

三七总苷提取物原料药质量分析

陈燕乐¹, 吴宏伟², 柏东³, 雷海民^{4*}

(1. 北京普润生物科技发展有限公司, 北京 100070; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 中国中医科学院基础理论研究所, 北京 100700; 4. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 对工业生产中不同商品规格三七总苷提取原料药的质量进行综合评价。方法: 采用高效液相法测定 3 种商品规格原料药(剪口, 120 ~200 头, 80 ~120 头)中有效成分的含量, 并经过相同的提取工艺后分别得到各三七总苷提取物, 测定提取物中各有效成分的含量, 并计算出膏率及有效成分转移率, 综合评价 3 种商品规格原料药的优劣。结果: 3 种商品规格(剪口, 120 ~200 头, 80 ~120 头)原料药中人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的含量分别为: 4.98% 和 2.98%, 2.81% 和 1.78%, 2.67% 和 2.00%; 三七总皂苷提取物中人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的含量分别为: 12.36% 和 7.48%, 10.72% 和 6.57%, 10.24% 和 7.51%; 出膏率为分别 39%, 25%, 25%; 3 种原料药中人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的转移率分别为 97% 和 98%, 95% 和 92%, 96% 和 94%。结论: 3 种商品规格的三七总苷提取原料中以剪口原料最优, 120 ~200 头和 80 ~120 头之间没有明显区别。

[关键词] 三七; 商品规格; 人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁

[中图分类号] R284.1

[文献标识码] B

[文章编号] 1005-9903(2010)04-0046-03

三七为五加科植物三七 *Pana notoginseng* (Butk.) F. H. Chen 的干燥根, 具有止血化瘀、消肿止痛之功效, 是我国的传统名贵中药材。三七主要有效成分为皂苷类成分^[1], 具有增加冠脉流量, 降低

心肌耗氧量和动脉血压的作用, 对治疗冠心病和心绞痛有显著疗效^[2]。在制备三七总苷提取物时, 市场上三七药材主要有 3 种商品规格, 根据大小及部位不同分为剪口, 120 ~200 头, 80 ~120 头, 价格各异, 目前为止对 3 种规格的三七的质量评价未见报道。因此本文采用高效液相法测定 3 种商品规格原料药中有效成分的含量, 并使用相同的提取工艺, 分别得各三七总苷提取物, 测定提取物中各有效成分

[收稿日期] 2009-09-11

[通讯作者] * 雷海民, Tel: 13911366313; E-mail: leihaimin@sohu.com

1 颗(珠)、第 2 颗(珠)……”为移植 1 年后珠子参串珠状根茎由近及远的第 1 颗、第 2 颗……第 4 颗等。其余类推。

从不同移植年限珠子参中主要皂苷类成分-竹节参皂苷 a 的平均含量来看, 移植两年的明显高于移植 1 年的。其中移植 1 年的珠子参中竹节参皂苷 a 平均含量为 3.285%, 而移植两年的珠子参中竹节参皂苷 a 平均含量为 4.52%, 高出移植 1 年的 34.6%。这说明珠子参中竹节参皂苷 a 平均含量随时间积累的一般规律性。

同一植株珠子参的串珠状根茎不同珠(颗)的根茎中竹节参皂苷 a 含量是不同的, 其含量分布似呈规律性的正态分布。与化学成分的一般的线性积累有一定矛盾。因此, 对于这种同一植株不同颗珠中竹节参皂苷 a 含量的似正态分布的规律性还有待于进一步分析研究。

从珠子参的繁殖方式来看, 无性繁殖作为一种有效的珠子参繁育方式, 在珠子参的人工栽培研究具有重要作用。考虑到不同生长年限及不同珠(颗)之间有效成分含量的差异性, 因此, 在进行珠子参的繁育过程中应考虑对珠子参的生长年限及不同颗珠的选择, 以保证人工繁育珠子参的品质。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 192.
- [2] 杨崇仁, 周俊, 冯宝树, 等. 秦岭产珠子参根茎的皂苷成分[J]. 植物学报, 1988, 30(4): 403.
- [3] 陈永波, 饶斌, 沈艳芬, 等. 竹节人参中氨基酸和皂甙特征组分的分析鉴别[J]. 色谱, 2003, 21(3): 248.
- [4] 邹坤, 朱姝, 蔡少青. 扣子七中人参皂苷的 HPLC-MS 方法研究[J]. 药学学报, 2004, 39(5): 385.

