

吉产不同生长年限人参中8种主要人参皂苷与人参皂苷Rg₁比值的变化规律研究^Δ

余江锋^{1*}, 李育平¹, 何伟¹, 杨剑湖², 贝伟剑^{1#}, 郭姣¹[1.广东药科大学中医药研究院/广东省代谢性疾病中西医结合研究中心, 广州 510006; 2.国药集团冯了性(佛山)药业有限公司, 广东佛山 528000]

中图分类号 R931.5; R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)01-0031-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.01.07

摘要 目的:探讨吉产不同生产年限人参中8种主要人参皂苷与人参皂苷Rg₁的比值的变化规律,为其生长年限的鉴别提供参考。方法:收集吉林省不同生长年限(3~30年)的园参、林下参、野山参样品,采用高效液相色谱法(HPLC)测定人参中人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd等8种成分的含量;计算各皂苷单体含量及8种人参皂苷总含量分别与人参皂苷Rg₁含量的比值,并探究该比值与生长年限的关系。结果:随人参生长年限的增长,园参中8种人参皂苷总含量与人参皂苷Rg₁的比值及人参皂苷Re、Rb₁、Rc、Rd单体含量与人参皂苷Rg₁的比值均逐渐减小($P < 0.001$),林下参中人参皂苷Re与人参皂苷Rg₁的比值呈先减小后增加趋势($P < 0.001$),野山参中8种人参皂苷总含量与人参皂苷Rg₁的比值及人参皂苷Re、Rb₁与人参皂苷Rg₁的比值均逐渐增加($P < 0.001$),而园参、林下参、野山参中人参皂苷Rf、Rb₃与人参皂苷Rg₁的比值则均无明显差异($P > 0.05$)。结论:园参、林下参、野山参均含有8种人参皂苷成分,可根据人参皂苷Rg₁含量和人参皂苷Re、Rb₁单体含量与人参皂苷Rg₁的比值初步推测其生长年限。

关键词 吉林省;人参;生长年限;人参皂苷

Study on the Proportion Regularity of 8 Kinds of Ginsenoside to Ginsenoside Rg₁ in *Panax ginseng* of Different Growth Years in Jilin Province

YU Jiangfeng¹, LI Yuping¹, HE Wei¹, YANG Jianhu², BEI Weijian¹, GUO Jiao¹[1. Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University/Guangdong Metabolic Diseases Research Center of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Sinopharm Group Fengliaoxing (Foshan) Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Foshan 528000, China]

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the proportion of 8 kinds of ginsenoside to ginsenoside Rg₁ in *Panax ginseng* and the regularity of growth year in Jilin province, and to provide reference for the identification of growth year. **METHODS:** The samples of garden ginseng, wild-cultivated ginseng and wild ginseng were collected from different growth years (3-30 years) in Jilin province. The contents of 8 ginsenoside (ginsenoside Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rb₃, Rd) in *P. ginseng* were determined by HPLC. The contents of saponins as well as the proportion of 8 kinds of ginsenoside to ginsenoside Rg₁ were calculated; the relationship of the proportion with growth year was investigated. **RESULTS:** As the increase of growth year, the proportion of 8 kinds of ginsenosides in garden ginseng to ginsenoside Rg₁ as well as that of ginsenoside Re, Rb₁, Rc, Rd to ginsenoside Rg₁ were decreased gradually ($P < 0.001$); the proportion of ginsenoside Re to ginsenoside Rg₁ in wild-cultivated ginseng decreased first and then increased ($P < 0.001$); the proportion of 8 kinds of ginsenosides to ginsenoside Rg₁ as well as the proportion of ginsenoside Re and Rb₁ to ginsenoside Rg₁ were increased gradually in wild ginseng ($P < 0.001$); the proportion of ginsenoside Rf, Rb₃ to ginsenoside Rg₁ in garden ginseng, wild-cultivated ginseng and wild ginseng had no significant difference ($P > 0.05$). **CONCLUSIONS:** Garden ginseng, wild-cultivated ginseng and wild ginseng contain 8 kinds of ginsenosides. The growth year can be predicted preliminarily according to the proportion of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re, Rb₁ to ginsenoside Rg₁.

