

# 三七不同炮制品中皂苷类成分的含量比较

万晓青<sup>1</sup>, 夏伯侯<sup>2</sup>, 楼招欢<sup>2</sup>, 彭芸崧<sup>2</sup>, 龚央聪<sup>1</sup>, 吴云燕<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>浙江医院, 杭州 310013; <sup>2</sup>浙江中医药大学药物研究所, 杭州 310053)

**摘要:** 目的: 建立一种RP-HPLC同时测定三七中三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、Rb1、Re含量的分析方法, 并比较不同炮制品中这4种成分含量的异同。方法: 采用高效液相色谱法。色谱条件: 色谱柱: Ultimate XB-C<sub>18</sub>(250mm×4.6 mm, 5μm); 柱温: 25℃; 流动相: 乙腈-水梯度洗脱; 检测波长: 203nm。结果: 蒸三七中三七皂苷R1的平均含量为0.806%、Rg1为3.18%、Re为1.00%、Rb1为0.998%, 高于相应生三七和油炸三七中相应的成分; 其中, 生三七中上述成分的含量分别为0.747%、3.24%、0.961%、0.977%, 油炸三七中分别为0.765%、2.84%、0.860%、0.847%。结论: 三七不同炮制品中三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、Rb1、Re的含量存在差异; 炮制对三七皂苷类成分的含量有影响。

**关键词:** 三七; 三七皂苷; 人参皂苷Rg1; 人参皂苷Rb1; 人参皂苷Re; 反相高效液相

## Determination of saponins in different processed products of *Panax Notoginseng*

WAN Xiao-qing<sup>1</sup>, XIA Bo-hou<sup>2</sup>, LOU Zhao-huan<sup>2</sup>, PENG Yun-song<sup>2</sup>, GONG Yang-cong<sup>1</sup>, WU Yun-yan<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, China; <sup>2</sup>Pharmaceutical Institute of Zhejiang University of TCM, Hangzhou, 310053, China)

**Abstract:** Objective: To develop an RP-HPLC method for the determination of panax notoginseng R1, ginsenoside Rg1, ginsenoside Rb1 and ginsenoside Re; to compare the diversify of these four ingredients in different processed products of Panax Notoginseng. Methods: Analyses were performed at 25℃ on Ultimate XB-C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm, 5μm) column with ACN-H<sub>2</sub>O as the mobile phase at a flow rate of 1.0mL/min. The detection wave length was 203nm. Results: In steam processed Panax Notoginseng, the average content of panax notoginseng R1, ginsenoside Rg1, Re and Rb1 is 0.806%, 3.18%, 1.00% and 0.998% respectively; In raw panax notoginseng is 0.747%, 3.24%, 0.961%, 0.977%, and in fried product is 0.765%, 2.84%, 0.860%, 0.847%. Conclusion: There are some difference on the content of Panax notoginseng saponins R1, ginsenoside Rg1, Re and Rb1 among the different processed products of panax notoginseng; The dealing of processed will affect the content of panax notoginseng saponins.

**Key words:** Panax Notoginseng; Panax Notoginseng Saponins; ginsenoside Rg1; Ginsenoside Rb1; Ginsenoside Re; RP-HPLC

**Fund assistance:** Project of Zhejiang Province Chinese Medicine Administrative Bureau (No.2009CA049)

三七, 又名田七、参三七, 为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) 的干燥根, 被历代医学家誉为“止血之神药, 补血之妙品”, 是名贵的中药材, 具有活血、止血、调节免疫等作用。对于三七, 中医临床及民间都有“生破熟补”之说, 即生三七偏于活血散结, 消肿化瘀, 熟三七偏于补血, 提高免疫, 促进生长发育等。有研究表明, 经热处理的三七, 其止血、抗炎及改善毛细血管通透性的作用减弱, 但能显著延长小鼠游泳时间, 提示熟三七有扶正固本作用, 与“生破熟补”说相吻合<sup>[1]</sup>。生、熟三七功效的不同, 有赖于所含成分及量的差异; 而不同的炮制方法及条件会在一定程度上影响成分的含量<sup>[2]</sup>, 但这方面的研究相对欠缺。为进一步探索不同炮制品在成分上的变化, 本研究建立了RP-HPLC法同时测定三七中三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、Re、Rb1的分析方法, 并比较了不同炮制品中这些成分

