

# 人参水解物中人参二醇的工艺优化及其 HPLC-ELSD 含量测定方法

刘小妹<sup>1</sup>, 施崇精<sup>1</sup>, 程中琴<sup>1</sup>, 王姗姗<sup>1</sup>, 袁强华<sup>2</sup>, 宋 英<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>成都中医药大学药学院, 成都 610075; <sup>2</sup>成都中医药大学附属医院, 成都 610072

**摘要:** 采用 HPLC-ELSD 建立人参水解物中人参二醇的含量测定方法, 并探讨人参二醇的最佳水解条件。HPLC-ELSD 具体条件为: Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(75:25), 混合方式: 离线混合, 流速 0.8 mL/min, 柱温 30 °C, 检测器参数为漂移管温度 85 °C, 蒸发器气体流速: 2.6 mL/min。以人参二醇含量为指标, 从盐酸用量、水解温度、水解时间 3 个方面优化水解工艺。根据回归方程, 人参二醇在 0.494 ~ 1.978 μg ( $R^2 = 0.9998$ ) 时线性关系良好。回收率在 98.79% ~ 101.37%, RSD 为 1.07% ( $n = 6$ )。在此测定方法下优选出人参二醇的最佳水解条件为: 酸的浓度控制在 5%、水解温度 80 °C、水解 3 h。本研究首次建立了 HPLC-ELSD 测定人参中人参二醇含量的方法, 该法准确可靠、方便简单, 优选的工艺为人参二醇的综合开发利用提供科学依据。

**关键词:** 人参; 人参二醇; 水解; 高效液相色谱-蒸发光散射检测器法

中图分类号: R93

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.10.016

## Process Optimization of Panaxadiol in Ginseng Hydrolysate and Its Content Determination by HPLC-ELSD

LIU Xiao-mei<sup>1</sup>, SHI Chong-jing<sup>1</sup>, CHENG Zhong-qin<sup>1</sup>, WANG Shan-shan<sup>1</sup>, YUAN Qiang-hua<sup>2</sup>, SONG Ying<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Pharmacy College, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China;

<sup>2</sup>The Affiliated Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China

**Abstract:** The determination method of panaxadiol in Ginseng hydrolysate was established by HPLC-ELSD. The optimal hydrolysis condition of panaxadiol was investigated. For HPLC-ELSD, an Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was applied, the mobile phase consisted of acetonitrile-water (75:25), Hybrid method; offline hybrid, the flow rate was 0.8 mL/min, the column temperature was 30 °C, the drift tube temperature of ELSD was set at 85 °C, and the flow rate of air was 2.6 mL/min. Based on panaxadiol content, the hydrolysis process was optimized from three aspects; the amount of hydrochloric acid, the hydrolysis temperature and the hydrolysis time. According to the regression equation, it was found that as for panaxadiol, the linear detection range was 0.494-1.978 μg ( $R^2 = 0.9998$ ), the recovery was from 98.79% - 101.37%, and the relative standard deviation was 1.07% ( $n = 6$ ). Under the determination method, the optimal hydrolysis conditions were: acid concentration control at 5%, hydrolysis temperature 80 °C, and time was 3 h. In conclusion, a HPLC-ELSD method for determination of panaxadiol in Ginseng was established for the first time, the method was reliable and easy. The optimized process provided scientific basis for the comprehensive exploitation and utilization of panaxadiol.

**Key words:** ginseng; panaxadiol; hydrolysis; HPLC-ELSD

人参, 五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎, 性甘、微苦, 微温。归脾、肺、心、肾经。具大补元气, 复脉固脱, 补脾益肺, 生津养

血, 安神益智的功效<sup>[1]</sup>。人参中主要有效成分为人参皂苷, 按苷元结构可分为 3 种类型, A 型-人参二醇型、B 型-人参三醇型、C 型-齐墩果酸型<sup>[2]</sup>。

近年来, 通过水解总皂苷得到高活性的微量皂苷元的研究发展较为迅速。总皂苷的水解方式以酸水解、碱水解及酶水解为主<sup>[3]</sup>, 碱水解的条件难以控制, 反应产物较为复杂, 酶水解需相应的水解酶,

收稿日期: 2017-10-12 接受日期: 2018-03-13

基金项目: 国家中医药管理局 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-SC-41); 四川省中医药管理局 其他中医药支出 (210069)