KEYWORDS Jilin province; *Panax ginseng*; Growth years; Ginsenoside

人参是五加科(*Araliaceae*)植物人参(*Panax gin-*

^Δ基金项目:国家自然科学基金面上项目(No.81473588);广东省2013年度重大科技专项资金项目(No.2013A022100041);广东省建设中医药强省科研课题(No.20151269)

* 硕士研究生。研究方向:中药提取工艺与质量标准。电话:020-39352607。E-mail:15975637720@163.com

通信作者:研究员,博士。研究方向:中药新药研发与质量分析。电话:020-39352607。E-mail:13660020495@139.com

seng C.A.Meyer.)的干燥根和根茎,人工栽培于园地的称“园参”,播种在山林自然生长的称“林下参”,而自然传播、野生状态下生长于深山密林的称“野山参”。人参具有大补元气、复脉固脱、补脾益肾、生津养血、安神益智之功效^[1]。有研究表明,人参皂苷具有提高人体免疫力、促进物质代谢、改善心血管功能、抗肿瘤、抗疲劳、抗衰老等多种作用^[2-4]。现已知的人参皂苷单体有50余种,其中

人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd是人参的主要活性成分,其质量分数占人参总皂苷的90%以上^[5-6]。因人参是贵重药材,且存在不同产地、不同生长年限和不同药用部位等区分,国内外对人参的研究较多,但多集中于测定方法、药理活性、生物转化等方面^[7],而通过各单体人参皂苷之间的比例对人参进行分析的研究尚未见文献报道。本文笔者收集和鉴定了吉产3~30年的不同人参样品,包括园参、林下参、野山参,测定了人参样品中人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd等8种主要成分的含量。由于人参皂苷Rg₁在对人体的神经系统和心血管系统方面有很强的药理活性^[8-9],因此笔者设计以人参皂苷Rg₁含量为分母,计算各人参皂苷含量与人参皂苷Rg₁含量的比值,探讨该比值与人参生长年限的变化规律,以期为园参、林下参、野山参生长年限的鉴别和质量鉴识提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Dionex Ultimate 3000 高效液相色谱仪,包括四元梯度泵、柱温箱、自动进样器、二极管阵列检测器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Elmasonic P 300 H 超声波清洗器(德国 Elma 公司);BT224S 万分之一与 BT125D 十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司)。

1.2 药品与药材

人参皂苷Rg₁(批号:110703-201731,纯度:93.6%)、Re(批号:110754-201626,纯度:97.4%)、Rf(批号:111719-201505,纯度:98%)、Rb₁(批号:110704-201625,纯度:95.0%)、Rb₂(批号:111715-201203,纯度:93.8%)、Rb₃(批号:111686-201504,纯度:97.0%)、Rd(批号:111818-201302,纯度:94.2%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;人参皂苷Rc对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号:MUST-12052705,纯度:98%);甲醇、乙腈(德国 Merck 公司,色谱纯);其他试剂均为分析纯,超纯水由 Veolia 水处理系统制得(英国 ELGA 公司)。15 批次人参药材样品均产自吉林省白山市抚松县,购自吉林省参源商贸有限公司,经广东药科大学中药学院曾令杰教授鉴定,确定为五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的干燥根和根茎,具体来源信息见表1。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 混合对照品溶液 取人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL 含人参皂苷Rg₁ 247.44 μg、Re 271 μg、Rf 103.9 μg、Rb₁ 594.9 μg、Rc 323.2 μg、Rb₂ 213.2 μg、Rb₃ 61.5 μg、Rd 70.8 μg的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 取样品S4人参粉末(过4号筛)约

表1 15批次人参药材来源信息

Tab 1 Sources of 15 batches of *P. ginseng*

编号	品种	生长年限	收集日期	来源
S1	园参	3年	2016.10.16	吉林省白山市抚松县
S2	园参	4年	2016.10.16	吉林省白山市抚松县
S3	园参	5年	2016.10.16	吉林省白山市抚松县
S4	园参	6年	2016.10.28	吉林省白山市抚松县
S5	园参	7年	2016.10.03	吉林省白山市抚松县
S6	园参	8~9年	2016.10.10	吉林省白山市抚松县
S7	林下参	8~10年	2016.10.16	吉林省白山市抚松县
S8	林下参	11~12年	2016.10.16	吉林省白山市抚松县
S9	林下参	13~14年	2016.10.23	吉林省白山市抚松县
S10	林下参	15年	2016.10.23	吉林省白山市抚松县
S11	林下参	16~18年	2016.10.23	吉林省白山市抚松县
S12	野山参	8~10年	2016.08.22	吉林省白山市抚松县
S13	野山参	11~12年	2016.08.22	吉林省白山市抚松县
S14	野山参	15~18年	2016.08.20	吉林省白山市抚松县
S15	野山参	30年	2016.08.28	吉林省白山市抚松县

