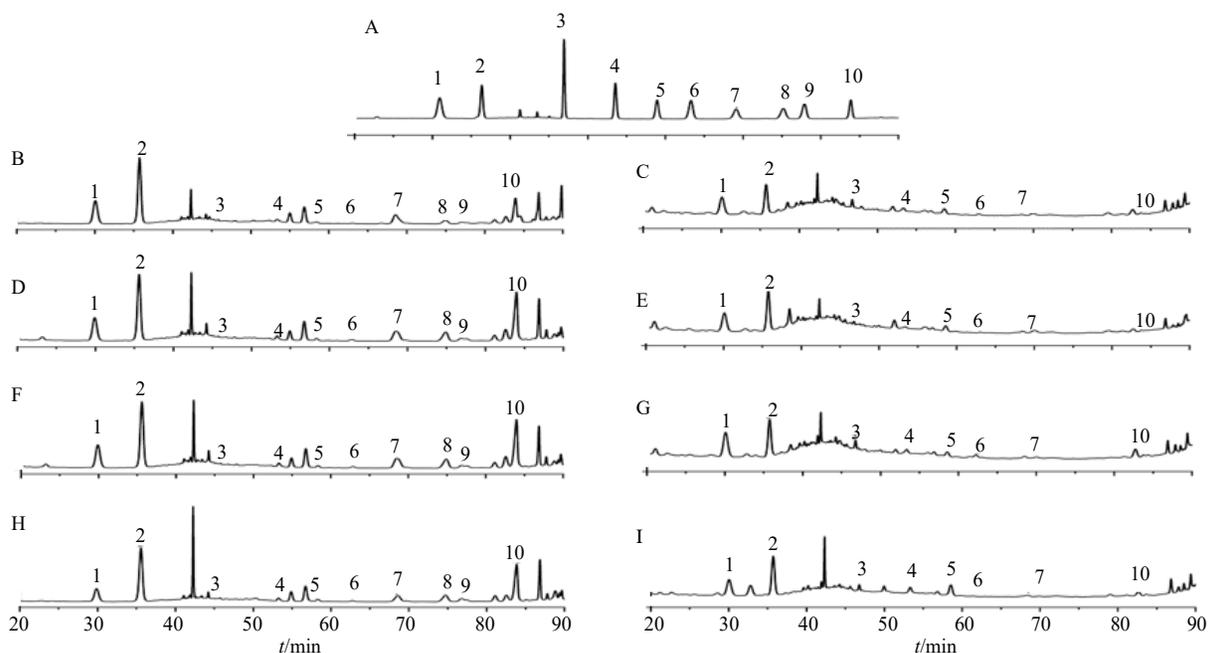
安捷伦 ZORBAX SB-Aq C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为0.1%磷酸水溶液(A)-乙腈(B)；梯度洗脱(0~30 min, 81% A；30~40 min, 81%~71% A；40~70 min, 71% A；70~80 min, 71%~68% A；80~90 min, 68%~58% A)，检测波长为203 nm；柱温26.5℃；进样量10 μL；体积流量1 mL/min。理论塔板数按人参皂苷 Rb₁ 峰计算应不低于5 000^[15]。混合对照品溶液及4种年限林下参茎、叶样品溶液色谱图见图1。

2.2 对照品溶液制备

精密称定人参皂苷 Rg₁、Re、Rf、Rg₂、Ro、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd 对照品适量，加甲醇溶解制成约1 mg/mL 的单一对照品溶液，吸取单一对照品适量，加甲醇溶解，定容，制成含有人参皂苷 Rg₁ 1.680 0 mg/mL、人参皂苷 Re 1.830 0 mg/mL、人参皂苷 Rf 0.005 0 mg/mL、人参皂苷 Rg₂ 0.135 0 mg/mL、人参皂苷 Ro 0.115 0 mg/mL、人参皂苷 Rb₁ 0.132 0 mg/mL、人参皂苷 Rc 0.760 0 mg/mL、人参皂苷 Rb₂ 0.220 0 mg/mL、人参皂苷 Rb₃ 0.013 8 mg/mL、人参皂苷 Rd 1.12 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备

分别取10、15、20、25年林下参茎、叶样品各6批于室温下烘干，粉碎，过四号筛。取不同年限



1-人参皂苷 R_{g1}; 2-人参皂苷 Re; 3-人参皂苷 Rf; 4-人参皂苷 R_{g2}; 5-人参皂苷 Ro; 6-人参皂苷 Rb₁; 7-人参皂苷 Rc; 8-人参皂苷 Rb₂; 9-人参皂苷 Rb₃; 10-人参皂苷 Rd.
1-ginsenoside R_{g1}; 2-ginsenoside Re; 3-ginsenoside Rf; 4-ginsenoside R_{g2}; 5-ginsenoside Ro; 6-ginsenoside Rb₁; 7-ginsenoside Rc; 8-ginsenoside Rb₂; 9-ginsenoside Rb₃; 10-ginsenoside Rd.