\* 通信作者 Tel: 86-28-87783251; E-mail: songying624@163.com

条件特殊<sup>[4]</sup>。本实验主要以研究酸水解为主。A 型和 B 型皂苷酸水解时,水解产物中得不到真正的皂苷元,这是由于这些皂苷元不太稳定,水解易引起皂苷元脱水、环合、构型转化等变化,最终生成脱水皂苷元。其反应机理如图 1:人参皂苷水解时,C-20 位的构型极易受酸的影响,发生差向异构化,转变为 20(R) 的苷元,接着发生 C-20 羟基和侧链双键的脱水环合,生成异构化产物人参二醇或人参三醇。

现有研究表明,人参二醇有多方面的药理作用,

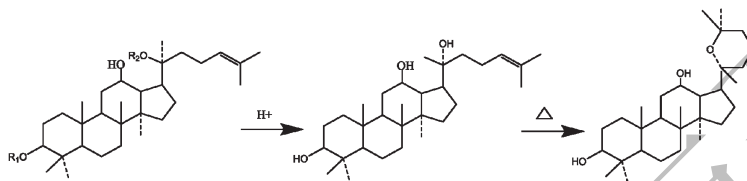


图 1 A 型皂苷(20S) ( $R_1 = R_2 =$  糖基)、原人参二醇(20R) 及人参二醇的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of saponins (20S) ( $R_1 = R_2 =$  sugar-based), protopanaxadiol (20R) and panaxadiol

## 1 仪器与试剂

安捷伦 Agilent-1260 高效液相色谱仪(配置四元泵、DAD 检测器、在线脱气装置、美国安捷伦科技有限公司);2000-奥泰蒸发光散射检测器(美国格雷斯科公司);OpenLAB 色谱工作站;BP-211D 十万分之一天平(塞多利斯科学仪器(中国)有限公司);电子恒温水浴锅(广东省汕头市医用设备厂有限公司)。人参二醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110701-201614,纯度:99.3%);人参片(购于四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学附属医院药剂科副主任中药师盛蓉鉴定);乙腈、甲醇为色谱纯;水为自制超纯水;其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(75:25),混合方式:离线混合,体积流量:0.8 mL/min;柱温:30 °C;检测器参数为漂移管温度 85 °C,蒸发器气体流速:2.6 mL/min。进样量:10 μL。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取人参二醇对照品 20.75 mg,置于 25 mL 容量瓶,加入甲醇定容至刻度,摇匀,得对照品储备液。精密吸取人参二醇对照品储备液 3 mL,置 25

包括免疫调节<sup>[5]</sup>;抗肿瘤;对肝、肾损伤有一定的保护作用等<sup>[6]</sup>。还可以用来定量反映人参药材的品质。一直以来,人参二醇的定量测定是研究的难点所在,目前,有用 HPLC 法直接测定<sup>[7]</sup>,但人参二醇在低紫外吸收波长处测定时,基线噪音大、灵敏度低。也有将其制成衍生物,再进行 HPLC 测定<sup>[8]</sup>,但条件复杂,本实验采用 HPLC-ELSD 法对其进行测定,结果令人满意。

mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成每 1 mL 含人参二醇 0.098 9 mg 的对照品溶液。

### 2.3 色谱系统优化

#### 2.3.1 线性评价

在以下测定条件下,比较不同进样体积和不同进样浓度的线性关系。(测定条件 1:同 2.1 项下色谱条件。测定条件 2:流动相:80% 乙腈溶液,其他同测定条件 1。)取上述对照品储备液,分别精密吸取 1、2、3、5 mL 置 25 mL 容量瓶、1、3、5 mL 置 10 mL 容量瓶、2 mL 置 5 mL 容量瓶,甲醇溶解并定容至刻度,得系列不同浓度的对照品溶液,取上述系列 5 号对照品溶液,分别进样 3、5、7、10、13、15、17、20 μL,测定峰面积,以进样量(μg)的对数(X)为横坐标,峰面积的对数(Y)为纵坐标进行线性回归,分别得回归方程。结果见表 1,结合  $R^2$  值及线性范围值,不同进样体积线性评价  $R^2 \approx 0.999 9$ ,线性范围要窄,而蒸发光检测器的线性范围一般要求较窄,实际测定中不同浓度往往会超出线性范围,且不同浓度往往误差来源不可控,两种测定条件下,不同进样体积线性关系均优于不同进样浓度线性关系,确定采用不同进样体积的方式绘制线性回归方程。