1 g,精密称定,置于50 mL锥形瓶中,加入70%甲醇20 mL,超声(功率:300 W,频率:37 kHz)处理50 min,滤过,置于25 mL量瓶中,滤渣用70%甲醇洗涤,并定容至刻度,摇匀,续滤液经0.22 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.1.3 空白对照溶液 取70%甲醇溶剂适量经0.22 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2 人参药材中8种人参皂苷成分的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil M05CLA15-C₁₈(150 mm×4.6 mm,5.0 μm),Phenomenex KJ0-4282 预柱;流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱:0~15 min 19% A,15~25 min 19%~20% A,25~45 min 20%~31% A,45~55 min 31%~35% A,55~65 min 35%~40% A,65~66 min 40%~19% A;流速:1.0 mL/min;柱温:35 ℃;检测波长:203 nm;进样量:10 μL。该色谱条件下,理论板数按人参皂苷Rg₁峰计应不低于6 000。取“2.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液和空白对照溶液进样分析,结果显示,供试品溶液中8种人参皂苷成分均可被检测出,且分离度均在1.5以上,空白对照对其测定无干扰,色谱图见图1。

2.2.2 线性关系 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液1、2.5、4、6、8、10 mL,分别置于10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以峰面积为纵坐标(y)、对照品质量浓度为横坐标(x)进行回归分析,结果见表2。

2.2.3 检测限与定量限 取8种人参皂苷单一对照品溶液适量,用甲醇分别按照一定的比例进行稀释,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。当信噪比为3:1时得检测限;当信噪比为10:1时得定量限。结果显示,人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd的检测限分别为1.732、1.951、0.374、0.793、0.515、0.895、0.275、0.708 μg/mL,定量限分别为4.949、5.366、0.623、

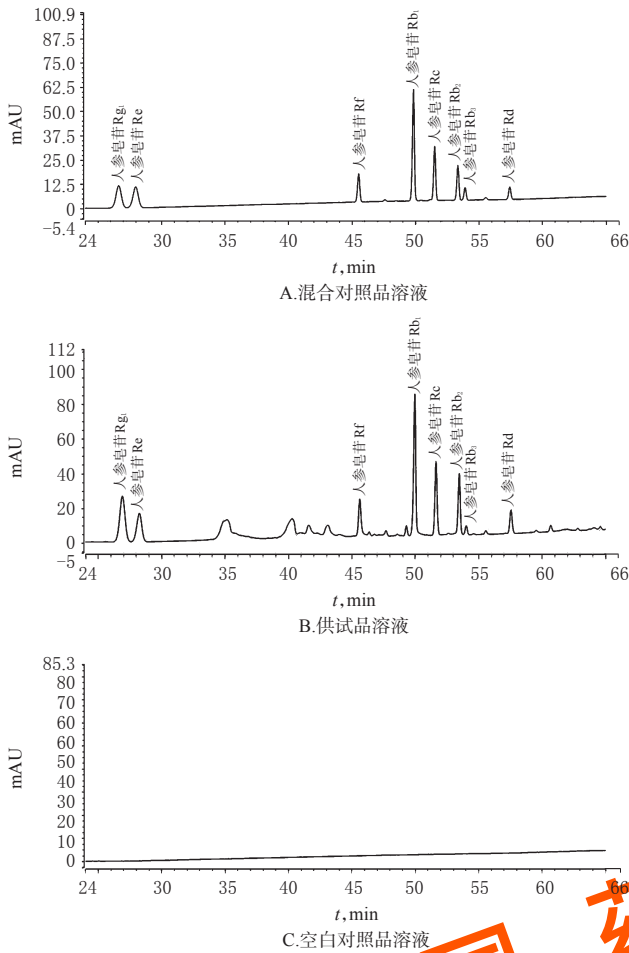


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

表2 8种人参皂苷的线性关系

Tab 2 Linear relationship of 8 kinds of ginsenoside

人参皂苷	线性回归方程	<i>r</i> ²	线性范围, μg/mL
Rg ₁	$y=0.0481x-0.1259$	0.9996	24.744~247.440
Re	$y=0.0412x-0.1314$	0.9994	27.100~271.000
Rf	$y=0.0607x-0.0530$	0.9993	10.390~103.900
Rb ₁	$y=0.0368x-0.1454$	0.9992	59.490~594.900
Rc	$y=0.0328x-0.0835$	0.9993	32.320~323.200
Rb ₂	$y=0.0343x-0.0604$	0.9993	21.320~213.200
Rb ₃	$y=0.0447x-0.0304$	0.9993	6.150~61.500
Rd	$y=0.0410x-0.0240$	0.9990	7.080~70.800

