

# 三七总皂苷注射液的超滤工艺考察

缪菊连<sup>1</sup>, 黄照昌<sup>2\*</sup>

(1. 大理学院药学与化学学院, 云南 大理 671003; 2. 大理药业股份有限公司, 云南 大理 671000)

**[摘要]** 目的: 探索三七总皂苷注射液的超滤工艺。方法: 采用 HPLC 测定人参皂苷 R<sub>g1</sub>, R<sub>b1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 的含量, 通过单因素试验考察不同相对分子量超滤膜、药液质量浓度、温度、洗液体积对三七总皂苷注射液超滤工艺的影响。结果: 确定的超滤工艺为三七总皂苷水溶液质量浓度 100 g·L<sup>-1</sup>, 选用 10 kDa 超滤膜, 超滤温度 70 ℃, 洗液体积 1 200 mL, 人参皂苷 R<sub>g1</sub>, R<sub>b1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 各组份透过率均 >90%。结论: 优选的超滤工艺用于三七总皂苷注射液的纯化是可行的。

**[关键词]** 三七总皂苷; 超滤; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0035-03

## Investigation of Total Saponin from *Panax notoginseng* Injection by Ultrafiltration Technology

MIAO Ju-lian<sup>1</sup>, HUANG Zhao-chang<sup>2\*</sup>

(1. School of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671003, China;

2. Dali Pharmaceutical Co. Ltd, Dali 671000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore ultrafiltration technology of total saponin from *Panax notoginseng* injection. **Method:** Contents of ginsenoside R<sub>g1</sub>, R<sub>b1</sub> and notoginsenoside R<sub>1</sub> were determined by HPLC, effect of different factors on ultrafiltration technology were investigated by single factor test, including different molecular weight ultrafiltration membrane, the concentration and temperature of solution, lotion volume. **Result:** 10 kDa ultrafiltration membrane was chosen, determined ultrafiltration technology was: the mass concentration of water solution of 100 g·L<sup>-1</sup>, ultrafiltration temperature 70 ℃, lotion volume 1 200 mL, transmission of ginsenoside R<sub>g1</sub>, R<sub>b1</sub> and notoginsenoside R<sub>1</sub> were more than 90%. **Conclusion:** This optimized ultrafiltration technology was feasible for purification of total saponin of *P. notoginseng*.

**[Key words]** total saponin of *Panax notoginseng*; ultrafiltration; HPLC

三七总皂苷中主要含有人参皂苷 R<sub>g1</sub>, R<sub>b1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 等有效成分, 具有较高的生理活性和独特的药理作用<sup>[1-3]</sup>。目前市场上含有三七总皂苷的常用制剂较多, 如血塞通注射液、血栓通注射液、血栓通冻干粉针等<sup>[4]</sup>, 主要用于治疗动脉粥样硬化性血栓性脑梗塞、视网膜中央静脉阻塞见淤血阻络, 疗效确切, 是我国医院临床药物中用量较大的品种。

超滤法是近年来发展较快的一种膜分离技术, 其不仅能有效地滤除溶液中细菌内毒素<sup>[5-6]</sup>、各种微粒、胶体等杂质, 提高药液的澄明度<sup>[7]</sup>, 还能分离不同分子量的溶质。本试验拟利用超滤的优势, 考察超滤工艺对三七总皂苷注射液中有效成分透过率的影响, 为其临床应用提供试验依据。

### 1 材料

SIP-1013 型中空纤维滤柱(相对分子量截留值 6 k daltons, 过滤膜面积 0.2 m<sup>2</sup>), SIP-1053 型中空纤维滤柱(相对分子量截留值 10 kD, 过滤膜面积 0.1 m<sup>2</sup>)均购自日本旭化成公司生产; BT600-2J 型蠕动泵(格兰仕集团), HI98713 型便携式浊度仪(意大利哈纳公司), 1100 型高效液相色谱仪(美国

**[收稿日期]** 20120916(009)

**[第一作者]** 缪菊连, 硕士, 讲师, 从事药剂学研究及教学, Tel: 15125282836, E-mail: 582090645@qq.com

**[通讯作者]** \* 黄照昌, 学士, 高级工程师, 从事天然药物的开发与利用研究, Tel: 15125022320, E-mail: 632315428@qq.com

Agilent)。三七总皂苷提取物(批号 080402, 云南玉溪万方天然药物有限公司), 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>, 三七皂苷 R<sub>1</sub>, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 对照品(均购自中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110704-200420, 110745-200318, 110754-200421), 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 含量测定**<sup>[8]</sup> 按 2010 年版《中国药典》一部“三七”药材的含量测定方法进行测定。

