

质量分析

人参皂苷指纹图谱在山东产西洋参质量控制中的应用*

张燕婷¹, 陆雨顺¹, 张悦¹, 任利鹏², 魏晓明², 孙印石^{1**}

(1. 中国农业科学院特产研究所, 长春 130112; 2. 山东省威海市文登区农业农村局, 威海 264400)

摘要 目的:利用超高效液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-PDA)法建立山东产西洋参皂苷类成分的指纹图谱,并同时测定16个单体皂苷的含量。**方法:**采用Acquity UPLC BEH C₁₈(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱,以水-乙腈为流动相进行梯度洗脱,流速0.4 mL·min⁻¹,检测波长203 nm,柱温30 °C,进样量2 μL。运用《中国药典》“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”进行评价,结合聚类分析和主成分分析对42批不同产地的西洋参进行比较。**结果:**山东产西洋参中16个单体皂苷总量为19.73~58.07 mg·g⁻¹,均值为(34.72±8.22)mg·g⁻¹。建立了西洋参皂苷类成分的指纹图谱,相似度均达到了0.90以上,确定了10个共有成分峰构成西洋参的特征峰,聚类分析和主成分分析表明该地区西洋参皂苷类成分具有较好的稳定性。**结论:**建立的西洋参药材指纹图谱特征性强,方法简便,为山东产西洋参的鉴定和质量控制提供数据支持。

关键词:山东产西洋参;人参皂苷;超高效液相色谱;指纹图谱;质量评价;聚类分析;主成分分析

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)03-0512-10

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024.03.17

Application of ginsenoside fingerprint in the quality control of *Panax quinquefolius* L. from Shandong*

ZHANG Yan-ting¹, LU Yu-shun¹, ZHANG Yue¹, REN Li-peng², WEI Xiao-ming², SUN Yin-shi^{1**}

(1. Institute of Special Animal and Plant Sciences, China Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China;

2. Agriculture and Rural Bureau of Wendeng District, Weihai City, Shandong Province, Weihai 264400, China)

Abstract Objective: To establish the fingerprint of *Panax quinquefolius* L. from Shandong by UPLC-PDA, and to simultaneously determine the contents of 16 ginsenosides. **Methods:** The chromatographic column was an Acquity UPLC BEH C₁₈ column(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm), which was eluted with water-acetonitrile by gradient at a flow rate of 0.4 mL·min⁻¹. The detection wavelength was 203 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 2 μL. The Chinese Pharmacopoeia “Chinese Medicine Chromatography Fingerprint Similarity Evaluation System (2012 Edition)” was used for evaluation, and 42 batches of *Panax quinquefolius* L. from different habitats were compared with cluster analysis and principal component analysis. **Results:** The total content 16 ginsenosides in *Panax quinquefolius* L. from in Shandong were 19.73-58.07 mg·g⁻¹, and the

* 吉林省科技发展计划项目(20190304015YY)

** 通信作者 Tel:(0431)81919580;E-mail:sunyinshi2015@163.com

第一作者 Tel:18712919137;E-mail:zyanting96@163.com

average value was $(34.72 \pm 8.22) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. The fingerprints of the ginsenosides in *Panax quinquefolius* L. from Shandong were established, and the similarities were above 0.90. And 10 common peaks constituted the characteristic peaks of *Panax quinquefolius* L. Cluster analysis and principal component analysis showed that the contents of ginsenosides in *Panax quinquefolius* L. from Shandong were stable. **Conclusion:** The fingerprint of *Panax quinquefolius* L. established is highly characteristic, and the method is simple, which provides data support for the identification and quality control of *Panax quinquefolius* L.

Keywords: *Panax quinquefolius* L. from Shandong; ginsenoside; UPLC; fingerprint; quality evaluation; cluster analysis; principal component analysis

西洋参 (*Panax quinquefolius* L.) 又名花旗参、美国参,为五加科人参属多年生草本植物^[1],在我国始载于《本草纲目拾遗》,清代《补图本草备要》中记载“西洋参,苦、甘、凉、味厚、气薄、补肺降火,生津液,除烦倦,虚而有火者相宜”。现代药理学研究表明,西洋参具有免疫调节^[2]、抗抑郁^[3]、抗肿瘤^[4]、抗炎^[5]、抗氧化^[6]和降血脂^[7]等多种药理作用。这些功能与西洋参中化学成分,尤其是生物活性显著的人参皂苷密切相关。人参皂苷是1类固醇类化合物,又称三萜皂苷,主要存在于人参属药材中,是人参属药材发挥药理作用的重要活性物质。人参皂苷 Rb₁、Rh₁、Rh₂、Rg₁和 Rg₃可以诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤细胞生长、增殖^[8-9];人参皂苷 Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc、Rd、Rg₃和 Rh₂具有抗氧化、抗心律失常的作用^[10];人参皂苷 Re、Rg₁能调节神经中枢,促进 RNA、DNA 合成,人参皂苷 Re 抑制中枢神经,人参皂苷 Rg₁使中枢神经兴奋^[11];人参皂苷 Rg₂具有抗休克作用,抑制心肌肥大,改善血液流变,可以用于治疗或改善心肌梗死,心律失常等心血管疾病^[12]。

自1975年我国西洋参引种成功以来,山东地区西洋参的生产和种植多为散户经营,缺乏系统化、规模化的管理,产品质量评价体系建设不完全,缺乏对于山东产西洋参化学成分的系统性研究,导致西洋参产品整体质量参差不齐。本研究对山东省威海市西洋参样品中皂苷类成分进行系统分析,为山东产西洋参的质量评价提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱仪 (PDA 检测器,工作站 Empower 3.0 版本, Waters 公司); 752N 紫外分光光度计 (上海仪电分析有限公