图1 混合对照品溶液 HPLC 色谱图 (A) 和 10、15、20、25 年林下参叶样品溶液 HPLC 色谱图 (B, D, F, H) 及 10、15、20、25 年林下参茎样品溶液 HPLC 色谱图 (C, E, G, I)

Fig. 1 HPLC chromatogram of mixed reference solution (A), HPLC chromatogram (B, D, F, H) of 10, 15, 20 and 25 years understory *P. ginseng* leaves sample solution and HPLC chromatogram of 10, 15, 20 and 25 years understory *P. ginseng* stems sample solution (C, E, G, I)

林下参茎、叶粉末 0.2 g, 加 4 mL 甲醇溶解, 超声提取 30 min。过 0.22 μm 微孔滤膜, 为待测液, 即为不同年限林下参茎、叶供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 取混合对照品溶液分别稀释 1、2、10、50、100、200 倍, 按“2.1”项下色谱条件进样 10 μL, 记录峰面积, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 结果见表 1。

表 1 10 种人参皂苷线性关系考察结果

Table 1 Results of linear relationship between 10 ginsenosides

人参皂苷	回归方程	线性范围/(mg·mL ⁻¹)	R ²
R _{g1}	Y=44.294 0 X-0.363 2	0.008 4~1.680 0	0.999 8
Re	Y=49.334 3 X+0.061 7	0.009 2~1.830 0	0.999 9
Rf	Y=0.060 7 X+0.000 7	0.050 3~10.064 0	0.999 7
R _{g2}	Y=59.546 5 X+0.061 5	0.003 4~0.670 0	0.999 9
Ro	Y=47.522 9 X+0.034 0	0.005 8~1.150 0	0.999 9
Rb ₁	Y=34.863 9 X-0.082 2	0.660 0~1.320 0	0.999 9
Rc	Y=38.540 7 X+0.038 3	0.002 6~0.520 0	0.999 9
Rb ₂	Y=39.442 8 X+0.040 7	0.004 4~0.880 0	0.999 7
Rb ₃	Y=33.939 9 X+0.017 3	0.001 4~0.280 0	0.999 7
Rd	Y=45.250 8 X-0.028 9	0.005 6~1.120 0	0.999 9

2.4.2 精密度试验 取混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续测定 6 次, 记录峰面积, 计算得到上述 10 种人参皂苷峰面积的 RSD 为 0.01%~0.11%, 表明该仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取供试品溶液按“2.1”项色谱条件分别于制备后 0、6、12、24、36、48 h 进样, 测定, 记录峰面积, 计算得到上述 10 个成分峰面积的 RSD 为 1.21%~2.47%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批 (Y7) 林下参茎叶, 制备供试品溶液 6 份, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算得到上述 10 个成分质量分数的 RSD 为 1.11%~2.12%, 表明该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已测定含量的林下参茎、叶供试品溶液 6 份, 精密加入个对照品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算得到人参皂苷 R_{g1}、Re、Rf、R_{g2}、Ro、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd 的加样回收率分别为 102.54%、103.87%、99.43%、100.56%、98.69%、99.22%、

100.89%、101.90%、97.75%、102.64%，RSD 值为 1.96%、1.00%、1.06%、1.96%、1.23%、1.08%、0.96%、2.66%、1.86%、1.45%。

2.5 含量测定

取不同年限林下参茎、叶样品溶液各 6 批，按

“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。HPLC 色谱图及不同年限人参茎、叶 HPLC 色谱图见图 1，计算样品中 10 种人参皂苷含量，结果见表 2。林下参茎中未检测到人参皂苷 Rb₂、Rb₃。皂苷含量叠加图见图 2，计算原人参二醇型、原人参三醇型、齐

表 2 林下参茎、叶皂苷含量测定结果

Table 2 Results of determination of ginsenosides content of understory *P. ginseng* stems and leaves