#### 2.3.2 流动相

考察不同比例的乙腈和水作流动相对分离效果的影响,总皂苷水解断裂糖苷键后,产物的极性会变小,随着乙腈比例的增大,组分流出色,调整乙腈的比例分别为 75%、80%,并绘制不同条件下线性方程,

表 1 不同方法评价线性

Table 1 Evaluation of linearity of different methods

方法 Method	回归方程 Regression equation	相关系数 $R^2$	线性范围 Linear range	
测定条件 1 Condition 1	不同浓度线性 Linear of different concentration	$Y = 1.2879X + 3.2592$	0.9981	0.330 ~ 4.121 $\mu\text{g}$
	不同体积线性 Linear of different volume	$Y = 1.3087X + 3.2633$	0.9999	0.494 ~ 3.297 $\mu\text{g}$
测定条件 2 Condition 2	不同浓度线性 Linear of different concentration	$Y = 1.5218X + 3.1332$	0.9976	0.330 ~ 4.121 $\mu\text{g}$
	不同体积线性 Linear of different volume	$Y = 1.5287X + 3.1991$	0.9996	0.494 ~ 3.297 $\mu\text{g}$

见表 1, 两个测定条件下, 以不同进样体积绘制线性回归方程, 测定条件 1 (75% 乙腈水溶液)  $R^2 = 0.9999$ , 测定条件 2 (80% 乙腈水溶液)  $R^2 = 0.9996$ 。综合体系分离效果、 $R^2$  值及实验成本。选择用 75% 乙腈水溶液作为流动相, 并比较在线混合洗脱、离线混合洗脱。在线混合洗脱常出现保留时间忽前忽后, 而离线混合洗脱保留时间稳定。因流动相中乙腈比例较高, 乙腈和水混溶吸热, 瞬间变冰冷, 影响出峰时间, 因此选择离线混合均匀, 稳定后再洗脱。

### 2.3.3 流动相流量

考察流动相流量分别为 0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2 mL/min, 同条件下, 每个流量以不同进样体积绘制线性回归方程, 结合线性优良及含量分析不同流动相流量对分离效果的影响, 结果见表 2, 流量为 0.8、0.9 mL/min 时  $R^2$  分别为 0.9995、0.9997, 含量为 2.451、2.446 mg/g, 因流动相中含高比例的乙腈, 流速不宜过高, 试验选择流动相流量为 0.8 mL/min。

表 2 不同流动相流量考察

Table 2 Evaluation of different flow rate of mobile phase

流动相流量 Flow rate of mobile phase	回归方程 Regression equation	相关系数 $R^2$	质量分数 Mass fraction (mg/g)
0.6 mL/min	$Y = 1.3808X + 3.0634$	0.9988	2.425
0.7 mL/min	$Y = 1.3583X + 3.0721$	0.9986	2.388
0.8 mL/min	$Y = 1.3174X + 3.0802$	0.9995	2.451
0.9 mL/min	$Y = 1.3381X + 3.0681$	0.9997	2.446
1.0 mL/min	$Y = 1.2795X + 3.0811$	0.9991	2.400
1.1 mL/min	$Y = 1.3053X + 3.0829$	0.9991	2.457
1.2 mL/min	$Y = 1.2466X + 3.0830$	0.9991	2.422

### 2.3.4 色谱柱柱温

考察柱温分别为 25、27.5、30、32.5、35  $^{\circ}\text{C}$ , 同条件下, 每个柱温以不同进样体积绘制线性回归方程, 结合线性优良、含量及实验条件分析不同柱温对分离效果的影响, 结果见表 3, 不同柱温条件下,  $R^2 \approx 0.999$ , 结合含量, 30、35  $^{\circ}\text{C}$  时含量优于其他组,  $R^2_{(30^{\circ}\text{C})} = 0.9997 > R^2_{(35^{\circ}\text{C})} = 0.9994$ , 30  $^{\circ}\text{C}$  回归方程的线性优于 35  $^{\circ}\text{C}$  的线性, 且较高的柱温影响柱子使用寿命, 故试验选择色谱柱柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.3.5 漂移管温度

考察漂移管温度分别为 80、85、90、95、100  $^{\circ}\text{C}$ ,

结果见表 4, 漂移管温度的变化对保留时间影响较小, 但对基线信噪比影响较大, 基线噪音波动大, 影响待测组分的峰形及对称性, 根据多溶剂组成的流动相漂移管温度、气体流量计算公式再结合  $R^2$  值, 确定 ELSD 漂移管温度为 85  $^{\circ}\text{C}$ 。

