

# HPLC 测定中成药中人参皂苷类成分含量的应用概况

张建伟<sup>1</sup>, 赵倩<sup>2,3</sup>, 何希荣<sup>2</sup>, 冯伟红<sup>2,3\*</sup>

(1. 河南中医学院第二附属医院, 郑州 450002; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700)

**[摘要]** **目的:** 总结中成药中人参皂苷类成分含量测定的研究情况, 分析人参皂苷类成分检测可能遇到的干扰。选取 5 种含有人参皂苷类成分的不同剂型中成药, 每种剂型选择 2 个中成药品种进行比较, 对比不同剂型的中成药中人参皂苷类成分的 HPLC 含量测定方法, 发现处方成分对人参皂苷类成分的含量测定具有不同的影响。中成药质量控制应依据不同情况, 结合成分-功效评价深入研究, 选择最适合的色谱系统, 为含有人参皂苷类成分的中成药的质量控制提供参考。

**[关键词]** 人参皂苷类成分; 人参; 剂型; 流动相; 色谱系统

**[中图分类号]** R283.6; R284.1; R286.0 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0228-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170228

## Application Review of Determination of Ginseng Saponins in Chinese Patent Drugs by HPLC

ZHANG Jian-wei<sup>1</sup>, ZHAO Qian<sup>2,3</sup>, HE Xi-rong<sup>2</sup>, FENG Wei-hong<sup>2,3\*</sup>

(1. Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China;  
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
3. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** This article was in order to analyse determination of ginseng saponins in Chinese patent drugs, then analysed its detection interference. Five kinds of different dosage-forms of Chinese patent drugs including ginseng saponins were selected, each kind of dosage selected two varieties to carry on comparison, HPLC determination of ginseng saponins in different forms was compared, it showed that ingredients contents had a different effect on determining the contents of ginseng saponins. According to different circumstances, the most suitable chromatographic system should choose by combining ingredients-efficacy elaluation, this article can provide a reference for quality control of Chinese patent drugs including ginseng saponins.

**[Key words]** ginseng saponins; Ginseng Radix et Rhizoma; forms; mobile phase; chromatography system

人参为肾内科常用中药, 对于慢性肾衰病人的红细胞免疫功能维护、机体整体防御能力改善、患者生命延长具有重要意义<sup>[1]</sup>。皂苷类成分是增强慢性肾衰病人血红细胞免疫功能的主要有效成分, 已知的人参皂苷及其水解产物多达数十种, 但由于药材来源、处方配伍、制剂工艺等各有不同, 不同药品中人参皂苷类成分的种类和含量均存在差异, 致使其

检测方法多种多样。HPLC 测定药品化学成分含量是中药质量分析的常用方法, 人参皂苷类成分含量的测定大部分采用该法。

目前含有人参皂苷类成分的中药主要人参和三七。前者含有人参皂苷类成分是 14 种以上皂苷类成分的混合物, 分别为人参皂苷 R<sub>0</sub>, Ra<sub>1</sub>, Ra<sub>2</sub>, Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rb<sub>3</sub>, Rc, Rd, Re,

**[收稿日期]** 20140526(009)

**[第一作者]** 张建伟, 副主任医师, 从事中西医结合医药防治肾脏疾病的研究, Tel: 13838006352, E-mail: jianwei1026@126.com

**[通讯作者]** \* 冯伟红, 副研究员, 从事中药质量控制研究, Tel: 13671138637, E-mail: weihong\_bj@126.com

Rf, R<sub>20</sub>-gluco-f, R<sub>g<sub>1</sub></sub>, R<sub>g<sub>2</sub></sub>, R<sub>h<sub>1</sub></sub>等,均为三萜皂苷类成分;其中四环三萜的达玛脂烷是主要活性成分,加酸水解的最后产物为人参二醇,如人参皂苷 Ra<sub>1</sub>, Ra<sub>2</sub>, Rb<sub>1</sub>等,水解还会产生人参三醇,如人参皂苷 Re, Rf, R<sub>g<sub>1</sub></sub>等。人参皂苷 Rb<sub>1</sub>和 R<sub>g<sub>1</sub></sub>对学习记忆功能具有良好影响,人参皂苷 Rb<sub>2</sub>有明显的降血糖作用,并且大部分人参皂苷类成分还具有抗氧化作用。目前2010年版《中国药典》规定中成药中人参皂苷类成分的含量测定主要采用HPLC,故本文选择常用中成药剂型未研究对象,包括胶囊、片剂、颗粒剂、口服液、注射液剂等,分析HPLC在人参皂苷类成分含量测定中的应用情况,为含人参或三七中成药质量控制体系的建立提供参考。

