

不同蒸制工艺对三七有效成分变化规律的影响

高亚珍¹, 邹俊波², 王智超², 陈青焱¹, 雷星¹, 徐杰¹, 杨明^{1*}, 王芳^{1*}

(1. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004;

2. 陕西中医药大学药学院, 陕西咸阳 712046)

[摘要] 目的:研究熟三七炮制过程样品表观颜色、近红外光谱与指标性成分含量动态变化的相关性,为熟三七炮制工艺优化及质量控制提供参考。方法:设置100~105,114~118,130~136℃共3个蒸制温度梯度,并分别在蒸制时长为1,2,4,8,12,24 h时取样,进一步干燥粉碎得到样品。观察不同蒸制温度和时间对熟三七颜色及不同红外波段吸收的影响,运用R 4.1.0和SPSS 21.0对所得数据进行主成分分析和聚类分析,观察样品表皮颜色和红外吸收特征变化规律。采用高效液相色谱法(HPLC),以三七皂苷R₁,人参皂苷Rg₁,人参皂苷Rb₁,人参皂苷Re,20(S)-人参皂苷Rg₃,20(R)-人参皂苷Rg₃为指标,观察6个指标成分在三七蒸制前后的变化规律,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~30 min,19%A;30~60 min,19%~44%A;60~78 min,44%~74%A;78~80 min,74%~100%A;80~86 min,100%A;86~87 min,100%~19%A;87~95 min,19%A),检测波长203 nm。结果:在三七蒸制过程中,随着蒸制温度和时间增加,样品粉末b* (黄蓝色值),L* (明亮度)和ΔE* (综合色差值)整体呈下降趋势,a* (红绿色值)呈上升趋势,颜色逐渐加深,由灰色向褐色、暗黑色过度。生三七、熟三七样品粉末在低、中波段的红外吸收并无明显差异,而在红外高波段吸收差异表现明显,尤其是在9 600~10 000 cm⁻¹波段。HPLC显示,三七经过蒸制后,原有成分三七皂苷R₁和人参皂苷Rg₁,Re,Rb₁含量降低,新生成20(S)-人参皂苷Rg₃和20(R)-人参皂苷Rg₃;6个指标成分含量占比在蒸制温度130~136℃和蒸制时长1 h时达到最佳。结论:样品颜色、红外吸收均受蒸制过程中化学成分动态变化的影响,而成分变化是蒸制温度和时间共同影响的结果。该文通过对样品表观颜色指标、近红外吸收特征变化规律及指标性成分的多维度分析,整体性评价了熟三七的不同蒸制工艺参数,初步揭示其炮制过程质量传递规律,可为熟三七的炮制工艺优化及质量评价提供科学依据。

[关键词] 熟三七; 蒸制; 化学成分; 高效液相色谱法(HPLC); 色度值; 近红外光谱; 皂苷类

[中图分类号] R22;R943.1;R28;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)03-0147-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211866 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210907.1600.001.html>

[网络出版日期] 2021-09-07 16:56

Effect of Different Steaming Processes on Variation of Active Ingredients in Notoginseng Radix et Rhizoma

GAO Ya-zhen¹, ZOU Jun-bo², WANG Zhi-chao², CHEN Qing-yao¹, LEI Xing¹,
XU Jie¹, YANG Ming^{1*}, WANG Fang^{1*}

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the correlation between the apparent color, near-infrared spectroscopy and dynamic changes of index constituent content of samples during the processing of steamed

[收稿日期] 20210619(006)

[基金项目] 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(2018YFC1707200)

[第一作者] 高亚珍,在读硕士,从事中药炮制机制研究,E-mail:775012148@qq.com

[通信作者] *杨明,博士,教授,从事中药特色饮片炮制机制学研究,Tel:0791-87118108,E-mail:yangming16@126.com;

