

· 论著 ·

HPLC 法测定人参毛状根及不同人参样品中 9 种人参皂苷的含量

陈 冷,李春艳,王 政,贾 敏,韩 婷(第二军医大学药学院生药学教研室,上海 200433)

[摘要] 目的 采用 HPLC 法测定不同人参样品中 9 种人参皂苷(Rc、Rb₁、Rb₂、Re、Rd、Rg₁、Rg₂、Rg₃和Rh₂)的含量。方法 色谱条件:Zorbax SB C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),保护柱 Extend-C₁₈柱(4.6 mm×12.5 mm, 5 μm);以乙腈-水为流动相,梯度洗脱;流速:1.0 ml/min;检测波长:203 nm;柱温:35℃。结果 9 种人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rc、Rg₂、Rh₂、Rg₃、Rb₂和 Rd 在 120 min 内基线分离。方法学表明其线性关系良好,精密度、稳定性和重复性 RSD 均小于 2.0%,加样回收率在 98.3%~102%之间。测得人参叶和人参须根中的总皂苷含量最高,分别为 48.9、23.6 mg/g;人参毛状根中的总皂苷与人参主根和人参果的总皂苷含量差别不大,为 7.47 mg/g。结论 该法准确性高,操作简便、快速,重复性好,精密度高,可用于不同人参样品中 9 种人参皂苷的含量测定。

[关键词] 人参;人参饮片;毛状根;人参皂苷;高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)04-0313-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.007

Quantitation of nine ginsenosides in *Panax ginseng* hairy roots and other *Panax ginseng* plant components by HPLC

CHEN Ling, LI Chunyan, WANG Zheng, JIA Min, HAN Ting (Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To establish an HPLC method for the quantitation of nine ginsenosides (Rc, Rb₁, Rb₂, Re, Rd, Rg₁, Rg₂, Rg₃ and Rh₂) in *Panax ginseng* samples. **Methods** An HPLC method was developed to determine the quantities of the nine ginsenosides. The determination was performed on a Zorbax SB C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with an Extend-C₁₈ guard column (4.6 mm×12.5 mm, 5 μm) at 35 °C. The mobile phase was a multi-step acetonitrile-water gradient run at a flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 203 nm. **Results** The nine ginsenosides were baseline separated within 120 min. The method had good linearity, precision, stability and reproducibility with RSDs all less than 2.0%. The sample recoveries were between 98.3% to 102%. The quantity of total saponins in leaves and fibrous roots of *Panax ginseng*, which were measured as 48.9 mg/g and 23.6 mg/g, respectively, were higher than those in the other plant components. The amounts of total saponins in *Panax ginseng* hairy roots were similar to those in taproots and fruits of *Panax ginseng*, which was 7.47 mg/g. **Conclusion** The established HPLC method is accurate, simple, rapid, precise and reproducible and could be used for the quantitation of these nine ginsenosides in *Panax ginseng* samples.

[Key words] *Panax ginseng* decoction pieces; hairy root; *Panax ginseng*; ginsenoside; HPLC

人参(*Panax ginseng* C.A.Mey.)是五加科人参属植物,其干燥根和根茎同名入药,始载于《神农本草经》,列为上品,是我国常用传统中药。人参味甘、微苦,性微温,归肺、脾、心、肾经,具有大补元气,补脾益肺,生津止渴,安神益智等功效^[1]。现代临床

主要用于治疗心气虚证、冠心病、心律失常等疾病,是应用最广泛、研究最深入的中药之一,主要分布在我国辽宁省东部、吉林省东半部和黑龙江省东部。现代研究表明,人参含有人参皂苷、氨基酸及挥发油等成分,对中枢神经系统、心血管系统、消化系统、免疫系统、内分泌系统及泌尿生殖系统有广泛的作用,能增强机体对有害刺激的抵抗力。人参的有效成分主要是人参皂苷,可分为三类:五环三萜类的齐墩果烷型皂苷——人参皂苷 Ro;原人参二醇型的四环三萜类达玛烷型皂苷——人参皂苷 Rh₂、Rg₃、Rb₁、Rb、Rc;原人参三醇型的四环三萜类达玛烷型皂苷——人参皂苷 Re、Rf、Rg₁^[2,3]。毛状根技术是 20