**2.2 超滤膜型号的选择** 取三七总皂苷适量, 加注射用水配成 100 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 在室温下分别过 6, 10 kDa 的超滤膜柱, 用少量水洗涤剩余液体, 合并混匀, 取超滤前及超滤后混合液适量, 用 HPLC 检测三七总皂苷中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 的含量, 计算过膜回收率(过膜回收率 = 各组分超滤后的质量/各组分超滤前的质量), 结果见表 1。说明宜选择 10 kDa 的超滤膜柱进行试验。

表 1 不同相对分子量截留超滤膜对总皂苷中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 含量的影响

相对分子量 /kDa	指标	超滤前质量 /mg	超滤后质量 /mg	回收率 /%
6	Rg <sub>1</sub>	603.04	440.75	73.09
	R <sub>1</sub>	859.69	590.40	68.68
	Rb <sub>1</sub>	2012.33	116.34	5.78
10	Rg <sub>1</sub>	679.88	536.46	78.90
	R <sub>1</sub>	1051.57	762.58	72.52
	Rb <sub>1</sub>	2529.15	325.62	12.87

## 2.3 单因素试验

**2.3.1 药液质量浓度考察** 取三七总皂苷适量, 分别配成质量浓度为 300, 200, 100, 50 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 在常温下过 10 kDa 的超滤膜, 用少量水洗涤剩余液体, 用 HPLC 检测三七总皂苷中人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 的量, 计算过膜回收率, 结果见表 2。说明随三七总皂苷质量浓度的降低, 药液黏度下降, 各组分透过率有所提高, 但改善不明显, 结合实际生产及工艺情况, 确定药液质量浓度为 100 g·L<sup>-1</sup>。

**2.3.2 温度对超滤效果的影响** 三七总皂苷类注射液灌装后高温灭菌, 热稳定性较好, 且中空纤维滤柱可在高温(<90℃)环境长时间运行, 膜柱可耐高温、耐有机溶剂, 且有相关验证。取三七总皂苷适量, 加注射用水配制成 100 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 将药液升高至不同温度, 过 10 kDa 超滤膜, 加同体积水洗脱剩余液体。结果见表 3。说明随温度的升高, 各组分

表 2 三七总皂苷注射液质量浓度对人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 透过率的影响

质量浓度 /g·L <sup>-1</sup>	超滤前质量 /mg	超滤后质量 /mg	回收率 /%
300	Rg <sub>1</sub> : 749.13	Rg <sub>1</sub> : 575.33	76.80
	R <sub>1</sub> : 1088.97	R <sub>1</sub> : 786.00	72.27
	Rb <sub>1</sub> : 2361.75	Rb <sub>1</sub> : 378.35	16.02
200	Rg <sub>1</sub> : 499.42	Rg <sub>1</sub> : 368.07	73.70
	R <sub>1</sub> : 725.98	R <sub>1</sub> : 503.76	69.39
	Rb <sub>1</sub> : 1574.50	Rb <sub>1</sub> : 180.12	11.44
100	Rg <sub>1</sub> : 249.71	Rg <sub>1</sub> : 220.26	88.20
	R <sub>1</sub> : 362.99	R <sub>1</sub> : 312.97	86.21
	Rb <sub>1</sub> : 787.25	Rb <sub>1</sub> : 156.43	19.87
50	Rg <sub>1</sub> : 125.33	Rg <sub>1</sub> : 107.52	85.79
	R <sub>1</sub> : 181.50	R <sub>1</sub> : 150.64	83.00
	Rb <sub>1</sub> : 393.62	Rb <sub>1</sub> : 61.88	15.72

分透过率均明显改善, 当温度升至 >60℃ 时, 较难透过的人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 透过率 >90%, 结合实际生产情况, 温度定为 70℃ 左右。

表 3 温度对人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 透过率的影响

超滤温度/℃	超滤前质量/mg	超滤后质量/mg	回收率/%
70	Rg <sub>1</sub> : 325.86	Rg <sub>1</sub> : 323.38	99.24
	R <sub>1</sub> : 445.67	R <sub>1</sub> : 436.72	97.99
	Rb <sub>1</sub> : 1081.12	Rb <sub>1</sub> : 1012.53	93.66
60	Rg <sub>1</sub> : 320.85	Rg <sub>1</sub> : 309.05	96.32
	R <sub>1</sub> : 448.37	R <sub>1</sub> : 435.37	97.10
	Rb <sub>1</sub> : 1071.28	Rb <sub>1</sub> : 995.37	92.91
50	Rg <sub>1</sub> : 322.25	Rg <sub>1</sub> : 323.59	100.41
	R <sub>1</sub> : 428.78	R <sub>1</sub> : 428.07	99.83
	Rb <sub>1</sub> : 901.95	Rg <sub>1</sub> : 313.99	83.91
40	Rg <sub>1</sub> : 329.58	Rg <sub>1</sub> : 313.99	95.27
	R <sub>1</sub> : 437.34	R <sub>1</sub> : 418.45	95.68
	Rb <sub>1</sub> : 933.55	Rb <sub>1</sub> : 727.88	77.97