*王芳,博士,副教授,从事中药炮制机制研究,Tel:0791-87118645,E-mail:cat689apple@163.com

Notoginseng Radix et Rhizoma, and to provide reference for the processing process optimization and quality control of this decoction piece. **Method:** Samples were dried and crushed by setting three steaming temperature gradients of 100-105, 114-118, 130-136 °C, and sampled at steaming times of 1, 2, 4, 8, 12, 24 h, respectively. The effects of different steaming temperatures and times on the color and absorption of steamed Notoginseng Radix et Rhizoma at different infrared wavelengths were observed, and principal component analysis and cluster analysis were performed on the obtained data by R 4.1.0 and SPSS 21.0 software to observe the changes in color and infrared absorption characteristics of samples. High performance liquid chromatography (HPLC) was employed to determine the content changes of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁, ginsenoside Rb₁, ginsenoside Re, 20 (S)-ginsenoside Rg₃ and 20 (R)-ginsenoside Rg₃ before and after steaming of Notoginseng Radix et Rhizoma, mobile phase was acetonitrile (A)-water (B) for gradient elution (0-30 min, 19%A; 30-60 min, 19%-44%A; 60-78 min, 44%-74%A; 78-80 min, 74%-100%A; 80-86 min, 100%A; 86-87 min, 100%-19%A; 87-95 min, 19%A) with the detection wavelength of 203 nm. **Result:** During the steaming process of Notoginseng Radix et Rhizoma, with the increase of steaming temperature and time, the *b*^{*} (yellow-blue value), *L*^{*} (brightness), ΔE^* (comprehensive color difference value) of sample powder showed a decreasing trend, while the *a*^{*} (red-green value) showed an increasing trend, and the color gradually deepened from gray to brown and dark black. There was no significant difference in the infrared absorption between raw and steamed Notoginseng Radix et Rhizoma sample powder in the low and medium wavelength bands, but significant difference in the infrared absorption of high band, especially in the band of 9 600-10 000 cm⁻¹. HPLC showed that the contents of the original components (notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁, Re and Rb₁) decreased and 20 (S)-ginsenoside Rg₃ and 20 (R)-ginsenoside Rg₃ were newly produced after steaming of Notoginseng Radix et Rhizoma. The content proportion of these six index components reached the best when the steaming temperature at 130-136 °C and the steaming time of 1 h. **Conclusion:** The color and infrared absorption of samples are affected by the dynamic changes of chemical composition during the steaming process, and the composition change is the result of the joint influence of steaming temperature and time. In this paper, through multi-dimensional analysis of the apparent color indexes, the change pattern of near-infrared absorption characteristics and the index components of the samples, the different process parameters of steamed Notoginseng Radix et Rhizoma were evaluated holistically, and the quality transfer pattern of its processing process was initially revealed, which can provide scientific basis for processing optimization and quality evaluation of steamed Notoginseng Radix et Rhizoma.

[Keywords] steamed Notoginseng Radix et Rhizoma; steaming; chemical composition; high performance liquid chromatography (HPLC); chromatic value; near-infrared spectroscopy; saponins

“生熟异用”是中药炮制中最具特色和临床价值的重要组成部分,《雷公炮炙论》《炮炙全书》《炮炙大法》等对此均有大量记载。自古医家在遣药组方时亦十分讲究“药之生熟”,例如,白术泻胃火生用,补胃虚土炒^[1]。地黄甘寒入肾,凉血补阴;熟地黄温浓培元,填精益髓^[2]。后经历代医家不断总结,已逐渐形成了包含“生泻熟补”“生峻熟缓”“生升熟降”“生消熟补”“生行熟止”等中药“生熟异用”的炮制理论^[3],其中三七是“生消熟补”临床常用的特色品种。

三七始载于《本草纲目》,具有止血活血、消肿定痛之功效,被誉为“伤科圣药”^[4]。熟三七首载于

清代《外科大成》“三七焙熟,调于七真膏中,用于杖伤之后,起生肌之效”^[5];《本草纲目拾遗》《验方新编》中亦均记载了蒸三七具有补气补血之功效,用于治疗劳弱诸虚百损之病^[6]。然而,熟三七饮片尚未被收录于2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》),在地方中药饮片炮制规范中,也仅有1986年版《云南省中药饮片炮制规范》^[7],2007年版《广西壮族自治区中药饮片炮制规范》^[8],2015年版《四川省中药饮片炮制规范》^[9],2015年版《浙江省中药炮制规范》^[10]和2019年版《安徽省中药饮片炮制规范》^[11]记载了熟三七炮制方法。现代研究表明,在三七“生消熟补”炮制过程中,物质基础变化

主要是集中在皂苷类成分^[3],即三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} , R_d 的含量下降较大,并产生新的皂苷类成分(如人参皂苷 R_{h_4} , R_{g_3} , R_{k_1} , R_{g_5} , R_{h_2} 等);而目前地方中药饮片炮制规范所载熟三七饮片的质量控制方法均是按2020年版《中国药典》^[12]以测定其人参皂苷 R_{g_1} , R_{b_1} 及三七皂苷 R_1 的总量不得少于5.0%为主^[9-11],未能充分体现三七生、制饮片质-效内涵的差异性,在一定程度上限制了熟三七的临床应用和产业化生产。