[基金项目] 第二军医大学“本科学员创新实践能力孵化基地”项目(FH2015098);国家自然科学基金(81473301)。

[作者简介] 陈 冷,硕士研究生。Tel: 15201916813; E-mail: m15201916813@163.com

[通讯作者] 韩 婷,博士,副教授,研究方向:生药活性成分及品质评价。Tel: 021-81871306; E-mail: than927@163.com

世纪80年代后期发展起来的一项新兴的生物技术。发根农杆菌 *Agrobacterium rhizogenes* 的质粒在感染植物细胞时,其所含的 T-DNA 能稳定地整合到植物细胞基因组中并诱导产生大量毛状根^[4],利用这种发根农杆菌的生物技术来侵染宿主人参 *P. ginseng* C. A. Mey., 并使其产生转基因的人参毛状根^[5], 此项技术所转化的人参毛状根具有生长周期短、遗传性状稳定和激素自养等特点,在人参次生代谢的研究中是较为理想的组织培养物^[6-8]。因此,利用人参毛状根技术为人参及其人参皂苷、人参多糖等次生代谢物的生产开辟了新的途径。

由于森林的破坏和人类的过度采挖,我国野山参资源已基本绝迹,现在主要采取林下栽参和农田栽参的方式。随着人参皂苷众多药理活性的发现,一方面,市场需求增大,人参的野生资源和栽培品种将难以满足市场需求;另一方面,人参皂苷类成分化学合成困难,难以实现产业化^[9]。本研究采用 HPLC 法首次测定了人参的不同部位、人参饮片和人参毛状根中9种皂苷成分的含量,整合比较了样品数据,为合理利用人参不同部位提供了实验基础,也为进一步建立以人参毛状根为平台,研究人参与环境的关系提供了科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配有在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱和二极阵列检测器(DAD);HYG-A 全温摇瓶柜(江苏太仓);SW-CJ-1D 超净工作台(苏州净化);YXQ-LS-75S II 立式压力蒸汽灭菌器(上海博讯);Sartorius BS 110S 万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司)。

1.2 药品和试剂 人参皂苷标准品(纯度>98%,成都曼斯特有限公司);工业用甲醇(上海思焯化工科技有限公司);色谱乙腈(上海国药集团化学试剂公司);娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司);0.45 μm 微孔滤器(FINE Scientific Ltd.)。人参主根、须根、叶、花和果取自吉林省通化市栽培的4年人参,经第二军医大学秦路平教授鉴定为五加科植物人参。人参饮片(批号:150506,上海雷允上药业有限公司)。人参毛状根由中南大学生命科学学院医学遗传学国家重点实验室诱导并筛选获得。人参毛状根在1/2MS培养基中悬浮培养,每30 d继代1次,在转速为135 r/min的摇床上暗培养,温度(25±2)℃。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 标准品溶液 精密称取人参皂苷 Rg₁ 40 mg 溶于10 ml 甲醇;人参皂苷 Rb₁ 20 mg 溶于5 ml 甲醇;人参皂苷 Re 40 mg 溶于2 ml 甲醇;人参皂苷 Rc 20 mg 溶于2 ml 甲醇;人参皂苷 Rg₂ 8 mg 溶于10 ml 甲醇;人参皂苷 Rh₂ 35 mg 溶于10 ml 甲醇;人参皂苷 Rg₃ 2.5 mg 溶于10 ml 甲醇;人参皂苷 Rb₂ 50 mg 溶于10 ml 甲醇;人参皂苷 Rd 20 mg 溶于2 ml 甲醇。得到上述各标准品母液,而后,精密量取稀释后的母液各50 μl,即得混合标准品溶液,置于4℃冰箱保存。