司); MS204S 十万分之一电子分析天平 (Mettler Toledo 公司); EX 125 DZH 万分之一电子天平 (奥豪斯仪器有限公司); Milli-Q Advantage A10 超纯水器 (Millipore 公司); WP-UP-WF-40 微量分析型超纯水机 (四川沃特尔水处理设备有限公司); DTC-8 超声清洗机 (湖北鼎泰恒胜超声波清洗设备有限公司); TGL-16G 高速台式离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

1.2 试剂

本研究于2019年在山东省威海市12个乡镇23个村共42个采样点取样(样品编号为S1~S42),研究区域覆盖了山东省威海市主要的西洋参种植区域,占全省西洋参种植面积的90%以上。鲜西洋参(采样地点见图1)参经吉林农业大学中药材学院李伟教授鉴定其为4年生五加科人参属植物西洋参 *Panax quinquefolius* L., 42 °C 干燥粉碎,过筛(60目),备用。

对照品人参皂苷 Rg₁、Re、Rf、20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁、Rb₁、Rc、F₁、Rb₂、Rb₃、Rd、F₂、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、20(S)-Rh₂和20(R)-Rh₂ 上海源叶生物科技有限公司, HPLC 归一化法测定质量分数均 $\geq 98\%$ 。香兰素, 上海源叶生物科技有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯, Honeywell 公司。正丁醇、甲醇、浓硫酸, 来自北京化工厂。超纯水, 由 WP-UP-WF-40 微量分析型超纯水机制备。

2 方法

2.1 系列混合对照品溶液的制备

精密称取对照品人参皂苷 Rg₁、Re、Rf、20(S)-Rh₁、20(R)-Rh₁、Rb₁、Rc、F₁、Rb₂、Rb₃、Rd、F₂、20(S)-Rg₃、20(R)-Rg₃、20(R)-Rh₂和20(S)-Rh₂ 10 mg 置于 10 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇定容至刻度, 配制质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品储备

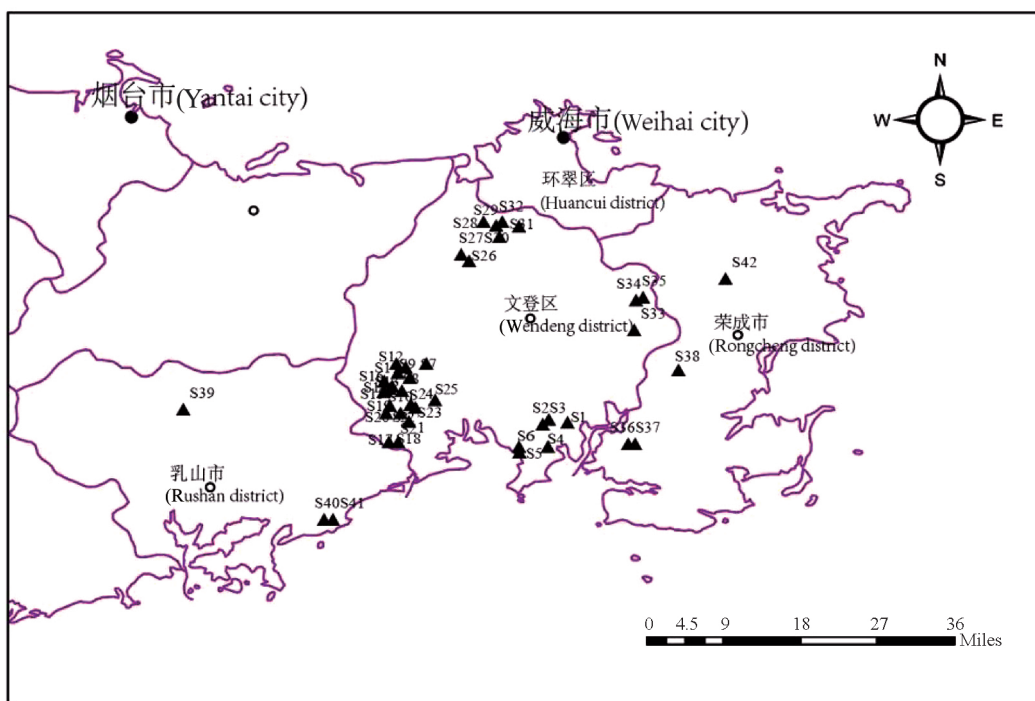


图1 西洋参采样地点

Fig. 1 Collection places of *Panax quinquefolius* L.

溶液。逐级稀释,得到质量浓度分别为1、10、20、50、100、200和500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列混合对照品溶液,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱内,临用前经0.22 μm 微孔滤膜滤过至进样瓶,即得。

2.2 供试品溶液的制备

分别取各西洋参样品约0.2 g,精密称量,置于5 mL离心管中,精密加入80%甲醇4 mL,称量,混匀,密封,室温下300 W,40 kHz超声提取30 min,取出,室温放冷,补足减失的量,以8 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心5 min,取上清液,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.3 色谱条件

色谱柱:Acquity UPLC BEH C_{18} 柱(50 mm \times 2.1 mm,1.7 μm);流动相:水(A)–乙腈(B),梯度洗脱(0~6 min,13%B \rightarrow 22%B;6~16 min,22%B \rightarrow 38%B;16~18 min,38%B;22~23.5 min,40%B \rightarrow 45%B;23.5~24 min,45%B \rightarrow 58%B;24~30 min,58%B \rightarrow 62%B);流速:0.4 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;进样量:2 μL ;检测波长:203 nm;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4 指纹图谱方法学考察

2.4.1 精密度试验 取S1样品粉末,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件连续进

样6次,记录指纹图谱,以人参皂苷 Rb_1 色谱峰为参照峰,计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于0.63%和1.1%。

2.4.2 重复性试验 取S1样品粉末6份,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件进行测定,记录指纹图谱,以人参皂苷 Rb_1 色谱峰为参照峰,计算指纹图谱中各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别<3.1%和2.6%。

2.4.3 稳定性试验 取S1样品粉末,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,分别在供试品溶液制备后0、2、4、8、12、24 h按“2.3”项下色谱条件进行测定。以人参皂苷 Rb_1 色谱峰为参照峰,结果表明各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的RSD分别小于2.5%和小于1.8%。