近年来,熟三七质量标准的研究引起了国内学者越来越多的关注。刘梦楠等^[13]基于偏最小二乘法-判别分析建立了不同产地熟三七粉的质量评价方法;黄永亮等^[14]建立了不同产地熟三七饮片的高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱,测定了其中11种皂苷类成分的含量,但均并未结合样品色泽对其炮制过程中化学成分动态变化和质量概貌进行多维评价。基于此,本研究以不同加热时间点的熟三七样品为研究对象,利用智能分光测色仪对表观颜色进行检测,采用HPLC测定其主要活性成分三七皂苷 R_1 , 人参皂苷 R_{g_1} , 人参皂苷 R_{b_1} , 人参皂苷 R_e , 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 和 20(R)-人参皂苷 R_{g_5} 的含量,并结合炮制过程样品红外波段吸收情况,系统分析不同蒸制工艺(蒸制温度和蒸制时长)对三七有效成分的影响规律,以便掌握熟三七在炮制中化学成分动态变化全过程,为建立三七“生消熟补”炮制过程中的化学质量评价模式提供实验依据。

1 材料

1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司), Antaris II型红外分光光谱仪(美国赛默飞公司), YS3010型智能型分光测色仪(深圳市三恩时科技有限公司), YZN50型超高速真空低温抽出机(北京东华原医疗设备有限责任公司), ATZ-8型台秤(永康市华鹰衡器有限公司), DHG-9140A型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司), YF3-3型流水式粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司), XDW-2J型振动式细胞级超微粉碎机(济南达威机械有限公司), JY3002型电子天平(上海浦春计量仪器有限公司), AL-204型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), TGL-20MC型台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

三七购自陕西兴盛德药业有限责任公司,批号20191101,经江西中医药大学葛菲教授鉴定为五加科植物三七 *Panax notoginseng* 的干燥根及根茎;人参皂苷 R_{g_1} , 三七皂苷 R_1 , 人参皂苷 R_e , 人参皂苷

R_{b_1} , 20(R)-人参皂苷 R_{g_5} 和 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为G30N10Y104330, G09D10Y104881, B04D9S76499, P11M11L109533, Z10J10X90072, Z14J10X90607, 纯度均>98.0%),水为娃哈哈纯净水,乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品的制备 取三七适量,加0.4倍量水浸泡24 h,分成3组。①低温组(100~105℃):置于蒸笼内常压蒸制,在蒸制时长为1, 2, 4, 8, 12, 24 h分别取样,于75℃烘箱干燥至干心,即得;②中温组(114~118℃):置于超高速真空低温抽出机内保持蒸制温度在114~118℃,在蒸制时长为1, 2, 4, 8, 12, 24 h分别取样,于75℃烘箱干燥至干心,即得;③高温组(130~136℃):置于超高速真空低温抽出机内保持蒸制温度在130~136℃,在蒸制时长为1, 2, 4, 8, 12, 24 h分别取样,75℃烘箱干燥至干心,即得。观察不同蒸制温度和蒸制时长下制备的熟三七样品表皮颜色特征,见图1。结果发现低温蒸制时,随着蒸制时长的增加,样品在蒸制8 h之前颜色变化不明显,蒸制8 h之后表皮颜色逐渐发生变化,至蒸制12 h样品开始变黑;中温蒸制时,样品在蒸制4 h之前颜色变化不明显,蒸制4 h之后表皮颜色逐渐发生变化,至蒸制24 h样品变黑;高温蒸制时,样品在蒸制2 h表皮由浅褐色向褐色转变,蒸制4 h样品开始变黑。

2.2 样品色度值测定 将2.1项下3个蒸制组的熟三七粉碎为最细粉,即得熟三七样品。采用智能型分光测色仪检测,取不少于比色皿3/4体积的样品,加入比色皿中,对样品进行轻轻磕实处理,记录样品颜色的 L^* (明亮度), a^* (红绿色值), b^* (黄蓝色值),各样品重复测量各项指标3次,计算 ΔE^* (综合色差值),公式为 $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$, 见增强出版附加材料。结果发现在炮制过程中,样品粉末 a^* 呈上升趋势; b^* , L^* 和 ΔE^* 整体呈下降趋势,以 L^* 下降幅度最大。结果表明样品颜色逐渐加深,由灰色向褐色、暗黑色转变,通过肉眼观察到样品颜色的变化与色度值表征的结果一致。

2.2.1 PCA 将熟三七炮制过程样品 L^* , a^* , b^* , ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔE^* 导入 R 4.1.0 软件进行主成分分析(PCA),见图2。结果显示, $PC1 = -0.431L^* - 0.431\Delta L^* - 0.429\Delta E^* - 0.360b^* - 0.360\Delta b^* + 0.305a^* + 0.305\Delta a^*$ (方差76.3%); $PC2 = -0.556a^* - 0.556\Delta a^* - 0.431b^* - 0.432\Delta b^* - 0.093\Delta E^* + 0.013L^* - 0.013\Delta L^*$ (方差