2.1.2 样品溶液 精密称取0.5 g 已干燥至恒重的各样品粉末(过24目筛),加入250 ml 甲醇,于55℃水浴恒温回流提取1 h,过滤提取液,滤渣重复提取2次,用适量体积的溶剂洗涤残渣,合并滤液,60℃减压浓缩,定容至5 ml,用0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品。

2.2 色谱条件 采用反相高效液相色谱 C₁₈ 柱(Zorbax SB C₁₈ 柱,4.6 mm×250 mm,5 μm),保护柱 Extend-C₁₈ 柱(4.6 mm×12.5 mm,5 μm);检测波长:203 nm;柱温:35℃;进样量:20 μl,流速:1.0 ml/min;以乙腈-水为流动相,梯度洗脱程序见表1,对照品及样品的 HPLC 图见图1。

表1 梯度洗脱程序

时间(t/min)	乙腈(A,%)	水(B,%)
0	19	81
35	19	81
55	29	71
70	29	71
100	40	60
120	85	15

2.3 方法学验证

2.3.1 线性关系的考察 将“2.1.1”项下制备的人参皂苷母液精密稀释得到浓度为4.000、2.000、1.000、0.600、0.500 mg/ml 的人参皂苷 Rg₁ 标准品 HPLC 进样溶液;浓度为4.000、2.000、0.500、0.250、0.063、0.016 mg/ml 的 Rb₁ 标准品 HPLC 进样溶液;浓度为20.000、10.000、5.000、2.500、1.250 mg/ml 的人参皂苷 Re 标准品 HPLC 进样溶液;浓度为10.000、2.500、0.250、0.175、0.125 mg/ml 的人参皂苷 Rc 标准品 HPLC 进样溶