编号	人参皂苷/(mg·g ⁻¹)									
	R _{g1}	Re	Rf	R _{g2}	Ro	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rb ₃	Rd
Y1	13.03	24.61	0.06	0.82	0.51	0.31	8.08	2.72	0.11	8.83
Y2	13.11	24.10	0.07	0.59	0.45	0.37	7.68	2.75	0.12	9.42
Y3	14.81	26.96	0.08	0.90	0.66	0.47	8.21	3.23	0.12	11.01
Y4	14.80	26.96	0.07	0.83	0.65	0.38	9.25	3.06	0.11	10.83
Y5	14.90	27.21	0.07	0.79	0.66	0.48	8.90	3.36	0.16	11.81
Y6	13.79	25.08	0.07	0.76	0.51	0.39	8.20	2.92	0.12	10.02
Y7	16.55	31.25	0.03	0.48	0.88	1.61	7.69	4.72	0.28	13.20
Y8	16.89	31.86	0.04	0.47	0.89	1.64	8.83	4.91	0.36	13.44
Y9	16.23	30.58	0.04	0.45	0.85	1.50	8.50	4.81	0.35	13.00
Y10	16.11	30.19	0.03	0.52	0.82	1.46	7.52	4.74	0.29	12.82
Y11	16.77	31.94	0.04	0.47	0.93	1.53	8.27	4.77	0.27	13.67
Y12	16.82	31.75	0.04	0.51	0.92	1.57	8.32	4.89	0.30	13.29
Y13	15.23	29.23	0.08	1.17	0.88	1.00	9.60	8.06	0.46	22.36
Y14	15.49	29.95	0.06	1.23	0.96	0.98	10.45	8.32	0.56	23.23
Y15	15.53	29.90	0.06	1.22	0.98	1.03	10.18	8.36	0.54	23.30
Y16	15.38	29.35	0.07	1.23	0.88	1.04	9.69	8.15	0.44	22.50
Y17	15.65	30.47	0.07	1.27	0.96	1.09	10.32	8.55	0.56	24.00
Y18	15.45	29.78	0.07	1.22	0.90	1.03	10.05	8.29	0.48	23.08
Y19	8.31	24.54	0.04	0.85	0.86	0.62	5.81	6.15	0.25	16.93
Y20	8.55	24.53	0.03	0.86	0.87	0.57	5.29	5.90	0.20	17.38
Y21	9.56	26.77	0.05	0.95	0.84	0.63	5.47	6.41	0.20	17.93
Y22	9.70	27.84	0.04	1.12	1.00	0.64	5.88	6.66	0.23	19.73
Y23	9.70	28.69	0.04	1.00	1.00	0.68	6.39	6.85	0.26	20.36
Y24	9.03	25.56	0.04	0.93	0.90	0.62	5.67	6.08	0.23	17.91
J1	1.47	1.50	0.17	0.07	0.25	0.15	0.05	—	—	0.32
J2	1.58	1.49	0.17	0.13	0.25	0.15	0.03	—	—	0.31
J3	1.61	1.50	0.16	0.14	0.25	0.18	0.04	—	—	0.29
J4	1.61	1.52	0.16	0.13	0.26	0.20	0.05	—	—	0.30
J5	1.62	1.52	0.16	0.12	0.25	0.16	0.03	—	—	0.33
J6	1.57	1.51	0.16	0.12	0.25	0.17	0.04	—	—	0.31
J7	1.63	2.00	0.06	0.07	0.25	0.09	0.06	—	—	0.17
J8	1.63	2.01	0.05	0.06	0.26	0.11	0.07	—	—	0.16
J9	1.55	1.94	0.06	0.08	0.29	0.12	0.08	—	—	0.17
J10	1.68	1.97	0.06	0.08	0.28	0.13	0.08	—	—	0.17
J11	1.61	1.95	0.06	0.08	0.28	0.11	0.07	—	—	0.19
J12	1.62	1.98	0.06	0.05	0.27	0.11	0.07	—	—	0.17
J13	2.56	2.15	0.19	0.09	0.25	0.11	0.15	—	—	0.62
J14	2.54	2.16	0.18	0.17	0.24	0.28	0.18	—	—	0.55
J15	2.26	1.93	0.17	0.14	0.21	0.26	0.17	—	—	0.49
J16	2.27	1.96	0.18	0.18	0.21	0.29	0.19	—	—	0.44
J17	2.27	1.93	0.17	0.10	0.20	0.21	0.11	—	—	0.54
J18	2.43	2.07	0.18	0.14	0.23	0.23	0.16	—	—	0.54
J19	1.39	1.85	0.11	0.18	0.52	0.09	0.04	—	—	0.24
J20	1.43	2.10	0.11	0.20	0.54	0.09	0.06	—	—	0.23
J21	1.49	1.80	0.10	0.18	0.56	0.10	0.06	—	—	0.23
J22	1.49	1.80	0.10	0.18	0.56	0.10	0.06	—	—	0.22
J23	1.51	1.78	0.11	0.18	0.54	0.10	0.07	—	—	0.25
J24	1.49	1.90	0.11	0.19	0.55	0.10	0.06	—	—	0.24