的异同, 以期对三七“生破熟补”说提供物质基础的依据。

### 材料

1. 仪器 Agilent 1200series高效液相色谱仪, DAD检测器(美国Agilent公司); KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); MILLI-Q Synthesis A 10纯水仪(美国Millipore公司); AG135型电子天平。

2. 试药 生三七(批号: 091128; 产地: 云南文山州), 购自浙江中医药大学中药饮片厂; 油炸三七: 取生三七饮片, 用山茶油在中火条件下炸至表面呈金黄色; 蒸三七: 取生三七饮片, 置蒸笼中100℃, 蒸1.5h, 取出晾干。

对照品: 三七皂苷R1 (lot: 110745-200617), 人参皂苷Rg1 (lot: 110703-200726), 人参皂苷Re (lot: 110754-200822), 人参皂苷Rb1 (lot: 110704-200921) 均购自中国药品生物制品检定所。

通讯作者: 万晓青, 浙江省杭州市灵隐路12号浙江医院, 邮编: 310013, 电话: 0571-87987373转5038, E-mail: zjywxq@163.com

3. 试剂 甲醇:分析纯,091218,临海市浙东特种试剂厂; 甲醇:色谱纯,批号:1002900, TEDIA COMPANY; 乙腈:色谱纯,批号:001909, TEDIA COMPANY); 超纯水(由纯水仪制备,其余试剂均为分析醇。

方法与结果

1. 混合对照品溶液的制备 精密称取三七皂苷R1 5.64mg, 人参皂苷Rg1 9.59mg, 人参皂苷Rb1 11.87mg和人参皂苷Re 4.73 mg置10mL容量瓶中,加入甲醇溶解并稀释刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2. 供试品溶液的制备 取三七粉末(80目)约0.3g,精密称定,置50mL具塞三角瓶中,精密加入体积分数(下同)为70%甲醇6mL,精密称定,超声处理(100W, 40kHz) 45min,取出,放冷,用70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液即得。

3. 系统适应性试验 色谱柱: Ultimate XB-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5μm); 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 203nm; 柱温: 25℃; 流动相: 乙腈-水梯度洗脱(乙腈比例: 0-10min, 维持20%; 10-35min, 20%→26%; 35-40min, 26%→31%; 40-60 min, 31%→37%)。在上述色谱条件下,样品中三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、Rb1、Re与其他成分能达到基线分离,理论塔板数均大于5 000。见图1-图2。

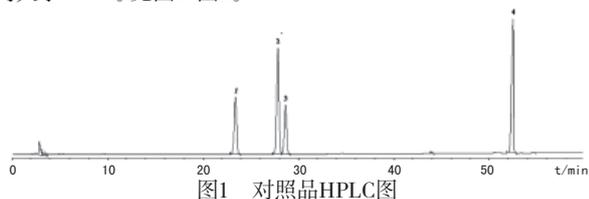


图1 对照品HPLC图

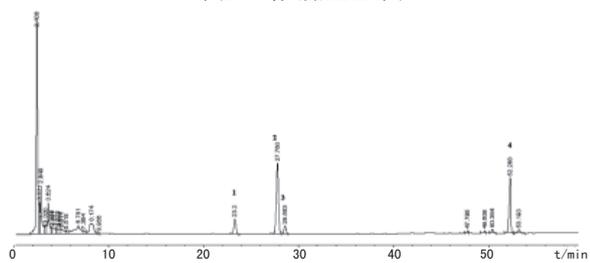


图2 三七样品HPLC图

4. 线性范围试验 取混合对照品溶液,按“3.”项下色谱条件,分别进样2、3、5、8、10、12、14、16、18、20μL测定峰面积,以峰面积为纵坐标Y,进样质量(μg)为横坐标X,绘制标准曲线,结果表明三七皂苷R1在1.13-11.3μg、人参皂苷Rg1在1.92-19.2μg、人参皂苷Rb1在0.946-9.460μg、人参皂苷Re在2.37-23.7μg内线性关系良好,标准曲线分别为三七皂苷R1: Y=155.2X+16.40, 人参皂苷Rg1: Y=297.8X+31.95, Re: Y=123.5X+20.89, Rb1: Y=284.3X+15.13, r均>0.999。