A. 低温组; B. 中温组; C. 高温组(表1和图2~4, 6同)

图1 熟三七炮制过程样品的外观

Fig. 1 Appearance of steamed Notoginseng Radix et Rhizoma during processing

23.0%), 二者累计方差贡献99.3%, 提取的信息具有很强代表性, 其中PC1是与明亮度负相关的主成分, PC2是与红绿色负相关的主成分, 提示在熟三七样品整体颜色中明亮度与红绿色为显著特征参数。由图2可知, 低温组和高温组的熟三七样品可以较好区分, 而中温组样品则与二者均有交集, 提示熟三七颜色的变化是蒸制温度和蒸制时长共同影响的动态变化过程。

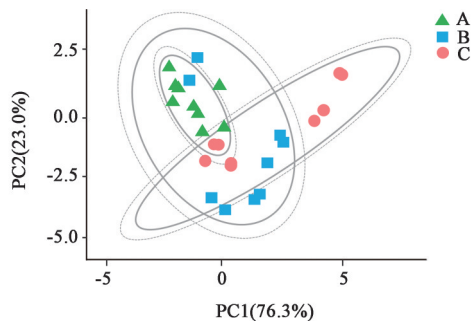


图2 熟三七炮制过程样品的PCA

Fig. 2 PCA of steamed Notoginseng Radix et Rhizoma during processing

2.2.2 聚类分析 将熟三七炮制过程样品的色度值数据导入R 4.1.0进行整体聚类热图分析, 见图3。

横坐标代表3个蒸制组, 纵坐标代表6个蒸制时长, 不同位置的色块代表对应位置颜色特征参数的相对表达量。结果显示, 6个蒸制时长可分为两类, 蒸制时长1, 2 h为第一类, 蒸制时长4, 8, 12, 24 h为第二类; 也可细分为四类, 蒸制时长1, 2 h为第一类, 蒸制时长4, 8 h为第二类, 蒸制时长12 h为第三类, 蒸制时长24 h为第四类。3个蒸制组的 a^* , b^* , L^* , Δa^* , Δb^* , ΔL^* , ΔE^* 共21个指标可分为两类, 低温组的 a^* , b^* , Δa^* , Δb^* , 以及中温组和高温组的 a^* , Δa^* 为第一类, 其他的为第二类。该结果与样品表皮颜色相一致, 证明了分类的准确性与有效性, 有利于三七炮制质量控制。

2.3 样品红外光谱检测 将生三七分别粉碎为细粉、最细粉、极细粉规格, 即得生三七样品。将生三七样品和2.2项下熟三七样品置于75 °C电热鼓风干燥箱干燥, 干燥至恒重, 采集红外光谱数据。取不少于样品杯1/3体积的样品, 均匀地铺展在样品杯中, 对样品进行轻轻磕实处理, 选择旋转样品杯进行检测, 波数4 000~10 000 cm^{-1} , 分辨率8 cm^{-1} , 采样数32次, 每个样品重复测量3次取平均值。从各样品的红外特征图谱来看, 生三七粉的3种不同粒径

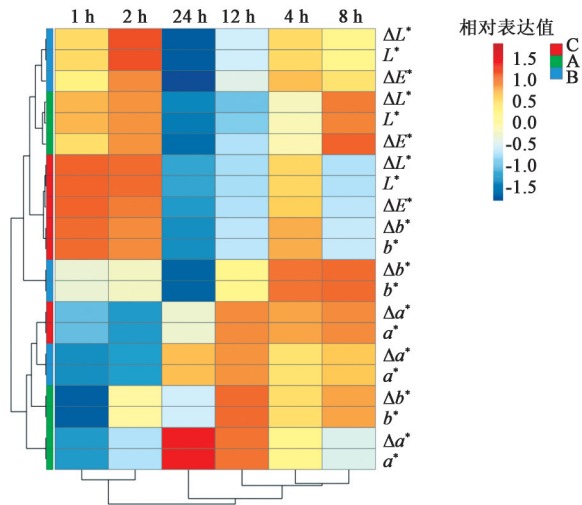


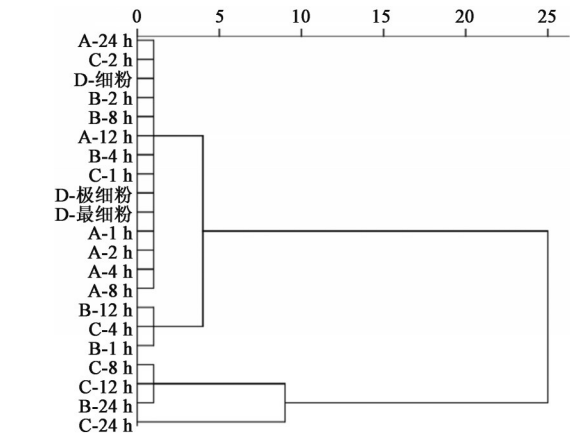
图3 熟三七炮制过程样品的聚类分析
Fig. 3 Cluster analysis of steamed Notoginseng Radix et Rhizoma during processing

