

# 超高效液相色谱法测定人参药材中7种人参皂苷的含量

朱子龙, 李宏, 陈帮州, 林义忠, 张堃, 张宽才\*

(江苏九旭药业有限公司, 徐州 221200)

**摘要:** **目的** 建立同时测定人参药材中7种人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd 含量的超高效液相色谱法(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC)方法。**方法** 采用 CAPCELL PAK C<sub>18</sub> MG (2.0 mm×150 mm, 2.0 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液体系梯度洗脱, 流速为 0.38 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长均为 203 nm, 柱温均为 30°C, 进样量 1 μL。**结果** 7种人参皂苷均能完全分离, 在一定的线性浓度范围内具有良好线性关系 ( $r^2 > 0.999$ ), 平均回收率为 97.22%~104.56%; 相对标准偏差 (RSD) 为 0.4%~1.8% ( $n=9$ ), 精密度 RSD 为 0.57%~1.42%。**结论** 该方法的专属性强, 精密度极佳, 准确度好, 检测过程更加高效, 可用于人参药材中7种人参皂苷含量的测定。**关键词:** 中药制剂; 人参; 人参皂苷; 超高效液相色谱法

## Determination of 7 kinds of ginsenosides in ginseng by ultra high performance liquid chromatography

ZHU Zi-Long, LI Hong, CHEN Bang-Zhou, LIN Yi-Zhong, ZHANG Kun, ZHANG Kuan-Cai\*

(Jiangsu Jiu Xu Pharmaceutical Co., Ltd., Xuzhou 221200, China)

**ABSTRACT: Objective** Establish a ultra high performance liquid chromatography (UPLC) method for the simultaneous determination of seven ginsenosides Rg1, Re, Rf, Rb1, Rc, Rb2, and Rd in ginseng medicinal materials. **Methods** Using CAPCELL PAK C<sub>18</sub> MG (2.0 mm×150 mm, 2.0 μm) Chromatographic column with gradient elution of acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution as mobile phase, flow rate of 0.38 mL·min<sup>-1</sup>, detection wavelength of 203 nm, column temperature of 30 °C, and injection volume of 1 μL. **Results** All 7 ginsenosides can be completely separated and have a good linear relationship ( $r^2 > 0.999$ ) within a certain linear concentration range, with an average recovery rate of 97.22%~104.56%; The relative standard deviation (RSD) is 0.4%~1.8% ( $n=9$ ), and the precision RSD is 0.57%~1.42%. **Conclusion** This method has strong specificity, excellent precision, good accuracy, and more efficient detection process, and can be used for the determination of seven ginsenosides in ginseng medicinal materials.

**KEY WORDS:** Chinese medicine preparation; ginseng; ginsenosides; ultra high performance liquid chromatography

## 0 引言

随着国家对中医药研发的重视和全民中医药热的兴起, 越

来越多的药物研发企业加大了对中药新药的研发投入。近年来, 随着分析方法的不断优化和仪器的迭代变更, 《中国药典》收录的各类中药材分析方法中, 已有部分方法不能够适应目前快节

基金项目: 徐州市科技计划项目 (KC21109)

Fund: Xuzhou Science and Technology Plan Project (KC21109)

\*通信作者: 张宽才, 执业药师, 项目经理, 研究方向为高新项目管理。E-mail: 445103421@qq.com

\*Corresponding author: ZHANG Kuan-Cai, Licensed Pharmacist, Project Manager, Jiangsu Jiu Xu Pharmaceutical Co., Ltd., Xuzhou 221200, China. E-mail: 445103421@qq.com

奏、低成本高效益的工业化生产。

《中国药典》一部收录的三宝胶囊、小儿肺咳颗粒等中药制剂中均涉及人参药材、饮片的含量检测。人参中主要含有皂苷、多糖、挥发油等化学成分<sup>[1]</sup>。目前多以人参皂苷作为含量的指标性成分进行质量研究,其中人参皂苷 Rg1、Rb1 被证明具有改善认知功能障碍的作用<sup>[2-3]</sup>;曹瑀莹等人<sup>[4]</sup>通过大鼠模型试验确定人参皂苷 Re 能够调节蛋白激酶 A、心肌细胞内环磷酸腺苷的含量,达到干预快速型心律失常的作用。人参中大量的人参皂苷已被鉴定,人参皂苷 Rb1、Rb2、Rc、Rd、Re 以及 Rg1 的量已成为人参产品的参考标准<sup>[5]</sup>。

关于用 HPLC 的方法测定人参中人参皂苷的含量的文献报道有很多<sup>[6-8]</sup>,但采用 UPLC 方法的报道却很少,且多以《中国药典》方法梯度进行检测<sup>[9]</sup>,单针进样大于 100 分钟耗时间过长,不利于快速测定药物中此药材的质量。本研究采用 UPLC 方法同时测定 7 种人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd 的含量,单针运行时间仅为 33 分钟且兼具了良好的分离度,比常用的药典方法单针运行 100 余分钟更为高效,为快速准确控制人参药材质量提供了参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