2.4.4 指纹图谱的建立 取42批西洋参样品,分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件进行测定,得到指纹图谱,再将得到的实验数据导入2012A版《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》进行分析,设置S1为参考图谱,时间窗宽度设为0.2 min,采用多点校正后自动匹配指纹图谱,并以中

位法生成对照指纹图谱(R),并对色谱峰进行指认。42批西洋参指纹图谱共检测到16个共有峰,经过与对照指纹图谱的比对,指认了其中10个色谱峰,分别为人参皂苷Re(2号峰)、20(S)-Rh₁(3号峰)、Rb₁(4号峰)、Rc(5号峰)、F₁(6号峰)、Rb₂(7号

峰)、Rb₃(8号峰)、Rd(9号峰)、20(S)-Rh₂(12号峰)和20(R)-Rh₂(13号峰),见图2。42批样品的相似度见表1,相似度均>0.900,表明42批西洋参的整体质量相对稳定,所建立指纹图谱的方法可用于西洋参的鉴定和质量控制。

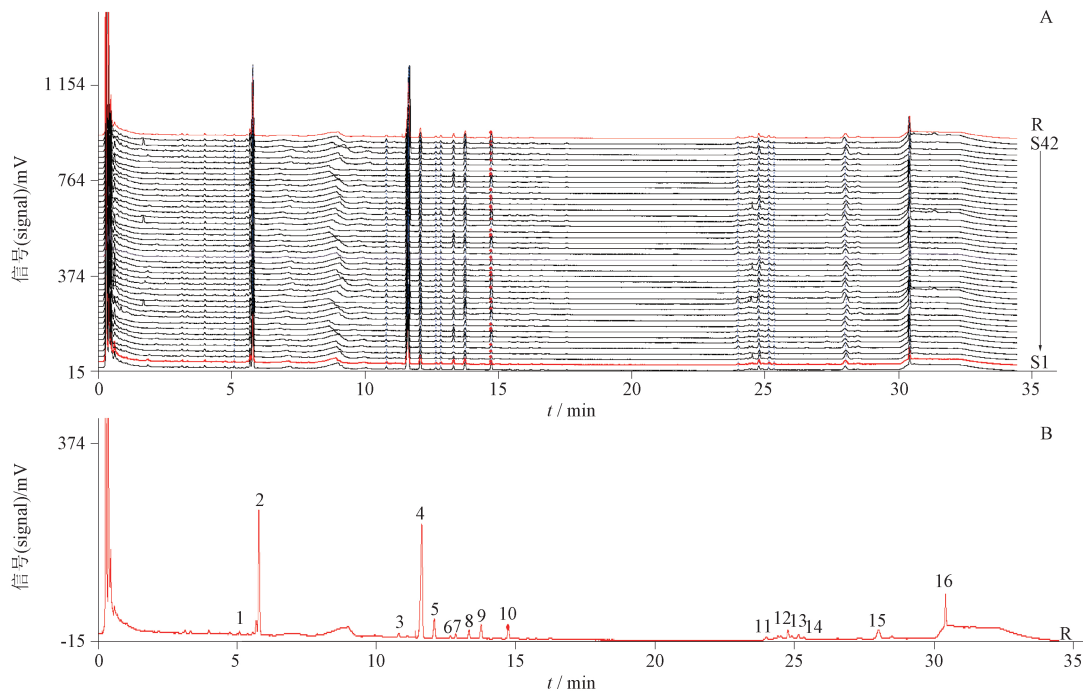


图2 42批西洋参的UPLC指纹图谱(A)和对照指纹图谱(B)

Fig.2 UPLC fingerprints (A) and reference fingerprint (B) of 42 batches of *Panax quinquefolius* L.

表1 西洋参指纹图谱相似度

Tab.1 Similarities of fingerprints of *Panax quinquefolius* L.

样品编号 (sample No.)	相似度 (similarity)	样品编号 (sample No.)	相似度 (similarity)	样品编号 (sample No.)	相似度 (similarity)
S1	0.978	S15	0.964	S29	0.964
S2	0.991	S16	0.977	S30	0.933
S3	0.963	S17	0.987	S31	0.964
S4	0.920	S18	0.992	S32	0.991
S5	0.986	S19	0.990	S33	0.976
S6	0.989	S20	0.934	S34	0.963
S7	0.972	S21	0.987	S35	0.987
S8	0.978	S22	0.987	S36	0.987
S9	0.928	S23	0.920	S37	0.920
S10	0.962	S24	0.938	S38	0.938
S11	0.958	S25	0.958	S39	0.936
S12	0.964	S26	0.980	S40	0.941
S13	0.986	S27	0.920	S41	0.972
S14	0.977	S28	0.965	S42	0.982