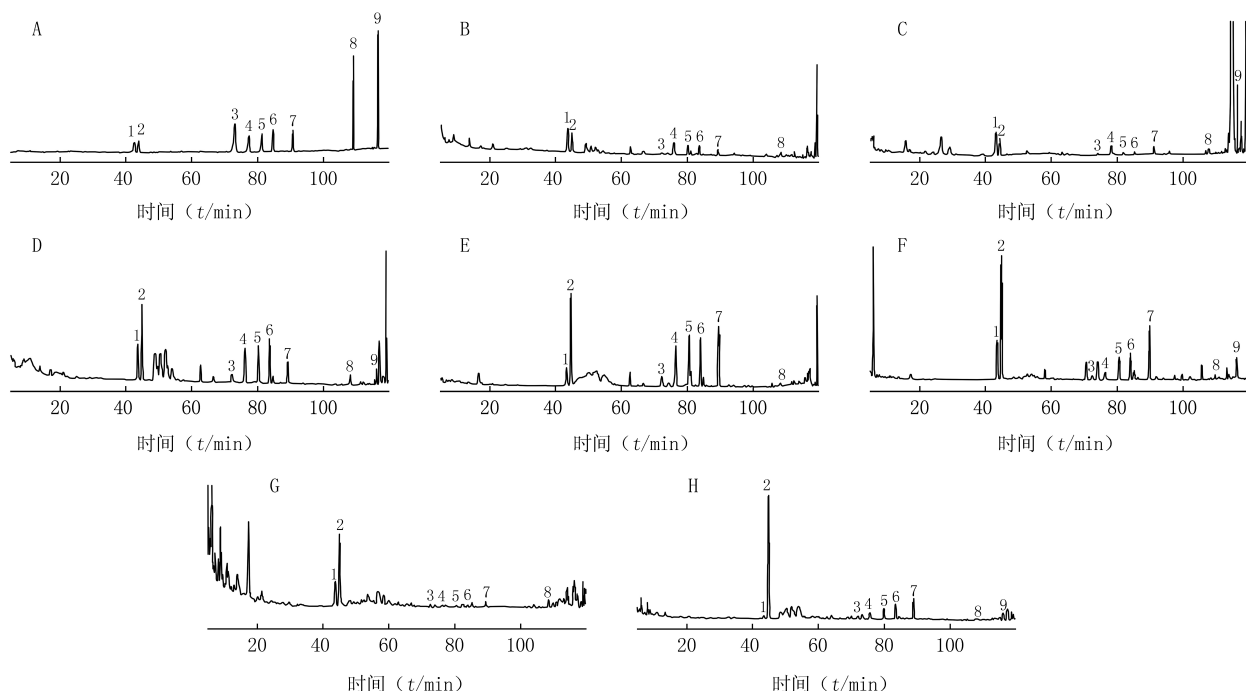


图1 人参皂苷对照品(A)、人参饮片(B)、人参毛状根(C)、人参主根(D)、人参须根(E)、人参叶(F)、人参茎(G)及人参果(H)的 HPLC 图

1.人参皂苷 Rg₁; 2.人参皂苷 Re; 3.人参皂苷 Rg₂; 4.人参皂苷 Rb₁; 5.人参皂苷 Rc; 6.人参皂苷 Rb₂; 7.人参皂苷 Rd; 8.人参皂苷 Rg₃; 9.人参皂苷 Rh₂

液;浓度为 0.800、0.200、0.100、0.050、0.035、0.006 mg/ml 的人参皂苷 Rg₂ 标准品 HPLC 进样溶液;浓度为 3.500、1.750、0.875、0.438、0.219 mg/ml 的人参皂苷 Rh₂ 标准品 HPLC 进样溶液;浓度为 0.250、0.125、0.063、0.031、0.016 mg/ml 的人参皂苷 Rg₃ 标准品 HPLC 进样溶液;浓度为 5.000、1.250、0.125、0.063、0.031 mg/ml 的人参皂苷 Rb₂ 标准品 HPLC 进样溶液和浓度为 10.000、2.500、0.167、0.083、0.042 mg/ml 的人参皂苷 Rd 标准品 HPLC 进样溶液。9 种人参皂苷标准品溶液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,按“2.2”项下色谱条件进行测定,以质量浓度

(mg/ml)为横坐标 X,峰面积为纵坐标 Y,进行线性回归,获得 9 种人参皂苷线性回归方程,见表 2。结果表明,人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rc、Rg₂、Rh₂、Rg₃、Rb₂ 和 Rd 分别在 0.500~4.000、0.016~4.000、1.250~20.000、0.125~10.000、0.006~0.800、0.219~3.500、0.016~0.250、0.031~5.000、0.042~1.000 mg/ml 范围内呈良好的线性关系。

2.3.2 精密度试验 取“2.3.1”项人参皂苷 Rg₁ 对照品溶液(0.6 mg/ml)连续进样 6 次,人参皂苷 Rg₁ 含量的 RSD 为 1.42%,结果表明仪器具有良好的精密度。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 20 μl,

表 2 9 种人参皂苷的线性回归方程

成分	标准曲线	r	线性范围 (ρ _B /mg·ml ⁻¹)
人参皂苷 Rg ₁	Y=6 089.8X-587.65	0.999 8	0.500~4.000
人参皂苷 Rb ₁	Y=5 430.5X+175.79	0.996 9	0.016~4.000
人参皂苷 Re	Y=8 111.6X-1 614.1	0.999 7	1.250~20.000
人参皂苷 Rc	Y=4 774.6X+135.29	0.999 7	0.125~10.000
人参皂苷 Rg ₂	Y=9 305.6X+62.385	0.998 5	0.006~0.800
人参皂苷 Rh ₂	Y=7 547.1X+950.12	0.999 6	0.219~3.500
人参皂苷 Rg ₃	Y=12 587X+33.387	1.000 0	0.016~0.250
人参皂苷 Rb ₂	Y=8 199.4X+57.937	0.999 6	0.031~5.000
人参皂苷 Rd	Y=6 475.9X+44.416	1.000 0	0.042~1.000

