

三七果中有效成分的闪式提取工艺研究

时圣明^{1,2}, 王文倩², 袁永兵², 陈常青², 赵余庆^{1*}

1. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110016

2. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: **目的** 选用闪式提取法对三七果进行提取工艺的考察, 并通过采用高效液相色谱法对三七果所含的主要单体皂苷进行测定, 优选出最佳提取方式。 **方法** 采用闪式提取法提取三七果中的总皂苷, 制备出 9 个供试品; 以人参皂苷 Rb₁ 为对照品, 应用 HPLC-UV 法测定各个供试品中的单体皂苷。色谱柱条件: Hypersil C₁₈ 柱 (200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水梯度洗脱 (0 min, 20:80→30 min, 45:55→48 min, 70:30→50 min, 80:20→60 min, 100:0); 检测波长 203 nm; 体积流量 1.0 mL/min。 **结果** 闪式提取可得到较高收率的总皂苷, 且单体皂苷人参皂苷 Rb₁ 的量较高。 **结论** 闪式提取法速度快, 效率高, 耗材少, 适用于三七果总皂苷的提取和制备。

关键词: 三七果; 闪式提取; 正交试验; 人参皂苷 Rb₁; HPLC

中图分类号: R943 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)02-0135-003

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.02.014

Flash extraction technology used for extracting active components from fruit of *Panax notoginseng*

SHI Sheng-ming^{1,2}, WANG Wen-qian², YUAN Yong-bing², CHEN Chang-qing², ZHAO Yu-qing¹

1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110006, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To extract the active components from the fruits of *Panax notoginseng* (FPN) using optimal flash extraction technology and to determine the major monomer saponins in FPN using HPLC method. **Methods** The flash extraction technology was used to extract the total saponins including nine samples from FPN. The monomer saponins in each sample were determined by HPLC-UV with ginsengside Rb₁ as reference substance. The chromatographic conditions were as follows: Hypersil C₁₈ column (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), acetonitrile-water (0 min, 20:80→30 min, 45:55→48 min, 70:30→50 min, 80:20→60 min, 100:0); The detective wavelength was set at 203 nm; The flow rate was set at 1.0 mL/min. **Results** Flash extraction technology is the efficient method with the high yield of active saponins. **Conclusion** Flash extraction technology is a rapid, effective, and economical method used for extracting the active saponins from the different parts of *P. notoginseng*.

Key words: fruits of *Panax notoginseng*; flash extraction; orthogonal test; ginsengside Rb₁; HPLC

三七 *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen 为五加科植物, 以干燥的根和根茎入药, 用于治疗疾病已有悠久的历史, 在《本草纲目》、《医门秘旨》、《跌损妙方》等均有记载^[1-2]。具有活血化瘀、消肿止痛的功效^[3]。皂苷类是三七的主要有效成分, 文献报道三七中总皂苷量约为 12%, 其中以人参皂苷 R₁、R_g₁、Rb₁ 等为主^[4-5]。

国内外学者对三七的研究主要集中在根、茎、

叶等部位, 提取方法主要为乙醇加热回流提取、超声法、渗漉法、超声提取法^[6-9]。本课题组在对三七果的化学成分进行了系统研究的基础上, 采用闪式提取法, 对三七果进行提取的工艺研究^[10-11]。通过正交设计, 采用 HPLC 法测定各组分中对照品人参皂苷 Rb₁ 的量, 找到三七果闪式提取的最佳工艺, 为三七果乃至三七各部分总皂苷的综合开发利用和提高药用价值提供可行的制备方法。

收稿日期: 2012-11-21

基金项目: 辽宁省天然药物现代分离与工业化制备工程技术研究中心资助项目(2006-19-10)

作者简介: 时圣明 (1984—), 男, 硕士, 研究方向为药材与资源, 天然药物化学。E-mail: ssmmy205@163.com

*通信作者 赵余庆, 教授, 博士生导师。Tel: (024)23986521 E-mail: zyzq4885@126.com

1 材料

1.1 仪器

JHBE—50S 闪式提取器(河南金鼎科技发展有限公司); BS—124S 精密电子天平(德国赛多利斯公司); UV—2800AH 紫外可见分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司); RE—52A 旋转蒸发仪(上海亚荣盛华仪器厂); 恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 试药

人参皂苷 Rb₁ 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110704-200217); 乙腈为色谱纯, 其他试

