

作者

Njies Pedjie

PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT 06484 USA

使用配备PDA检测器的PerkinElmer Flexar FX-15系统检测人参根中的皂苷

简介

在亚洲，人参属植物（又称作人参）的根用作草药已有超过2000年的历史，传说其具有各种各样有益于健康的功效，包括（但不限于）抗氧化、抗癌、抗炎症、抗糖尿病、抗高血压的作用。追溯人参的药理活性化合物是皂苷。虽然皂苷潜在的

作用基里尚未完全阐明，但其作用类似于类固醇激素。人参的品种数目繁多，每个品种都有其自身特定的皂苷。实际上已经有超过40种的皂苷单体被鉴定。皂苷是一个多样组的甾体皂苷，该甾体皂苷由四个环状甾体及糖基构成（图1），该结构的皂苷被认为是人参属植物中独有的，且以较高的浓度存在于根部。皂苷有两个主要的基团：一个主要基团是，人参二醇基团或者Rb1基团包括Rb1,Rb2,Rc,Rd,Rg3,Rh2和Rh3；另一个主要基团是人参二醇基团或者Rg基团包括Rg1,Re,Rf,Rg2和Rh1。

皂苷定性、定量的分析技术需要确保人参根前处理程序的质量控制，以及其新陈代谢及生物药效的研究。本应用文献介绍了一种同时测定七种皂苷的高效液相色谱法，文章介绍了方法的操作条件及性能数据，包括精密度、准确度、线性。该方法可应用于人参（高丽参）根胶囊及各种类型的皂苷鉴定。

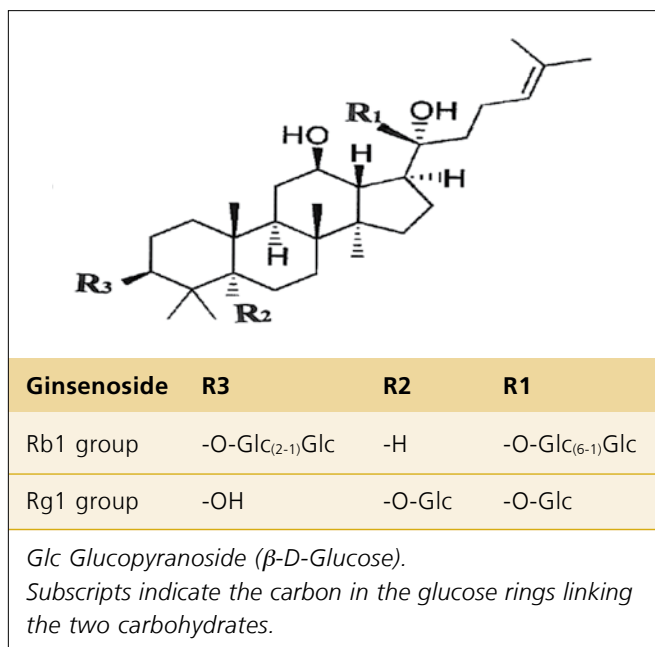


图1 皂苷的分子结构

试验

分别称取7中皂苷单体的标准物质适量，70:30的甲醇/水溶液（稀释溶液）溶解，涡旋1min，从而制备皂苷的标准储备溶液，各皂苷单体的浓度均为1mg/mL。分别移取7种皂苷单体的标准储备溶液各0.5mL，混匀，制备浓度为0.14mg/mL的工作标准。

工作标准连续进样8次以评估精密度。线性范围为7μg/mL-140μg/mL。为了评价方法的准确度，在纯水中加入适量的工作标准制备各皂苷单体浓度均为7μg/mL的溶液，测定回收率。从一种著名品牌的胶囊中取大约3g的人参粉末转移至50mL的容量瓶中，加入30mL的稀释溶液，涡旋1min后超声30min，然后5000rpm离心10min，收集上层的离心溶液待用。继续在沉淀物中加入15mL的稀释溶液，重复上述涡旋、超声、离心的步骤。收集第二次的上层离心溶液与第一次的上层

离心溶液合并于50mL的容量瓶中，稀释溶液定容至刻度，充分混匀，进样之前用0.2μm尼龙滤膜过滤。

一台配有Flexar FX PDA光电二极管阵列检测器的PerkinElmer® Flexar™ FX-15 UHPLC为本实验的检测设备，使用PE Brownlee SPP C-18, 50 x 2.1 mm, 2.7 μm（表面多孔颗粒）的色谱柱进行分离。

自动进样器	Flexar FX UHPLC												
设置	50 μL 采用环和15 μL 进样针，局部循环模式 350 μL 混合器体积；进样器清洗：水												
进样体积	2 μL												
PDA 检测器	扫描范围190-400 nm，记录设置为 203 nm												
UHPLC 色谱柱	PE Brownlee SPP C-18, 50 x 2.1 mm, 2.7 μm (表面多孔颗粒) 柱温45°C，部件号：N9308402												
流动相	A: 水 B: 乙腈												
	<table border="1" data-bbox="1029 932 1476 1095"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>流速 (mL/min)</th> <th>B%</th> <th>curve</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2.5</td> <td>0.4</td> <td>30-35</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>3.5</td> <td>0.4</td> <td>35-50</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	流速 (mL/min)	B%	curve	2.5	0.4	30-35	1	3.5	0.4	35-50	1
时间 (min)	流速 (mL/min)	B%	curve										
2.5	0.4	30-35	1										
3.5	0.4	35-50	1										
	每个梯度运行完成，平衡3min (HPLC级的溶剂和ACS级的试剂)												
采样率:	5pt/s												
software:	Chromera® Version 3.0												

