

人参及其四种常见伪品的 HPLC 定性鉴别

□武 佳 (中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所 北京 100193)
(首都医科大学燕京医学院 北京 101300)

张 继 (中国药品生物制品检定所 北京 100050)

南 垚 张清华 安慧景 周立东*

(中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所 北京 100193)

摘要:目的:研究在单一 HPLC 分析条件下同时检出人参及多种常见伪品的方法。方法:选定人参伪品的特征成分,以乙腈/ H_3PO_4 水为流动相梯度洗脱,203nm 为检测波长进行 HPLC 法分析。结果:利用建立的单一 HPLC 分析条件可同时定性鉴别人参及其 4 种伪品。结论:本方法对于生药及药材提取物的鉴别,具有简便、快速、灵敏、可操作性强的特点。

关键词:HPLC 人参 桔梗 商陆 华山参 羊乳

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.03.018

当前应用最广泛的中药掺伪鉴别方法为性状鉴别和指纹图谱鉴别法,而红外光谱鉴别法^[1]、裂解气相色谱法^[2]、SNP(单核苷酸多态性)结合芯片电泳法^[3]等也有报道。本文选择传统常用中药人参为实例,以化学模式为基础,通过调研确定人参各常见伪品^[4](桔梗、商陆、华山参、羊乳)的特征化学成分,采用色谱方法检出伪品的存在,对单一色谱条件下同时检出药材中多种伪品做了有益尝试,是中药质量控制研究思路的拓展,不仅能鉴别药材的掺伪与否,而且能确定所掺伪品的种类,将更好地保证用药安全。

一、材料与方方法

1. 仪 器

SHIMADZU 20A 型高效液相色谱仪(SPD-M20A 型检测器、DGU-20A3 型在线脱气系统,CTO-10AS

vp 型柱温箱)、SHIMADZU AUW220D 型分析天平(万分级,日本岛津公司)、SK2200HLC 型超声仪(上海科导超声仪器有限公司)、HWS24 型恒温水浴箱(上海一恒科技有限公司)、RE-5299 型旋转蒸发器(上海振捷实验设备有限公司)等。

2. 试 药

人参(购自中国医学科学院药用植物研究所销售中心,为五加科植物人参 *Panax ginseng* C.A.May. 的干燥根及根茎)、桔梗(购自河北省安国市百草药材行,为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A.DC.的根)、商陆(购自河北省安国市百草药材行,为商陆科植物商陆 *Phytolacca acinosa* Roxb.的根)、华山参(由安徽省亳州市国鑫医药公司惠赠,为茄科植物华山参 *Physochlaina infundibularis* Kuang 的根)、羊乳(购自河北省安国市百草药材行,为桔梗科植物羊乳 *Codonopsis lanceolata* Benth. Et Hook. f.的根),以上生药均由中国医学科学院药用植物研究所

收稿日期:2010-10-15

修回日期:2010-11-23

* 通讯作者:周立东,研究员,主要研究方向:天然药物的化学,Tel:010-57833226, E-mail:ldzhou@implad.ac.cn。

张本刚研究员鉴定。

人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 和东莨菪内酯对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所),桔梗皂苷 D 对照品(本所许旭东研究员惠赠),商陆皂苷甲对照品(供含量测定用,上海鼎瑞化工有限公司),Codonoposide 对照品(本实验室自制)。

乙腈(色谱纯, Burdick Jackson),水为纯净水(娃娃哈哈纯净水),其它试剂为分析纯。

3. 方法

(1) 色谱条件。

色谱柱:Kromasil C_{18} (250mm×4.9mm, 5 μ m),流动相:0min 乙腈(A):0.05% H_3PO_4 水(B)(20:80), 20min A(25)、45min A(25)、75min A(30)、95min A(30),流速:0.8mL·min⁻¹,柱温:30℃,检测波长:203nm。