规格样品的吸收特征高度相似,提示粉碎粒径对三七粉末红外吸收特征影响不显著,表明其并不影响生三七和熟三七红外吸收的整体性分析,具体见增强出版附加材料。生三七与熟三七各样品在 $4\ 000\sim 9\ 600\ \text{cm}^{-1}$ 波段的红外吸收行为较为接近,而在波段 $9\ 600\sim 10\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 下的吸收表现明显差异。因此,以21个三七样品在 $9\ 600\sim 10\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 波段中任一波数下对应的21个红外吸收值为变量,将其导入SPSS 21.0,采用组间连接法,以平方欧氏距离为测度对样品进行系统聚类分析,见图4。结果发现当平方欧氏距离为10时,21个三七样品可以分为2个聚类。聚类1包含4个样品,分别为高温蒸制8,12,24 h样品,中温蒸制24 h样品;聚类2包含17个样品,分别为生三七细粉、最细粉、极细粉,低温蒸制1,2,4,8,12,24 h样品,中温蒸制1,2,4,8,12 h样品,高温蒸制1,2,4 h样品。其中聚类1样品对高波段吸收增长较为明显,尤其是高温组蒸制24 h的样品。提示在蒸制过程中,由于成分的变化会导致三七样品红外吸收行为的改变,这种改变与蒸制的温度和时长高度相关。

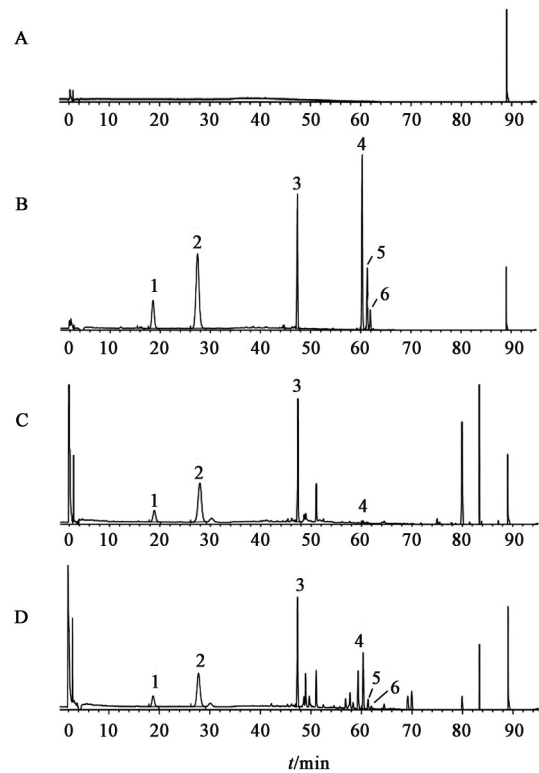
2.4 样品的含量测定

2.4.1 色谱条件与系统适用性试验 Welchrom C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~30 min, 19%A; 30~60 min, 19%~44%A; 60~78 min, 44%~74%A; 78~80 min, 74%~100%A; 80~86 min, 100%A; 86~87 min, 100%~19%A; 87~95 min, 19%A),柱温 25 °C,检测波长 203 nm,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。见图5。

2.4.2 对照品溶液的配制 精密称取三七皂苷 R₁,



D. 生三七组
图4 三七样品红外吸收光谱数据的系统聚类分析
Fig. 4 Systematic cluster analysis of infrared absorption spectrum data of Notoginseng Radix et Rhizoma samples



A. 甲醇; B. 对照品; C. 生三七; D. 低温组供试品; 1. 三七皂苷 R₁; 2. 人参皂苷 R_{g1}; 3. 人参皂苷 R_{b1}; 4. 人参皂苷 R_e; 5. 20(S)-人参皂苷 R_{g3}; 6. 20(R)-人参皂苷 R_{g3}
图5 不同三七样品的 HPLC

Fig. 5 HPLC chromatograms of Notoginseng Radix et Rhizoma

人参皂苷 R_{g1}, 人参皂苷 R_{b1}, 人参皂苷 R_e, 20(S)-人参皂苷 R_{g3} 及 20(R)-人参皂苷 R_{g3} 对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 分别含上述成分 1.206, 3.486, 2.282, 1.000, 0.700, 0.200 mg 的混合对照品溶液,即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 称取各三七样品粉末 0.5 g,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中^[15],精密加