### 1 胶囊剂

目前市场上含有人参皂苷类成分的中成药胶囊剂有参芪胶囊、双参胶囊、祛瘀散结胶囊、维参锌胶囊、人参首乌胶囊等。其中祛瘀散结胶囊由白花蛇舌草、白英、山慈菇、夏枯草、三七、土鳖虫、蜈蚣、山楂、枳壳、甘草等15味药材组成,具有祛瘀消肿、散结止痛的功效,用于治疗瘀血阴络所致乳房胀痛、乳癖、乳腺增生病,临床疗效确切,无明显毒副作用。该药品原质量标准中采用TLC测定三七中人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>和 Rb<sub>1</sub>的总含量,操作复杂,重复性差,不便于有效控制产品质量。涂波等<sup>[1]</sup>则采用HPLC测定,流动相乙腈-水(77:23),检测波长203 nm,结果表明该方法准确度良好且重复性好;试验还比较了回流、索氏和超声等提取方法,结果显示超声法提取时间短且杂质较少。

维参锌胶囊由人参、维生素E、硫酸锌等组成,临床用于改善衰老症状,可提高老年人心肺调节功能、视敏度、听力和男性性功能。为有效控制该药品内在质量,代广会等<sup>[2]</sup>采用HPLC对方中红参须所含的有效成分人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, Re, Rb<sub>1</sub>进行含量测定,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~17 min, 19% A; 17~20 min, 19%~31% A; 20~35 min, 31%~40% A; 35~40 min, 97% A; 40~45 min, 19% A),平均回收率分别为93.8%, 96.7%, 95.3%,该方法简便、快速、准确、灵敏度高、重复性好,可用于维参锌胶囊的质量控制。试验采用了超声提取法,能较好地除去干扰杂质,使得人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, Re, Rb<sub>1</sub>的提取量最大化,而且该方法简单、快速。试验还比较了多种流动相系统,结果显示乙腈-水和甲醇-水的分离效果较好,由于前者的稳定性、峰形更好,故选择乙腈-水流动相系统,与文献<sup>[3]</sup>相比大大缩短了测定时间,同时避免了文献<sup>[4]</sup>中色谱系统可能带来的杂质干扰。

通过分析以上2个品种的测定方法发现,采用HPLC测定胶囊中人参皂苷含量是可行的,优于传统的TLC,不仅重复性好,而且更加精确可靠,可用于含有人参皂苷的中成药剂型的质量控制。对于成分单一、峰型分离容易的样品可直接按固定比例的流动相进行洗脱,而对于成分相对复杂、峰型分离较难的样品,应当摸索条件进行梯度洗脱。对于供试品的提取和配制,尤为关键,这直接影响结果的正确性,通过比较显示超声法是可提取充分的一种有效方法。

### 2 片剂

中药片剂系指药材细粉或提取物加药材细粉或赋形剂压制而成的片剂型,供内服和外用。该机型已成为品种多、产量大、用途广、使用和贮运方便、质量稳定的剂型之一,在许多国家药典收载的制剂中均占>1/3,应用范围极广。目前含有人参皂苷的中成药片有参术片、三七片、红药片、冠心病片、七花活血片等。

七花活血片由三七、川芎、红花等组成,刘善新等<sup>[5]</sup>采用HPLC梯度洗脱法测定该制剂中人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, Rb<sub>1</sub>含量。三七为方中君药,其所含皂苷类成分是该药物的主要有效成分,三七皂苷 R<sub>1</sub>和人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, Rb<sub>1</sub>为代表成分,通过方法学考察和3批样品的含量测定,建立了本品中人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, Rb<sub>1</sub>的含量测定方法。色谱条件为Lichrospher C<sub>18</sub>色谱柱,流动相乙腈-水线性梯度洗脱,流速0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温30℃,检测波长203 nm,结果表明人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>的进样量在1.025~10.25 mg与峰面积呈良好线性关系,平均回收率96.61%;人参皂苷 Rb<sub>1</sub>线性范围0.545~5.45 mg,平均回收率96.51%,该方法准确、专属性强、重复性好,可作为该制剂的含量测定方法。在供试品溶液制备项下,文献对甲醇提取时间进行了比较,结果发现提取5 h与6 h效果接近,而提取4 h略低。另外,试验还对样品加乙醚脱脂后是否加甲醇浸泡进行了比较,结果显示加甲醇浸泡过夜(14 h)与直接加甲醇索氏提取含量接近,故选择脱脂后加甲醇索氏回流提取。试验中发现人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>易达到基线分离(分离度>2),而分离人参皂苷 Rb<sub>1</sub>时,流动相的流速对其具有一定影响,通过比较以流速0.8 mL·min<sup>-1</sup>分离较好(分离度>1.5)。曾拟测定三七皂苷 R<sub>1</sub>含量,但因三七空白对其有干扰,经多次分离试验均未成功,故仅测定了人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, Rb<sub>1</sub>。