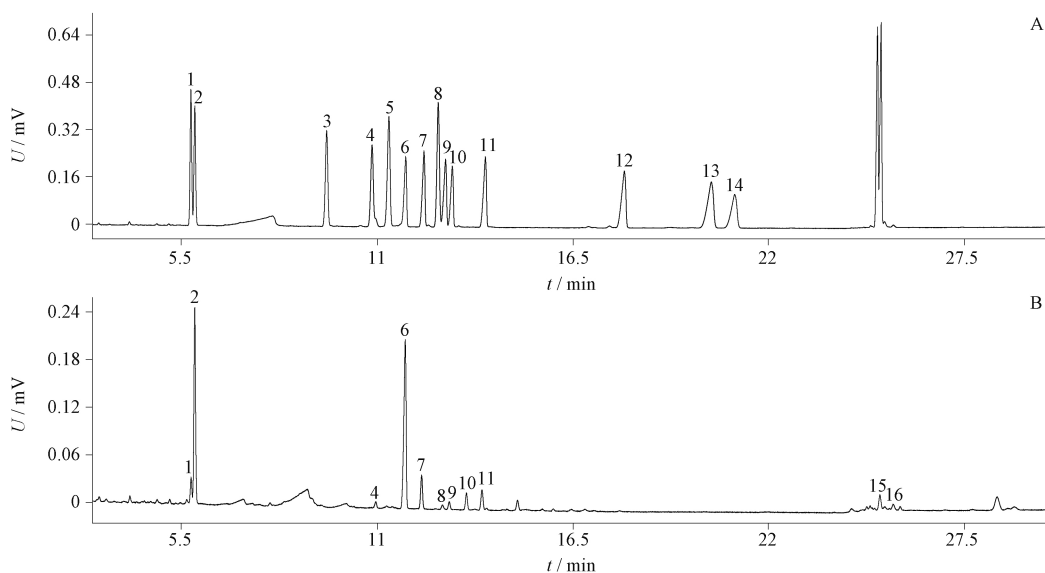
2.5 样品含量测定

2.5.1 线性关系考察 精密吸取“2.1”项系列混合对照品溶液各 2 μL,在“2.3”项色谱条件下测定,以

对照品的峰面积(*Y*)对相应的质量浓度(*X*)进行线性回归,得回归方程,结果见表 2。混合对照品溶液 UPLC 色谱图见图 3。

表 2 16 个人参皂苷类成分的线性回归方程、相关系数(*r*)及线性范围
Tab.2 Linear equations, coefficients(*r*), and linear ranges of 16 ginsenosides

人参皂苷(ginsenoside)	回归方程(calibration curves)	<i>r</i>	线性范围(linear ranges)/(mg · mL ⁻¹)
Rg ₁	$Y = 1.15 \times 10^6 X + 193$	0.999 6	0.050 0 ~ 1.000
Re	$Y = 9.94 \times 10^5 X + 185$	0.999 8	0.050 0 ~ 1.000
Rf	$Y = 1.10 \times 10^6 X - 2360$	0.999 3	0.050 0 ~ 1.000
20(S) - Rh ₁	$Y = 1.19 \times 10^6 X + 489$	0.999 9	0.050 0 ~ 1.000
20(R) - Rh ₁	$Y = 1.16 \times 10^6 X - 583$	0.999 9	0.050 0 ~ 1.000
Rb ₁	$Y = 2.36 \times 10^6 X + 139$	0.999 8	0.050 0 ~ 1.000
Rc	$Y = 9.61 \times 10^5 X + 598$	0.999 6	0.050 0 ~ 1.000
F ₁	$Y = 9.50 \times 10^5 X + 124$	0.999 8	0.050 0 ~ 1.000
Rb ₂	$Y = 7.77 \times 10^5 X - 252$	0.999 7	0.050 0 ~ 1.000
Rb ₃	$Y = 1.58 \times 10^6 X - 265$	0.999 6	0.050 0 ~ 1.000
Rd	$Y = 1.06 \times 10^6 X - 626$	0.999 6	0.050 0 ~ 1.000
F ₂	$Y = 1.19 \times 10^6 X - 402$	0.999 9	0.050 0 ~ 1.000
20(S) - Rg ₃	$Y = 1.43 \times 10^6 X - 451$	0.999 7	0.050 0 ~ 1.000
20(R) - Rg ₃	$Y = 1.74 \times 10^6 X + 1 190$	0.999 9	0.050 0 ~ 1.000
20(S) - Rh ₂	$Y = 8.39 \times 10^5 X + 2 820$	0.999 9	0.050 0 ~ 1.000
20(R) - Rh ₂	$Y = 2.28 \times 10^6 X + 1 200$	0.999 5	0.050 0 ~ 1.000



1. 人参皂苷 Rg₁ (ginsenoside Rg₁) 2. 人参皂苷 Re (ginsenoside Re) 3. 人参皂苷 Rf (ginsenoside Rf) 4. 20(S) - 人参皂苷 Rh₁ (20(S) - ginsenoside Rh₁) 5. 20(R) - 人参皂苷 Rh₁ (20(R) - ginsenoside Rh₁) 6. 人参皂苷 Rb₁ (ginsenoside Rb₁) 7. 人参皂苷 Rc (ginsenoside Rc) 8. 人参皂苷 F₁ (ginsenoside F₁) 9. 人参皂苷 Rb₂ (ginsenoside Rb₂) 10. 人参皂苷 Rb₃ (ginsenoside Rb₃) 11. 人参皂苷 Rd (ginsenoside Rd) 12. 人参皂苷 F₂ (ginsenoside F₂) 13. 20(S) - 人参皂苷 Rg₃ (20(S) - ginsenoside Rg₃) 14. 20(R) - 人参皂苷 Rg₃ (20(R) - ginsenoside Rg₃) 15. 20(S) - 人参皂苷 Rh₂ (20(S) - ginsenoside Rh₂) 16. 20(R) - 人参皂苷 Rh₂ (20(R) - ginsenoside Rh₂)

图 3 16 个人参皂苷对照品(A)及西洋参样品 S1(B)的 UPLC 图

Fig.3 UPLC chromatograms of 16 ginsenosides reference standards (A) and S1 sample of *Panax quinquefolius* L. (B)

2.5.2 精密度试验 取 $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液,每次进样 $2 \mu\text{L}$,连续进样 6 次,计算各成分峰面积的 RSD,结果 16 个人参皂苷成分峰面积的 RSD 分别为 1.2%、0.36%、0.15%、0.65%、0.14%、1.8%、1.6%、0.95%、1.0%、0.45%、0.24%、0.10%、0.11%、0.41%、0.67% 和 0.59%。

