

人参皂苷水溶液热稳定性研究

余潇苓¹, 苗青¹, 方翠芬² (1.浙江中医药大学附属第一医院, 杭州 310006; 2.浙江省食品药品检验所, 杭州 310004)

摘要: **目的** 研究加热时间对人参皂苷水溶液的影响及受热后人参皂苷含量的变化情况。**方法** 红参须浓缩液加热不同时间, 采用高效液相色谱法测定其人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc 和 Rd 的含量。**结果** 5 种人参皂苷在加热 6 h 内, 发生不同程度的降解反应, 二醇类人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rd 在加热 2~3 h 时, 含量呈明显下降趋势, 人参皂苷 Rd 降解速率最慢。三醇类人参皂苷 Rg₁ 和 Re 在加热 3 h 内含量快速下降, 3 h 后趋于平缓。**结论** 在常压受热条件下, 人参皂苷水溶液主要成分人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc 和 Rd 的含量, 随加热时间延长而不断下降, 3 h 后下降速率减缓。三醇类人参皂苷较二醇类对热更为敏感。

作者简介: 余潇苓, 女, 硕士, 研究实习员

Tel: (0571)87071670

E-mail: usually07@126.com

中国现代应用药学 2011 年 12 月第 28 卷第 12 期

Chin JMAP, 2011 December, Vol.28 No.12

· 1109 ·

关键词: 人参皂苷; 稳定性; 降解; 高效液相色谱法

中图分类号: R285.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)12-1109-04

Studies on Thermal Stability of Ginsenosides Aqueous Solution

YU Xiaoling¹, MIAO Qing¹, FANG Cuifen²(1.First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China; 2.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To research the influence of heating-time on ginsenosides aqueous solution. **METHODS** HPLC was applied to determine the contents of ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁, Rc and Rd, by means of different heating-time in *Radix ginseng lateralis rubra* concentrated liquid. **RESULTS** Within 6 hour of heating, the five types of ginsenosides showed different degrees of degradation. The content of the 20(S)-protopanaxdiol type ginsenoside Rb₁, Rc and Rd decreased significantly in the first 2 to 3 hours. Ginsenoside Rd had the lowest degradation rate compare with other four ginsenosides. The 20(S)-protopanaxtriol type ginsenoside Rg₁ and Re decreased rapidly within the first 3 hours, and then leveled off. **CONCLUSION** Under heating at atmospheric pressure, the main ingredients of in ginsenosides, Rg₁, Re, Rb₁, Rc and Rd, will keep falling as the heating prolonged. The descent rate becomes slow after the first 3 hours. Specifically, 20(S)-protopanaxtriol type ginsenoside is more sensitive than 20(S)-protopanaxdiol type ginsenoside.

KEY WORDS: ginsenoside; stability; degradation; HPLC

人参皂苷是人参最主要的活性成分之一^[1], 现代药理研究表明, 人参皂苷在抗肿瘤、抗疲劳, 影响和调节免疫系统、中枢神经系统、心血管系统等方面均有明显作用^[2-3]。众所周知, 人参皂苷水溶液在常压受热条件下, 热稳定性差。受热时间对人参皂苷水溶液的主要组分有何影响, 影响有多大, 关系着人参皂苷提取物制备过程中提取、浓缩等重要环节。本实验以红参须为研究对象, 二醇型人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rd、三醇型人参皂苷 Rg₁ 和 Re 为检测指标, 采用 HPLC 测定其含量^[4-6], 初步考察人参皂苷水溶液在常压状态下的热稳定性, 为人参皂苷提取物的研究开发提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司, 配备 G1315D 二极管阵列检测器, 安捷伦化学工作站); 乙腈为色谱纯; 其他试剂为分析纯; 人参皂苷 Rg₁ 对照品(批号: 110703-200425)、人参皂苷 Re 对照品(批号: 110754-200421)、人参皂苷 Rb₁ 对照品(批号: 110704-200217)均购自中国药品生物制品检定所, 供含量测定用。人参皂苷 Rc 对照品(批号: 090910, 纯度≥98%)、人参皂苷 Rd 对照品(批号: 090708, 纯度≥98%)均购自上海融禾医药科技有限公司。红参须(杭州萧山医药有限公司中药分公司, 批号: 100118)由浙江省中医院徐锡山主任中药师鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* C.A.Mey. 的栽培品经蒸制后的干燥细支根及须根^[7]。