的含量,并计算出膏率及有效成分转移率,综合评价 3 种原料药的质量优劣,为提高三七总苷提取物的质量及生产效益提供实验基础。

1 材料

三七总苷提取物原料药:剪口,120~200 头,80~120 头,购于安国药材市场,经北京中医等大学中药学院刘春生教授鉴定为三七的干燥根(*Pana notoginseng*(Butk.)F.H.Chen)。95%工业乙醇。人参皂苷 Rg₁(110 703~200 322)和 Rb₁(110 704~200 420),购于中国药品生物制品检定所,纯度均为 98%。乙腈,色谱纯,购于 sigma 公司。

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪,SPD-10A 紫外检测器,Class-vp 色谱工作站。回流提取装置。

2 方法

2.1 原料药中有效成分的测定 取市售 3 种商品规格三七原料药(剪口,120~200 头,80~120 头)按照 2005 版《中国药典》三七药材含量测定项下制备样品进行测定^[3],结果见表 1。

表 1 不同商品规格三七中人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的质量分数(n=3) %

商品规格	Rg ₁	RSD	Rb ₁	RSD	(Rg ₁ + Rb ₁)
剪口	4.98	1.2	2.98	0.8	7.97
120 头 ~200 头	2.81	1.7	1.78	1.5	4.59
80 头 ~120 头	2.67	1.1	2.00	1.4	4.68

2.2 提取物的制备 分别称取市售 3 种规格的三七各 1 kg,粉碎成粗粉,过 8 目筛。加 10 倍量 30% 乙醇加热回流提取 2 h,滤过;药渣加 8 倍量 70% 乙醇加热回流提取 2 h,滤过;合并上述滤液,减压浓缩,真空干燥,粉碎,得三七总苷提取物。

2.3 三七总苷提取物中有效成分的测定

2.3.1 对照品溶液及样品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rg₁ 对照品 4.12 mg,人参皂苷 Rb₁ 对照品 2.28 mg 置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解定容。取三七总苷提取物约 0.2 g,精密称定,置于 50 mL 量瓶中,加甲醇超声溶解,放至室温后加甲醇定容,摇匀。进样前过 0.45 μm 滤膜。

2.3.2 色谱条件^[3] Sunfire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)。流动相(A)乙腈-(B)水二元线性梯度洗脱:0~12 min(19% A:81% B),12~60 min(19%~36% A:81%~64% B) 流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 203 nm。三七对照品及三七总苷提取物 HPLC 如图 1。

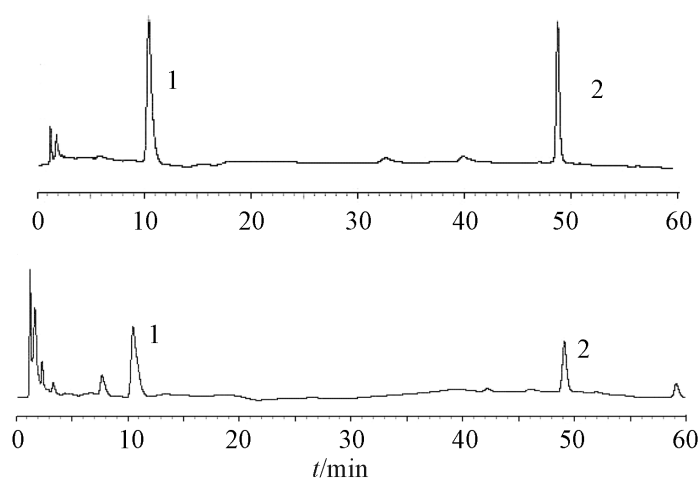


图 1 三七对照品和三七皂苷提取物的 HPLC 图谱
1. 三七皂苷 Rg₁ 2. 三七皂苷 Rb₁

2.3.3 线性关系的考察 精密吸取 Rg₁, Rb₁ 混合对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20 μL 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定各色谱峰峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标,进样量(X)为横坐标进行线性回归, Rg₁: $Y = 565\ 148X - 44\ 253$ ($r = 0.999\ 5$), Rb₁: $Y = 457\ 363X + 43\ 269$ ($r = 0.999\ 6$)