(2) 对照品溶液的制备。

精密称取人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 、桔梗皂苷 D、商陆皂苷甲、东莨菪内酯、Codonoposide 对照品适量,加甲醇溶解并配制成浓度分别为 0.392、0.464、0.141、0.500、0.122、0.513mg·mL⁻¹ 的对照品储备液,于 4℃避光密闭保存。分别精密吸取各储备液适量,配制成混合对照品溶液。

(3) 供试品溶液制备。

药材粉碎过四号药筛,取 2g 细粉,精密称定,置于 50mL 锥形瓶中,加甲醇 30mL 浸渍 3h 后超声提取 30min,滤液浓缩后甲醇定容 10mL,得供试品溶液。

(4) 人为掺伪供试品溶液的制备。

①10%桔梗掺入供试品溶液的制备 分别取人参 1.8g 和桔梗细粉 0.2g,精密称定,按上述方法制备,即得。

②10%商陆掺入供试品溶液的制备 分别取人参 1.8g 和商陆细粉 0.2g,精密称定,按上述方法制备,即得。

③5%华山参掺入供试品溶液的制备 分别取人参 1.9g 和华山参细粉 0.1g,精密称定,按上述方法制备,即得。

④10%羊乳掺入供试品溶液的制备 分别取人参 1.8g 和羊乳细粉 0.2g,精密称定,按上述方法制备,即得。

二、结果

选取人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 为人参的特征成分,在上述色谱条件下,其保留时间分别为

24.8min 和 92.8min,此两个色谱峰作为人参的定性鉴别标志;分别选取东莨菪内酯、桔梗皂苷 D、商陆皂苷甲和 Codonoposide 为华山参、桔梗、商陆、羊乳的特征成分,进行色谱分析,保留时间分别为 14.4min、49.2min、84.7min 和 87.1min,可分别用于华山参、桔梗、商陆、羊乳的定性鉴别,色谱结果见图 1。其中 S1 为上述混合对照品(东莨菪内酯、人参皂苷 Rg_1 、桔梗皂苷 D、商陆皂苷甲、Codonoposide、人参皂苷 Rb_1) HPLC 色谱图;S2、S3、S4、S5、S6 分别为人参、华山参、桔梗、商陆、羊乳的甲醇提取液色谱图。

对人为掺入部分伪品后的供试品溶液进行 HPLC 分析,色谱结果见图 2。其中 S1 为混合对照品的 HPLC 色谱图,S2 为未掺入任何伪品的人参甲醇提取液色谱图;S3、S4、S5、S6 分别为 5%华山参掺入人参、10%桔梗掺入人参、10%商陆掺入人参、10%羊乳掺入人参后甲醇提取液的 HPLC 色谱图。如果人参的甲醇提取液按上述分析方法进行 HPLC 分析,在保留时间分别为 14.4min(东莨菪内酯)、49.2min(桔梗皂苷 D)、84.7min(商路皂苷甲)和 87.1min(Codonoposide)出现明显吸收峰可高度怀疑相应伪品的混入。

尽管桔梗皂苷 D 在桔梗皂苷类成分中含量最高,但不同产地桔梗中含量最高^[9]亦不超过 0.39%,因此在图 2 中 S4 色谱图中桔梗皂苷 D 色谱峰并不十分明显。

三、讨论

1. 特征性成分的确定

(1) 桔梗与商陆代表成分的确定。

经文献考察桔梗皂苷 D、商陆皂苷甲分别为桔梗科桔梗属、商陆科商陆属植物特有,其它种属植物中未见报道,结合《中国药典》关于桔梗、商陆含量测定规定将桔梗皂苷 D、商陆皂苷甲作为桔梗与商陆的代表成分。

(2) 华山参代表成分的确定。

据文献报道很多植物中均含有东莨菪内酯,因此该化合物并不是华山参的代表成分,但是根和根茎中含有东莨菪内酯成分的生药有少毛北前胡^[6]、白刺花^[7]、北沙参^[8]、打碗花^[9]、肥牛木^[10]、独活^[11]、长梗秦艽^[12]、白树^[13]、白花银背藤^[14]、白背叶根^[15]等,这些生药从性状上与人参有较大差别,基本不存在掺伪的可能,结合《中国药典》关于华山参含量测定规定将东