剂为分析纯; 三七果采自云南文山, 经沈阳药科大学孙启时教授鉴定为三七 *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen 的果实。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷 Rb₁ 的 HPLC 测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱条件: Hypersil C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水梯度洗脱(0 min, 20:80→30 min, 45:55→48 min, 70:30→50 min, 80:20→60 min, 100:0); 检测波长 203 nm; 柱温为室温; 体积流量为 1.0 mL/min。色谱图见图 1。

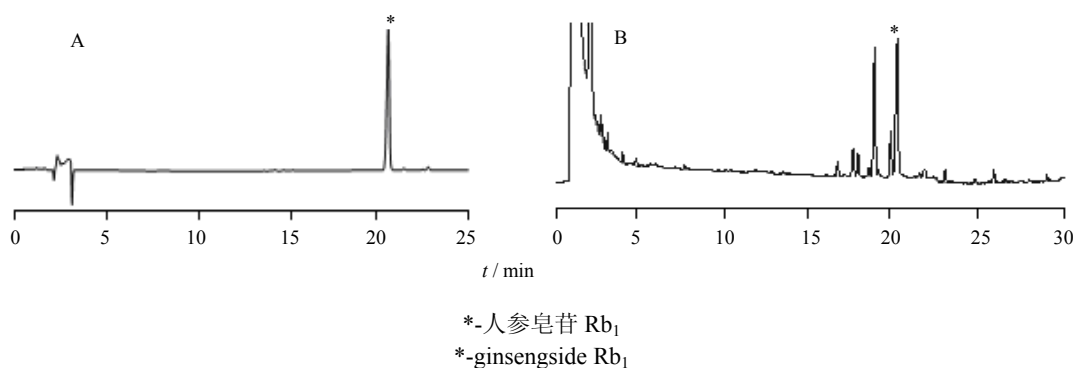


图 1 对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷 Rb₁ 对照品 15.0 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 即得质量浓度为 3 mg/mL 的对照品溶液, 备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取三七果 45.0 g, 按照表 1 方法制备提取物浸膏。分别精密称取各组浸膏 5.0 g, 甲醇溶于 5 mL 量瓶中, 定容, 离心, 取上清液, 过 0.45 μm 滤膜, 即得供试品溶液。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密量取对照品溶液 0.1、0.25、0.5、1.0、1.5 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 各取 20 μL 进样测定。以色谱图峰面积为纵坐标, 以人参皂苷 Rb₁ 质量浓度为横坐标进行线性回归, 人参皂苷 Rb₁ 回归方程: $Y = 148\,247X + 1\,000\,000$, $r = 0.9997$; 线性范围 2.424~20.67 μg/mL。

2.1.5 精密度试验 对同一对照品溶液, 在上述条件下, 连续进样 5 次, 测得人参皂苷 Rb₁ 峰面积的 RSD 为 0.99%。

2.1.6 重复性试验 取正交 5 号样品平行制备供试品溶液 5 份, 进样分析, 测得人参皂苷 Rb₁ 质量分

数的 RSD 为 2.1%, 重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取正交 5 号样品制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 测试分析, 人参皂苷 Rb₁ 峰面积的 RSD 为 1.09%, 说明仪器在 24 h 内稳定。

2.1.8 加样回收率试验 采用加样回收法, 精密吸取已测定的正交 5 号三七果提取液中加入人参皂苷 Rb₁ 对照品适量, 按上述色谱条件测定 ($n=6$), 计算, 人参皂苷 Rb₁ 的平均回收率分别为 99.8%, RSD 为 1.3%。

2.2 正交试验设计

2.2.1 因素水平表 经过预试验, 结合成分性质及生产实际选择料液比、提取时间、提取次数、乙醇体积分数为主要考察因素^[4], 选用 L₉(3⁴) 因素水平表安排正交试验。各因素水平见表 1。

2.2.2 样品制备 准确称取 9 份样品, 每份 45 g, 按表 1 中 9 种工艺条件组合进行提取, 提取液浓缩成稠浸膏备用。

2.2.3 出膏率的测定 取正交试验稠浸膏, 水浴蒸干, 105 °C 烘至质量恒定, 精密称定, 计算干浸膏

收率, 结果见表2。

2.2.4 人参皂苷 Rb₁ 的测定 取正交试验稠浸膏, 依法制备供试品溶液。按上述色谱条件, 进样20 μ L, 测定峰面积, 计算含量。以出膏率(Y_1)和人参皂苷 Rb₁ (Y_2) 及综合评分(综合评分= $Y_{1i}/Y_{1max} \times 0.4 + Y_{2i}/Y_{2max} \times 0.6$) 为考察指标^[11], 结果见表2。

