

8种人参皂苷在人参全草中的分布情况

曲桂武^{1,2}, 夏学超¹, 潘丽丽², 宋晓², 杨金丽²

(1. 烟台职业学院, 山东烟台 264670; 2. 吉林长白山绿叶人参产业有限公司, 吉林 长白 134400)

[摘要] 目的:建立一种同时检测8种人参皂苷的HPLC检测方法,分析人参皂苷在人参全草各部位中的分布情况。方法:采用Discovery C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),柱温35℃,流动相乙腈-水进行梯度洗脱,流速1 mL·min⁻¹,检测波长203 nm,检测六年生人参的花蕾、叶、茎、芦头、支根、须根以及主根木栓层、韧皮部、木质部9个部位中人参皂苷Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rb₃, Rd的含量。结果:所建方法具有良好的重复性和溶液稳定性,8种成分可达到基线分离,并且具有较宽的线性范围和良好的线性关系,回收率在98%~102%。结论:首次对8种人参皂苷在人参全草中的分布进行了研究,所建方法可用于同时测定人参全草不同部位中8种人参皂苷的含量;8种人参皂苷在须根、花蕾中含量高,在茎中含量最低,主根中的人参皂苷则主要分布于木栓层。

[关键词] 人参皂苷;含量测定;分布;人参全草

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)17-0052-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015170052

Distribution of Eight Ginsenosides in Entire Plant of *Panax ginseng* QU Gui-wu^{1,2}, XIA Xue-chao, PAN Li-li², SONG Xiao², YANG Jin-li² (1. Department of Food and Biochemical Engineering, Yantai Vocational College, Yantai 264670, China; 2. Jilin Changbai Luye Ginseng Industry Co. Ltd., Changbai 134400, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for simultaneously determining eight ginsenosides and analyze their distribution in entire plant of *Panax ginseng*. **Method:** Discovery C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was adopted with the mobile phase of acetonitrile (A) and water (B) by the gradient elution. The flow rate was 1 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was at 203 nm. The RP-HPLC method was established for simultaneously determining Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rb₃, Rd in bud, leaf, stem, root top, rootlet, fibrous root, and cork layer, phloem, xylem of six-year-old ginseng plants. **Result:** The established method had a good practicable reproducibility and solution stability and separated eight components beyond the baseline, with a wider linear range and good linear relationship ($r > 0.999$). The recoveries ranged from 98% to 102%. **Conclusion:** The distribution of eight ginsenosides in entire plant of ginseng was studied for the first time. The established method can be applied to simultaneously determine eight ginsenosides, with the maximum content in fibrous roots and buds and the minimum content in stems. Ginsenosides of main roots are mainly distributed in the cork layer.

[Key words] ginsenoside; content determination; distribution; entire plant of *Panax ginseng*

人参在《神农本草经》中被列为上品,具大补元气,复脉固脱,补脾益肺,生津养颜,安神益智等功效^[1]。研究表明,人参中的有效成分主要包括人参皂苷、人参多糖、挥发油、氨基酸等^[2-3],其中人参皂苷是人参具有抗肿瘤、免疫、抗衰老、抗肝纤维化等作用^[4-7]的物质基础。

传统的人参多应用根或根茎,且以主根为主。

研究显示,人参地下部分的根或根茎以及地上部分的茎叶、花蕾等部位均有人参皂苷存在^[8-11],且芦头与须根中人参皂苷的含量高于主根^[12],显示人参不同部位中的皂苷含量存在差别,这为人参的综合加工利用提供了初步指导,但人参全草中人参皂苷的分布尚未见研究报道。本研究以人参全草为研究对象,以RP-HPLC检测花蕾、叶、茎、芦、主根(木栓层、

[收稿日期] 20140523(002)

[基金项目] 吉林省科技发展计划医药产业发展专项(YYZX201276)