魏萍等<sup>[6]</sup>采用HPLC建立参术片的质量控制标准,参术片为某医院内制剂,主要由人参、白术等药物组成,主要用于治疗小儿及老年人脾胃泄泻等证,临床应用时间较长且疗效肯定。方中以人参为主药,文献应用HPLC测定参术片中人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>, Rb<sub>1</sub>, Re, 色谱条件为Kromasil ODS色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), DAD检测器,流动相乙腈-0.4%磷酸溶液梯度洗脱,流速0.5 mL·min<sup>-1</sup>,柱温室温,检测波长203 nm,进样量10 μL。理论塔板数按 R<sub>g<sub>1</sub></sub>峰计算不低于4 000。文献曾根据2005年版《中国药典》的梯度洗脱条件,分别采用甲醇-水和乙腈-水为流动相进行洗脱,但基线出现较大漂移。经过摸索,采用选择的色谱条件,结果表明该方法对这3种单体皂苷类成分的同时测定分离效果高,稳定性和重复性均较好,可较好地用于参术片的质量控制。以上2个品种的测定方法研究表明,采用HPLC测定片剂中人参皂苷类成分的含量可行,重复性好,而且精确和可靠,可用于含有人参皂苷的中成药剂型的质量控制。

### 3 颗粒剂

颗粒剂是指将药物与适宜的辅料制成具有一定粒度的干燥颗粒状制剂,根据其在水中分散情况,一般分为可溶性

颗粒剂、混悬性颗粒剂及泡腾性颗粒剂。近年中成药颗粒剂发展突飞猛进,大有赶超片剂和丸剂的势头,目前市场上含有人参皂苷类成分的中成药有参芪益母颗粒、理中汤配方颗粒、气血生颗粒、跌打止痛颗粒、健胃舒颗粒等。

参芪益母颗粒为中药复方制剂,由人参、黄芪、当归、川芎、益母草等 15 味中药组成,具有益气养血、通络下乳、理气活血的功效,用于妇女产后乳迟乳少、产后腹痛等症,收载于《部颁标准中药成方制剂》第 16 册。含量测定项下采用 TLC 测定人参皂苷  $R_{g_1}$  的含量,该方法准确度、精密度较低,为了更有效地控制本品质量,许振朝等<sup>[7]</sup>采用 HPLC 梯度洗脱法测定参芪益母颗粒中人参皂苷  $R_{g_1}$  含量,参考文献<sup>[8]</sup>建立了测定参芪益母颗粒中有效成分人参皂苷  $R_{g_1}$  含量的 HPLC。由于本品药味多,成分复杂,干扰较严重,有效成分不易与其他杂质完全分离。经方法学考察,本法专属性强、灵敏度高、重复性好,可作为本品的质量控制方法。色谱条件为 Cromasil  $C_{18}$  柱,流动相乙腈-水线性梯度洗脱,检测波长 203 nm。结果人参皂苷  $R_{g_1}$  的线性范围 0.152 ~ 3.05 mg,平均回收率 98.5%,说明本法准确、可靠、重复性好,可作为参芪益母颗粒的质量检测方法。

理中汤源自《伤寒论》,由干姜、人参、炙甘草、白术组成,具有温中散寒、补气健脾的功效,为中医治疗脾胃虚寒的经典方。理中汤配方颗粒保持了中医辨证论治、随证加减的特点,又克服了汤剂煎汤麻烦、保存不便等缺点。为了有效控制其质量,刘俊达等<sup>[9]</sup>采用 HPLC 测定该制剂中人参皂苷  $R_{g_1}$  的含量,以 Diamonsil-Cl<sub>s</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)为分析柱,流动相乙腈-0.05% 磷酸溶液,检测波长 203 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 25 ℃。