1.586、0.776、1.492、0.615、1.848 μg/mL。

2.2.4 精密度 取人参样品(S4)的供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,人参样品中的人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd峰面积的RSD分别为0.43%、0.44%、1.16%、0.35%、0.38%、0.49%、1.89%、0.71% (*n*=6),表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性 取人参样品(S4)的供试品溶液,在室温避光环境下放置0、2、4、8、12、24 h后,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,人参样品中人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd峰面积的

RSD分别为0.54%、0.50%、2.98%、1.60%、2.68%、1.90%、0.68%、1.59% (*n*=6),表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.2.6 重复性 取人参样品(S4)粉末(过4号筛)1 g,平行6份,按“2.1.2”项下方法制备成供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算含量。结果显示,人参样品中人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd的平均含量分别为4.69、3.53、1.28、5.86、4.78、3.19、0.38、1.05 mg/g (*n*=6),峰面积的RSD分别为0.91%、1.23%、2.09%、1.05%、1.39%、1.64%、2.53%、1.80% (*n*=6),表明该分析方法重复性良好。

2.2.7 准确度 取已知含量的人参粉末0.5 g,平行6份,精密称定,置于50 mL锥形瓶中,分别加入8种人参皂苷对照品溶液(对照品加入量与样品中待测成分之比为1:1),按“2.1.2”项下方法制备成供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,以测定值与真实值的比值计算回收率。结果表明,该方法准确度良好,回收率结果见表3。

表3 回收率结果(*n*=6)

Tab 3 Results of recovery (*n*=6)

人参皂苷	平均回收率, %	RSD, %
Rg ₁	99.88	0.80
Re	100.07	1.95
Rf	99.58	1.70
Rb ₁	100.40	1.75
Rc	97.27	2.20
Rb ₂	96.78	1.37
Rb ₃	97.86	1.94
Rd	101.36	2.15

2.2.8 样品含量 先按2015年版《中国药典》(一部)中相关标准^[1]测定15批人参药材中人参皂苷Rg₁、Re和Rb₁的含量,以百分含量(%)表示,以判断15批人参药材是否符合《中国药典》相关标准。再分别取各批次人参药材粉末(过4号筛)1 g,精密称定,平行3份,按照“2.1.2”项下方法制备成供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定其中人参皂苷Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd的含量,由于部分人参皂苷单体含量较少,故统一以质量浓度(mg/g)表示。15批人参药材中8种人参皂苷含量测定结果见表4。

从表4结果可以看出,15批人参药材中均含有8种人参皂苷成分,其中人参皂苷Rg₁与Re含量之和不低于0.30%、Rb₁含量不低于0.20%,均符合2015年版《中国药典》一部中相关标准。从8种人参皂苷成分的含量结果可以看出,园参与野山参中人参皂苷Rg₁含量随生长年限的增长而逐渐增加,野山参中人参皂苷Rg₁含量在生长年限满11年后趋于稳定;林下参中人参皂苷Rg₁含量随生长年限的增长先增加后减少,其中生长年限为

13~14年时人参皂苷R_{g₁}含量达峰值。

表4 15批人参药材中8种人参皂苷含量的测定结果 (n=3)

Tab 4 Contents of 8 kinds of ginsenoside in 15 batches of *P. ginseng* (n=6)