[第一作者] 曲桂武,博士,副教授,从事天然活性成分研究与开发, Tel:0535-3800666, E-mail:qu_guiwu@163.com

韧皮部、木质部)、支根及须根共9个部位中人参皂苷 Rg_1 , Re, Rf, Rb_1 , Rc, Rb_2 , Rb_3 , Rd 的含量(简称 Rg_1 , Re, Rf, Rb_1 , Rc, Rb_2 , Rb_3 , Rd), 揭示其分布规律,为人参这一珍贵中药材的合理利用提供理论参考。

1 仪器与试剂

e2695 型高效液相色谱仪(2489 型紫外检测器, e2695 型自动进样器,美国 Waters 公司)。

人参皂苷 Rg_1 (批号 110703-200726), Re(批号 110754-200822), Rf(批号 111719-200703), Rb_1 (批号 0704-9912), Rb_2 (批号 111715-200802), Rb_3 (批号 111686-200501) 对照品购自中国食品药品检定研究院;人参皂苷 Rc, Rg_2 , Rd 对照品购自四川曼思特生物科技有限公司,峰面积归一化法测定纯度均 >98%。乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

人参采自吉林省长白朝鲜族自治县马鹿沟参场的6年生园参,6月份采集150棵人参全草,洗净后分离花蕾、茎、叶、芦、主根、支根及须根,其中主根仔细剥离成木栓层、韧皮部与木质部。各部位合并晾干,称重,得人参花蕾49 g,茎212 g,叶78 g,芦81 g,支根567 g,须根352 g,木栓层297 g,韧皮部425 g,木质部4362 g,粉碎成最粗粉备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Discovery C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~3 min, 35%~45% A; 3~53 min, 45%~55% A; 53~90 min, 55%~85% A; 90~93 min, 85%~100% A; 93~100 min, 100% A), 流速 1 mL·min⁻¹, 进样量 30 μL, 检测波长 203 nm。

2.2 对照品溶液的制备 取人参皂苷 Rg_1 , Re, Rf, Rb_1 , Rc, Rb_2 , Rb_3 , Rd 对照品适量,精密称定,加入甲醇制成含人参皂苷 Rg_1 , Re, Rf, Rb_1 , Rc, Rb_2 , Rb_3 , Rd 分别为 0.209 2, 0.209 6, 0.205 0, 0.201 0, 0.212 8, 0.188 2, 0.212 4, 0.204 2 g·L⁻¹ 的对照品贮备液;精密量取贮备液 2.5 mL,置 5 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取样品粉碎,称取 1 g 左右,精密称定,加水 100 mL 加热回流 3 h,抽滤,滤液加三氯甲烷 50 mL 萃取 2 次,水相用正丁醇 100 mL 萃取 3 次,合并萃取液,水浴蒸干,用甲醇溶解并转移至 25 mL 量瓶中定容,摇匀,得供试品溶液,备用。

2.4 线性关系 分别精密量取对照品贮备液 2, 4, 6, 8, 10 mL,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻

度,摇匀,进样测定。以质量浓度 X 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线。结果见表 1。

表 1 8 种人参皂苷的标准曲线

Table 1 Linearity regression equations of 8 ginsenosides

人参皂苷	线性方程	R^2	线性范围/μg
Rg_1	$Y = 388\ 025X - 43\ 430$	0.999 2	1.26 ~ 6.28
Re	$Y = 407\ 155X - 17\ 272$	0.999 8	1.26 ~ 6.29
Rf	$Y = 557\ 575X - 28\ 002$	0.998 6	1.23 ~ 6.15
Rb_1	$Y = 330\ 832X - 16\ 661$	0.999 8	1.21 ~ 6.03
Rc	$Y = 339\ 376X - 19\ 840$	0.999 1	1.28 ~ 6.38
Rb_2	$Y = 301\ 837X - 19\ 255$	0.999 8	1.13 ~ 5.65
Rb_3	$Y = 419\ 164X - 27\ 521$	0.999 8	1.27 ~ 6.37
Rd	$Y = 539\ 989X - 35\ 425$	0.999 2	1.23 ~ 6.13