通过以上 2 个品种的比较,不难发现作者都曾试图探索《中国药典》指导方法,以寻找更有效、更科学的流动相条件和配置比例,结果发现均不如现有《中国药典》的方法。参照 2005 年版《中国药典》人参项下人参皂苷  $R_{g_1}$  和 Re 含量测定方法,选用三氯甲烷回流提取脱脂,再用水饱和正丁醇提取。说明《中国药典》对科研的重要指导和规范作用。试验中还比较了水浴回流法和超声法,由于采用超声提取测得供试品中人参皂苷  $R_{g_1}$  和 Re 的含量显著高于水浴回流法,原因可能是水饱和正丁醇沸点较高,而人参皂苷类成分对热不够稳定,故选择超声法提取。

#### 4 口服液

口服液剂是以中药汤剂为基础,提取中药中有效成分,加入一些附加剂,基本上按注射剂的工艺制成的一种口服液体剂。具有剂量小、吸收较快、质量稳定、携带方便、易保存的特点。益安回生口服液由红参、附子、蝎子等 13 味中药组成,是目前十分有效的非麻醉性中药戒毒药。刘姹等<sup>[10]</sup>试图建立 HPLC 测定益安回生口服液中人参皂苷 Re、 $R_{g_1}$  含量的方法,以乙腈-0.05% 磷酸溶液(18:82)为流动相,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 203 nm,理论板数按 Re 计算不低于 2 500。此条件下,人参皂苷 Re、 $R_{g_1}$  与相邻色谱峰已达基线分离,且阴性照无干扰。本法能简便、快捷地分别以人参

皂苷 Re 或人参皂苷  $R_{g_1}$  进行含量测定,且分离度好、精密度高。试验曾对  $C_{18}$ 、 $C_8$ 、 $C_4$  色谱柱进行考察,但前二者分离度低,故选择  $C_4$  色谱柱。

刘晓兰等<sup>[11]</sup>采用测定参茸口服液中人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_{b_1}$  含量,色谱条件为 Waters XTerra RP18 色谱柱,流动相乙腈-水梯度洗脱,柱温 25 ℃,检测波长 203 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。参茸口服液由人参、鹿茸等组成,具有益气壮阳、益智等功效。方中君药人参主要含有人参皂苷类成分,对学习记忆、免疫功能等有显著改善作用,可提高机体的神经系统和运动功能,延缓发生衰老进程。人参皂苷类成分极性大,易溶于水、乙醇,难溶于乙醚,在含水丁醇中溶解度较大,故选择水饱和正丁醇为提取剂。流动相曾选用乙腈-0.05% 磷酸溶液,但人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_{b_1}$  分离并不理想,采用乙腈-水系统梯度洗脱时,分离效果很好。

通过比较,人参皂苷类成分的含量测定不难发现色谱柱可进行尝试,除了  $C_{18}$ ,还可以是  $C_4$ ,这取决于试验结果的需要。同样流动相的选择和探索可以是乙腈,也可以再加入一定比例的其他酸性溶液,构成比较合适洗脱的流动相。《中国药典》是科研人员应当首先参考的试验方法,但试验者也可以进行探索,如把 3 次梯度洗脱变成 2 次,前提是各个峰分离完全,峰型漂亮。由于是液体剂型,在供试品溶液配制上,文献未进行更多的探讨。

#### 5 注射剂

中药注射剂是指以中医药理论为指导,采用现代科学技术和方法,从中药或天然药物的单方或复方中提取的有效物质制成的无菌溶液、混悬液或临用前配成溶体的灭菌粉末供注入体内的制剂。虽然目前该剂型的质量控制不如其他剂型,但仍然是中药剂型发展的方向。目前市场含有人参皂苷类成分的中成药包括复方黄芪注射液、参麦注射液、血塞通注射液、生麦注射液等。

朱文良等<sup>[12]</sup>通过尝试 HPLC 同时测定复方黄芪注射液中人参皂苷 Re、 $R_{g_1}$  的含量,色谱条件为 Diamonsil TM  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-50 mmol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾缓冲溶液(20:80),柱温 25 ℃,检测波长 203 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果人参皂苷 Re、 $R_{g_1}$  与其他成分分离良好,可用于复方黄芪注射液的质量控制。

参麦注射液由人参、麦冬提取制成,具有益气固脱、养阴生津、生脉的功效,临床用于治疗休克、冠心病、病毒性心肌炎、慢性肺心病、粒细胞减少症等,主要活性成分为人参皂苷  $R_{g_1}$ 、Re、 $R_{b_1}$ 。吴翠芳等<sup>[13]</sup>通过试验初步建立了 HPLC 测定参麦注射液中人参皂苷  $R_{g_1}$ 、Re、 $R_{b_1}$  含量的方法,采用  $C_{18}$  色谱柱,流动相乙腈-水梯度洗脱,检测波长 203 nm。该实验参考并改进了文献<sup>[14]</sup>中方法。

