

• 质量标准 •

广西三七中皂苷成分的含量测定及其变化

刘华钢^{1*}, 梁秋云¹, 赖茂祥², 黄慧学¹

(1. 广西医科大学, 广西南宁 530021; 2. 广西中医药研究所, 广西南宁 530023)

[摘要] 目的: 高效液相色谱法测定不同药龄、不同月份生育期的广西三七中皂苷的含量, 并考察其变化规律, 为广西三七的质量评价提供依据。方法: 采用 HPLC 法, Shinr pack CLC-ODS 柱分离, 流动相: 乙腈与水梯度洗脱, 检测波长 203nm, 柱温: 室温, 流速 1mL/min。结果: 不同药龄、不同月份生育期的广西三七中人参皂苷 R_{g₁}、R_e、R_{b₁} 和三七皂苷 R₁ 的含量有明显差异, 4 年药龄的广西三七 10 月份采收三七皂苷含量最高。结论: 所建立的高效液相色谱法灵敏度高、专属性强、重复性好, 能准确、快速地进行含量测定; 药龄及月份生育期是影响广西三七皂苷含量的重要因素。

[关键词] HPLC; 三七; 人参皂苷; 三七皂苷; 采收期

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)05-0005-03

三七为五加科植物 *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen 的干燥根, 是我国传统名贵中药材。有散瘀止血、消肿定痛之功效, 用于咯血、吐血、衄血、便血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛、跌扑肿痛等^[1]。近年来, 云南三七产业大力发展, 产量约占全国总产量的 85%^[2]; 而广西作为三七的原产地^[3], 三七产销量却不断下降, 这源于广泛认为云南三七质优于广西三七。为了更好地开发广西三七, 探讨广西三七皂苷成分的变化规律, 对广西三七的质量进行综合评价, 本实验对不同药龄、不同月份生育期的广西三七中有效成分皂苷的含量变化进行了考察。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(包括 G1131 四元泵, G1313 自动进样器, G1131 脱气机, G1314A 紫外可见检测器, G1316 柱温箱, 配备 HP 工作站)。CG16-W 高速微量离心机(北京医用离心机厂)。人参皂苷 R_{g₁}(供含量测定用, 批号 0703-200221)、人参皂苷 R_e(供含量测定用, 批号 110754-200218)、人参皂苷 R_{b₁}(供含量测定用, 批号 110704-200217)、三七皂苷 R₁(供含量测定用, 批号 110745-200211), 均由中国药品生物制品检定所提供。三七样品 1~12 月(4 年生)采收; 2 年生、3 年生、4 年生和 5 年生三七

样品 12 月份采收。所有样品均采自广西靖西县, 经广西中医药研究所中药室赖茂祥副研究员鉴定为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen。乙腈为色谱纯, 水为去离子重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Shinr pack CLC-ODS(150mm × 6.0mm); 柱温: 室温; 流动相: 乙腈与水梯度洗脱; 流速: 1mL/min; 检测波长: 203nm。此条件下以人参皂苷 R_{g₁} 计算理论塔板数不低于 3000。

2.2 对照品溶液的制备 分别取人参皂苷 R_{g₁}、R_e、R_{b₁} 与三七皂苷 R₁ 对照品约 10、10、8、10mg, 精密称定, 置 10mL 量瓶中, 用 20% 乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2.3 线性关系 分别精密吸取人参皂苷 R_{g₁}(0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4mL)、R_e(0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、0.9mL)、R_{b₁}(0.5、0.7、0.9、1.1、1.3、1.5mL) 与三七皂苷 R₁(0.1、0.2、0.4、0.6、0.7、0.8mL), 用 20% 乙腈定容至 5mL, 得到系列浓度的对照品混合溶液, 分别进样 3 针, 每次进样 20μL, 记录色谱图。以峰面积积分为纵坐标(y), 对照品进样量(μg) 为横坐标(x) 进行线性回归, 得回归方程分别为: $y = 90.58x + 138.57$, ($r = 0.9999$); $y = 130.13x + 89.59$, ($r = 0.9998$); $y = 101.42x + 78.69$, ($r = 0.9998$) 和 $y = 113.54x + 107.38$, ($r = 0.9999$)。人参皂苷 R_{g₁}、R_e、