表1 因素水平表
Table 1 Factors and levels

水平	A	B	C	D
	液料比	提取时间/min	提取次数	乙醇体积分数/%
1	10:1	1	1	60
2	20:1	2	2	70
3	30:1	3	3	80

表2 正交试验设计及结果
Table 2 Design and results of orthogonal test

组别	A	B	C	D	出膏率/ %	人参皂苷 Rb ₁ /%	综合评 分/%
1	1	1	1	1	28.8	0.291	85.08
2	1	2	2	2	28.4	0.289	84.26
3	1	3	3	3	30.2	0.328	93.24
4	2	1	2	3	27.1	0.239	73.84
5	2	2	3	1	29.6	0.298	87.25
6	2	3	1	2	26.7	0.341	91.41
7	3	1	3	2	34.0	0.219	78.65
8	3	2	1	3	33.2	0.340	98.88
9	3	3	2	1	28.1	0.256	79.86
K_I	29.13	29.97	29.57	28.83			
K_{II}	27.8	30.40	27.87	29.70			
K_{III}	31.77	28.33	31.27	30.17			
R	3.97	2.07	3.40	1.33			
K_a	0.303	0.250	0.324	0.282			
K_b	0.293	0.309	0.261	0.283			
K_c	0.272	0.308	0.282	0.302			
R	0.031	0.059	0.063	0.020			
K_1	87.53	79.19	91.79	84.06			
K_2	84.17	90.13	78.99	84.77			
K_3	85.80	88.17	86.38	88.65			
R	3.36	10.94	12.80	4.59			

由表2可知, 各因素对出膏率影响顺序是 A>C>B>D, 对人参皂苷 Rb₁ 质量分数的影响顺序是

C>B>A>D, 根据综合评分, 各因素的影响顺序是 C>B>D>A。考虑生产实际, 初步确定三七果闪式提取的最佳工艺为 C₁B₂D₃A₁。即液料比为 10:1, 80%乙醇提取次数 1 次, 提取时间为 2 min。

3 讨论

本研究选用闪式提取法对三七的果实进行了提取工艺考察, 以人参皂苷 Rb₁ 的量为指标, 通过正交试验, 优选出了最佳的闪式提取工艺。结果显示, 此方法节约高效, 方便快捷, 可以用来提取三七中的总皂苷。

根据实验数据分析, 闪式提取三七果的最佳工艺为液料比 10:1, 80%乙醇提取次数 1 次, 提取时间为 2 min。此方法真实可靠, 可推广到三七其他部位, 乃至其他种类植物的提取工艺研究中, 扩大了提取方法的选择范围。

参考文献

- [1] 徐冬英. 三七名称及其有文字记载时间的考证 [J]. 广西中医学院学报, 2000, 17(3): 91.
- [2] 时圣明, 袁永兵, 陈常青, 等. HPLC 法在三七及其制剂现代药学研究中的应用 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 472-475.
- [3] 郑光植, 杨崇仁. 三七生物学及其应用 [M]. 北京: 科学出版社, 1994: 9.
- [4] 甘烦远, 郑光植. 三七化学成分研究概况 [J]. 中国药理学杂志, 1992, 27(3): 138.
- [5] 郭肖红, 高文远, 贾伟, 等. 中药三七化学成分和药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 中华实用医药杂志, 2004, 4(15): 15-17.
- [6] 瞿林海, 郑明, 楼宜嘉. 三七总皂苷提取工艺研究 [J]. 中药材, 2006, 29(6): 539-541.
- [7] 闫光军, 陈建, 邵明杰. 渗漉法提取三七总皂苷的工艺研究 [J]. 山东医药工业, 2003, 22(5): 4-5.
- [8] 罗晓健, 周书余, 王丹蕾, 等. 均匀设计优化三七总皂苷提取工艺 [J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(2): 122-124.
- [9] 唐红芳, 毛丽珍, 徐世芳. 正交试验法研究三七提取工艺 [J]. 中草药, 2001, 32(1): 26-28.
- [10] 时圣明, 李巍, 曹家庆, 等. 三七果化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1249-1251.
- [11] Shi S M, Liu Y Z, Tai W, et al. Smashing tissue extraction and HPLC determination of active saponins from different parts of *Panax notoginseng* [J]. Chin Herb Med, 2012, 4(4): 341-345.