5. 溶剂空白试验 取供试品溶液制备时用的溶剂70%甲醇,过0.22μm滤膜,得空白溶剂供试液,按“3.”项下色谱条件进样10μL,在三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、Rb1、Re出峰时间处无洗脱峰,说明该溶剂对三七中上述成分的含量测定无干扰,见图3。

6. 稳定性试验 取同一供试品溶液分别在0、2、4、6、8、

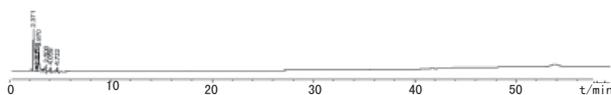


图3 空白溶剂HPLC图

注: 1. 三七皂苷R1; 2. 人参皂苷Rg1; 3. 人参皂苷Re; 4. 人参皂苷Rb1。

12h,按“3.”项下条件测定峰面积,各成分RSD分别为三七皂苷R1: 2.17%, 人参皂苷Rg1: 1.39%, Re: 0.50%, Rb1: 1.08%,表明上述4成分在12h内稳定性良好。

7. 精密度试验 取同一供试品溶液,按“3.”项下条件连续进样5次,测得样品中上述4成分峰面积的RSD分别为三七皂苷R1: 0.25%, 人参皂苷Rg1: 0.07%, Re: 0.23%, Rb1: 0.21%。符合精密度要求(RSD<2%)。

8. 重复性试验 取粉末约0.2g,精密称定,平行6份,按“2.”项下方法制备供试液,按“3.”项下条件测定峰面积,计算样品中三七皂苷R1的含量分别为0.828%、0.824%、0.819%、0.824%、0.822%、0.823%,RSD为0.34%, 人参皂苷Rg1为: 3.21%、3.18%、3.19%、3.19%、3.20%、3.18%,RSD为0.33%, Re为: 1.08%、1.06%、1.07%、1.07%、1.07%、1.06%,RSD为0.56%, Rb1为: 1.09%、1.08%、1.08%、1.09%、1.09%、1.08%,RSD为0.31%,符合重复性试验要求(RSD<5%)。

9. 加样回收率试验 采用加样回收法,取已知含量的三七药粉约0.1g,分别添加适三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、Re、Rb1对照品,按“2.”项下方法制备供试液,按“3.”项下条件测定峰面积,计算得三七皂苷R1的回收率在95.0%-101.2%间,平均回收率为97.3%,RSD为2.36%; 人参皂苷Rg1的回收率在98.6%-103.1%间,平均回收率为99.9%,RSD为1.88%; Re回收率在98.7%-101.6%间,平均回收率为99.8%,RSD为1.10%; Rb1回收率在96.6%-98.7%间,平均回收率为97.5%,RSD为0.82%,均符合回收率试验要求(95.0%-105.0%之间)。

10. 三七不同炮制品中皂苷类成分含量测定 取蒸三七、油炸三七粉末约0.2g,精密称定,按“2.”项下方法制备供试液,按“3.”项下条件测定峰面积,计算样品中三七皂苷R1、人参皂苷的含量Rg1、Re、Rb1。见表1。

表1 三七不同炮制品中皂苷类成分含量测定结果(n=2)

样品	皂苷含量(%)			
	三七皂苷R1	人参皂苷Rg1	人参皂苷Rg1	人参皂苷Rg1
生三七(1)	0.759	3.25	0.947	0.985
生三七(2)	0.734	3.24	0.976	0.970
蒸三七(1)	0.809	3.29	0.991	1.02
蒸三七(2)	0.802	3.07	1.01	0.971
油炸三七(1)	0.756	2.86	0.896	0.903
油炸三七(2)	0.773	2.83	0.825	0.790

注: 其中(1)指第一次购买的药材,(2)为第二次购买的药材。

## 讨论

1. 不同提取方法考察 考察了超声(100W, 40kHz)处理45min与热回流2h对样品中皂苷类成分的提取率。结果表明,超声处理样品中三七皂苷R1, 人参皂苷Rg1, Re含量高, Rb1略低于水浴回流, 考虑省时、操作简便, 采用超声提取样品。