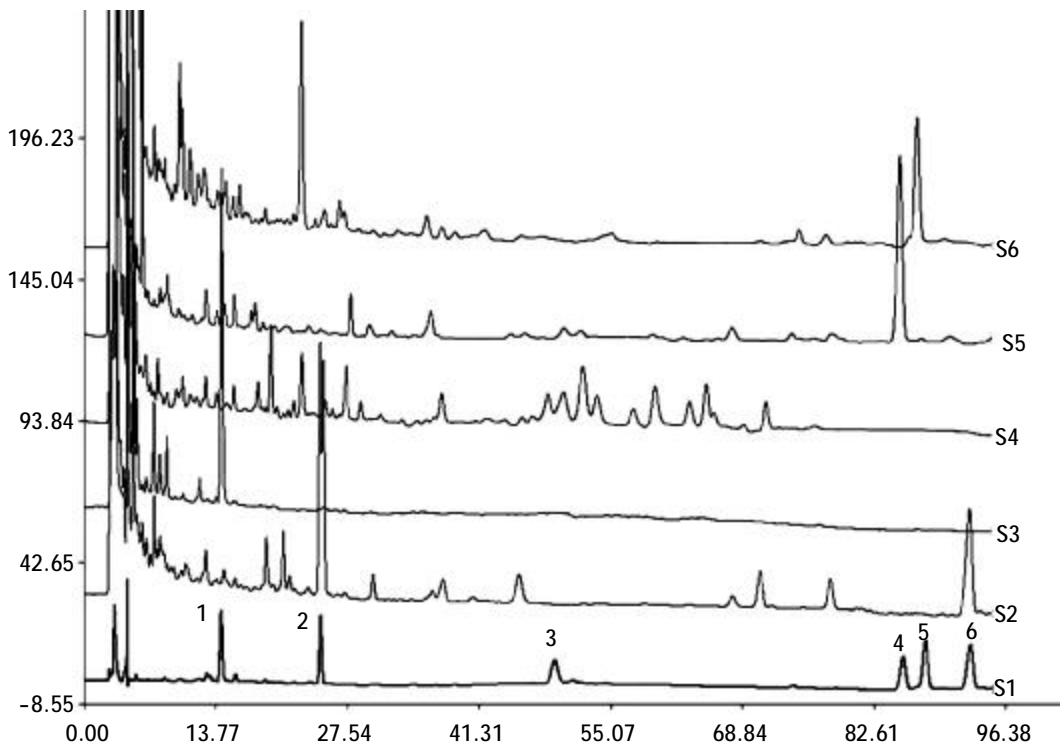


图1 人参及四种常见伪品的 HPLC 色谱图(203nm)

注:S1:混合对照品,S2:人参,S3:华山参,S4:桔梗,S5:商陆,S6:羊乳;1:东莨菪内酯,2:人参皂苷 Rg₁,3:桔梗皂苷 D,4:商陆皂苷甲,5:Codonoposide,6:人参皂苷 Rb₁。