入70%甲醇20 mL,称定质量,放置过夜,超声处理30 min(250 W, 40 kHz),冷却至室温,称重,加70%甲醇补足减失的质量^[16-17],摇匀,离心10 min(转速12 000 r·min⁻¹,离心半径10.41 cm),经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4.4 标准曲线的绘制 取2.4.2项下混合对照品溶液,分别精密吸取2, 4, 6, 8, 10, 20 μL按2.4.1项下条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得三七皂苷R₁, 人参皂苷Rg₁, 人参皂苷Rb₁, 人参皂苷Re, 20(S)-人参皂苷Rg₃及20(R)-人参皂苷Rg₃的回归方程分别为 $Y=377.71X+38.705$ ($r=0.999\ 3$), $Y=492.29X+91.257$ ($r=0.999\ 9$), $Y=288.62X+69.513$ ($r=0.999\ 7$), $Y=21.438X+23.244$ ($r=0.999\ 8$), $Y=391.53X+38.697$ ($r=0.999\ 8$), $Y=353.5X+2.486\ 8$ ($r=0.999\ 9$), 线性范围依次为2.412~12.060, 6.972~34.860, 4.564~22.820, 2.000~20.000, 1.400~14.000, 0.400~4.000 μg。

2.4.5 样品成分变化 HPLC分析表明,低温组和中温组蒸制时长为8, 12, 24 h,以及高温组蒸制时长为1, 2, 4, 8, 12, 24 h的样品中出现新成分,经与对照品出峰时间比对后发现,三七经蒸制后的新成分为20(S)-人参皂苷Rg₃和20(R)-人参皂苷Rg₃,且在高温组样品成分中占主要部分;而原有成分三七皂苷R₁和人参皂苷Rg₁, Re, Rb₁含量均有所降低,其中三七皂苷R₁和人参皂苷Rg₁, Rb₁在低温组、中温组样品成分中占主要部分,随蒸制温度和蒸制时长增加,成分含量降低程度越明显,在高温组蒸制4 h后三七皂苷R₁完全消失,中温组蒸制24 h和高温组蒸制8 h后人参皂苷Rg₁基本消失。观察不同蒸制条件下各成分含量差异,发现低温组蒸制12 h,中温组蒸制8 h及高温组蒸制1 h样品中各成分含量比较接近,推测可能在适当的范围内提升蒸制温度可以缩短蒸制时长并产生相同成分的样品,见图6。

对3个蒸制组样品进行综合分析,三七皂苷R₁和人参皂苷Rg₁受温度影响较为明显,但在温度较高时,其含量与蒸制时长的相关性较差;三七皂苷Rb₁受温度的影响不明显,但经蒸制后其含量减少;20(S)-人参皂苷Rg₃和20(R)-人参皂苷Rg₃随着蒸制温度升高在单位时间内生成的含量增加,说明高温条件下二者容易生成,其中20(R)-人参皂苷Rg₃仅在低温组、中温组与蒸制时长有较好的相关性,在高温蒸制4 h后波动变化显著且呈下降趋势,推测在高温条件下随着蒸制时长的增加,有利于成分20(R)-人参皂苷Rg₃向20(S)-人参皂苷Rg₃转换。

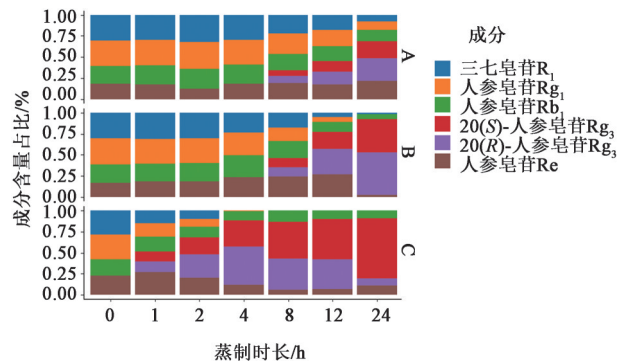


图6 熟三七炮制过程样品中指标成分的含量占比

Fig. 6 Content proportion of index components in steamed Notoginseng Radix et Rhizoma during processing