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 30 μL,连续重复进样 5 次,记录峰面积,测得人参皂苷 Rg_1 , Re, Rf, Rb_1 , Rc, Rb_2 , Rb_3 , Rd 含量的 RSD 分别为 0.2%, 0.2%, 0.1%, 0.3%, 0.4%, 0.8%, 0.7%, 0.9%,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取人参花蕾、茎、叶、芦、须根、支根、主根木栓层、韧皮部、木质部,按上述供试品溶液制备方法,各制备 6 份供试品溶液,依法测定供试品中 8 种人参皂苷的含量并计算 RSD,结果表明该方法重复性好。分析数据见表 2。

表 2 人参不同部位 8 种人参皂苷含量的重复性试验(n=6)

Table 2 Results of reproducibility study(n=6) %

人参部位	RSD							
	Rg_1	Re	Rf	Rb_1	Rc	Rb_2	Rb_3	Rd
花蕾	1.3	0.4	1.1	1.0	0.7	1.5	0.9	0.7
茎	-	-	0.8	-	1.2	-	-	1.2
叶	1.6	1.4	-	1.7	1.4	1.1	1.4	1.5
芦	-	-	0.4	1.3	0.6	0.7	0.7	0.2
须根	0.3	0.3	0.2	0.5	0.3	0.5	0.6	0.6
支根	0.5	0.3	1.1	1.0	0.6	1.0	0.4	0.6
木栓层	-	-	1.1	1.1	0.5	0.8	1.3	1.3
韧皮部	-	-	1.3	1.4	1.4	1.4	1.2	1.4
木质部	-	-	1.2	1.1	1.4	1.9	1.7	1.9

2.7 稳定性试验 取人参花蕾、茎、叶、芦、须根、支根、主根木栓层、韧皮部、木质部,按 2.3 项下方法制备供试品溶液。分别在 0, 3, 6, 9, 12, 24 h 进样,记录供试品溶液中 8 种人参皂苷峰面积,计算 RSD。结果表明溶液 24 h 内稳定性良好,见表 3。

表 3 人参不同部位供试品溶液的稳定性试验

Table 3 Stability study on test solutions %

人参部位	RSD							
	Rg ₁	Re	Rf	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rb ₃	Rd
花蕾	1.1	1.1	0.9	1.3	1.8	1.2	1.3	0.6
茎	-	-	1.7	-	1.4	-	-	1.2
叶	1.6	1.8	1.6	1.7	1.7	1.6	1.4	1.9
芦	-	-	0.9	1.9	1.7	1.7	1.8	1.9
须根	1.8	1.4	1.7	1.8	1.8	1.7	1.8	0.6
支根	1.4	2.0	0.7	0.9	1.3	1.4	1.6	1.2
木栓层	-	-	1.0	1.8	1.5	1.8	1.9	1.8
韧皮部	-	-	1.4	1.6	1.6	1.7	1.9	1.9
木质部	-	-	1.4	1.3	1.5	1.6	1.6	1.3

表 4 人参不同部位 8 种皂苷平均加样回收率试验 (n=6)

Table 4 Results of average recovery rate study (n=6) %

人参部位	Rg ₁		Re		Rf		Rb ₁		Rc		Rb ₂		Rb ₃		Rd	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
花蕾	101.22	2.0	100.18	2.0	101.02	1.4	99.03	1.5	99.81	1.3	102.01	1.1	98.96	2.1	100.25	2.2
茎	99.29	2.1	98.86	1.9	101.03	1.9	99.25	2.2	99.42	1.8	99.67	1.7	100.32	1.7	98.78	0.7
叶	98.76	2.3	99.25	2.3	99.14	1.8	100.31	1.9	99.78	2.0	98.89	2.1	99.56	2.1	100.01	1.8
芦	101.02	1.8	100.38	2.1	100.24	1.5	99.89	1.6	100.03	1.7	101.26	1.1	102.35	1.1	101.26	1.0
须根	100.36	1.1	99.89	1.2	100.12	0.8	100.05	1.2	99.31	1.1	99.46	0.9	101.01	1.3	100.24	1.3
支根	98.98	2.1	100.21	1.4	100.16	2.0	99.23	2.8	98.72	2.0	99.35	1.9	100.24	1.9	99.18	2.0
木栓层	98.33	2.3	98.76	2.2	99.01	1.3	98.42	2.3	100.07	2.2	99.42	2.3	98.89	1.8	100.10	2.6
韧皮部	99.21	1.2	100.27	2.1	98.76	1.8	102.01	2.5	100.03	2.1	98.32	2.3	98.89	2.1	99.21	1.3
木质部	98.01	1.4	97.79	2.1	101.21	1.8	98.96	2.1	99.35	1.4	100.24	0.2	98.78	2.4	99.19	1.7