分别于放置 0、4、8、12、16、24 h 后进样,人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rc、Rg₂、Rh₂、Rg₃、Rb₂ 和 Rd 含量的 RSD 在 0.82%~1.74% 之间,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.4 重复性试验 精密称取人参毛状根样品 0.5 g,按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,测得供试品溶液中人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rc、Rg₂、Rh₂、Rg₃、Rb₂ 和 Rd 含量的 RSD 在 0.26%~1.22% 之间,表明本方法具有良好的重复性。

2.3.5 加样回收率试验 精密称取已知含有量的人参主根样品 6 份,每份 0.5 g,精密加入人参皂苷

Rg₁、Rb₁、Re、Rc、Rg₂、Rh₂、Rg₃、Rb₂ 和 Rd 对照品,按“2.1.2”项下方法制备样品溶液,测定含量并计算加样回收率,结果在 98.3%~102% 之间,RSD 在 1.01%~2.67% 之间。

2.4 样品测定 精密称取人参毛状根样品 0.50 g,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.2”项下色谱条件进样测定,按标准曲线计算人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rc、Rg₂、Rh₂、Rg₃、Rb₂ 和 Rd 的含量,结果见表 3,不同人参样品皂苷分布情况和总皂苷含量见图 2,其与《中华人民共和国药典》(2015 年版,简称《药典》)中相关标准的比较见表 4。

表 3 不同人参样品中 9 种人参皂苷的含量测定 (n=5)

样品名称	人参皂苷质量分数 [mg/g (RSD, %)]								
	Rg ₁	Re	Rg ₂	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	Rg ₃	Rh ₂
人参饮片	1.472 (0.050)	2.272 (0.029)	0.009 (0.007)	0.022 (0.030)	—	0.051 (0.030)	—	0.018 (0.008)	—
人参毛状根	2.798 (0.067)	2.869 (0.053)	0.032 (0.039)	0.391 (0.021)	0.128 (0.003)	0.139 (0.027)	0.197 (0.007)	0.207 (0.006)	0.710 (0.037)
人参主根	1.732 (0.086)	2.986 (0.037)	0.093 (0.013)	0.575 (0.046)	0.596 (0.030)	0.421 (0.028)	0.224 (0.018)	0.031 (0.017)	—
人参须根	2.607 (0.031)	6.655 (0.033)	0.621 (0.012)	3.993 (0.048)	4.259 (0.025)	2.168 (0.040)	3.220 (0.024)	0.099 (0.019)	—
人参叶	9.461 (0.515)	18.713 (0.318)	0.648 (0.037)	2.184 (0.054)	5.306 (0.023)	3.189 (0.031)	8.838 (0.035)	0.180 (0.011)	0.396 (0.024)
人参茎	1.226 (0.024)	2.462 (0.048)	—	—	—	—	—	0.036 (0.009)	—
人参果	1.149 (0.038)	5.934 (0.060)	0.091 (0.018)	0.116 (0.028)	0.245 (0.072)	0.315 (0.038)	0.545 (0.050)	0.089 (0.010)	—