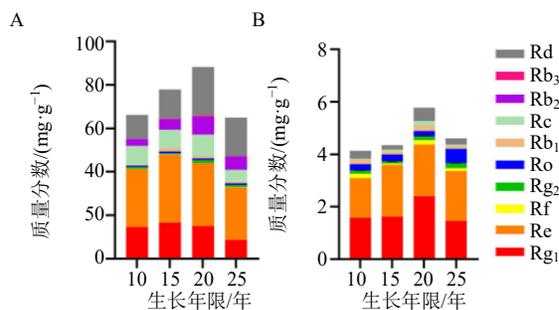


图2 林下参叶 (A) 和茎 (B) 皂苷含量叠加图
Fig. 2 Superposition of leaves (A) and stems (B) ginsenosides content of understory *P. ginseng*

墩果酸型皂苷含量随时间变化折线图如图3所示。为更直观地反映不同年限林下参茎、叶中皂苷含量差异,将含量测定结果导入 OriginPro 2019 软件,对数据归一化处理,进行热图聚类分析,结果见图4。林下参叶中10年及25年聚为一类,15年及20年聚为一类,林下参茎中10年及15年聚为一类,20年及25年聚为一类。差异性指标成分人参皂苷 Re 及人参皂苷 Rg₁ 在林下参叶15年时含量达到峰值,人参皂苷 Rd 及人参皂苷 Rc 在林下参叶20年时含量达到峰值。4种年限林下参中10中皂苷总量呈现林下参叶>林下参茎的趋势。含量有显著差异。4种年限林下参茎、叶皂苷含量随年份的增长呈先上升后下降趋势,20年时林下参茎、叶中10种皂苷总量达到最高。4种年限林下参叶中10中皂苷

含量 20年>15年>10年≈25年,4种年限林下参茎中皂苷含量 20年>25年>15年>10年。

林下参叶中原人参二醇型皂苷随年份的增长先升高后降低,20年时最高,原人参二醇型皂苷含量 20年>25年>15年>10年;原人参三醇型皂苷含量随年份增长先升高后降低,15年时最高,原人参三醇型皂苷含量 15年>20年>10年>25年;齐墩果酸型皂苷质量分数为 0.5~1.0 mg/g。林下参茎中原人参二醇型皂苷质量分数 0.3~1.0 mg/g,林下参茎中原人参三醇型皂苷质量分数 3.0~5.0 mg/g。

3 多元统计分析

3.1 主成分分析 (principle component analysis, PCA)

将表2含量测定结果导入 SIMCA14.0 软件,以10种人参皂苷成分为变量,进行 PCA,其中 $R^2_X=0.983$, $Q^2=0.924$ 表示模型成立可靠,预测率高。图5从整体上看,不同年限林下参茎、叶2个部位分布在轴的两侧,在 PCA 模型中达到较好的分离效果,说明二者之间的皂苷类成分存在差异。10年与15年林下参叶相近,10年与20林下参茎相近,化学成分可能具有相似性。

3.2 正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)

