

## 广西不同年限三七中皂苷含量的 HPLC 分析

韦荣昌<sup>1,2</sup>, 唐春风<sup>2</sup>, 冯世鑫<sup>2</sup>, 白隆华<sup>2</sup>, 潘丽梅<sup>2</sup>, 马小军<sup>1\*</sup>, 唐 其<sup>2,3\*</sup>

(1. 中国医学科学院 & 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193; 2. 广西药用植物园, 广西南宁 530023; 3. 湖南农业大学 园艺园林学院, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 为进一步研究广西的三七质量, 利用高效液相色谱(HPLC)法测定广西靖西县不同生长年限三七不同部位(根、茎、叶)的皂苷成分含量。结果表明: 三七皂苷成分的峰面积与进样量呈良好的线性关系; 随着生长年限的增加, 三七根中人参皂苷  $R_{g_1}$ 、人参皂苷  $R_{b_1}$  及三七皂苷  $R_1$  的含量不断增加, 茎部的各皂苷成分含量不断下降, 叶部人参皂苷  $R_{b_1}$  含量先上升后下降, 而人参皂苷  $R_{g_1}$  含量先下降后上升, 且检测不到三七皂苷  $R_1$ 。3 年生三七药材符合 2010 版《中国药典》规定, 说明广西的三七质量良好。

**关键词:** 三七; 皂苷; 生长年限; HPLC

中图分类号: S567.23<sup>+</sup>6 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2014)03-0154-04

## HPLC Analysis of Saponins Content from Different Growth Years of *Panax notoginseng* in Guangxi

WEI Rong-chang<sup>1,2</sup>, TANG Chun-feng<sup>2</sup>, FENG Shi-xin<sup>2</sup>, BAI Long-hua<sup>2</sup>, PAN Li-mei<sup>2</sup>,  
MA Xiao-jun<sup>1\*</sup>, TANG Qi<sup>2,3\*</sup>

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China; 3. Horticulture & Landscape College, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** To further study the quality of *Panax notoginseng* in Guangxi, the saponins content of roots, stems and leaves from *Panax notoginseng* of different growth years in Jingxi county were detected by high performance liquid chromatography(HPLC). The results showed that the peak area linearly correlated with sample size. With the increase of growth age, saponins content of  $R_{g_1}$ ,  $R_{b_1}$  and  $R_1$  in *P. notoginseng* root increased; saponins content in stems decreased; saponins content of  $R_{b_1}$  in leaf first increased and then decreased, but  $R_{g_1}$  decreased first and then increased, and  $R_1$  was not found. Three-year old *P. notoginseng* was up to the standard of Pharmacopoeia of People's Republic of China, indicating that the quality of *P. notoginseng* in Guangxi was good.

**Key words:** *Panax notoginseng*; saponin; growth years; HPLC

三七[*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen]又名山漆、田七、金不换、南方神草等, 为五加科(Araliaceae)人参属(*Panax*)多年生草本植物, 主要以根和根茎入药。三七性温、味甘、微苦, 归肝、胃经, 具有散瘀

止血、消肿定痛的功效<sup>[1]</sup>。三萜皂苷是三七的主要活性成分, 主要由人参皂苷  $R_{g_1}$ 、人参皂苷  $R_{b_1}$  及三七皂苷  $R_1$  组成, 在中枢神经系统、心脑血管系统、血液系统以及免疫系统等方面具有较好的生理活性<sup>[2-6]</sup>,

收稿日期: 2013-09-05

基金项目: 广西科技攻关项目(桂科重 1355001-1); 广西自然科学基金项目(2013GXNSFAA019207); 广西药用植物园青年基金项目(桂药基: 2011106)

作者简介: 韦荣昌(1983-), 男, 广西梧州人, 助理研究员, 在读博士研究生, 主要从事分子生药学研究。E-mail: wrc830612@163.com