**2.3.3 洗滤体积对超滤效果的影响** 取三七总皂苷适量, 加注射用水配制成 100 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 将药液升高至 70℃, 过 10 kDa 超滤膜, 加不同体积水洗脱剩余液体。结果见表 4。说明随着洗脱体积加大, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 透过率明显增加, 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>, R<sub>1</sub> 几乎完全透过, 当洗滤体积达到 1 200 mL, 人参皂苷各组分透过率 >90%, 故在实验室小试中将洗滤体积定为 1 200 mL。

表4 洗滤体积对人参皂苷 R<sub>g1</sub>, R<sub>b1</sub> 及三七皂苷 R<sub>1</sub> 的透过率影响

加水量 /mL	指标	超滤前质量 /mg	超滤后质量 /mg	回收率 /%
800	R <sub>g1</sub>	332.09	324.98	97.86
	R <sub>1</sub>	453.99	440.67	97.07
	R <sub>b1</sub>	891.56	750.27	84.15
1 000	R <sub>g1</sub>	322.25	323.59	100.41
	R <sub>1</sub>	428.78	428.07	99.83
	R <sub>b1</sub>	901.95	756.82	83.91
1 200	R <sub>g1</sub>	330.78	317.03	95.84
	R <sub>1</sub>	450.88	431.85	95.78
	R <sub>b1</sub>	780.09	723.44	92.73

2.4 验证试验 按上述优选的超滤工艺进行3次验证试验,批号分别为1005022,1005023,1005024。测定超滤前后各成分的含量,结果见表5。测得超滤前浊度分别为4.5,3.6,4.2 FTU;超滤后浊度依次为0.001,0.002,0.001 FTU;三七总皂苷浓缩液浊度分别为285,289,284 FTU。说明优选的超滤工艺可行;超滤前后浊度变化较大,进一步证实了超滤能提高药物澄明度。

表5 三七总皂苷注射液超滤工艺验证试验

批号	指标	超滤前质量 /mg	超滤后质量 /mg	回收率 /%
1005022	R <sub>g1</sub>	271.80	259.08	95.32
	R <sub>1</sub>	538.76	507.08	94.12
	R <sub>b1</sub>	1055.47	967.65	91.68
1005023	R <sub>g1</sub>	271.92	260.44	95.78
	R <sub>1</sub>	538.86	517.95	96.12
	R <sub>b1</sub>	1055.63	986.85	91.76
1005024	R <sub>g1</sub>	271.85	262.25	96.47
	R <sub>1</sub>	538.36	513.00	95.29
	R <sub>b1</sub>	1055.43	979.12	92.77

### 3 讨论

中药现代化的重要内容之一是中药生产过程中提取浓缩、分离纯化等关键单元技术的现代化。自1990年以来,超滤技术以其高效、节能、绿色等特点在中药生产中的应用与日俱增<sup>[9]</sup>。尹楠等<sup>[5]</sup>研究证明超滤具有很好的除去热原的能力,陈彤<sup>[7]</sup>曾研究过不同超滤膜分子量对三七总皂苷的透过率及截留杂质等的影响,但未对具体工艺条件进行探讨。本试验主要考察影响三七总皂苷中各成分透过率的因素,为超滤在三七总皂苷类注射剂中的应用提供试验依据。

#### [参考文献]

- [1] 吴静澜,陈红汝,陈白霜,等.三七总皂苷白蛋白微球的制备工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(19):17.
- [2] 赵惠莹,刘福强,王艳萍,等.三七有效成分的提取工艺研究[J].药学实践杂志,2009,27(3):205.
- [3] 赖玲,刘华,秦艳娥,等.三七总皂苷肠溶微丸的体内外相关性[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(24):97.
- [4] 李庆海,吕安清,张芳,等.人参总皂苷类注射液对慢性充血性心力衰竭患者心率变异性的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2000,7(5):274.
- [5] 尹楠,郑云枫,彭国平.基于超滤技术的血塞通注射液的工艺优化[J].天然产物研究与开发,2009,21(1):159.
- [6] 范能全,陈光春,彭兰.超滤技术去除刺五加注射液中细菌内毒素[J].中国药师,2010,13(3):446.
- [7] 陈彤,甘献文,张要武,等.超滤法纯化三七总皂苷的工艺研究[J].昆明医学院学报,2010,31(6):7.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:56.
- [9] 姜忠义,吴洪.超滤技术在现代中药生产中的应用[J].化工进展,2002,21(2):122.

[责任编辑 全燕]