将48批林下参茎、叶样品含量数据导入 SIMCA 软件,建立 OPLS-DA 模型,结果如图6所

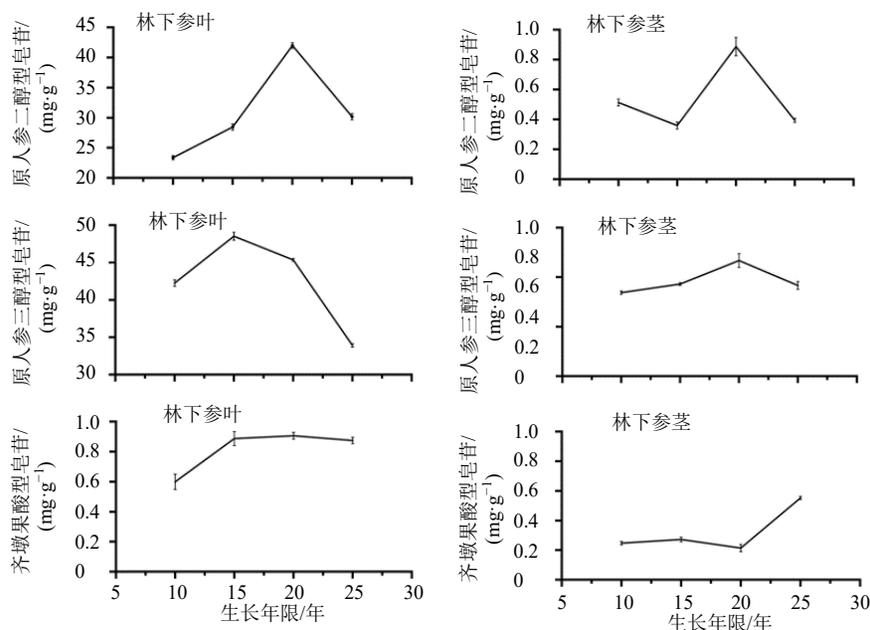


图3 4种不同年限林下参叶和茎中原人参二醇型、原人参三醇型、齐墩果酸型皂苷含量变化图

Fig. 3 Changes of protopanaxadiol type, protopanaxatriol type and oleanolic acid type ginsenosides of understory *P. ginseng* leaves and stems of four different ages

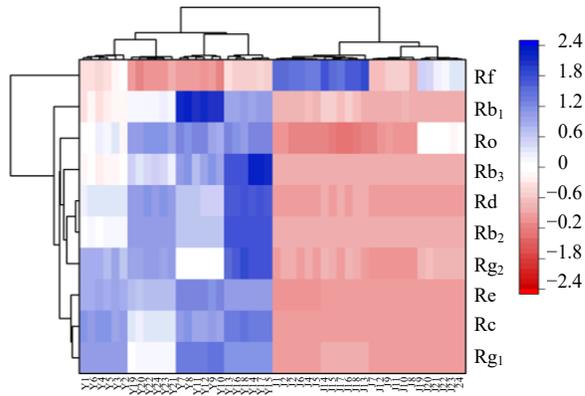


图 4 林下参茎、叶 10 种化学成分热图

Fig. 4 Heat map of 10 chemical compositions of stems and leaves of understory *P. ginseng*

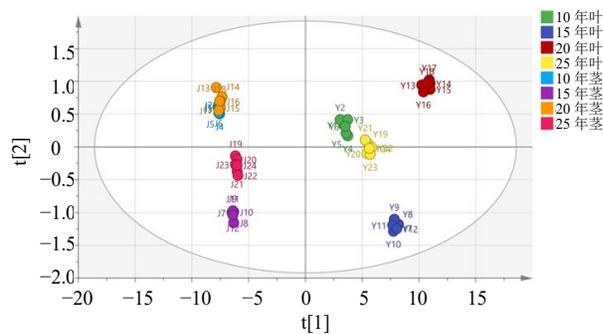


图 5 林下参茎、叶 PCA 得分

Fig. 5 PCA scores of understory *P. ginseng* stems and leaves

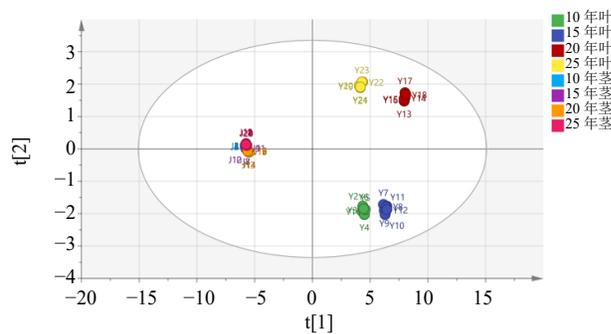


图 6 林下参茎、叶样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 6 OPLS-DA scores of understory *P. ginseng* stems and leaves