2.5.3 重复性试验 取 6 份 S1 样品粉末,精密称定,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,分别进样 $2 \mu\text{L}$,测定峰面积,计算 12 个人参皂苷类成分质量分数的 RSD。结果 12 个人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_1$ 、 Rb_1 、 Rc 、 F_1 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rd 、 F_2 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_2$ 、 $20(\text{R}) - \text{Rh}_2$ 的平均含量分别为 1.15、10.17、0.37、14.02、2.25、0.22、0.54、0.94、1.85、0.22、0.07、1.07 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 分别为 0.14%、1.8%、0.56%、2.6%、1.1%、0.80%、0.64%、2.1%、0.61%、1.1%、1.1% 和 0.39%。

2.5.4 稳定性试验 取 S1 样品的供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、10、12 和 24 h 进样 $2 \mu\text{L}$,测定各成分峰面积,计算 RSD。结果表明 12 个人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_1$ 、 Rb_1 、 Rc 、 F_1 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rd 、 F_2 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_2$ 、 $20(\text{R}) - \text{Rh}_2$ 峰面积的 RSD 分别为 0.74%、0.76%、0.46%、0.75%、0.24%、1.0%、0.44%、0.90%、0.16%、0.12%、0.57% 和 0.49%。

2.5.5 加样回收率试验 精密称取对照品人参皂

苷 Rg_1 、 Re 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_1$ 、 Rb_1 、 Rc 、 F_1 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rd 、 F_2 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_2$ 、 $20(\text{R}) - \text{Rh}_2$ 各 10 mg,分别置于 10 mL 量瓶中,80% 甲醇定容至刻度线,配制成质量浓度为 $1 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的各对照品溶液。置于 4°C 的冰箱内,临用稀释即可。精密称取 9 份 S1 样品粉末各 0.1 g,分别精密加入相当于样品中各待测成分含有量 80%、100% 和 120% 的各对照品溶液,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件进行测定,12 个人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_1$ 、 Rb_1 、 Rc 、 F_1 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rd 、 F_2 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_2$ 、 $20(\text{R}) - \text{Rh}_2$ 的平均加样回收率分别为 99.1%、99.6%、102.9%、100.3%、99.2%、99.2%、100.7%、98.1%、98.6%、101.3%、99.6% 和 101.1%,RSD 分别为 0.54%、1.6%、0.22%、1.0%、0.64%、2.1%、1.6%、1.1%、0.91%、0.18%、0.67% 和 0.23%。

2.5.6 样品测定 取 42 批西洋参样品,按“2.2”项下方法制备样品的供试品溶液,按“2.3”项下条件测定 16 个人参皂苷的含量,结果 42 批西洋参中人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_1$ 、 Rb_1 、 Rc 、 F_1 、 Rb_2 、 Rb_3 、 Rd 、 F_2 、 $20(\text{S}) - \text{Rh}_2$ 和 $20(\text{R}) - \text{Rh}_2$ 的含量均值分别为 (1.12 ± 0.35) 、 (11.44 ± 2.32) 、 (0.4 ± 0.47) 、 (14.94 ± 4.45) 、 (2.35 ± 0.81) 、 (0.18 ± 0.12) 、 (0.51 ± 0.16) 、 (0.78 ± 0.51) 、 (1.68 ± 0.57) 、 (0.14 ± 0.12) 、 (0.04 ± 0.12) 和 $(1.02 \pm 0.23) \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,42 批西洋参中 12 个人参皂苷含量结果见图 4。

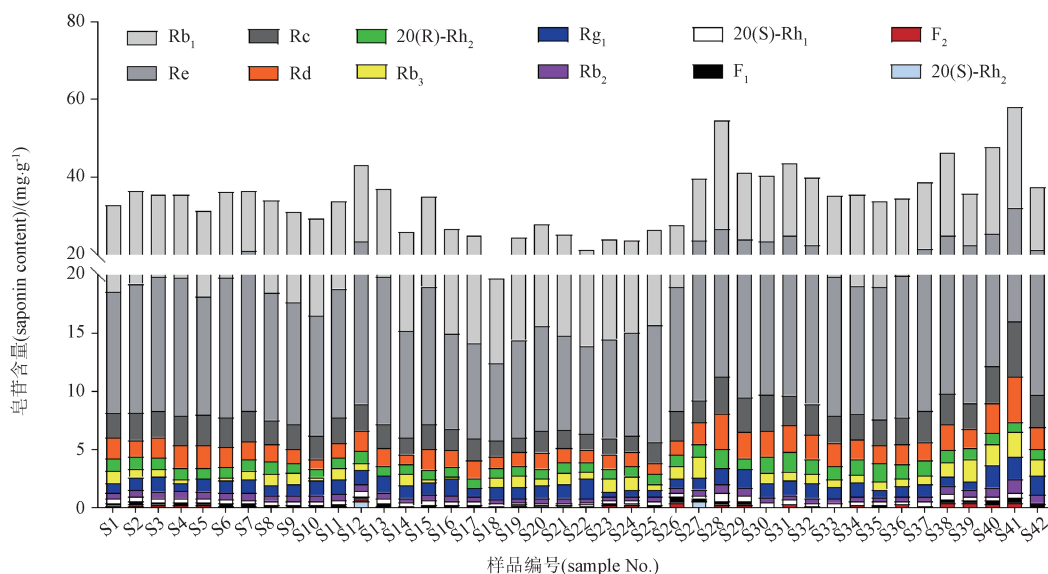


图 4 42 批西洋参的 12 个人参皂苷含量

Fig. 4 Contents of 12 ginsenosides in 42 batches of *Panax quinquefolius* L.