[收稿日期] 2005-12-30

[基金项目] 广西自然科学基金资助项目(NO: 0229035)

[通讯作者] 刘华钢, Tel: (0771) 5350964

Rb₁ 和三七皂苷 R₁ 分别在 1.6~ 5.6μg、0.4~ 3.6μg、1.6~ 4.8μg 和 0.4~ 3.2μg 内呈现良好线性关系。

2.4 供试品溶液的制备^[4] 分别取不同药龄及不同月份的三七中粉约 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 50mL, 称定重量, 超声处理 60min, 再称定重量, 用 70% 乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液蒸干, 残渣加 20% 乙腈溶解, 转移至 50mL 量瓶中, 加 20% 乙腈至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.5 精密度试验 取“2.2”项方法同一对照品溶液, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 人参皂苷 R_{g₁}、Re、Rb₁ 和三七皂苷 R₁ 含量的 RSD 分别为 0.53%、0.82%、1.3%、0.69%。

2.6 稳定性试验 取同一批供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24h 对样品进行分析。结果表明, 三七中各皂苷峰面积积分值变化不大, 人参皂苷 R_{g₁}、Re、Rb₁ 和三七皂苷 R₁ 的 RSD 分别为 0.98%、0.92%、0.57%、0.75%, 日内稳定性较好。

2.7 重复性试验 取同一批样品共 5 份, 每份 1.0g, 精密称定, 按“2.4”项下方法制备供试品溶液, 测定并计算各皂苷含量, 结果人参皂苷 R_{g₁}、Re、Rb₁ 和三七皂苷 R₁ 含量的 RSD 分别为 0.78%、0.91%、0.99%、1.10%。

2.8 加样回收试验 精密称取已知含量的样品, 分别精密加入人参皂苷: R_{g₁}、Re、Rb₁ 和三七皂苷 R₁ 对照品适量, 按“2.8”项下方法制备供试品溶液。测定并计算各皂苷的含量, 结果人参皂苷 R_{g₁} 回收率分别为 99.0%、99.8%、99.5%、99.3%、100.2%; 人参皂苷 Re 回收率分别为 99.5%、98.5%、99.0%、100.5%、99.5%; 人参皂苷 Rb₁ 回收率分别为 98.8%、99.7%、99.4%、100.3%、100.6%; 人参皂苷 R₁ 回收率分别为 99.7%、99.0%、98.3%、99.0%、98.7%。

3 结果与讨论

3.1 不同采收季节的广西三七中皂苷含量变化 不同采收季节的广西三七中皂苷含量变化见表 1 和图 1。从结果可知, 广西三七中主要成分为人参皂苷 R_{g₁}、Rb₁ 及三七皂苷 R₁, 占所测 4 种成分 81% 以上。R_{g₁} 在 1、2 和 3 月含量变化不大, 随后逐渐下降, 到 8 月含量降至最低, 随后又逐渐增高, 到 10 月份含量达到最大值; Rb₁ 在 3 月份含量达到最大值,

随后下降, 5 月份含量降至最小值, 随后又增高, 10 月份含量又达到一个较大值, R₁ 含量变化的动态曲线除了 4 月和 8 月有两个较大值外, 其他变化均较平缓。3、4、10 三月份 4 种皂苷的总量较高。

表 1 不同生长月份的三七中人参皂苷 R_{g₁}、Re、Rb₁ 及三七皂苷 R₁ 的含量 (n=3)

月份	R ₁ (%)	R _{g₁} (%)	Re(%)	Rb ₁ (%)
1	1.56	4.14	1.17	4.17
2	1.98	4.26	1.89	3.24
3	1.20	4.56	1.06	5.58
4	6.14	3.46	0.53	3.24
5	0.84	3.63	0.76	2.06
6	0.99	3.03	1.23	2.48
7	2.17	2.30	1.07	2.31
8	4.69	1.47	1.73	2.63
9	0.81	3.74	1.98	4.04
10	1.75	6.16	1.12	4.61
11	0.94	4.79	1.77	3.04
12	0.83	3.29	1.55	4.37