示。其中 ($R^2_X=0.94$, $R^2_Y=0.837$, $Q^2=0.821$) 表明所建立模型可以描述大部分数据, 具有良好的预测能力, 可用于林下参茎、叶样品的分析。由图 6 可知, 不同年限林下参茎样品聚为一堆, 表明年限对林下参茎中皂苷含量没有显著影响。24 批不同年限林下参叶样品被分为 4 类, 其分类结果与 PCA 一致, 证明结果可靠。

建立变量重要性投影 (VIP) 值图, 以此来筛选不同年限林下参茎、叶的差异性标志物, 结果如图 7 所示。VIP 图表示, 在 95% 置信区间内, 一般选择 $VIP > 1$ 作为筛选差异性成分指标。VIP 值 > 1 的成分有人参皂苷 Re、Rd、Rg₁ 和 Rc, 说明人参皂苷 Re、Rd、Rg₁ 和 Rc 为不同年限林下参茎、叶的差异性指标成分。200 次置换检验结果见图 8, 所有置换检验的 R^2 和 Q^2 值均小于所建立模型原始值, 并且 Q^2 的回归线在 y 轴上截距为负值, 表明所建立模型没有过拟合, 并且具有良好的拟合度和预测能力。

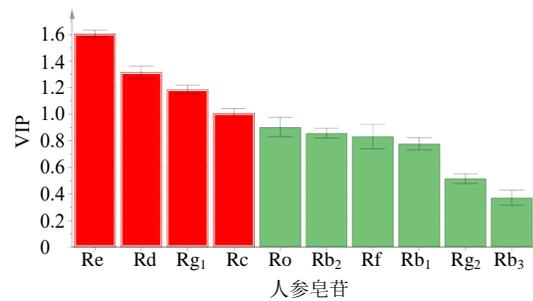


图 7 林下参茎、叶 OPLS-DA 模型 VIP 图

Fig. 7 VIP diagram of OPLS-DA model of understory *P. ginseng* stems and leaves

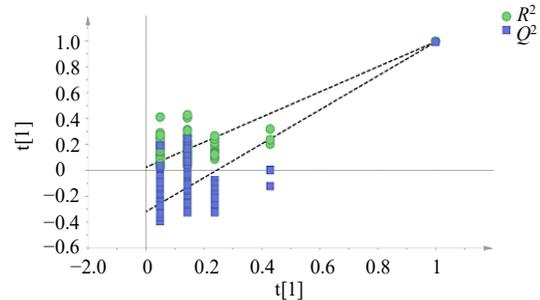


图 8 200 次置换检验结果图

Fig. 8 200 displacement test results

4 讨论

本实验采用 HPLC 法对 4 种年限林下参茎、叶样品中 10 种皂苷含量测定, 筛选差异性化学成分, 比较 4 种年限林下参茎、叶中原人参二醇型、原人参三醇型、齐墩果酸型皂苷含量。结果显示, 在林下参茎中未检测到人参皂苷 Rb₂、Rb₃, 林下参叶中 10 种皂苷含量远高于林下参茎中。在 4 种年限林下参叶中, 10 种人参皂苷总量在 60~100 mg/g, 20 年时含量最高; 在 4 种年限林下参茎中, 除人参皂苷 Rb₂、Rb₃ 外的 8 种人参皂苷总量在 20 年最高; 原人参二醇型皂苷 20 年林下参中最高。原人参三醇

型皂苷在 15 年林下参叶中皂苷含量最高; 4 种年限林下参茎、叶中差异性成分为人参皂苷 Re、Rd、Rg₁ 和 Rc。林下参茎叶总皂苷可通过促进免疫低下小鼠的细胞免疫、体液免疫来增强免疫抑制小鼠的免疫功能, 林下参茎叶总皂苷还可通过增强免疫发挥抗肿瘤活性^[13,16]。本研究发现, 林下参茎叶中皂苷类成分主要集中在叶, 不同年限的林下参叶中皂苷含量不同可能会导致药效的不同, 因此不同年限林下参叶间的药效差异仍需进一步探讨。