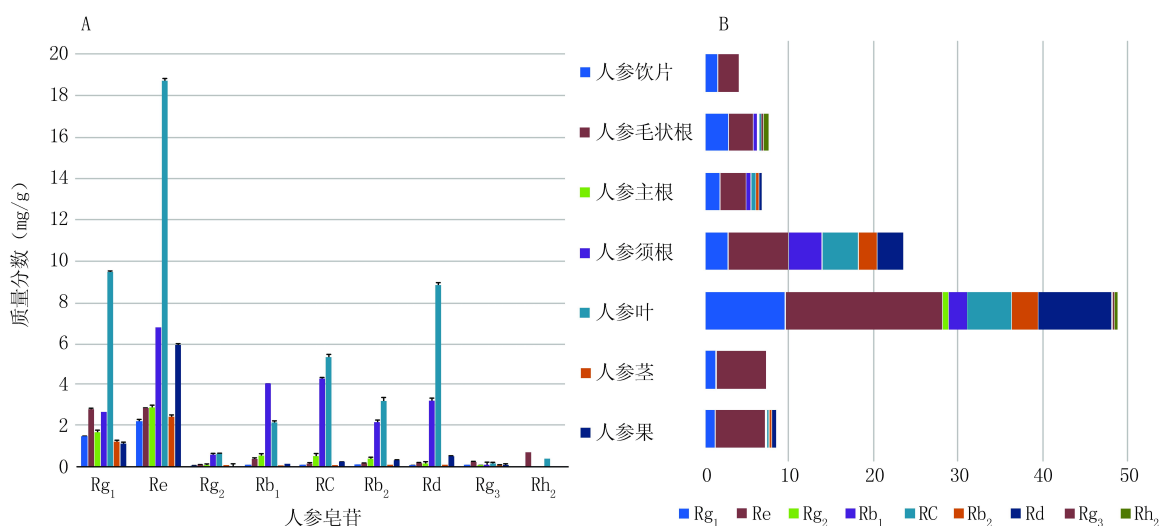


图 2 不同人参样品中 9 种皂苷含量(A)及总皂苷含量(B)

3 讨论

本研究采用 HPLC 法同时测定人参不同样品

中的 9 种人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Re、Rc、Rg₂、Rh₂、Rg₃、Rb₂ 和 Rd 的含量,对原植物人参、人参毛状根和人参饮片中的皂苷含量进行了比较,同时也对原

表4 不同人参样品中皂苷成分与《药典》标准的比较^[12]

样品名称	R _{g1} +Re (%)	R _{b1} (%)	《药典》标准
人参饮片	37.4	0.22	R _{g1} +Re>0.27%, R _{b1} >0.18%
人参毛状根	56.7	3.91	
人参主根	47.2	5.75	R _{g1} +Re>0.30%, R _{b1} >0.20%
人参须根	92.6	39.90	
人参茎	36.9	—	
人参果	70.8	1.16	
人参叶	282.0	21.80	R _{g1} +Re>2.25%

植物人参不同部位的皂苷分布情况进行了比较,具体分析见图2。

3.1 人参皂苷含量测定方法的优化

3.1.1 提取方法和溶剂 本研究采用《药典》的回流提取法,该法的人参皂苷提取率较高且较为可靠。在提取溶剂的选择方面,本研究比较了不同浓度甲醇溶液与不同浓度乙醇溶液的提取率,结果表明乙醇的提取率比甲醇低,而低纯度的甲醇可能提取到较多的杂质,故本研究采用纯甲醇为提取溶剂。

3.1.2 提取时间和温度 郭凤霞等^[10]比较了1、1.5、2、2.5、3 h 提取含量测定的结果,人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的含量基本不变;人参皂苷 R_{b1} 的含量随时间延长明显增加,2.5 h 后基本不再增加,故本研究选择2.5 h 作为提取时间。与此同时,本研究还比较了不同的提取温度(45、55、65、75、85 °C)对提取量的影响,发现人参皂苷的提取量在65°C时达到最高,继续升高提取温度,提取量变化不明显。考虑到提取温度过高时,甲醇溶液的挥发将造成有机溶剂的大量损失。故选择55°C作为本实验中样品的提取温度。

3.2 原植物人参不同部位的皂苷含量比较 检测结果表明,人参叶中的大多数皂苷的含量远高于其他人参样品,其次为人参须根组织及人参果中的人参皂苷 Re 含量较高,其余样品中各皂苷含量的差异不大。曲桂武等^[11]研究了8种人参皂苷在人参全草中的分布情况,发现地下部分人参须根、支根和芦头的皂苷含量远大于主根,而地上部分人参皂苷则主要集中于花蕾和叶片,与本研究结果相似。《药典》规定人参叶按干燥品计算,含人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的总量不低于2.25%^[12],本研究测得的人参叶中人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的总量为282% (表4),远高于《药典》标准。