2 方法与结果

2.1 红参须浓缩液的制备

取红参须小段, 以 30% 乙醇提取, 提取液浓缩至每 1 mL 含生药量 0.5 g 的水溶液, 即红参须浓缩液(HSXY)样品, 经测定 pH 值为 4.79。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水; 梯度洗脱: 0~35 min, 20% 乙腈, 35~130 min, 由 20% 乙腈渐变为 34% 乙腈; 检测波长: 203 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 20 °C; 进样量: 10 μL。色谱图见图 1。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取经五氧化二磷减压干燥 12 h 的人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc 和 Rd 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含人参皂苷 Rg₁ 0.1 mg、人参皂苷 Re 0.1 mg、人参皂苷 Rb₁ 0.3 mg、人参皂苷 Rc 0.2 mg、人参皂苷 Rd 0.2 mg 的溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取 HSXY 样品 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2.4 线性关系考察 取人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc 和 Rd 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成初始浓度为人参皂苷 Rg₁ 0.637 5 mg·mL⁻¹、Re 0.743 5 mg·mL⁻¹、Rb₁ 1.657 mg·mL⁻¹、Rc 1.271 5 mg·mL⁻¹、Rd 0.804 0 mg·mL⁻¹ 的对照品储备液。将上述储备液依次用甲醇稀释 3, 5, 9, 15, 45,

90 倍, 得到一系列对照品溶液。依次吸取上述对照品溶液各 10 μL , 注入高效液相色谱仪, 分别以对照品的含量(X)为横坐标, 峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归, 从相关系数看, 5 种单体人参皂苷对照品均呈良好的线性关系, 结果见表 1。

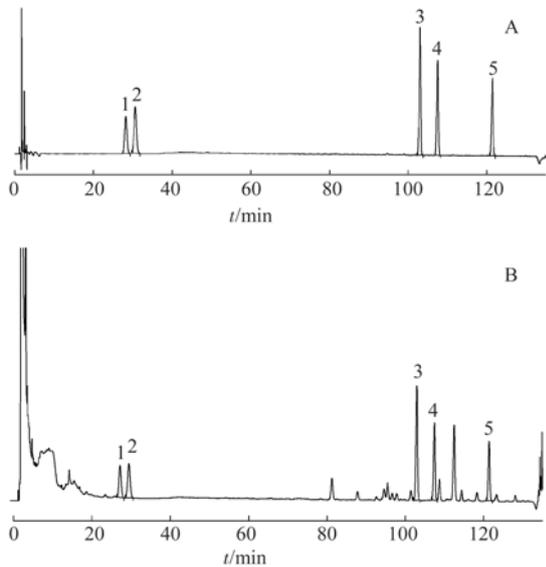


图 1 HPLC 色谱图

A-混合对照品; B-供试品; 1-人参皂苷 Rg_1 ; 2-人参皂苷 Re ; 3-人参皂苷 Rb_1 ; 4-人参皂苷 Rc ; 5-人参皂苷 Rd

Fig 1 HPLC chromatogram

A-mixed standard solutions; B-sample; 1-ginsenoside Rg_1 ; 2-ginsenoside Re ; 3-ginsenoside Rb_1 ; 4-ginsenoside Rc ; 5-ginsenoside Rd

表 1 人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 、 Rd 线性回归方程($n=7$)

Tab 1 Equation of linear regression of ginsenoside Rg_1 , Re , Rb_1 , Rc , Rd ($n=7$)