## 2.4 人参二醇的制备工艺

### 2.4.1 不同供试品溶液制备

取人参药材粉末(过四号筛)1 g, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇 40 mL 回流提取 1 h, 滤过, 置蒸发皿中蒸干, 残渣加 40 mL 水溶解, 加入 10 mL 的浓盐酸, 使其浓度达到 7%, 80  $^{\circ}\text{C}$  水浴回流 2 h, 冷却, 置分液漏

表 3 不同色谱柱柱温考察

Table 3 Evaluation of different column temperature

柱温 Column temperature	回归方程 Regression equation	相关系数 $R^2$	质量分数 Mass fraction (mg/g)
25 °C	$Y=1.6866X+2.8026$	0.9994	2.407
27.5 °C	$Y=1.6842X+2.8051$	0.9993	2.433
30 °C	$Y=1.7248X+2.7998$	0.9997	2.468
32.5 °C	$Y=1.6957X+2.8004$	0.9990	2.432
35 °C	$Y=1.7052X+2.8216$	0.9994	2.515

表 4 不同漂移管温度考察

Table 4 Evaluation of different drift tube temperature

漂移管温度 Drift tube temperature	回归方程 Regression equation	相关系数 $R^2$	基线噪音 Baseline noise
80 °C	$Y=1.4779X+3.0171$	0.9997	平稳 Stable
85 °C	$Y=1.5314X+2.9098$	0.9995	平稳 Stable
90 °C	$Y=1.5195X+2.9115$	0.9991	平稳 Stable
95 °C	$Y=1.5083X+2.9015$	0.9975	平稳 Stable
100 °C	$Y=1.5401X+3.0525$	0.9795	波动较大 Fluctuation Large

斗中,用水饱和的正丁醇萃取4次,每次30 mL,合并正丁醇液。10%氨水洗至中性,置蒸发皿中蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至25 mL容量瓶中,摇匀作供试品液。

取人参药材粉末(过四号筛)1 g,置具塞锥形瓶中,加水40 mL、浓盐酸10 mL,使酸浓度达到7%,80 °C水浴回流提取2 h,离心,上清液置分液漏斗中,用水饱和的正丁醇萃取4次,每次30 mL,合并正丁醇液。10%氨水洗至中性,置蒸发皿中蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至25 mL容量瓶中,摇匀作为供试品液。

取人参药材粉末(过四号筛)1 g,置具塞锥形瓶中,加水饱和正丁醇40 mL、浓盐酸10 mL,使酸的浓度达到7%,80 °C水浴回流提取2 h,离心,上清液用10%的氨水洗至中性。置蒸发皿中蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至25 mL容量瓶中,摇匀作供试品溶液。

#### 2.4.2 提取结果比较

上述3种供试品溶液,经0.45 μm孔滤膜滤过,取续滤液,按2.1项下色谱条件测定人参二醇的含量,结果见表5,3种提取工艺计算得到的人参二醇含量差异明显,将上述色谱数据导入《中药色谱

指纹图谱相似度评价系统》2012版进行相似度分析,见图2。结果显示3种工艺的色谱图相似度为100%,与对照品图谱相比较,表明3种工艺提取的是同一物质。并与2015年版《中国药典》一部收载的人参中指标成分的含量相比较,结果表明工艺3提取率最佳,操作较工艺1、2简单快速,耗时短。确定为最佳工艺。

表 5 3种人参二醇提取工艺成分含量的比较

Table 5 Comparison of panaxadiol content extracted with 3 different processes

工艺方法 Method	人参二醇含量 Content of panaxadiol (mg/g)
工艺1 Method 1	1.125
工艺2 Method 2	0.910
工艺3 Method 3	1.523

#### 2.5 水解条件优化

本实验使用蒸发光散射检测器,故选用易挥发的盐酸作为水解介质,考察了盐酸用量、水解时间、水解温度对人参二醇含量的影响<sup>[9]</sup>。

##### 2.5.1 盐酸用量

控制盐酸浓度分别为1%、2%、3%、4%、5%、

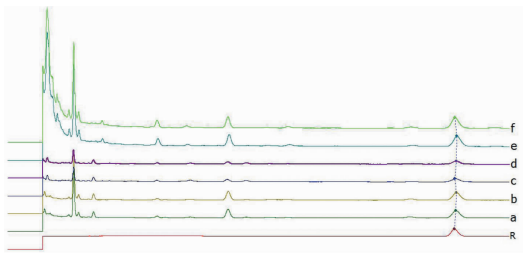


图2 3种不同工艺的HPLC指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of 3 different processes

注:R 对照品;a, b 工艺1;c, d 工艺2;e, f 工艺3。

Note: R-substances; a, b-method 1; c, d-method 2; e, f-method 3.