\* 通讯作者: 马小军(1958-), 男, 北京人, 研究员, 博士, 主要从事分子生药学研究。E-mail: xjma@public.bta.net.cn

唐 其(1981-), 男, 湖南株洲人, 助理研究员, 博士, 主要从事分子生物学研究。E-mail: tangqi423@sina.com

广泛应用于药品、保健品和化妆品中。

广西靖西县作为三七的原产地及曾经的主产地<sup>[7-8]</sup>,产销量却不断下降,这源于普遍认为云南三七的质量优于广西三七。为满足广西药企(如梧州制药等)对三七日益增加的需求,近年来,广西政府启动“三七回家”项目,将靖西县列为重点开发的产业种植区,大力扶持三七产业。为了更好地开发广西三七,本研究通过高效液相色谱(HPLC)法对广西靖西县不同生长年限三七不同部位(根、茎、叶)中的皂苷含量进行分析,探讨广西三七中皂苷成分的变化规律,以期为进一步研究广西的三七质量奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

1年生、2年生和3年生三七的根、茎、叶于2013年3月采自广西靖西县,经中国医学科学院药用植物研究所马小军研究员鉴定为五加科植物三七 [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen]。

### 1.2 主要仪器与试剂

主要仪器:美国 Agilent 1260 Infinity 液相色谱仪;电子分析天平(型号 CP224S,德国 Sartorius 公司);0.45  $\mu\text{m}$  滤膜、过滤器和 Milii-Q 型纯水机(美国 Millipore 公司)。

主要试剂:人参皂苷  $\text{R}_{\text{g}_1}$  (批号 110703-201027)、人参皂苷  $\text{R}_{\text{b}_1}$  (批号 110704-201122)及三七皂苷  $\text{R}_1$  (批号 110745-200617)标准品均由中国药品生物制品检定所提供;乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);水为去离子水(Milii-Q 型密理博纯水机制备);甲醇为分析纯。

### 1.3 方法

1.3.1 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷  $\text{R}_{\text{g}_1}$  对照品、人参皂苷  $\text{R}_{\text{b}_1}$  对照品及三七皂苷  $\text{R}_1$  对照品适量,加甲醇制成人参皂苷  $\text{R}_{\text{g}_1}$  0.434 0 mg/mL、人参皂苷  $\text{R}_{\text{b}_1}$  0.430 0 mg/mL、三七皂苷  $\text{R}_1$  0.101 3 mg/mL 的混合溶液,即得。

1.3.2 样品溶液的制备 精密称取本品粉末(过四号筛)0.6 g,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,放置过夜,置 80℃ 水浴上保持微沸 2 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

1.3.3 色谱条件 色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18(4.6 mm×250 mm,5  $\mu\text{m}$ );以乙腈为流动相 A,水为流动相 B,按表 1 的规定进行梯度洗脱;检测波长 203 nm;柱温为 25℃,流速 1.0 mL/min;进样体积为 10  $\mu\text{L}$ 。

表 1 梯度洗脱参数

时间/min	乙腈/%	水/%
0~12	19	81
12~60	19→36	81→64

1.3.4 线性关系的考察 在 1.3.3 的色谱条件下,分别在 6 个质量浓度点,平行测定 3 次(均进样 10  $\mu\text{L}$ ),记录峰面积为纵坐标,对照品质量浓度(mg/mL)为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程。

1.3.5 样品的含量测定 将 1.3.1 中制备的样品溶液,按 1.3.3 的色谱条件平行进样 3 次,按外标法定量,计算各样品人参皂苷  $\text{R}_{\text{g}_1}$ 、人参皂苷  $\text{R}_{\text{b}_1}$  及三七皂苷  $\text{R}_1$  的峰面积,并以回归方程计算各组分的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 线性关系的考察