见表1。

3 讨论

“凡药制造,贵在适中,不及则功效难求,太过则气味反失”^[18],说明炮制“适中”对饮片药效影响显著。已有文献报道,三七蒸制时间过长,蒸制温度过高,均会显著降低主要化学成分的含量^[19-20],因此,有必要在阐明三七“生消熟补”的炮制科学内涵基础上,对三七炮制过程中主要活性成分的动态变化规律及化学概貌进行差异性分析,建立其“适中”炮制的评价方法。中药炮制是“表里关联”的质量传递动态过程^[21],在炮制过程中饮片内部的物理结构、外观颜色、化学成分均会随着炮制阶段不同而变化,现有单一的化学成分评价模式无法对炮制“适中”进行准确描述。近年来,色差分析技术在传统中药研究领域应用越来越广泛,实现了对中药饮片及其粉末颜色的数字化分析,为中药质量评价提供了新思路^[22-24]。鉴于此,本研究基于不同蒸制工艺考察三七样品的色泽、不同红外波段吸收情况,采用近红外光谱和智能分光测色技术将其细微变化以数字化形式直观展示出来,并结合HPLC观察炮制过程样品中6个指标成分含量的变化规律。

据报道,熟三七炮制过程样品颜色逐渐加深主要是由于随着蒸制温度和时间的增加,大量皂苷水解的同时,产生了还原糖,随着还原糖的增加,易发生美拉德反应,生成黑色素而导致^[13]。本研究结果表明,蒸制程度不同的三七样品中皂苷类成分含量及类型均发生变化,这种变化导致三七样品表皮颜色由灰色向褐色、暗黑色过度,逐渐加深,并且在较高红外波段下三七样品红外吸收差异更加明显。从熟三七炮制过程饮片和粉末的表观颜色可知,低温组蒸制1 h样品带有明显浅灰色,低温组蒸制8 h的样品由浅灰色转向浅褐色,随蒸制时长增加,样

表1 熟三七炮制过程样品中指标成分的含量测定

Table 1 Determination of index components in steamed Notoginseng Radix et Rhizoma during processing mg

组别	蒸制时长/h	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	20(S)-人参皂苷 Rg ₃	20(R)-人参皂苷 Rg ₃
A	0	2.71	11.57	21.16	11.04	-	-
	1	2.45	10.49	18.05	11.66	-	-
	2	2.45	10.25	11.90	10.90	-	-
	4	2.42	10.03	19.14	11.16	-	-
	8	1.61	7.78	18.50	9.09	0.36	0.25
	12	1.36	6.58	17.98	8.69	0.78	0.53
	24	0.51	2.90	20.59	6.10	1.20	0.86
B	0	2.52	10.94	17.47	10.95	-	-
	1	2.58	10.69	19.35	10.81	-	-
	2	2.43	10.12	18.55	11.01	-	-
	4	1.71	8.44	22.28	11.39	-	-
	8	1.04	4.25	19.78	7.93	0.51	0.28
	12	0.32	1.86	27.93	5.52	1.31	1.04
	24	0.17	-	3.69	5.51	5.09	3.39
C	0	2.51	10.87	26.06	10.49	-	-
	1	1.04	4.66	24.97	7.78	0.63	0.39
	2	1.11	4.41	30.24	8.60	1.94	1.36
	4	-	0.13	19.02	8.09	3.32	2.44
	8	-	-	4.98	5.80	2.69	1.17
	12	-	-	4.99	3.89	2.51	0.97
	24	-	-	9.37	4.12	4.47	0.28

品由褐色变为暗黑色,部分样品的表观颜色难以直观区分;而借助色度值进行PCA和聚类分析可知,三七蒸制样品可分为两类,总体趋势与直观区分基本一致,表明炮制前后三七表观颜色出现了明显变化,其中明亮度与红绿色为熟三七整体颜色的显著特征参数,且在低温组和高温组可以较好地地区分,而中温组与二者均有交集,表明熟三七颜色的变化是蒸制温度和时长共同影响的动态变化过程^[25]。

通过对熟三七样品红外光谱特征分析发现,生三七与熟三七在低、中波段的红外吸收情况无明显差异,而随着蒸制温度和时间的增加,样品对高波段的吸收增长较为明显,而且主要集中在吸收波段9 600~10 000 cm⁻¹,但熟三七所含成分复杂,要进行近红外谱带的归属很困难,必须借助计算机和化学计量学方法,提取到特征吸收值后进行聚类鉴别^[26]。故本文运用SPSS 21.0进行系统聚类分析,通过样品红外吸收值的差异快速准确地将不同样品区分开来,并直接反映出了样品间的相似程度。含量测定结果发现,成分含量呈一定增加(减少)趋势,主要过程涉及皂苷类成分易发生水解或者降解

反应等,其中原有成分三七皂苷 R₁和人参皂苷 Rg₁, Re, Rb₁含量下降,新生成了20(S)-人参皂苷 Rg₃和20(R)-人参皂苷 Rg₃,与文献报道相一致^[27];从三七高温蒸制过程中6个指标性成分含量占比的变化趋势来看,各成分含量占比最佳蒸制时长为1 h,0~4 h是各成分发生主要变化时期,也是完成从生三七到熟三七这一量变过程的重要阶段。另外,熟三七炮制过程中新产生成分20(R)-人参皂苷 Rg₃在高温蒸制4 h后含量呈现出与20(S)-人参皂苷 Rg₃变化趋势相反及整体下降的现象,推测在高温条件下,随着加热时长的增加使其由R型向S型转变,具体转变过程需要进一步分析。