3.3 人参饮片、人参毛状根样品与原植物人参的比较 实验结果表明,人参毛状根中的人参皂苷 R_{h2}

含量高于其他样品,其各皂苷含量不低于药材饮片,有些甚至高于主根。由此可知,人参毛状根不仅生长迅速、遗传稳定、培养方便,其皂苷类成分也相对较高,是一种高效的培养体系^[13]。本研究首次运用 HPLC 法测定人参毛状根中9种人参皂苷的含量,进一步建立基于人参毛状根平台研究人参与环境关系的技术体系,也为利用毛状根技术工业化生产人参次生代谢产物提供科学依据。《药典》规定,人参药材按干燥品计算,含人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的总量不得少于0.30%,人参皂苷 R_{b1} 不得少于0.20%,人参饮片含人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的总量不得少于0.27%,人参皂苷 R_{b1} 不得少于0.18%^[12],本研究测试的人参主根、须根、茎、叶、果和人参毛状根均符合药材标准,人参饮片也符合《药典》中的饮片标准(表4)。

本研究首次进行原植物人参、人参毛状根和人参饮片的9种人参皂苷比较,建立了高效、可靠、精准的 HPLC 测定方法,可用于各类人参样品中9种皂苷成分的测定。从研究结果来看,人参药材和人参饮片的皂苷成分符合《药典》标准。原植物人参须根和叶可进一步加强利用,人参果中的 Re 和人参毛状根中的 R_{h2} 也可用于单成分的提取利用。人参毛状根的皂苷成分高,培养方便、生长迅速,可作为理想的实验平台,为研究环境对人参的影响提供参考。

【参考文献】

- [1] 张国华,李绍平,万建波,等. RP-HPLC 法测定三七总皂苷注射液 9 种皂苷的含量[J]. 安徽医药, 2005, 9(9): 664-665.
- [2] 黄连玉. 浅析人参的化学成分及药理作用[J]. 中华现代中西医杂志, 2005, 2: 10-18.
- [3] 张前进. 人参的化学成分和药理活性[J]. 光明中医, 2011, 26(2): 368-369.
- [4] Ming QL, Su CY, Zheng CJ, et al. Elicitors from the endophytic fungus *Trichoderma atroviride* promote *Salvia miltiorrhiza* hairy root growth and tanshinone biosynthesis[J]. J Exp Bot, 2013, 64(18): 5687-5694.
- [5] 刘 竣,丁家宜,徐 红,等. Ri 质粒人参转化系统的建立及鉴定[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(2): 95.
- [6] Aly A H, Debbab A, Proksch P. Fungal endophytes — secret producers of bioactive plant metabolites [J]. Pharmazie, 2013, 68(7): 499-505.
- [7] Kusari S, Hertweck C, Spiteller M. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites [J]. Chem Biol, 2012, 19(7): 792-798.

表1 加样回收率试验结果

成分	样品含量 (m/mg)	加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
贝母素甲	0.291 0	0.234 4	0.524 2	99.49	99.44	0.7
	0.290 0	0.234 4	0.523 6	99.66		
	0.291 6	0.234 4	0.526 4	100.17		
	0.291 2	0.234 4	0.522 0	98.46		
	0.291 0	0.234 4	0.523 0	98.98		
	0.291 4	0.234 4	0.525 6	99.91		
贝母素乙	0.224 4	0.225 6	0.447 2	98.76	98.56	1.0
	0.224 0	0.225 6	0.447 6	99.11		
	0.224 8	0.225 6	0.450 0	99.82		
	0.224 2	0.225 6	0.445 6	98.14		
	0.224 4	0.225 6	0.446 4	98.40		
	0.224 8	0.225 6	0.444 0	97.16		

取常用对数,用外标两点法计算供试品中贝母素甲和贝母素乙的含量。5批小儿宝泰康颗粒样品的含量测定结果见表2。

表2 样品含量测定结果(mg/g, n=2)