结果与讨论

该方法的测定最佳流速为0.4mL/min，45°C平衡压力为5150psi(355bar)，6min钟内所有的色谱峰流出色谱柱。皂苷标准溶液及高丽参的测定色谱图见图2和图3所示。方法获得优越的性能：每种皂苷的线性相关系数的平方(R²)不小于0.997，精密度(相对标准偏差RSD%)范围从0.6%至1.2%。纯水的加标回收率范围从91.2%-108.0%，平均值为99.9% (图4)。详细的方法性能、人参样品测定结果和加标样品的测定结果见表2所示。

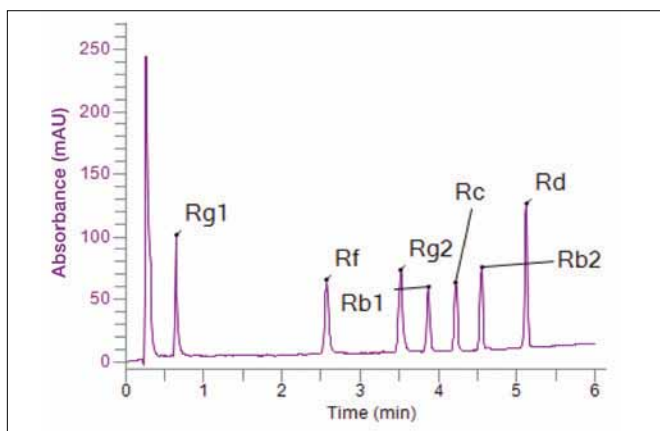


图2 皂苷工作标准的分析色谱图

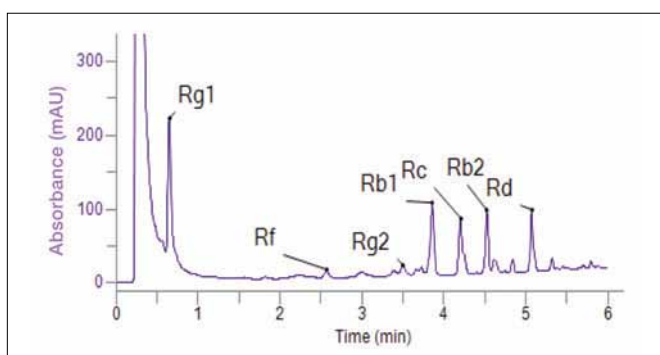


图3 人参样品的分析色谱图

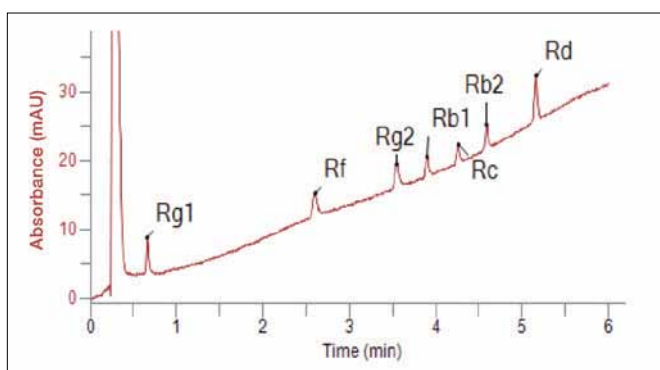


图4 7ppm皂苷水溶液的分析色谱图

表2 精密度, 线性, 准确度和样品测定含量

化合物	RSD% (n=8)	r2	范围 ($\mu\text{g/mL}$)	高丽参 (mg/g)	7ppm 水加标
Rg1	0.9	0.9997	7-140	13	97.5
Rf	0.6	0.9971	7-140	1	91.2
Rg2	1.2	0.9983	7-140	1	98.7
Rb1	1.1	1	7-140	10	102.1
Rc	1.2	0.9994	7-140	10	100.3
Rb1	1.0	0.9996	7-140	7	101.4
Rd	1.2	0.9997	7-140	4	108.0
Avg/Tot.	1.0/NA	0.9988/NA	NA	NA/46	99.9/NA

NA=不适用

结论

7种皂苷在6min内被很好的分离, 方法的线性相关系数 $R^2 \geq 0.997$, 精密度 $\text{RSD}\% \leq 1.2\%$, 回收率的平均值为99.9%。高丽参的皂苷测定结果为46mg/mL。Flexar FX PDA检测器能够稳定和准确的测定的波长范围是190nm-700nm, 包含紫外及可见光的波长。PE的Chromera软件提供了多种数据采集和处理的功能, 包括创建谱库, 峰纯度, 三维谱图和等高线图, 该软件是一款解析三维光电二级管阵列色谱信息强有力的工具。谱库搜索功能允许储存标准色谱峰, 以用于后续实际样品中峰的鉴定、确认。

参考文献

1. Rebecca M. Corbit, Jorge F.S. Ferreira, Stephen D. Ebbs, and Laura L. Murphy. Simplified Extraction of Ginsenosides from American Ginseng for High-Performance Liquid Chromatography-Ultraviolet Analysis *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 9867-9873 9867.
2. Attele, A.S.; Wu, J.A.; Yuan, C.-S. Ginseng Pharmacology: Multiple Constituents and Multiple Actions. *Biochem. Pharmacol.* **1999**, 58, 1685-1693.

注: 本应用文献如有更改, 恕不另行通知。

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司
地址: 上海张江高科园区李冰路67弄4号
邮编: 201203
电话: 800 820 5046 或 021-38769510
传真: 021-50791316
www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表, 请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。