表 5 人参不同部位 8 种人参皂苷的含量检测

Table 5 Contents of 8 ginsenosides in different part of *Panax ginseng* mg·g⁻¹

人参部位	人参皂苷质量分数								总计
	Rg ₁	Re	Rf	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rb ₃	Rd	
花蕾	0.075	1.279	0.011	0.202	0.222	0.259	0.032	0.569	2.649
茎	-	-	0.004	-	0.007	-	-	0.006	0.017
叶	0.122	1.009	-	0.025	0.072	0.137	0.075	0.175	1.614
芦	-	-	0.057	0.272	0.687	0.185	0.018	0.038	1.256
支根	0.047	0.048	0.026	0.107	0.313	0.075	0.006	0.007	0.629
须根	0.071	0.549	0.110	0.960	1.399	1.003	0.113	0.262	4.466
木栓层	-	-	0.094	0.306	0.626	0.234	0.028	0.031	1.318
韧皮部	-	-	0.034	0.129	0.178	0.043	0.003	0.007	0.395
木质部	-	-	0.009	0.033	0.110	0.007	0.001	0.001	1.162

2.8 回收率试验 取人参花蕾、茎、叶、芦、须根、支根、主根木栓层、韧皮部、木质部各 6 份,每份 0.5 g,精密称定,每份加入人参皂苷对照品贮备液 12.5 mL,制备供试品溶液,依法测定人参皂苷 Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rb₃, Rd 的含量,计算加样回收率,结果见表 4。

2.9 样品测定 分别取人参花蕾、茎、叶、芦、须根、支根、主根木栓层、韧皮部、木质部约 1 g,精密称定,按 2.3 项下方法制备供试品溶液。精密吸取各供试品溶液与 2.2 项下对照品溶液,依法测定,外标法计算各供试品溶液中 8 种皂苷的含量,并分析人参皂苷在人参全草中的分布规律。见表 5,6,图 1。

3 讨论

本研究建立了一种同时测定人参中 8 种人参皂

苷 Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rb₃, Rd 含量的 RP-HPLC 方法,并对人参皂苷在人参全草的分布进行