Waters H-class plus 型超高效液相色谱仪 (UPLC),梅特勒 XSE205DU 电子天平。

### 1.2 试剂与药物

人参药材 (治佳凯药业股份有限公司,批号:1:220901-01;2:230722-01;3:231106-01)。

乙腈 (色谱级, TEDIA), 甲醇 (色谱级, Sigma-Aldrich), 正丁醇 (色谱级, RMC), 氨试液 (分析纯, 西陇科学股份有限公司), 超纯水 (自制)。

人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rb2、Rd 对照品 (中国食品药品检定研究院,批号:110703-202235、110754-202129、201806、110704-202230、111715-202104、111818-202104)、人参皂苷 Rc 对照品 (自制工作对照品,批号: DZP-202205-01)。

### 1.3 色谱条件

采用 CAPCELL PAK C<sub>18</sub> MG (2.0 mm×150 mm, 2.0 μm) 色谱柱,以乙腈-0.05% 磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱 (0~10.5 min, 19% 乙腈; 10.5~16.5 min, 19%~29% 乙腈; 16.5~20.8 min, 29% 乙腈; 20.8~29 min, 29%~40% 乙腈; 29~30 min, 40%~19% 乙腈; 30~33 min, 19% 乙腈), 流速 0.38 mL/min, 柱温 30°C, 检测波长 203 nm, 进样量 1 μL。

### 1.4 溶液制备

#### 1.4.1 供试品溶液的制备

取本品粉末约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 超声 1 h, 放冷, 摇匀, 滤过, 用 30 mL 甲醇分两次洗涤滤渣, 滤液置蒸发皿中水浴蒸干, 加 20 mL 水饱和正丁醇 (1:1 饱和 12 h) 溶解, 用氨试液萃取 2 次, 每次 20 mL, 弃去氨试液, 正丁醇液水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解,

定容至 10 mL 量瓶中, 取续滤液, 即得。

#### 1.4.2 对照品溶液的制备

分别取人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 约含 0.2 mg 人参皂苷 Rg1、0.2 mg 人参皂苷 Re、0.1 mg 人参皂苷 Rf、0.2 mg 人参皂苷 Rb1、0.2 mg 人参皂苷 Rc、0.2 mg 人参皂苷 Rb2、0.15 mg 人参皂苷 Rd 的混合溶液, 摇匀, 即得。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学考察

#### 2.1.1 专属性试验

分别取空白溶液、对照品溶液、供试品溶液各 1 μL, 按色谱条件测定, 结果见图 1, 各色谱峰出峰顺序依次为人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd, 从色谱图可以看出, 空白溶剂对测定无干扰, 人参皂苷色谱峰与临近峰分离度均大于 1.5, 表明其他组分对各目标峰的出峰均无干扰, 分离效果较好。

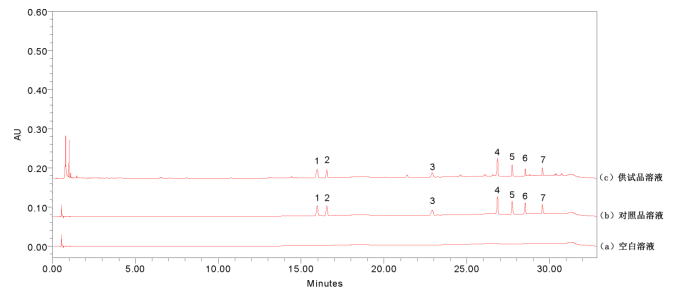


图 1 专属性色谱图

Fig.1 Specific chromatograms

#### 2.1.2 线性关系

按照对照品溶液的制备方法, 依次取 50%、100%、150%、200%、300% 六个浓度作为线性溶液, 按“1.3 色谱条件”测定, 以各峰面积-浓度作图, 考察各组分的线性关系。结果见表 1, 人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd 在一定浓度范围内具有良好的线性, 其相关系数  $r^2$  均大于 0.999。

表 1 线性方程及相关系数

Table 1 Linear equations and correlation coefficients

组分	线性方程	相关系数 $r^2$	浓度范围 (mg/mL)
人参皂苷 Rg1	$y = 0.0673x + 0.0833$	0.9998	0.1~0.6
人参皂苷 Re	$y = 0.0702x + 0.0098$	0.9997	0.1~0.6
人参皂苷 Rf	$y = 0.0568x - 0.0003$	0.9999	0.05~0.3
人参皂苷 Rb1	$y = 0.0600x + 0.0754$	0.9999	0.1~0.6
人参皂苷 Rc	$y = 0.0679x + 0.0088$	0.9998	0.1~0.6
人参皂苷 Rb2	$y = 0.0568x - 0.0003$	0.9999	0.1~0.6
人参皂苷 Rd	$y = 0.0632x - 0.0358$	0.9998	0.075~0.45