2.3.4 精密度试验 精密吸取 Rg₁, Rb₁ 混合对照品溶液 10 μL,连续进样 5 次,测定 Rg₁, Rb₁ 色谱峰峰面积的 RSD 分别为 1.2%, 0.9%,表明精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL,分别于制备后 0, 1, 2, 4, 8, 10 h 进样,测定 Rg₁, Rb₁ 色谱峰峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 0.8%,表明供试品溶液在 10 h 内基本稳定。

2.3.6 重复性试验 取同一批三七总苷提取物,按“2.3.1”项下样品溶液的制备方法,平行操作 5 份,测定 Rg₁, Rb₁ 色谱峰峰面积的 RSD 分别为 2.6%, 2.1%,表明方法的重复性良好。

2.3.7 回收率试验 精密称取剪口样品提取物 5 份,分别精密加入 Rg₁, Rb₁ 对照品,按“2.3.1”项下规定制备样品溶液,按上述色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表 2,表 3。

2.3.8 不同规格三七总苷提取物中人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的测定 取 3 种规格三七总苷提取物,按以上方法进行测定,结果见表 4。

表 2 Rg₁ 回收率试验(n=5)

取样量 /mg	样品含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率/%	RSD /%
10.42	1.288	0.618	1.884	96.44		
10.78	1.332	0.618	1.948	99.68		
10.92	1.350	0.618	1.954	97.73	98.41	1.7
10.07	1.245	0.618	1.867	100.65		
10.25	1.267	0.618	1.870	97.57		

表 3 Rb₁ 回收率试验 (n=5)

取样量 /mg	样品含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD /%
10.42	0.779	0.342	1.112	97.37		
10.78	0.806	0.342	1.139	97.37		
10.92	0.817	0.342	1.154	98.54	97.37	1.4
10.07	0.753	0.342	1.090	98.54		
10.25	0.767	0.342	1.092	95.03		

表 4 不同商品规格三七总苷提取物中人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 的质量分数 (n=3/%)

商品规格	Rg ₁	RSD	Rb ₁	RSD	(Rg ₁ + Rb ₁)
剪口	12.36	2.6	7.48	2.1	19.84
120 头 ~200 头	10.72	1.2	6.57	1.0	17.29
80 头 ~120 头	10.24	2.2	7.51	1.7	17.75

3 分析与讨论

根据以上实验结果计算三七总苷提取物的出膏率及有效成分的转移率, 并比较各试验参数, 结果见表 5。

表 5 不同三七商品规格药材提取物的出膏率和人参皂苷 Rg₁ 和 Rb₁ 转移率 %

商品规格	原料药中 (Rg ₁ + Rb ₁)	出膏率	提取物中 (Rg ₁ + Rb ₁)	Rg ₁ 转移率	Rb ₁ 转移率
剪口	7.97	39	19.84	97	98
120 头 ~200 头	4.59	25	17.29	95	92
80 头 ~120 头	4.68	25	17.75	96	94

由表 5 可以看出: 剪口原料药在有效成分含量、出膏率、提取物中有效成分含量几方面均高于另外两种规格原料药, 因此从保证产品质量和原料利用率方面考虑, 剪口原料药为最优。传统上三七药材以个大, 体重, 质坚, 表皮光滑, 断面灰绿色或灰黑色者为佳^[4], 所以药材市场上, 越少头数规格的三七药材价格越高, 从现有文献^[5]上也能看出, 头数越少, 三七总苷含量越高。工业提取三七总苷以剪口为最优选择, 但是市场上剪口价格也远高于其它规格, 所以提取三七总苷的三种原料中, 需要比较价格, 供应量, 三七总苷含量, 和工业提取成本综合评价, 才能为工厂提供科学的决策依据。

[参考文献]

- [1] 鲍建才, 刘刚, 丛登立, 等. 三七的化学成分研究进展 [J]. 中成药, 2006, 28(2): 246.
- [2] 杨志刚, 陈阿琴, 俞颂东. 三七药理研究新进展 [J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(4): 60.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 10.
- [4] 朱凌霞, 魏桂芳. 三七的鉴定标准与药理研究 [J]. 陕西中医, 2004, 25(7): 648.
- [5] 王雁. 不同商品规格三七中 3 种皂苷的高效液相色谱法含量测定 [J]. 中药材, 2005, 28(1): 33.