根据色谱结果,分别绘制标准曲线(图 1—3),并对峰面积进行回归,计算线性回归方程。人参皂苷  $\text{R}_{\text{g}_1}$  回归方程为  $y=3\,002.420\,5x+6.566\,0$ ,  $r=0.999\,9$ ;人参皂苷  $\text{R}_{\text{b}_1}$  回归方程为  $y=2\,330\,947\,3x+1.845\,4$ ,  $r=0.999\,9$ ;三七皂苷  $\text{R}_1$  回归方程为  $y=2\,581.464\,6x-1.787\,0$ ,  $r=0.999\,2$ 。结果表明,人参皂苷  $\text{R}_{\text{g}_1}$  为 0.021 7~0.434 0 mg/mL、人参皂苷  $\text{R}_{\text{b}_1}$  为 0.021 5~0.430 0 mg/mL、三七皂苷  $\text{R}_1$  为 0.005 1~0.101 3 mg/mL,峰面积与进样量均呈良好的线性关系。

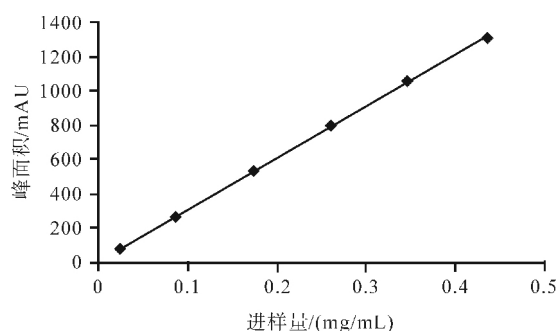


图 1  $\text{R}_{\text{g}_1}$  的标准曲线

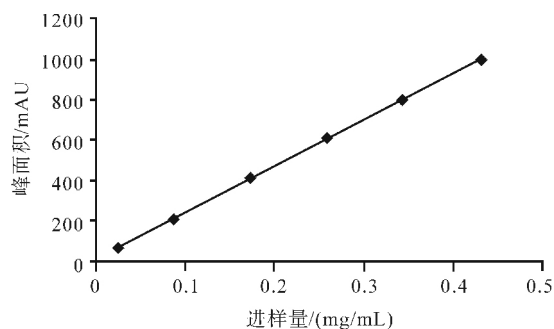
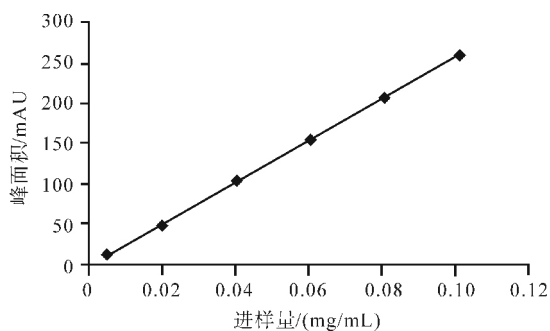
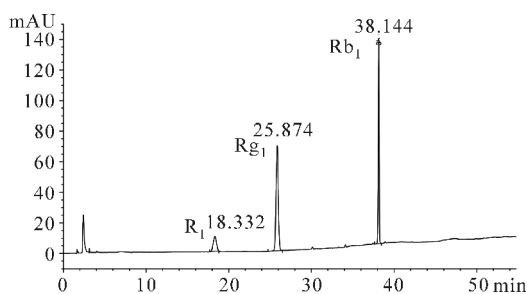


图 2  $\text{R}_{\text{b}_1}$  的标准曲线

图 3  $R_1$  的标准曲线

## 2.2 标准品检测结果

HPLC 检测发现, 人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_{b1}$ 、三七皂苷  $R_1$  的保留时间分别为 25.874、38.144、18.332 min(图 4)。