人参药材	R _{g₁} , Re,%	R _{b₁} , %	8种皂 苷,%	R _{g₁} , mg/g	Re, mg/g	R _f , mg/g	R _{b₁} , mg/g	R _c , mg/g	R _{b₂} , mg/g	R _{b₃} , mg/g	R _d , mg/g
3年园参	0.70	0.55	2.15	3.52	3.47	0.72	5.53	3.62	3.23	0.36	1.08
4年园参	0.69	0.52	2.12	3.60	3.33	0.82	5.17	3.65	3.17	0.34	1.08
5年园参	0.79	0.55	2.26	4.31	3.63	1.01	5.51	4.28	2.38	0.31	1.14
6年园参	0.85	0.59	2.44	4.69	3.78	0.88	5.91	4.48	3.19	0.38	1.05
7年园参	0.84	0.59	2.23	4.70	3.73	1.05	5.89	3.67	2.30	0.30	0.67
8~9年园参	0.88	0.69	2.32	5.86	2.96	1.16	6.92	3.43	1.92	0.27	0.68
8~10年林下参	0.70	0.59	2.01	3.56	3.48	0.73	5.87	3.44	1.90	0.27	0.85
11~12年林下参	0.74	0.68	2.23	3.79	3.58	0.84	6.77	3.82	2.02	0.29	1.19
13~14年林下参	0.82	0.76	2.48	4.64	3.54	0.97	7.56	3.69	2.67	0.32	1.37
15年林下参	0.92	0.76	2.55	4.30	4.87	0.99	7.63	3.65	2.88	0.39	0.80
16~18年林下参	0.90	0.84	2.77	4.17	4.81	0.80	8.41	4.26	3.54	0.43	1.32
8~10年野山参	0.66	0.60	2.06	4.39	2.25	1.06	6.00	3.73	1.43	0.20	1.54
11~12年野山参	0.71	0.73	2.27	4.60	2.46	0.91	7.33	2.96	3.11	0.40	0.99
15~18年野山参	0.75	0.86	2.52	4.57	2.89	1.10	8.59	4.44	1.84	0.27	1.54
30年野山参	0.90	1.07	3.21	4.69	4.32	1.36	10.66	5.43	4.09	0.43	1.08

2.3 样品中8种人参皂苷含量与人参皂苷R_{g₁}含量比值的分析

以人参皂苷R_{g₁}含量为分母,计算15批次人参药材中8种人参皂苷含量与人参皂苷R_{g₁}的比值,并采用SPSS 20.0软件进行方差分析,不同生长年限园参、林下参、野山参中各人参皂苷与人参皂苷R_{g₁}的比值结果分别见表5、表6、表7。

表5 不同生长年限园参中各人参皂苷与人参皂苷R_{g₁}的比值变化 (n=3)

Tab 5 Proportion change of each ginsenoside to ginsenoside R_{g₁} in garden ginseng with different growth years (n=3)

生长年限	R _{g₁} ,mg/g	Re/R _{g₁}	R _f /R _{g₁}	R _{b₁} /R _{g₁}	R _c /R _{g₁}	R _{b₂} /R _{g₁}	R _{b₃} /R _{g₁}	R _d /R _{g₁}	8种皂苷/R _{g₁}
3年	3.52	0.99	0.20	1.57	1.03	0.92	0.10	0.31	6.12
4年	3.60	0.92	0.23	1.43	1.01	0.88	0.09	0.30	5.88
5年	4.31	0.84	0.23	1.28	0.99	0.55	0.07	0.27	5.24
6年	4.69	0.81	0.19	1.26	0.96	0.68	0.08	0.22	5.20
7年	4.70	0.79	0.22	1.25	0.78	0.49	0.06	0.14	4.75
8~9年	5.86	0.50	0.20	1.18	0.58	0.33	0.05	0.12	3.96
P	-	<0.001	>0.05	<0.001	<0.001	-	>0.05	<0.001	<0.001

注:“-”表示该比值无明显变化规律

Note:“-” mean there is no obvious change in the ratio

从表5结果可以看出,随生长年限的增长,园参中8种皂苷总量与R_{g₁}的比值及人参皂苷Re、R_{b₁}、R_c、R_d与R_{g₁}的比值均逐渐减小(P<0.001)。其中4年以下园参的人参皂苷R_{g₁}含量<4.00 mg/g且Re/R_{g₁}≥0.90、R_{b₁}/R_{g₁}≤1.60,5年以上园参的人参皂苷R_{g₁}含量>4.30 mg/g且Re/R_{g₁}<0.90、R_{b₁}/R_{g₁}≤1.30。3~9年的园参中人参皂苷R_f、R_{b₃}与人参皂苷R_{g₁}的比值均无明显变化

(P>0.05)。

表6 不同生长年限林下参中各人参皂苷与人参皂苷R_{g₁}的比值变化 (n=3)

Tab 6 Proportion change of each ginsenoside to ginsenoside R_{g₁} in wild-cultivated ginseng with different growth years (n=3)