2.6 化学模式分析

为了进一步比较评价 42 批样品的稳定性,采用化学计量学方法,以测得的 12 个成分的含量为变量,对 42 批西洋参进行分析。

2.6.1 聚类分析 采用 SPSS23.0 软件对 42 批西洋参中人参皂苷含量进行系统聚类分析,数据采用不转换方式,采用欧式距离和 Ward linkage 法^[13-14],结果如图 5 所示。42 批不同产地的样品以检出的 12 个人参皂苷含量作为聚类变量。当 $d = 25$ 时,可聚为 2 类;S14、S16 ~ S26 聚为 1 类;其余聚成 1 类。

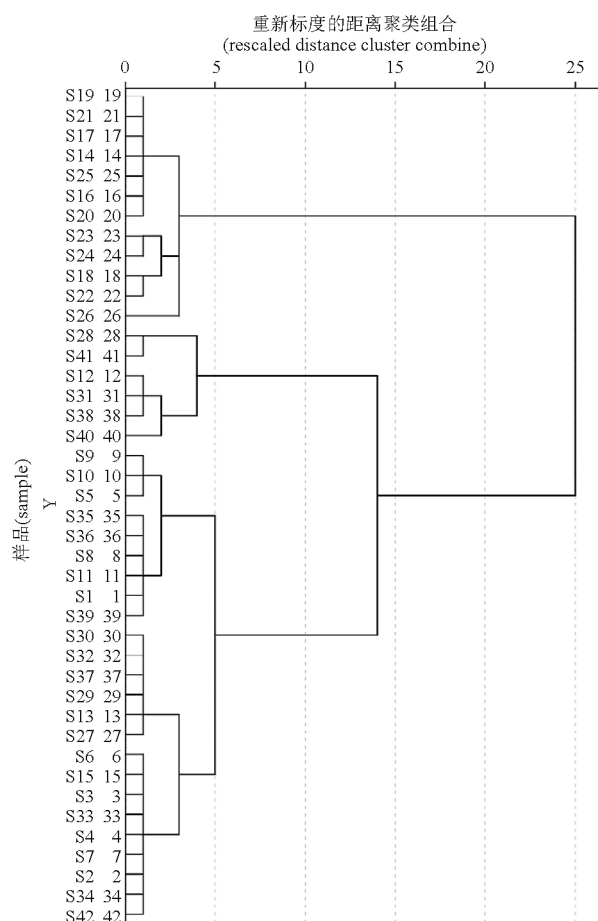


图 5 西洋参不同产地聚类分析树状图

Fig. 5 Dendrogram of cluster analysis of *Panax quinquefolius* L. from different habitats

2.6.2 主成分分析 主成分分析(principal component analysis, PCA)是常用的无监督分析方法,通过降低维度把相关性的指标转化为几个具有更高聚合度的主成分指标,可以最大限度地体现数据特征^[15]。利用 SPSS 26 软件对西洋参的 12 个人参皂

苷类成分进行 PCA,得到 12 个成分的特征值和累计贡献率,见表 3。根据特征值 > 1 ,提出的主成分有 4 个,其累积贡献率为 80.492%,包含了 42 批西洋参指纹图谱的主要信息,可以有效地解释不同产地西洋参品质特性的总变异。载荷的绝对值越大,对主成分的贡献越大,矩阵结果见表 4。人参皂苷 Re、Rb₁、Rc、F₁、Rb₂、Rd、F₂ 在第 1 主成分中有明显的载荷值;人参皂苷 20(S) - Rh₁、F₁ 在第 2 主成分中有明显的载荷值;人参皂苷 20(S) - Rh₁、20(R) - Rh₂ 在第 3 主成分中有明显的载荷值;人参皂苷 20(S) - Rh₂、Rb₃ 在第 4 主成分中有明显的载荷值。表明影响西洋参质量差异性的是多个成分,而不是单一成分。利用 SIMCA14.1 分析软件对其进行 PCA,结果见图 6。由 PCA 图可以看出,除 S26 和 S41 样品偏差较大,S14、S16 ~ S24 聚为 1 类;其余聚成 1 类,与聚类分析结果基本一致。由此说明,42 批西洋参中皂苷类成分具有较好的稳定性,差异性不大。

3 讨论与结论

本试验参照文献[16]的方法,考察了提取溶剂(甲醇、80% 甲醇、60% 甲醇、乙醇、80% 乙醇、60% 乙醇)、提取方法(加热回流法、超声提取法)、提取时间(30、60、90 min)、料液比(10:1、20:1、30:1)对西洋参药材提取效率的影响,发现加热回流法和超声提取法无显著性差异,以 80% 甲醇提取效率最高,且随提取时间和料液比的增加提取效率增加不显著,最终确定以 80% 甲醇作为提取溶剂,料液比 10:1,超声(300 W, 40 kHz)提取 30 min。在指纹图谱的分析过程中,考察了流动相流速(0.3、0.4、0.5 mL · min⁻¹)、不同有机相(乙腈、甲醇)对指纹图谱的影响,结果显示,流动相流速 0.4 mL · min⁻¹时,乙腈作为流动相获得的指纹图谱基线平稳,各个主要峰的分度良好。在全波长扫描下,203 nm 处色谱峰分离度良好,各峰吸收均匀,因此,最终选择 203 nm 作为检测波长。

42 批西洋参中人参皂苷 Rf、20(R) - Rh₁、20(S) - Rg₃、20(R) - Rg₃ 在各样品中均未检出。西洋参中不含有参皂苷 Rf,其为人参的特有成分^[17];人参皂苷 20(R) - Rh₁、20(S) - Rg₃ 和 20(R) - Rg₃ 未检出,可能是其本身在西洋参中含量较低。检出的 12 个人参皂苷类成分含量之间具有一定差异性,其中以人参皂苷 Rb₁ 和 Re 含量最高,占皂苷总量的 70%

表 3 主成分特征值及方差贡献率

Tab.3 Eigenvalue and variance contribution rate of principal component

主成分 (principal component)	特征值(eigenvalue)			提取平方和载入(extract sum of squares and load)		
	合计 (total)	方差贡献率 (variance contribution rate)/%	累积贡献率 (cumulative contribution rate)/%	合计 (total)	方差贡献率 (variance contribution rate)/%	累积贡献率 (cumulative contribution rate)/%
1	4.850	40.420	40.420	4.850	40.420	40.420
2	2.077	17.307	57.727	2.077	17.307	57.727
3	1.579	13.160	70.888	1.579	13.160	70.888
4	1.153	9.604	80.492	1.153	9.604	80.492
5	0.912	7.602	88.094			
6	0.597	4.976	93.070			
7	0.394	3.282	96.352			
8	0.174	1.453	97.805			
9	0.142	1.187	98.992			
10	0.076	0.630	99.621			
11	0.041	0.342	99.963			
12	0.004	0.037	100.000			