了比较研究。

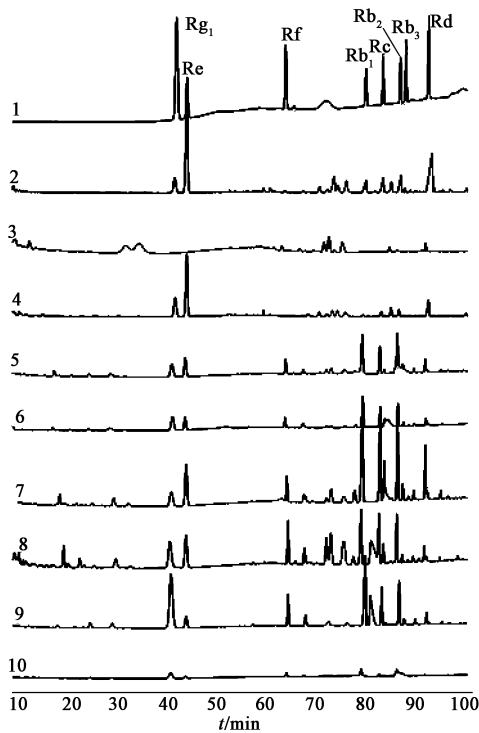
考虑到个体差异的影响,本研究以 150 棵人参

表 6 人参全草中人参皂苷的分布

Table 6 Distribution of ginsenoside in *Panax ginseng*

人参部位	质量/g	质量占全草比例/%	总皂苷/g	占全草总皂苷比例/%
花蕾	49	0.76	12.98	3.65
茎	212	3.30	0.35	0.10
叶	78	1.21	12.59	3.54
芦	81	1.26	10.18	2.86
支根	567	8.83	35.66	10.03
须根	352	5.48	157.20	44.21
木栓层	297	4.62	39.14	11.01
韧皮部	425	6.62	16.78	4.72
木质部	4 362	67.91	70.67	19.88

注:以 8 种人参皂苷的总质量数作为总皂苷。



1. 混合对照品;2. 花蕾;3. 茎;4. 叶;5. 芦;6. 支根;7. 须根;8. 木栓层;9. 韧皮部;10. 木质部

图 1 人参不同部位 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatography of different part of ginseng

作样本,以尽量体现人参皂苷分布趋势。检测结果表明,在该样本量的范围内,地下部分人参须根、支根与芦头中 8 种人参皂苷的含量要远大于主根,其中须根虽然质量只占整株人参质量的 5.48%,但 8 种人参皂苷的总含量却占整株人参的 44.21%。主根中的人参皂苷则主要分布于木栓层,且主根中几乎不含 Rg₁,Re。在人参植株的地上部分中,8 种人

参皂苷主要集中于花蕾与叶,而茎中只检出少量 Rf,Rc,Rd,这一检测结果提示人参叶与茎的利用价值不同。

人参作为一种传统名贵中药材,对生长环境要求比较苛刻,目前国内一般采用伐林栽参的种植模式,种植成本高,对环境资源破坏大。近些年随着人参被列入新资源食品原料目录,人参类产品在市场上也日见丰富,但质量良莠不齐。因此深入研究人参中活性成分的分布,对提高人参的综合利用度,以及提高人参产品的制备与质量控制水平,具有重要现实意义。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:8.

[2] 徐东铭,徐雅娟. 人参化学成分研究的新进展[J]. 中国中药杂志,1989,14(6):323-326.

[3] 黎阳,张铁军,刘素香,等. 人参化学成分和药理研究进展[J]. 中草药,2009,40(1):164,附1,附2.

[4] 辛颖,倪劲松,姜新,等. 20(S)-人参皂有 Rg₃ 抑制肿瘤生长的作用[J]. 吉林大学学报:医学版,2006,32(1):61-63,81.

[5] 任杰红,陈林芳,张路哈,等. 人参皂苷 Rg₁ 的免疫促进作用[J]. 中药新药与临床药理,2002,13(2):92-93.

[6] 赵朝晖,陈晓春,朱元贵,等. 人参皂苷 Rg₁ 延缓细胞衰老过程中端粒长度和端粒酶活性的变化[J]. 中国药理学通报,2005,21(1):61-66.

[7] 马岚青,梁兵,柳波,等. 人参皂苷 Rg₁ 抗肝纤维化的实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2007,15(3):165-168.

[8] 王洪平,杨鑫宝,杨秀伟,等. 吉林人参根和根茎的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(17):2807.

[9] Liu G Y, Li X W, Wang N B, et al. Three new dammarane-type triterpene saponins from the leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer[J]. J Asian Nat Prod Res,2010,12(10):865-873.

[10] Tung N H, Song G Y, Park Y J, et al. Two new dammarane-type saponins from the leaves of *Panax ginseng* [J]. Chem Pharm Bull, 2009, 57 (12): 1412-1414.

[11] Wu L J, Wang L B, Gao H Y, et al. A new compound from the leaves of *Panax ginseng*[J]. Fitoterapia,2007,78(7/8):556-560.

[12] 常建涛,富瑶瑶,吴迪,等. 敦化人参各部位皂苷组分的比较[J]. 大连工业大学学报,2011,30(1):43-45.

[责任编辑 顾雪竹]