2. 不同溶剂考察 考察了水、30%、50%、70%、100%甲醇等提取溶剂对三七皂苷类成分的提取率。结果, 70%甲醇的提取率最高。

3. 不同提取时间考察 考察了30、45、60、75min等不同超声处理时间对三七皂苷类成分的提取率, 结果表明, 超声时间对三七样品中各皂苷的含量影响不大, 综合考虑, 采用45min作为样品的提取时间。

4. 质量分析 由表1可知, 蒸三七中除人参皂苷Rg1的含量略低于生三七外, 三七皂苷R1等3个成分的平均含量均高于生三七和油炸三七; 而油炸三七中, 除三七皂苷R1较接近于生三七外, 其他3个人参皂苷类成分的含量均低于生、蒸三七中相

应的成分。提示: 炮制方法对三七中皂苷类成分的含量有影响; 蒸制可提高三七中人参皂苷类成分的含量, 而油炸可能对该类成分有破坏作用。成分含量的改变与药效间的相关性, 有待下一步研究。

## 参考文献

- [1] 刘环香,张洪,吴东方,等.热处理对三七药理作用的影响.中药材,1995,18(3):143-145  
LIU Huan-xiang,ZHANG Hong,WU Dong-fang,et al. Effects of heat treatment on the pharmacological of panax notoginseng. Journal of Chinese Medicinal Materials,1995,18(3):143-145
- [2] 刘环香,张洪,蔡鸿生,等.温度对三七有效成分的影响.中国医院药学杂志,1995,15(11):513-514  
LIU Huan-xiang, ZHANG Hong,CAI Hong-sheng,et al.Effects of process temperature on the active ingredients of panax notoginseng. Journal of Hospital Pharmacy,1995,15(11):513-514

(收稿日期: 2010年8月20日)

## ·研究报告·

## 疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝组织脂肪酸合成酶mRNA及蛋白表达的影响

杨钦河, 顾常霖, 陈同炎, 张玉佩, 刘海涛, 胡四平

(暨南大学医学院中医系, 广州 510632)

摘要: 目的: 观察疏肝健脾方药对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠肝组织脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)mRNA及蛋白表达的影响, 探讨疏肝健脾方药抗大鼠NAFLD的作用机制。方法: 雄性SD大鼠, 分为正常组、模型组、健脾组、疏肝组、综合组。使用高脂肪乳剂灌胃造模, 治疗组给予相应药物灌胃, 8周后处死大鼠, 检测血清转氨酶、血脂和肝脂水平; HE染色观察肝组织病理变化; RT-PCR和免疫组织化学方法检测肝组织FAS基因和蛋白的表达。结果: 与模型组相比, 各药物干预组大鼠血清AST、TC、TG含量和肝组织TC含量均显著下降( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 健脾组和疏肝组肝组织TG含量显著下降( $P < 0.05$ ); 光镜观察各药物均能改善大鼠肝细胞脂肪变性, 以疏肝组更为显著; 各用药组FAS mRNA表达水平和蛋白的表达均有下降( $P < 0.05$ ), 其中疏肝组表达的水平最低。结论: 疏肝健脾方药能显著改善NAFLD大鼠脂质代谢紊乱, 减轻肝损伤, 具有良好的抗NAFLD的作用。其机制可能与下调FAS mRNA及蛋白表达有关。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 疏肝健脾方药; 脂肪酸合成酶; 肝组织; 大鼠

基金资助: 广东省建设中医药强省科研课题(No.2010122)

### Effect of Soothing Liver and Invigorating Spleen Recipes on FAS mRNA and protein expression in hepatic tissue of non-alcoholic fatty liver disease rats

YANG Qin-he, GU Chang-lin, CHEN Tong-yan, ZHANG Yu-pei, LIU Hai-tao, HU Si-ping

(Department of Traditional Chinese Medicine, Jinan University School of Medicine, Guangzhou 510632, China)

通讯作者: 杨钦河, 广州黄埔大道西601号暨南大学医学院, 邮编: 510632, 电话: 020-85226197, E-mail: tyangqh@jnu.edu.cn