图 4  $R_{g1}$ 、 $R_{b1}$  和  $R_1$  混合标准品 HPLC 分析

## 2.3 样品含量测定结果

由表 2 可知, 随着生长年限的增加, 三七根中人

参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_{b1}$  及三七皂苷  $R_1$  的含量不断增加, 以 3 年生三七根中各皂苷成分含量最高。1 年生、2 年生和 3 年生三七根中  $R_{g1}$  和  $R_{b1}$  的含量两两之间差异极显著; 1 年生和 2 年生三七根中  $R_1$  的含量差异不显著, 但 3 年生与 1 年生(或 2 年生)三七根中  $R_1$  的含量差异极显著。三七总皂苷含量随着年限的增长逐渐升高, 3 年生三七满足 2010 版药典三七总皂苷含量不低于 5.0% 的标准。

由表 3 可知, 三七茎中人参皂苷  $R_{g1}$ 、人参皂苷  $R_{b1}$  及三七皂苷  $R_1$  的含量随着生长年限的增加而逐渐下降, 以 1 年生三七茎中各皂苷成分含量最高, 其中三七皂苷  $R_1$  的含量超出线性测定范围。1 年生、2 年生和 3 年生三七茎中  $R_{g1}$  和  $R_1$  的含量两两之间差异极显著; 1 年生和 2 年生三七茎中  $R_{b1}$  的含量差异不显著, 但 3 年生与 1 年生(或 2 年生)三七茎中  $R_{b1}$  的含量差异极显著。从整体上看, 茎中的总皂苷含量随着年限的增长而降低。

由表 4 可知, 在 1~3 年生三七叶中, 均检测不到三七皂苷  $R_1$ 。随着生长年限的增加, 三七叶中人参皂苷  $R_{b1}$  含量先上升后下降, 而人参皂苷  $R_{g1}$  含量先下降后上升, 以 3 年生的皂苷成分含量最高。1 年生、2 年生和 3 年生三七叶中的  $R_{g1}$  和  $R_{b1}$  含量两两之间差异极显著。从整体上看, 三七总皂苷含量呈现先上升后下降的趋势。

表 2 不同年限三七根的皂苷含量

%

年限	$R_{g1}$	$R_{b1}$	$R_1$	总皂苷( $R_{g1}+R_{b1}+R_1$ )
1 年	$1.577 \pm 0.011C$	$1.143 \pm 0.006C$	$0.256 \pm 0.025bB$	$2.975 \pm 0.039C$
2 年	$1.844 \pm 0.023B$	$1.687 \pm 0.032B$	$0.269 \pm 0.023bB$	$3.800 \pm 0.065B$
3 年	$2.842 \pm 0.033A$	$2.690 \pm 0.031A$	$0.486 \pm 0.015aA$	$6.017 \pm 0.074A$

注: 同列不同小、大写字母表示差异达显著( $P < 0.05$ )、极显著水平( $P < 0.01$ ), 下同。

表 3 不同年限三七茎的皂苷含量

%

年限	$R_{g1}$	$R_{b1}$	$R_1$	总皂苷( $R_{g1}+R_{b1}+R_1$ )
1 年	$0.715 \pm 0.034A$	$1.000 \pm 0.080aA$	$0.116 \pm 0.009A$	$1.831 \pm 0.123A$
2 年	$0.501 \pm 0.016B$	$0.984 \pm 0.033aA$	$0.075 \pm 0.007B$	$1.560 \pm 0.054B$
3 年	$0.250 \pm 0.009C$	$0.698 \pm 0.011bB$	$0.030 \pm 0.003C$	$0.977 \pm 0.021C$

表 4 不同年限三七叶的皂苷含量

%

年限	$R_{g1}$	$R_{b1}$	$R_1$	总皂苷( $R_{g1}+R_{b1}+R_1$ )
1 年	$0.007 \pm 0.002B$	$0.583 \pm 0.002C$	—	$0.590 \pm 0.001C$
2 年	$0.002 \pm 0.001C$	$0.882 \pm 0.004A$	—	$0.884 \pm 0.004A$
3 年	$0.012 \pm 0.001A$	$0.685 \pm 0.007B$	—	$0.697 \pm 0.006B$