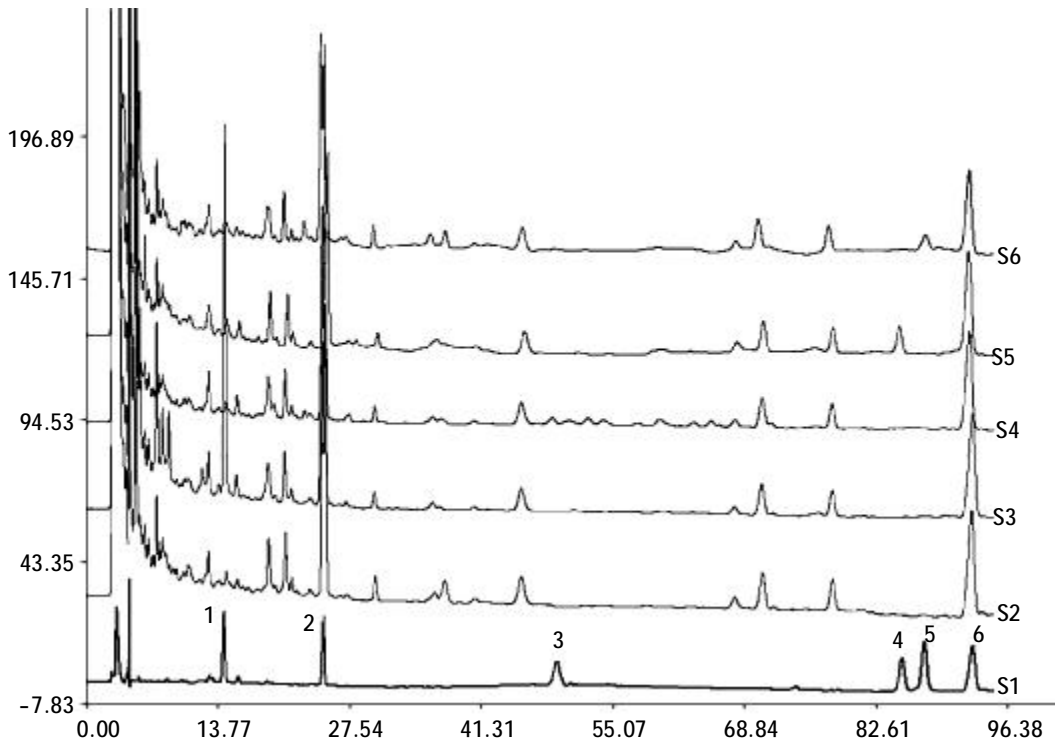


图2 人参及部分伪品掺入后的 HPLC 色谱图(203nm)

注:S1:混合对照品,S2:人参,S3:5%华山参掺入,S4:10%桔梗掺入,S5:10%商陆掺入,S6:10%羊乳掺入;1:东莨菪内酯,2:人参皂苷 Rg₁,3:桔梗皂苷 D,4:商陆皂苷甲,5:Codonoposide,6:人参皂苷 Rb₁。

莨菪内酯作为华山参的代表成分。

(3)羊乳代表成分的确定。

Codonoposide 为首次从桔梗科党参属植物羊乳中分离得到,其它植物的化学成分研究未见报道,故将 Codonoposide 作为羊乳的代表成分。

2. 检测波长的确定

综合考虑到人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、桔梗皂苷 D、商陆皂苷甲、东莨菪内酯、Codonoposide 的紫外吸收特征,将检测波长确定为 203nm。

3. 优势

HPLC 法用于中药掺伪鉴别最突出的优势在于客观性,对于药材破碎后及药材提取物的鉴别更加简便、灵敏、可操作性强;同时,2010 版《中国药典》中关于人参的定性定量分析方法虽然对人参药材的分析能够获得满意的结果,但是对于人参药材部分掺伪后的鉴别结果并不理想,如桔梗皂苷 D、商陆皂苷甲色谱峰与人参药材自身的色谱峰在药典分析方法下

无法获得满意的分离结果,而本法将人参及4种常见伪品的代表成分制成混合对照品,可以在一种色谱条件下同时检测人参及4种伪品存在的可能性,以保证临床用药的安全有效。

4. 局限性

很多中药的伪品往往不是常用中药材(如本实验中伪品之羊乳),因此伪品特征性代表成分的分离和确定比较麻烦。中药掺伪是由于正伪品药材外观相似误采收或人为掺假形成,伪品种类常有变化,本法尽管对生药常见伪品的检出具有快速灵敏的优势,但若想解决所有伪品检出的问题,则需要进行更多的基础研究。另外,本次试验中桔梗皂苷D在桔梗中含量较低,且紫外吸收弱,因此伪品掺入后使用紫外检测器时检测灵敏度会受到影响,如果采用蒸发光检测器检测,结果可能会有所改善,但由于本实验室的检测条件限制依然采用紫外检测器进行检测。另外,如果将HPLC-MS联用技术引入生药的掺伪鉴别将更具科学性和准确性,这有待于进一步研究。