生长年限	R _{g₁} ,mg/g	Re/R _{g₁}	R _f /R _{g₁}	R _{b₁} /R _{g₁}	R _c /R _{g₁}	R _{b₂} /R _{g₁}	R _{b₃} /R _{g₁}	R _d /R _{g₁}	8种皂苷/R _{g₁}
8~10年	3.56	0.98	0.20	1.65	0.97	0.53	0.08	0.24	5.65
11~12年	3.39	0.94	0.22	1.79	1.01	0.53	0.08	0.31	5.89
13~14年	4.64	0.76	0.21	1.63	0.79	0.57	0.07	0.29	5.33
15年	4.30	1.13	0.23	1.77	0.85	0.67	0.09	0.19	5.93
16~18年	4.17	1.15	0.19	2.02	1.02	0.85	0.10	0.32	6.65
P	-	<0.001	>0.05	-	-	-	>0.05	-	<0.001

注:“-”表示该比值无明显变化规律

Note:“-” mean there is no obvious change in the ratio

表7 不同生长年限野山参中各人参皂苷与人参皂苷R_{g₁}的比值变化 (n=3)

Tab 7 Proportion change of each ginsenoside to ginsenoside R_{g₁} in wild ginseng with different growth years (n=3)

生长年限	R _{g₁} ,mg/g	Re/R _{g₁}	R _f /R _{g₁}	R _{b₁} /R _{g₁}	R _c /R _{g₁}	R _{b₂} /R _{g₁}	R _{b₃} /R _{g₁}	R _d /R _{g₁}	8种皂苷/R _{g₁}
8~10年	4.30	0.51	0.24	1.77	0.85	0.33	0.05	0.35	4.70
11~12年	4.60	0.53	0.20	1.59	0.64	0.68	0.09	0.21	4.94
15~18年	4.57	0.63	0.24	1.88	0.97	0.40	0.06	0.34	5.53
30年	4.65	0.92	0.29	2.27	1.16	0.87	0.09	0.23	6.84
P	-	<0.001	>0.05	<0.001	-	-	>0.05	-	<0.001

注:“-”表示该比值无明显变化规律

Note:“-” mean there is no obvious change in the ratio

从表6结果可以看出,随生长年限的增长,林下参中人参皂苷Re与R_{g₁}的比值呈先减小后增加趋势(P<0.001),生长年限15年为转折点。其中12年以下林下参的人参皂苷R_{g₁}含量<4.00 mg/g且Re/R_{g₁}≥0.90、R_{b₁}/R_{g₁}>1.60;13年以上林下参的人参皂苷R_{g₁}含量≥4.00 mg/g且Re/R_{g₁}≥0.75、R_{b₁}/R_{g₁}>1.60。8~18年的林下参中人参皂苷R_f、R_{b₃}与人参皂苷R_{g₁}的比值均无明显变化(P>0.05)。

从表7结果可以看出,随生长年限的增长,野山参中8种皂苷总量与R_{g₁}的比值及人参皂苷Re、R_{b₁}与R_{g₁}的比值均逐渐增加(P<0.001)。其中8~15年野山参的人参皂苷R_{g₁}含量≥4.30 mg/g且Re/R_{g₁}<0.60、1.30<R_{b₁}/R_{g₁}<1.85;15年以上野山参的人参皂苷R_{g₁}含量≥4.50 mg/g且Re/R_{g₁}≥0.60、R_{b₁}/R_{g₁}≥1.85。8~30年的野山参中人参皂苷R_f、R_{b₃}与人参皂苷R_{g₁}的比值均无明显变化(P>0.05)。

3 讨论

供试品溶液制备方法对含量测定结果的准确度有很大的影响,故笔者在前期试验中首先对供试品溶液制备方法进行了优化,比较了传统的煎煮法^[10]、热回流法^[11]

以及药典方法^[1]。结果发现,用70%甲醇超声提取,人参皂苷提取率与热回流法比较差异无明显变化,但超声提取法较热回流法提取液杂质少,色谱峰分离效果好,且操作简便、高效。与2015年版《中国药典》方法和煎煮法比较,70%甲醇超声提取时人参皂苷提取率较高。考察色谱条件时,笔者先按2015年版《中国药典》(一部)中人参皂苷含量测定条件进行测定,结果不仅分析时间长达100 min,且色谱峰Rg₁与Re、Rb₂与Rb₃的分离效果还不理想;然后尝试按文献[12]中方法在流动相中添加磷酸,结果各成分分离度仍未达到1.5;最终确定以本文中色谱条件进行梯度洗脱,检测波长为203 nm,柱温为35℃时,在60 min内就能实现8种人参皂苷成分的良好分离。