### 3 讨论

相同生长年限条件下,广西三七不同部位的皂苷成分含量差异明显,其中根部的人参皂苷  $R_{g_1}$ 、人参皂苷  $R_{b_1}$  及三七皂苷  $R_1$  的含量均高于其他部位。广西三七随着生长年限的增加,根部的各皂苷成分及总皂苷含量不断增加;茎部的各皂苷成分及总皂苷含量不断下降;叶部人参皂苷  $R_{b_1}$  含量先上升后下降,而人参皂苷  $R_{g_1}$  含量先下降后上升,且检测不到三七皂苷  $R_1$ ,总皂苷含量先上升后下降。这与王振峰等<sup>[9]</sup>研究的云南三七根、茎和叶的总皂苷含量均随生长年限的增加而不断升高的结果不完全一致。这或许就是广西三七和云南三七的区别。

三七根、茎、叶的主要活性成分皆为达玛烷型的四环三萜皂苷,HPLC 检测结果表明,广西靖西县三七根部以人参皂苷  $R_{g_1}$  含量最高,其次是人参皂苷  $R_{b_1}$ ,而三七皂苷  $R_1$  含量最低,这与前人的研究结果一致<sup>[10-11]</sup>;广西三七茎叶部以人参皂苷  $R_{b_1}$  居多,人参皂苷  $R_{g_1}$  次之,三七皂苷  $R_1$  最低,这与王隶书等<sup>[12]</sup>对云南三七的研究结果一致。综上可知,广西三七和云南三七根、茎和叶的皂苷成分含量趋势一致。

《中国药典》I 部 2010 版规定三七药材(干燥品)人参皂苷  $R_{g_1}$ 、人参皂苷  $R_{b_1}$  及三七皂苷  $R_1$  的总量不得少于 5.0%,HPLC 测定结果表明,广西靖西县 3 年生三七质量符合药典标准,说明广西三七的质量良好,打破了“云南三七的质量优于广西三七”的谣传,为进一步研究广西三七质量和开发广西三七产业奠定了基础。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国药

典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010.

- [2] He N W,Zhao Y,Guo L,*et al.* Antioxidant, antiproliferative, and pro-apoptotic activities of a saponin extract derived from the roots of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen[J]. J Med Food,2012,15:350-359.
- [3] Chen J C,Chen L D,Tsauer W,*et al.* Effects of ginsenoside Rd2 and Rc on inferior human sperm motility *in vitro*[J]. Am J Chin Med,2001,29:155-160.
- [4] Li W,Fitzloff J F. A validated method for quantitative determination of saponins in notoginseng(*Panax notoginseng*) using high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection[J]. J Pharm Pharmacol,2001,53:1637-1643.
- [5] Ng T B. Pharmacological activity of sanchi ginseng (*Panax notoginseng*)[J]. J Pharm Pharmacol,2006,58(8):1007-1019.
- [6] 王薇. PNS 对脑出血患者血肿吸收剂血浆基质金属蛋白酶-9 的影响[J]. 中草药,2011,4(5):963-965.
- [7] 徐冬英. 田七的古代产地及集散地[J]. 中药材,1997,20(12):637.
- [8] 黄荣韶,杨海菊,贺紫荆,等. 三七原产地的再考证[J]. 时珍国医国药,2007,18(7):1610.
- [9] 王振峰,高云涛,张文斌,等. 不同生长年限三七中总皂苷含量的变化特征[J]. 安徽农业科学,2012,40(15):8458-8459,8463.
- [10] 杨海菊,孔德鑫,黄万清,等. 广西三七皂苷类成分含量的分析[J]. 时珍国医国药,2009,20(5):1120-1122.
- [11] 朱伟伟,王齐. 高效液相色谱法测定不同年限三七根中皂苷含量[J]. 安徽农业科学,2012,40(3):1407-1408,1651.
- [12] 王隶书,程东岩,董方言. 三七叶的 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中成药,2003,25(2):88-89.