表 4 初始因子载荷矩阵

Tab.4 Initial factor load matrix

人参皂苷 (ginsenoside)	主成分载荷(principal component loading)			
	1	2	3	4
Rb ₁	0.851	-0.428	-0.103	-0.070
Re	0.836	-0.394	0.140	0.083
Rc	0.815	0.318	0.306	-0.149
Rd	0.883	-0.266	-0.116	-0.112
20(R) - Rh ₂	0.309	-0.682	0.587	-0.139
Rb ₃	0.318	0.143	-0.030	0.692
Rg ₁	0.502	-0.079	-0.572	-0.196
Rb ₂	0.842	0.171	-0.437	0.016
20(S) - Rh ₁	0.286	0.610	0.638	-0.090
F ₁	0.576	0.717	-0.188	0.108
F ₂	0.639	0.254	0.356	0.059
20(S) - Rh ₂	0.058	-0.310	0.091	0.739

以上;人参皂苷 Rc、Rd 和 Rg₁ 和占皂苷总量的 20% 以上,其次依次为人参皂苷 20(R) - Rh₂、Rb₃、Rb₂、20(S) - Rh₁、F₁、F₂、20(S) - Rh₂。2020 年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)对西洋参中人参皂苷 Rg₁、Re 和 Rb₁ 的含量进行了规定,要求之和 $\geq 2.0\%$ ^[1]。42 批样品的不合格率为 16.67%,不合格样品分别为 S17、S18、S19、S21、S22、S23 和 S24。参考 GB/T 36397 - 2018《西洋参分等质量》中

对人参皂苷 Rb₁ 的含量要求 $\geq 2.0\%$, Rg₁、Re 之和 $\geq 0.6\%$ 。42 批样品人参皂苷 Rg₁、Re 之和均 $> 0.6\%$,仅 S28、S38、S40 和 S41 样品中人参皂苷 Rb₁ 的含量 $> 2.0\%$ 。42 批中 35 批样品符合 2020 年版《中国药典》对人参皂苷含量的要求,但其人参皂苷 Rb₁ 的含量偏低。

2020 年版《中国药典》规定西洋参一般为秋季采收,文献报道证明西洋参药材在秋季休眠期采收

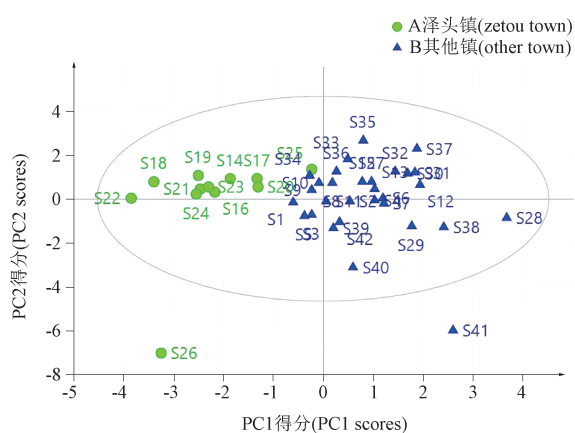


图6 西洋参 PCA 图

Fig.6 PCA plot of *Panax quinquefolius* L.

最佳,早则药势未成,晚则盛势已歇^[18]。生长年限对西洋参中活性成分也有一定影响,李嘉欣等^[19]对不同生长年限西洋参中皂苷含量研究表明,1~4年生西洋参中人参皂苷含量随生长年限增加而升高。西洋参的干燥温度越高干燥时间缩短,干燥温度 $> 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时会引起人参皂苷损失,相较于低温度长时间干燥,高温短干燥时西洋参中人参皂苷含量损失较低,因此一般采用较高温(40~55 $^{\circ}\text{C}$)干燥。任何贮存条件都会引起西洋参中人参皂苷损失,贮存温度20 $^{\circ}\text{C}$ 时损失率在4.5%左右,当温度 $> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,损失率达8%,温度越高损失率越高,在非冷藏储存成本较低条件下人参皂苷的损失率较高是可以接受的。除以上因素外,产地是影响西洋参中活性成分的另一重要因素,陈军辉等^[20]的研究表明,西洋参产地的经纬度、日照时间、无霜期、降水量、土壤特性等因素导致其活性成分含量呈现地域差异,不同产地甚至相同产地不同地点的西洋参中活性成分含量存在一定差异,即道地产地对西洋参活性成分含量存在较大影响。综上所述西洋参的质量差异性是由多因素、多条件、多成分共同作用的结果,并非单一因素或单一成分作用的结果。

本研究采用UPLC-PDA法对山东省42批西洋参中16个人参皂苷类成分进行测定,建立了西洋参UPLC指纹图谱,分析了其相似性,化学计量分析结果表明只有S26和S41这2个离群样品,其他40个样品的聚集均较好。结果表明山东地区的42批西洋参所含化学成分基本一致,所建立的指纹图谱可