批号	贝母素甲	贝母素乙
ZEC1404	0.053 7	0.040 5
ZEC1406	0.055 4	0.042 6
ZEC1407	0.054 2	0.041 0
ZFC1501	0.058 2	0.044 9
ZFC1502	0.056 2	0.043 5

3 讨论

ELSD是一种质量型检测器,尤其适用于弱紫外吸收的化合物。本实验采用HPLC-ELSD法同时测定贝母素甲和贝母素乙的含量,结果表明,样品中的贝母素甲和贝母素乙能够获得很好的分离,杂质干扰少,操作简便,效果理想。

文献测定贝母素甲和贝母素乙的常用流动相分别为乙腈-水-二乙胺(70:30:0.03)^[3],甲醇-乙腈-0.5%醋酸溶液(8:19:73)^[4],乙腈-甲醇-二乙胺

(60:40:0.05)^[5],乙腈-10 mmol/L NH₄HCO₃(浓氨水调至pH值10.10)梯度洗脱^[6]。本文考察了乙腈-水-二乙胺、甲醇-水-二乙胺和乙腈-甲醇-二乙胺3种流动相系统,结果表明,以乙腈-水-二乙胺(65:35:0.03)作为流动相时,样品中贝母素甲和贝母素乙的分离效果好,且杂质峰少,故选用该流动相。

分别考察氯仿、乙醚、乙酸乙酯3种不同提取溶剂的提取效果,结果表明:乙醚提取率高,氯仿提取率低,乙酸乙酯因易乳化,导致杂质峰较多、干扰大。故选用乙醚作为提取溶剂。

经提取3、4、5、6次实验,结果表明:提取5次和6次的测得量相差不大,但明显优于提取3次和4次的测得量,为节省溶剂,选择提取5次。

本实验建立的HPLC-ELSD法可以方便、准确地测定小儿宝泰康颗粒中贝母素甲和贝母素乙的含量,将《药典》中测定贝母总碱改为贝母素甲和贝母素乙指标性成分的测定,为小儿宝泰康颗粒质量标准的提高提供了参考。

【参考文献】

- [1] 俞 滢,朱亚尔. HPLC-MS测定癸闭康泰片中贝母素甲、贝母素乙的含量[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(13): 1026-1028.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 540-541.
- [3] 范 蕾,王伟影. 可同时测定蛇胆川贝液中贝母素甲与贝母素乙含量的方法[J]. 中国药业, 2012, 21(2): 41-42.
- [4] 李慧婷,王 冰,韩荣春. HPLC-ELSD同时测定平贝母中贝母素甲和贝母素乙含量[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(4): 58-60.
- [5] 马双成,张树潘,鲁 静,等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定鹤鹑片中贝母素甲和贝母素乙的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(1): 118-120.
- [6] 薛 燕,顾好粮. HPLC-ELSD法测定浙贝母中主要生物碱的含量[J]. 药学学报, 2005, 40(6): 550-552.

[收稿日期] 2016-03-21 [修回日期] 2016-05-26
[本文编辑] 李睿旻

(上接第317页)

- [8] Kusari S, Pandey SP, Spiteller M. Untapped mutualistic paradigms linking host plant and endophytic fungal production of similar bioactive secondary metabolites [J]. Phytochemistry, 2013, 91: 81-87.
- [9] 任跃英,丛 林,官秀芝,等. 人参资源现状及可持续发展战略[J]. 人参研究, 2003, 15(4): 9-10.
- [10] 郭凤霞,陈路晓,刘 斌,等. 人参中人参皂苷类成分含量测定方法优化[J]. 环球中医药, 2015, 8(10): 1175-1178.

- [11] 曲桂武,夏学超,潘丽丽,等. 8种人参皂苷在人参全草中的分布情况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17): 52-55.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 8-9.
- [13] 常振战,果德安,郑俊华. Ri质粒转化植物生产天然活性成分的研究进展(II)[J]. 中草药, 1998, 29(11): 775-777.

[收稿日期] 2016-01-26 [修回日期] 2016-05-03
[本文编辑] 李睿旻