由于是比较纯净的液体剂型,样品制备容易。流动相的选择主要取决于待测成分的检测波长。如样品组分的检测波长 203 nm,考虑到甲醇的极限波长为 210nm,而乙腈的极限波长为 190 nm,由于采用晶体二极管检测器,故不宜用含甲醇的组分作为流动相而用乙腈。流动相梯度洗脱次数过

多,极易导致基线漂移过大,文中研究人员大胆地用两次梯度洗脱代替了《中国药典》建议的3次,取得了不错效果,值得肯定。

## 6 讨论

含人参中成药的质控参数较单一,本文涉及的10个品种,多数是参照人参药材和人参饮片的条件<sup>[15]</sup>,同时控制人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_e$ 、 $R_{b_1}$  的含量,但也有一些制剂,因同类成分的干扰,而选择了测定其中2个成分的含量,只有个别制剂,选择了同时控制人参皂苷  $R_{g_1}$  和  $R_{h_1}$  的含量。但这10个品种的处方组成、剂型、主治症均不相同,这样单一的质控方法是否足以保证药物的疗效,体现中药的特点值得商榷。

由于人参皂苷为末端吸收,选择乙腈流动相洗脱,基线情况明显优于甲醇;人参皂苷类成分为中等偏大极性,在选择色谱柱时,应注意柱子的类型,可选择的色谱柱种类较多,应结合具体的流动相和样品进行优化;梯度洗脱和等度洗脱根据样品测试的需要确定,测量一种人参皂苷成分,大部分情况下采用等度洗脱就可以解决;而如果同时测量2~3种成分时,等度洗脱的效果通常不够好,样品峰常不能达到基线分离,这时就需要采用二元梯度洗脱,甚至三元梯度洗脱。

## [参考文献]

[1] 马路,周柱亮,杨琪,等. 人参总皂甙对慢性肾功能衰竭患者红细胞免疫功能的影响[J]. 中华肾脏病杂志,1994,10(4):224.

[2] 代广会,周卿,尚京川. HPLC法测定维参锌胶囊中人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_e$ 、 $R_{b_1}$  的含量[J]. 中国药房,2007,18(30):2365.

[3] 李启艳,朱日然. HPLC测定益心胶囊中人参皂苷含量[J]. 中成药,2005,27(11):1269.

[4] 杨雪梅,刘旭,刘艳山,等. 高效液相色谱法测定三七中三七皂苷  $R_1$  及人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_{b_1}$  的含量[J]. 时珍国医国药,2005,16(8):710.

[5] 刘善新,马毅,刘青,等. HPLC测定七花活血片中人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_{b_1}$  的含量[J]. 中国现代中药,2007,9(6):15.

[6] 魏萍. 参术片中人参皂苷  $R_{g_1}$ 、 $R_e$  和  $R_{b_1}$  的HPLC测定[J]. 世界中西医结合杂志,2007,2(4):215.

[7] 许振朝,杨桂芳,黎德南,等. HPLC法测定参芪益母颗粒中人参皂苷  $R_{g_1}$  的含量[J]. 广西医学,2007,29(11):1747.

[8] 华彬,陆兔林. 复方心脑血管舒颗粒剂中人参皂苷  $R_{g_1}$  的含量测定[J]. 时珍国医国药,2003,14(8):469.

[9] 刘俊达,胡昌江,李兴华. 高效液相色谱法测定理中汤配方颗粒中人参皂苷含量[J]. 药物鉴定,2007,16(15):22.

[10] 刘焱,张明浩,钟瑜. HPLC测定益安回生口服液人参皂苷  $R_e$ 、 $R_{g_1}$  的含量[J]. 中成药,2003,25(5):369.

[11] 刘晓兰,舒婧,陈衍中,等. HPLC法测定参茸口服液中人参皂苷  $R_{g_1}$  和  $R_{b_1}$  含量[J]. 海峡药学,2007,19(1):32.

[12] 朱文良,李发美. HPLC法同时测定复方黄芪注射液中人参皂苷  $R_e$ 、 $R_{g_1}$  含量[J]. 沈阳药科大学学报,2006,23(9):577.

[13] 吴翠芳,刘玉兰,左笑从,等. 高效液相色谱法测定参麦注射液3种人参皂苷的含量[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(12):1499.

[14] 王梅,范亚刚,高文分. RP-HPLC梯度洗脱法同时测定三七总皂苷及血塞通注射液中三种皂苷的含量[J]. 药物分析杂志,2000,20(6):410.

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:105.

[责任编辑 刘德文]