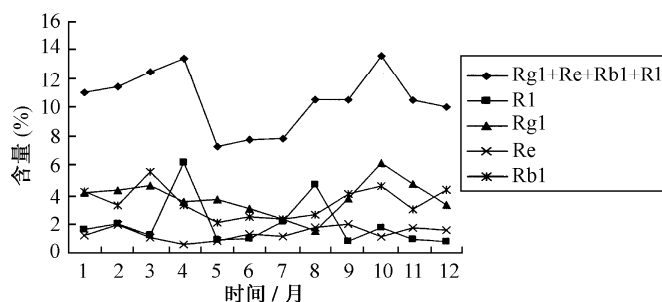


图 1 不同生长月份三七中 R_{g₁}、Re、Rb₁、R₁ 含量和 R_{g₁}+Re+Rb₁+R₁ 总量的曲线表

可见广西三七的皂苷成分含量与采收期有密切关系。皂苷是三七中主要生物活性物质, 是衡量三七质量的重要指标, 要控制广西三七的质量首先要控制好广西三七的采收期。本实验选择了三七最具代表性、特有的三七皂苷 R₁、人参二醇皂苷 Rb₁、人参三醇皂苷 R_{g₁} 和 Re 作为分析指标, 从结果看, 广西三七采收期可以参考这 4 种皂苷总量在 3 月、4 月或 10 月采收为宜。

3.2 不同药龄的广西三七中皂苷含量变化 不同药龄的广西三七中皂苷含量变化, 结果见表 2 和图 2。从结果可知, 人参皂苷 R_{g₁} 和三七皂苷 R₁ 的含量在 3 年药龄时最大, 人参皂苷 Re、Rb₁ 含量则随着药龄的增长而增加; 4 种皂苷的总量在 3 年药龄的广西三七中基本达到稳定, 随后随药龄增长只是略有增加。由此可见, 3 年药龄的广西三七的质量与 5 年药龄的相当。因此, 目前市场上以三七的头数来定价并不是十分合理。

表 2 不同药龄的三七中人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 及三七皂苷 R_1 的含量 ($n=3$)

药龄(年)	R_1 (%)	R_{g_1} (%)	R_e (%)	R_{b_1} (%)
2	1.55	2.58	0.72	3.60
3	2.16	4.16	1.24	3.97
4	1.83	3.89	1.55	4.37
5	0.79	4.10	1.85	5.16

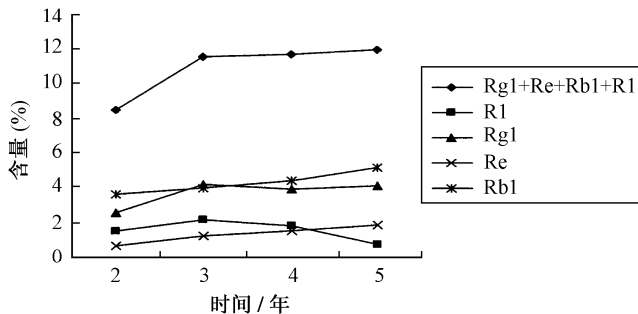


图 2 不同药龄三七中 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_1 含量和 $R_{g_1}+R_e+R_{b_1}+R_1$ 总量的曲线表

3.3 提取方法 在供试品溶液制备时, 比较了药典方法制备的供试品溶液的色谱峰, 发现采用简便、高效的直接用 70% 乙醇超声处理, 再蒸干用流动相溶解的方法, 既可除去色素、糖类杂质, 又较完全地提取了皂苷类成分, 为进行皂苷多成分分析, 奠定了基础。

[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, 2000. 10.
- [2] 张萱, 朱天琪. 薄层扫描法测定三七药材中人参皂苷 R_{g_1} 的含量[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(5): 342.
- [3] 徐冬英. 田七的古代产地及集散地[J]. 中药材, 1997, 20(12): 637.
- [4] 刘华钢, 赖茂祥, 梁秋云, 等. 三七含量测定方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(5): 14-16.