对照品	方程	线性范围/ μg	r
Rg_1	$Y=339.68X-6.1046$	0.07083~6.375	1.0000
Re	$Y=333.2X-9.4277$	0.08261~7.435	1.0000
Rb_1	$Y=298.68X-0.4596$	0.1841~16.57	1.0000
Rc	$Y=295.24X-1.4787$	0.1413~12.72	1.0000
Rd	$Y=356.87X-1.5249$	0.08933~8.040	1.0000

2.2.5 仪器精密度试验 配制人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 和 Rd 浓度分别为 0.1275, 0.1487, 0.3314, 0.2543, 0.1608 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液, 精密吸取该对照品溶液各 10 μL , 连续进样 6 次, 结果人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 和 Rd 峰面积 RSD 分别为 0.33%, 0.35%, 0.08%, 0.14% 和 0.24%。表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取 HSXY 样品, 按“2.2.3”项下方法操作, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 测得人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 和 Rd 含量,

计算其 RSD 分别为 1.52%, 1.32%, 0.88%, 0.93% 和 0.75%。

2.2.7 稳定性试验 取制备好的供试品溶液, 分别于 0, 3, 5, 8, 11, 14, 25, 47 h 测定, 测得人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 和 Rd 色谱峰的峰面积, 计算 RSD 分别为 2.13%, 2.06%, 1.97%, 1.31% 和 1.75%, 表明供试品溶液至少在 47 h 内稳定。

2.2.8 回收率试验 精密量取已知含量的样品 HSXY 1 mL, 共 6 份, 分别精密加入人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 、 Rc 和 Rd 对照品, 按“2.2.3”项下方法操作, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算回收率。结果见表 2。

表 2 回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery tests($n=6$)

人参皂苷	已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
Rg_1	0.6170	0.6375	1.2689	102.26	102.1	1.41
	0.6170	0.6375	1.2470	103.51		
	0.6170	0.6375	1.2639	101.48		
	0.6170	0.6375	1.2537	99.87		
	0.6170	0.6375	1.2659	101.78		
	0.6170	0.6375	1.2787	103.79		
Re	0.7394	0.7435	1.4713	98.43	99.4	1.38
	0.7394	0.7435	1.4688	98.10		
	0.7394	0.7435	1.4766	99.16		
	0.7394	0.7435	1.4746	98.88		
	0.7394	0.7435	1.4966	101.84		
	0.7394	0.7435	1.4835	100.08		
Rb_1	1.750	1.657	3.449	102.51	100.8	1.17
	1.750	1.657	3.407	99.96		
	1.750	1.657	3.412	100.28		
	1.750	1.657	3.435	101.70		
	1.750	1.657	3.395	99.29		
	1.750	1.657	3.422	100.89		
Rc	1.163	1.272	2.467	102.53	100.9	1.13
	1.163	1.272	2.455	101.61		
	1.163	1.272	2.444	100.77		
	1.163	1.272	2.434	99.95		
	1.163	1.272	2.448	101.10		
	1.163	1.272	2.426	99.36		
Rd	0.7651	0.8040	1.5625	99.18	99.6	1.00
	0.7651	0.8040	1.5670	99.75		
	0.7651	0.8040	1.5770	100.98		
	0.7651	0.8040	1.5555	98.31		
	0.7651	0.8040	1.5595	98.81		
	0.7651	0.8040	1.5718	100.33		

2.3 人参皂苷水溶液热稳定性研究

精密量取 HSXY 样品 50 mL, 称重, 电热板加热, 分别回流 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 h, 放冷, 再称重, 用水补足减失的重量, 摇匀, 离心, 取上清液, 即得红参须浓缩液在不同加热时间下的样品。取上述样品按“2.2”项下方法测定, 结果见图 2。