参考文献

- 1 田进国,姜红祥,任健,等.人参和西洋参的红外光谱鉴别.中草药,1996,19(2):70-72.
- 2 吴永江,陈启琪,徐宗藩,等.人参等中药材真伪的裂解气相色谱鉴

- 别.浙江医科大学学报,1993,22(4):163-165.
- 3 宋沁馨,冯芳,张心悦,等. SNP测定结合芯片电泳法快速鉴别人参和西洋参.药物分析杂志,2009,29(1):1-5.
- 4 中国药品生物制品鉴定所.中国中药材真伪鉴别图典.常用贵重药材,进口药材分册.广州:广东科技出版社,1995:1-6.
- 5 石俊英,王颖,巩丽丽,等.HPLC法测定桔梗不同部位、不同产地药材中桔梗皂苷D含量.山东中医药大学学报,2007,31(6):501-503.
- 6 李文,封士兰,胡芳弟,等.少毛北前胡的香豆素类化学成分研究.中国中药杂志,2009,34(10):1231-1234.
- 7 陈青,朱海燕,杨小生,等.黔产白刺花化学成分研究.中成药,2009,31(2):269-271.
- 8 刘曼,孔德志,杨维,等.胶束电动毛细管电泳分离鉴定北沙参中5种香豆素类成分.中国中药杂志,2010,35(14):1840-1844.
- 9 高晓霞,宋擎,吴维明,等.高效液相色谱法测定打碗花根中莨菪亭含量.中国医院药学杂志,2008,28(5):366-368.
- 10 梅文莉,戴好富,吴大刚.肥牛木根化学成分研究.天然产物研究与开发,2006,18:243-245.
- 11 王天勇,杨文远.反相高效液相色谱法同时测定独活中莨菪亭和伞形花内酯.分析实验室,1996,15(1):17-20.
- 12 段朝辉,石宝俊,吴立宏,等.长梗秦艽的化学成分.中国天然药物,2007,5(6):417-420.
- 13 晏仁义,陈若芸.白树的化学成分研究II.中国中药杂志,2007,32(16):1653-1655.
- 14 邱宏聪,李茂,孟夏临.白花银背藤根和茎中莨菪亭内酯的含量测定.上海中医药杂志,2009,43(11):81-82.
- 15 徐一新,陈海生,周靖,等.白背叶根化学成分研究.解放军药学报,1999,15(5):7-10.

Differentiation and Authentication of Panax ginseng and Four Common Morphological Fakes by HPLC Wu Jia^{1,2}, Zhang Ji³, Nan Yao¹, Zhang Qinghua¹, An Huijing¹, Zhou Lidong¹

(1. Institute of Medicinal Plant Development Affiliated with the Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;

2. Yanjing Medical College, Capital Medical University, Beijing 101300, China;

3. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

Abstract: This study aimed to establish a simultaneous analysis method for Panax ginseng and four morphological fakes by determining specific constituents. Acetonitrile/H₃PO₄ aqueous solution was used as the mobile phase with gradient elution. The detection wavelength was set at 203 nm in the HPLC analysis. The results showed that the established HPLC analysis can be used in the simultaneous differentiation of Panax ginseng and four common morphological fakes. It is concluded that this method is simple, sensitive and operational in the identification of herbal medicine and its extractions.

Keywords: HPLC, Panax ginseng C.A.May., Platycodon grandiflorum (Jacq.) A.DC., Phytolacca acinosa Roxb., Physoclaina infundibularis Kuang, Codonopsis lanceolata Benth. Et Hook.f.

(责任编辑:李沙沙,责任译审:王 晶)