6%、7%、11%含量。照2.4.1项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件测定,根据线性回归方程计算含量。结果见图3。

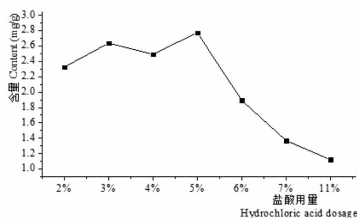


图3 盐酸用量对酸解效果的影响

Fig. 3 The effect of the amount of hydrochloric acid on the acid solution

由图3可得,控制酸的浓度在5%时,含量最高。盐酸的用量增加或减少,都会降低测定结果,浓度过低,条件温和,可能反应停留在生成次生苷阶段。浓度在1%时,图谱相应位置未出峰,未发生水解反应。浓度过高,可能破坏了目标产物,导致含量下降。

### 2.5.2 酸解时间

在最佳酸用量下,控制酸解时间为1、2、3、4、5 h。照2.4.1项下方法制样,按2.1项下色谱条件测定,根据线性方程计算其含量。结果见图4。

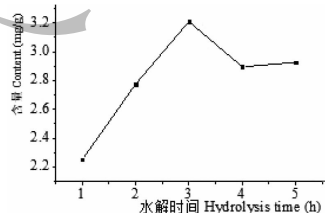


图4 水解时间对酸解效果的影响

Fig. 4 The effect of hydrolysis time on the acid solution

### 2.5.3 酸解水浴温度

在最佳酸用量、最佳酸解时间下,控制酸解水浴

温度为70、80、90、100℃,按2.4.1项下方法制样,2.1项下色谱条件测定,并根据线性方程计算含量。结果见图5。

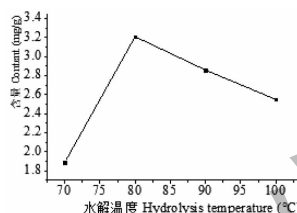


图5 水解温度对酸解效果的影响

Fig. 5 The effect of hydrolysis temperature on the acid solution

由图4、5可见,酸解时间和酸解温度对含量的影响较为显著,控制水解时间为3 h。时间过短,反应未进行完全,时间过长,可能会破坏人参二醇的结构,从而影响得率。最佳水解温度为80℃,温度对含量的影响亦是如此。

## 2.6 优选方法

取人参药材粉末(过四号筛)1 g,置具塞锥形瓶中,加水饱和正丁醇40 mL、浓盐酸7 mL,使酸的浓度达到5% 80℃水浴回流提取3 h,离心,上清液用10%的氨水洗至中性。置蒸发皿中蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至25 mL容量瓶中,摇匀作供试品溶液,在相应色谱条件所得谱图见图6。

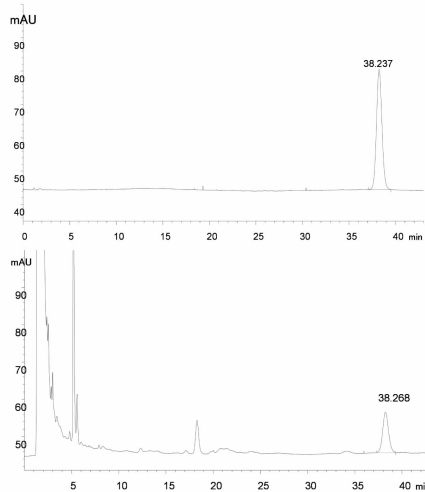


图6 人参二醇对照品和样品的HPLC-ELSD色谱图

Fig. 6 HPLC-ELSD chromatogram of panaxadiol reference substances and samples

## 2.7 HPLC-ELSD 测定方法方法学考察

### 2.7.1 线性关系考察

精密吸取上述对照品溶液5、7、10、13、15、17、20 μL注入液相色谱仪中,按2.1项下色谱条件,测

定色谱峰面积,以进样量( $\mu\text{g}$ )的对数( $X$ )为横坐标,峰面积的对数( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得人参二醇回归方程  $Y = 1.5356X + 2.9947$ ,  $R^2 = 0.9998$ ,人参二醇在进样量在  $0.494 \sim 1.978 \mu\text{g}$  时线性关系良好。