用于西洋参的鉴定与质量控制。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典2020年版.一部[S].2020:136
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 136
- [2] 丁涛,尚智,温富春,等.西洋参茎叶总皂甙对小鼠腹腔巨噬细胞免疫功能作用的研究[J].长春中医药大学学报,2007,23(6):14
DING T, SHANG Z, WEN FC, et al. Effects of total saponins from *Panax quinquefolius* L. stems and leaves on the immune function of mouse peritoneal macrophages[J]. J Changchun Univ Chin Med, 2007, 23(6): 14
- [3] LI ZM, ZHAO LJ, CHEN JB, et al. Ginsenoside Rk1 alleviates LPS-induced depression-like behavior in mice by promoting BDNF and suppressing the neuroinflammatory response[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 530(4): 658
- [4] KING L, MURPHY LL. Role of cyclin inhibitor protein p21 in the inhibition of HCT116 human colon cancer cell proliferation by American ginseng (*Panax quinquefolius*) and its constituents[J]. Phytomedicine, 2010, 17(3-4): 261
- [5] WANG XX, WANG CM, WANG JM, et al. Pseudoginsenoside F11 (PF11) exerts anti-neuroinflammatory effects on LPS-activated microglial cells by inhibiting TLR4-mediated TAK1/IKK/NF- κ B, MAPKs and Akt signaling pathways[J]. Neuropharmacology, 2014, 79: 642
- [6] SHAO ZH, XIE JT, VANDEN HOEK TL, et al. Antioxidant effects of American ginseng berry extract in cardiomyocytes exposed to acute oxidant stress[J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1670(3): 165
- [7] KIM MH, LEE J, JUNG S, et al. The involvement of ginseng berry extract in blood flow via regulation of blood coagulation in rats fed a high-fat diet[J]. J Ginseng Res, 2017, 41(2): 120
- [8] 杨雄,楚世峰.人参皂苷Rg₁和Rb₁在神经退行性疾病治疗中的作用[J].神经药理学报,2018,8(6):56
YANG X, CHU SF. The role of ginsenosides Rg₁ and Rb₁ in the treatment of neurodegenerative diseases[J]. Acta Neuropharmacol, 2018, 8(6): 56
- [9] 赵云利,吴华彰,杨晶,等.西洋参皂甙对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J].中国生物制品学杂志,2011,24(3):305
ZHAO YL, WU HZ, YANG J, et al. Effect of panax ginsenoside on immunological function of immunosuppressive mice[J]. Chin J Biol, 2011, 24(3): 305
- [10] 孙小单,王天鸣,李慧,等.人参皂苷Rh₂抑制人非小细胞肺癌细胞增殖的机制研究[J].中草药,2022,53(2):441
SUN XD, WANG TM, LI H, et al. Mechanism of ginsenoside Rh₂ on inhibiting proliferation of human non-small cell lung cancer cells[J]. Chin Tradit Herb Drug, 2022, 53(2): 441
- [11] 郑维维,张珊,唐彧,等.基于CCL20/CCR6探讨人参皂苷Rh₁调控乳腺癌细胞外渗的作用机制[J].中国药理学与毒理学杂志,2021,35(10):756

- ZHENG WW, ZHANG S, TANG Y, *et al.* The mechanism of ginsenoside Rb₁ in regulating breast cancer cell extravasation based on CCL20/CCR6[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2021, 35(10): 756
- [12] TANG X, GAN XT, RAJAPUROHITAM V, *et al.* North American ginseng (*Panax quinquefolius*) suppresses β -adrenergic-dependent signalling, hypertrophy, and cardiac dysfunction[J]. *Can J Physiol Pharm*, 2016, 94(12): 1325
- [13] 陆雨顺, 张燕婷, 夏蕴实, 等. 不同形态鹿茸游离氨基酸的含量测定及质量评价应用研究[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(6): 1587
- LU YS, ZHANG YT, XIA YS, *et al.* Quality assessment of different forms of Cervi Cornu Pantotrichum based on content of free amino acids[J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(6): 1587
- [14] 宋江峰, 刘春泉, 姜晓青, 等. 基于主成分与聚类分析的菜用大豆品质综合评价[J]. *食品科学*, 2015, 36(13): 12
- SONG JF, LIU CQ, JIANG XQ, *et al.* Comprehensive evaluation of vegetable soybean quality by principal component analysis and cluster analysis[J]. *Food Sci*, 2015, 36(13): 12
- [15] 刘俊文, 徐美利, 徐冰, 等. 西洋参不同部位皂苷成分研究[J]. *天津中医药*, 2019, 36(7): 715
- LIU JW, XU ML, XU B, *et al.* Study on the components of saponins in different parts of *Panax quinquefolius* L. [J]. *Tianjin J Tradit Chin Med*, 2019, 36(7): 715
- [16] 陈丽雪, 曲迪, 华梅, 等. 不同年生和不同部位人参样品有效成分的比较[J]. *食品科学*, 2019, 40(8): 124
- CHEN LX, QU D, HUA M, *et al.* A comparative study of effective components in *Panax ginseng* C. A. Mey. samples from different parts and ages[J]. *Food Sci*, 2019, 40(8): 124
- [17] 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(3): 199
- XU J, JIA L, ZHAO YQ. Constituents of *Panax ginseng* C. A. Mey. and quality evaluation of *Panax ginseng* C. A. Mey. products[J]. *Drug Eval Res*, 2011, 34(3): 199
- [18] 尹春梅, 李秀昌, 孙佳明, 等. 西洋参中人参总皂苷含量的聚类分析[J]. *吉林农业大学学报*, 2010, 32(3): 289
- YIN CM, LI XC, SUN JM, *et al.* Cluster analysis of content of total saponin in *Panax quinquefolius* L. [J]. *J Jilin Agric Univ*, 2010, 32(3): 289
- [19] 李嘉欣, 李梦瑶, 张单丽, 等. HPLC法同时测定不同生长年限、部位西洋参中2类成分[J]. *中成药*, 2020, 42(10): 2670
- LI JX, LI MY, ZHANG DL, *et al.* Simultaneous determination of two types of constituents in *Panax quinquefolius* L. with different growing years and parts by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2020, 42(10): 2670
- [20] 陈军辉, 谢明勇, 章志明, 等. 12种西洋参中总皂苷及人参皂苷Rb₁的测定比较[J]. *时珍国医国药*, 2005(9): 845
- CHEN JH, XIE MY, ZHANG ZM, *et al.* Determination and comparison of the contents of total ginsenoside and ginsenoside Rb₁ in 12 kinds of *Panax quinquefolius* L. [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2005(9): 845

(本文于2024年1月17日修改回)