在实际生产过程中,中药外观品质可用颜色、气味、内在活性成分含量等进行表征^[28-29]。因此,本文通过样品色泽、近红外光谱和HPLC多维度评价熟三七炮制过程中化学成分的动态变化和质量概貌,但关于其化学成分含量、色泽与药效水平的相关性还需进一步的实验验证。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 李挺. 医学入门[M]. 北京:人民卫生出版社,2006.
- [2] 张秉成. 本草便读[M]. 上海:上海卫生出版社,1957.
- [3] 马传江,王信,辛义周,等. 中药传统炮制理论的现代研究概述[J]. 中草药,2018,49(3):512-520.
- [4] 潘嘉,王家葵. 三七功效本草考证[J]. 中国中药杂志,2003,28(6):43-44.
- [5] 祁坤. 外科大成[M]. 上海:上海科学技术出版社,1958.
- [6] 赵学敏. 本草纲目拾遗[M]. 北京:中国中医药出版社,1998.
- [7] 云南省卫生厅. 云南省中药饮片炮制规范[M]. 昆明:云南科学技术出版社,1986.
- [8] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区中药饮片炮制规范[M]. 南宁:广西科学技术出版社,2007.
- [9] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药饮片炮制规范[M]. 成都:四川科学技术出版社,2016.
- [10] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范[M]. 北京:中国医药科技出版社,2016.
- [11] 安徽省药品监督管理局. 安徽省中药饮片炮制规范[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2019.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:12.
- [13] 刘梦楠,杨晓燕,屈文佳,等. 基于偏最小二乘判别分析建立熟三七粉的质量评价方法[J]. 中草药,2019,50(21):5319-5327.
- [14] 黄永亮,余志杰,黎江华,等. 熟三七饮片HPLC指纹图谱的建立及多成分定量测定[J]. 中草药,2018,49(3):589-595.
- [15] 斯乐婷,倪鸿飞,李倩,等. HPLC-CAD法同时测定腰痹通胶囊中5种皂苷含量[J]. 药学学报,2020,55(10):2449-2453.
- [16] 曹桂萍,王玉龙,袁华,等. HPLC法同时测定损伤丸中三七皂苷R₁和人参皂苷Rg₁、人参皂苷Rb₁的含量[J]. 中国处方药,2020,18(9):31-32.
- [17] 朱颖,史达. UPLC同时测定复方三七胶囊中人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁和三七皂苷R₁[J]. 中国医药科学,2016,6(17):33-36.
- [18] 陈嘉谟. 本草蒙筌[M]. 北京:中医古籍出版社,2009.
- [19] TOH D F, NEW L S, KOH H L, et al. Ultra-high performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry (UHPLC/TOFMS) for time-dependent profiling of raw and steamed *Panax notoginseng*[J]. J Pharm Biomed Anal, 2009, 52(1): 43-50.
- [20] 覃洁萍,张广征,张赟赟,等. 三七不同炮制品中皂苷类成分的测定[J]. 中草药,2006,37(8):1175-1177.
- [21] 宋亚南,王云,高雅,等. 基于“表里关联”的大黄酒蒸过程质量传递规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(19):157-164.
- [22] 李佳园,魏晓嘉,万国慧,等. “辨状论质”的历史沿革与现代研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(6):189-196.
- [23] 胡佳莉,刘林,李钟,等. 黄精发酵过程中有效成分含量与色泽的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(15):169-176.
- [24] 罗传红,廖维,袁瑞芳,等. 基于颜色-成分关联的余甘子商品等级划分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(11):171-179.
- [25] 邢娜,彭东辉,张志宏,等. 炮制对三七化学成分及药理作用影响的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(16):210-217.
- [26] 王东,贾永,姬生国. 近红外光谱法对不同蒸制时间地黄的鉴别研究[J]. 光谱实验室,2010,27(4):1356-1360.
- [27] 王洁. 熟三七炮制工艺及炮制前后化学成分与活血补血药效差异研究[D]. 武汉:湖北中医药大学,2020.
- [28] 陈青垚,雷星,高亚珍,等. 基于“色如漆,甘如饴”的砂仁陈皮制熟地黄炮制过程质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2021, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20211859.
- [29] 强正泽,王燕,王明伟,等. 基于近红外光谱的野生与栽培红芪鉴别研究[J]. 药物分析杂志,2018,38(12):2076-2083.

[责任编辑 刘德文]