#### 2.1.3 重复性试验

精密称取 6 份人参药材样品各约 1 g, 置具塞锥形瓶中, 按

“1.4.1 供试品溶液的制备”进行试验,按“1.3 色谱条件”检测。采用外标法分别计算人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd 的重复性结果,7 种人参皂苷各组重复性 RSD 结果依次为 1.39%、1.14%、1.37%、0.57%、0.97%、1.42%、1.19%, 每组 6 份供试品溶液中各人参皂苷含量的 RSD 均不大于 1.5%, 符合《中国药典》相关要求,表明重复性良好。

#### 2.1.4 准确度试验

精密称取人参药材样品约 1 g, 共 9 份, 置具塞锥形瓶中, 加入一定量对照品溶液, 按“1.4.1 供试品溶液的制备”进行试验, 按“1.3 色谱条件”检测。采用外标法分别计算人参皂苷 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd 的加样回收率, 结果依次为 101.97%、99.34%、101.02%、102.45%、99.74%、100.65%、100.22%, 平均回收率范围为 97.34%~102.45%, RSD 范围为 0.4%~1.8%, 表明方法有较高的准确度。

#### 2.2 样品测定

取 3 批样品, 按“1.3 色谱条件”进行检测, 7 种人参皂苷含量结果见表 2。

表 2 样品分析结果

Table 2 Analytical results of the sample

组分名称	含量(%)		
	220901-01 批	230722-01 批	231106-01 批
人参皂苷 Rg1	0.183	0.182	0.182
人参皂苷 Re	0.155	0.152	0.151
人参皂苷 Rf	0.08	0.082	0.081
人参皂苷 Rb1	0.213	0.213	0.213
人参皂苷 Rc	0.164	0.166	0.165
人参皂苷 Rb2	0.123	0.123	0.125
人参皂苷 Rd	0.135	0.132	0.133

### 3 讨论与结论

文中采用的 UPLC 方法, 精密度结果极佳, 准确度好, 从色谱图上分析, 其专属性强, 检测波长在 203 nm 处各目标峰均有良好响应, 图谱可见流动相基线稳定、无明显漂移和杂峰干扰, 符合《中国药典》中《分析方法验证指导原则》的要求<sup>[10]</sup>, 能够满足人参药材质量分析的要求。

《中国药典》收录的人参药材方法单针检测时间过长, 不利于大生产中快速提供检测结果。本文采用的方法与药典方法比较, 该方法更加高效, 节省近 70% 的检测时间, 节省更多试剂成本。

中药材及饮片作为中药制剂的基础, 其质量水平的控制在整个制药全生命周期中至关重要, 《中国药典》收录的人参药材方法仅含有 3 种人参皂苷检测, 本文根据多批检出情况, 将含

量大于 0.05% 的人参皂苷类成分使用同一分析方法进行研究, 确定人参皂苷类 Rg1、Re、Rf、Rb1、Rc、Rb2、Rd 等 7 种人参皂苷含量水平较高, 将其作为具有代表性成分研究。但随着中药研究的规范化, 仅对指标性成分的含量进行测定还不能够完整体现药物质量属性, 还应进一步结合指纹图谱、其他理化性质等进行综合考量。

#### 参考文献

- [1] 徐静, 贾力, 赵余庆. 人参的化学成分与人参产品的质量评价[J]. 药物评价研究, 2011, 34(03): 199-203.
- [2] 王利军, 何静春, 王丽芳, 等. 人参皂苷 Rb-1 对阿尔茨海默病模型大鼠的神经保护作用[J]. 中华医学杂志, 2020, 100(31): 2462-2466.
- [3] 贾健, 张怡权, 乾坤, 等. 人参皂苷 Rg1 对阿尔茨海默病大鼠模型脑片神经元自噬小体相关蛋白表达的影响[J]. 中华老年医学杂志, 2022, 41(01): 71-75.
- [4] 曹瑀莹, 杜丙秀, 李劭恒, 等. 人参皂苷 Re 对异丙肾上腺素诱导离体灌流大鼠心脏心律失常的调节作用[J]. 中草药, 2021, 52(20): 6234-6244.
- [5] MA YC, ZHU J, BENKRIMA L, *et al.* A comparative evaluation of ginsenosides in commercial ginseng products and tissue culture samples using HPLC [J]. J Herbs Spices Med Plants, 1996, 3(04): 41-50.
- [6] 商晓慧, 朱亚楠, 叶冠. 高效液相色谱法同时测定人参药材中的 6 种人参皂苷含量[J]. 上海医药, 2018, 39(13): 72-75.
- [7] 冯柯桥, 蒋丽华. HPLC 测定不同年份人参药材中 3 种人参皂苷的含量[J]. 山东化工, 2018, 47(21): 94-107.
- [8] 刘春霖, 谢强胜, 李启艳, 等. 红参中总皂苷及人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 含量的测定[J]. 药学研究, 2021, 40(02): 87-90.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 版, 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 8-9.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 版, 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 480-483.

#### 作者简介



朱子龙, 助理工程师, 项目经理, 研究方向为中药新药研发质量控制。

张宽才, 执业药师, 项目经理, 研究方向为高新项目管理。