目前,人参药材生长年限的鉴别主要有外观性状的观察、分子生物学基因测序以及化学分析人参皂苷含量高低^[13]等方法。其中外观性状鉴别需要保存完整的人参样品,而对于人参药材饮片或制成粉末的样品,则难以从外观性状上鉴别其生长年限;利用分子生物学技术测定不同生长年限人参的基因序列,其成本高且效率低;从人参皂苷含量测定结果来看,人参总皂苷或单个皂苷成分含量与人参生长年限的变化规律并不统一,仅通过人参皂苷含量测定亦不能很好地鉴别人参药材的生长年限。本课题组在对不同生长年限人参的研究中发现,人参中8种皂苷总量(Rg₁、Re、Rf、Rb₁、Rc、Rb₂、Rb₃、Rd)以及人参皂苷Re、Rb₁、Rc、Rd单体含量分别与人参皂苷Rg₁含量的比值与生长年限呈一定的变化规律,且不同种类人参该比值存在显著差异。本文主要就3~30年吉产园参、林下参、野山参中8种人参皂苷成分含量与人参皂苷Rg₁含量比值进行分析,考虑到人参皂苷Rb₁、Re和Rg₁是人参药效的重要活性成分且其含量相对较高,因此重点探讨了Rb₁/Rg₁、Re/Rg₁与人参种类、生长年限的关系,发现园参、林下参及野山参中Rb₁/Rg₁、Re/Rg₁与其生长年限之间呈现一定的规律,可为初步鉴定园参、林下参及野山参的生长年限提供参考依据,特别是为市场上流通的人参饮片、粉末规格样品的年限鉴别提供一种新的方法。

此外,本课题组后续将继续收集并检测更多批次人参药材进行该比值的分析,积累更多试验数据,完善利用该比值鉴定生长年限的方法,为不同种类、不同生长年限人参药材的质量与人参制剂药效评价提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 8-9.
- [2] 王国丽, 李晓娇, 张力娜, 等. 人参皂苷Rb₁、Rg₁对中枢神经系统作用及相关机制的研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(3): 92-95.
- [3] YANG N, ZHANG S, YANG S, et al. The inhibition of α -glycosidase and protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) activities by ginsenosides from Panax ginseng, C.A. Meyer and simultaneous determination by HPLC-ELSD[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016. DOI: 10.1016/j.jff.2015.12.018.
- [4] 赵琛, 苏光悦, 赵余庆, 等. 人参皂苷及其衍生物抗结肠癌作用及机制的研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(16): 2477-2483.
- [5] 李慧, 许亮, 温美佳, 等. 不同产地人参皂苷成分含量UPLC法测定及质量评价[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(6): 1963-1968.
- [6] 王和宇, 徐芳菲, 王国明, 等. 人参茎叶中提取分离人参皂苷F₂、Rg₁、Rb₁、Rb₂、Rb₃单体化合物的方法[J]. 人参研究, 2018, 30(1): 12-14.
- [7] 李蕾, 谢雨娟, 王国明, 等. 人参、西洋参不同部位提取物中14种皂苷含量比较[J]. 人参研究, 2018, 30(3): 11-13.
- [8] 安明, 赵国君, 韦新成, 等. 人参皂苷Rg₁保护心血管和中枢神经系统的药理活性研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 28(1): 75-77.
- [9] 杨娜, 周柏松, 王亚茹, 等. 人参皂苷Rg₁生物活性研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(4): 1463-1465.
- [10] 徐秋香, 郁红礼, 吴皓, 等. 四君子汤传统煎煮规范化研究[J]. 中成药, 2013, 35(6): 1325-1329.
- [11] 石丽霞, 耿琍. 正交试验法筛选人参皂苷提取工艺的研究[J]. 特产研究, 2006, 28(2): 18-21.
- [12] 冯素香, 李先贺, 李蒙蒙, 等. HPLC-ELSD法测定人参不同部位13种人参皂苷的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34(7): 565-569.
- [13] 刘宏群, 孙长波, 曲正义. 近红外光谱技术在人参定性、定量和在线检测分析中的应用[J]. 中国药房, 2018, 29(13): 1855-1858.

(收稿日期:2018-08-03 修回日期:2018-10-09)

(编辑:邹丽娟)