### 2.7.2 精密密度试验

精密吸取上述对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件下,连续进样 6 次,测定峰面积,结果人参二醇峰面积 RSD 为 1.02%,表明仪器精密密度良好。

### 2.7.3 稳定性考察

取人参药材粉末 1 g,照 2.6 项下优选方法制样,按 2.1 项下色谱条件,分别于 0、2、4、8、10、12 h 进样  $10 \mu\text{L}$  测定,测定峰面积,结果人参二醇峰面积 RSD 为 1.32%,表明供试品在 12 h 内稳定。

### 2.7.4 重复性试验

取同一批次的人参药材(批号:1704093)1 g,精密称定,平行称取 6 份,照 2.6 项下优选方法制样,按 2.1 项下色谱条件测定峰面积,结果人参二醇含量为  $3.220 \text{ mg/g}$ ,RSD 为 1.59% ( $n=6$ )。

### 2.7.5 加样回收率考察

取已知人参二醇含量的人参(人参二醇  $3.220 \text{ mg/g}$ )样品 6 份,各约 0.5 g,精密加入  $1.6014 \text{ mg/mL}$  的人参二醇对照品各 1 mL,照 2.6 项下优选方法制样,按 2.1 项下色谱条件测定,计算得平均回收率为 100.15%,RSD 为 1.07%。

### 2.7.6 样品的测定

取 3 批人参样品,照 2.6 项下优选方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进行测定。根据线性回归方程计算人参二醇含量,结果见表 6。

表 6 样品测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 6 The content determination result of sample( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

批号 No.	人参二醇含量 Content of panaxadiol (mg/g)
1704093	$3.221 \pm 0.11$
1705081	$3.153 \pm 0.06$
1703067	$3.298 \pm 0.09$

## 3 讨论与结论

本实验对人参二醇的提取进行探讨,中药生产过程中,提取工艺一直是研究的热点之一,理想的提取工艺不仅考虑成分的提取率,也要关注提取时间、材料试剂耗费、工艺是否简单可靠,这都会影响最终

产品的质量和成本。文献报道人参二醇的制备及衍生化整个实验耗时 8 h 之多,提取时间长、条件复杂、操作繁琐、需用的耗材试剂较多,不可控因素较多,相比而言,本实验提出的新型提取人参降解物中人参二醇的方法较以往的柱前衍生化法,整个过程操作简单,大幅的减少提取时间,降低实验成本。优选方法更适合于名贵中药及有效成分不稳定的中药提取工艺优化。

本实验曾考察了盐酸的几种加入方式,不加盐酸水解,发现供试品在色谱条件下其 HPLC 图谱在相应位置没有出峰,说明人参中不存在游离的人参二醇。加入盐酸,超生水解,但未经受热,图谱中未发现峰。加入盐酸,水浴加热,图谱中相应的位置出峰。说明水解需一定的温度,同时也说明超声提取在此实验中不可行。

检测器的选择:因人参中皂苷类成分处于紫外末端吸收,常用 203 nm 波长检测,考虑到采用紫外检测器,容易受到杂质干扰,且在低波长段基线易漂移、响应低、灵敏度低、噪音大,而蒸发光检测器属通用型检测器<sup>[10]</sup>,对不挥发成分有响应,其响应值取决于被分析物质颗粒的大小和数量,不存在紫外末端吸收的问题,所得信号无论从峰形、基线噪音、响应都优于紫外检测器,故采用 ELSD 检测器。

### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the Peoples Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: Vol I, 8-9.
- 2 Kuang HX(匡海学). Traditional Chinese medicine (TCM) chemical (中药化学) [M]. Beijing: Chinese Traditional Chinese Medicine Press, 2014: 239-242.
- 3 Li XW(李绪文), Lin YF(林燕飞), Zheng Y(郑莹), et al. Determination of 20(S)-protopanaxadiol in acid and alkaline degradation products for spaoins from leaves of *Panax quinquefolium* L. by RP-HPLC [J]. *J Jilin Univ* (吉林大学学报), 2006, 2: 353-356.
- 4 Li YH(李有海), Han WJ(韩文敬), Lu SK(陆仕坤), et al. Chemical constituents of enzymatic hydrolysate of total ginsenoside from stems and leaves of *Panax ginseng* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 655-660.
- 5 Zheng ZY(郑智茵), Yin LM(尹利明), Zhuang HF(庄海峰), et al. Effects of PDS-C on immunoregulation in mice with aplastic anemia [J]. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报), 2015, 6: 790-795.