生长年限对林下山参茎、叶皂苷含量影响显著, 同时, 10 种皂苷、原人参二醇型、原人参三醇型、齐墩果酸型皂苷含量随生长年限变化规律差异很大, 皂苷增加的量并不是与年生长量呈等比关系, 原因可能是人参生长到一定年限, 其活性物质的累计率会降低^[17]。我国的人参种植面积、总产量均居世界首位, 每年用于出口、医药健康领域及功能性食品开发方面逐年加大, 药用植物资源需求明显增多^[14]。由于人参产量的大幅增加, 人参茎叶等非药用部位的产量逐年增加, 现代工业生产人参单体皂苷多选择以人参茎叶为原料, 提取总皂苷, 再进一步纯化、结构修饰得到人参单体皂苷^[18-19]。研究发现, 人参叶质量占人参茎叶质量的 25%, 其中总皂苷含量远高于人参茎中皂苷含量^[20]。

由此可推断, 可根据提取的皂苷成分不同, 有针对性的选择不同生长年限的林下参茎、叶, 可有效提高提取效率。人参非药用部位的开发与利用势在必行。本研究从不同生长年限林下参茎、叶出发, 考察其中 10 种皂苷含量及其变化规律。为林下参非药用部位资源的开发与利用提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 8.
- [2] 陈雅茹, 韩梅, 程林, 等. 林下参皂苷含量与生态因子的相关性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2588-2595.
- [3] Hou W, Wang Y P, Zheng P H, *et al.* Effects of ginseng on neurological disorders [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 55.
- [4] Piao X M, Zhang H, Kang J P, *et al.* Advances in saponin diversity of *Panax ginseng* [J]. *Molecules*, 2020, 25(15): 3452.
- [5] Zhu L L, Luan X N, Yuan Y, *et al.* The characteristics of ginsenosides and oligosaccharides in mountain- and garden-cultivated ginseng [J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101(4): 1491-1498.
- [6] 陈树东, 胡文军, 孔祥词, 等. 固相萃取/超高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定人参、人参叶与人参花中 10 种人参皂苷含量 [J]. 分析测试学报, 2021, 40(9): 1348-1354.
- [7] 朱海林, 林红强, 谭静, 等. 林下山参不同部位的人参总皂苷与单体皂苷的含量分析 [J]. 特产研究, 2019, 41(1): 83-87.
- [8] 罗嘉仪, 罗旖璐, 韩红亮, 等. 摘除花蕾对林下参不同部位人参皂苷和植物激素含量的影响 [J]. 中草药, 2023, 54(4): 1243-1251.
- [9] Li K K, Li S S, Xu F, *et al.* Six new dammarane-type triterpene saponins from *Panax ginseng* flower buds and their cytotoxicity [J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(2): 215-221.
- [10] 徐梦丹, 张雪晶, 刘小康, 等. 基于趁鲜切制与传统切制工艺的人参饮片质量评价分析 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2437-2445.
- [11] Lee D Y, Park C W, Lee S J, *et al.* Immunostimulating and antimetastatic effects of polysaccharides purified from ginseng berry [J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(4): 823-839.
- [12] 黄丹, 房庆伟, 李坤, 等. 林下参茎叶总皂苷与园参茎叶总皂苷对 H22 荷瘤小鼠的抗肿瘤活性研究 [J]. 中医药学报, 2022, 50(9): 14-19.
- [13] 房庆伟, 徐政, 陈旭, 等. 园参叶及林下参叶中人参皂苷含量比较 [J]. 中成药, 2023, 45(6): 2059-2062.
- [14] 李伟, 王莹, 刘伟. 人参、西洋参非药用部位开发与利用研究进展 [J]. 吉林农业大学学报, 2021, 43(4): 383-392.
- [15] 毛英民, 李克强, 赵大庆, 等. 基于 HPLC 和化学计量法分析人参不同部位人参皂苷差异研究 [J]. 中药材, 2022, 45(10): 2442-2447.
- [16] 张静雯, 房庆伟, 李坤, 等. 不同生境人参茎叶总皂苷对免疫抑制小鼠的作用比较 [J]. 亚太传统医药, 2022, 18(9): 45-49.
- [17] 王铁生. 中国人参 [M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2001.
- [18] 孙立君, 曲振利. 人参皂苷单体提取技术生产化的研究与展望 [J]. 化工时刊, 2020, 34(2): 23-24.
- [19] 张仔豪, 叶安琪, 成乐琴. 稀有人参皂苷 Rg₅ 的高效制备方法 [J]. 食品工业, 2021, 42(1): 69-73.
- [20] 杨文菊, 徐丝瑜, 王志伟, 等. 人参叶三醇类皂苷的提取与生物转化技术 [J]. 徐州工程学院学报: 自然科学版, 2023, 38(1): 71-77.

[责任编辑 时圣明]