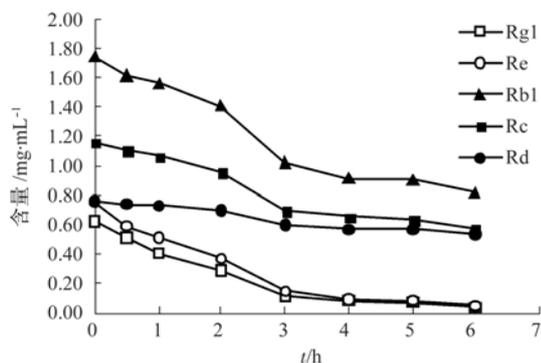


图 2 不同加热时间人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁, Rc, Rd 含量变化(n=3)

Fig 2 Content changes of ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁, Rc, Rd in different heating time (n=3)

由结果可知, 5 种人参皂苷在加热 6 h 内, 发生了不同程度的降解反应, 含量随着加热时间延长, 呈不断下降趋势。二醇类人参皂苷 Rb₁、Rc 和 Rd, 当加热时间由 2 h 上升到 3 h 时, 降解速率加快, 3~6 h 又趋于平缓。人参皂苷 Rd 含量降解速率最慢。三醇类人参皂苷 Rg₁ 和 Re 在加热 0~3 h 内降解速率较快, 3 h 后趋于平缓。

3 讨论

人参皂苷水溶液在常压加热条件下, 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rc 和 Rd 随加热时间延长均发生不同程度的降解反应, 提示在常压加热过程中, 人参皂苷热稳定性差。故在人参皂苷提取物制备过程中, 若要保留大部分的原型皂苷, 应缩短人

参皂苷水溶液的常压受热时间。

二醇类人参皂苷在受热过程中, 2~3 h 降解速率较 2 h 内突然加快, 3 h 后又趋于平缓; 三醇类人参皂苷则保持较为平稳的降解速率。当含量降为较低值时, 降解速率减缓, 提示在制备人参皂苷提取物时, 控制常压加热时间, 对于人参提取液中各人参皂苷组分比例有较大的影响。

糖基的不同结构决定了降解速率的差异, 对于二醇类皂苷, C₂₀ 双糖链中的 1,6 糖苷键稳定性弱于 C₃ 双糖链中的 1,2 糖苷键, 故在降解过程中, Rb₁ 首先降解生成 Rd, 这也可能是在常压加热条件下, 人参皂苷 Rd 降解速率相对人参皂苷 Rb₁ 和 Rc 缓慢的原因。

本实验研究提示了一定浓度人参皂苷水溶液中人参皂苷的热稳定性, 至于不同浓度时, 是否也会发生类似的变化规律, 还有待更深一步的研究。

REFERENCES

- [1] KITAGAWA I, YOSHIKAWA M, YOSHIHARA M, et al. Chemical studies on crude drugs(1). Constituents of Ginseng Radix Rubra [J]. Yakugaku Zasshi, 1983, 103(6): 612-622.
- [2] WANG Y H, LOU D W, YU X Y, et al. Recent advances in pharmacological effects of ginseng [J]. J Jilin Institut Chem Tech(吉林化工学院学报), 2010, 27(2): 38-41.
- [3] SHI Q M. Recent advances in pharmacological effects of ginsenoside [J]. China Pharm(中国药房), 2010, 21(31): 2967-2969.
- [4] ZHANG Y, CUI R, DU H J, et al. Determination of saponins in the flower buds of Panax Notoginseng by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, 26(1): 68-71.
- [5] LU M, CHEN B H. Determination of notoginsenoside R1 and ginsenoside Rg1 in Hongyao tablet by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2009, 26(3): 215-217.
- [6] PU Y C, XU Y L, CUI J R. Determination of notoginsenoside R1, ginsenoside Rg1 and ginsenoside Rb1 in Rupixiao granule by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(11): 1028-1030.
- [7] Anhui Chinese Medicine Yinbian Processing Standards(2005) (安徽省中药饮片炮制规范 2005 年版) [S]. 2005: 106.

收稿日期: 2011-04-06