

三七止血活性与商品规格划分的相关分析

山丽梅¹, 赵艳玲¹, 洪 玮², 张 萍¹, 孔维军¹, 刘志国², 肖小河^{1*}

1. 解放军 302 医院中药研究所, 北京 100039

2. 解放军 302 医院 临床检验中心, 北京 100039

摘要: **目的** 探讨三七止血活性与商品规格划分的相关性。**方法** 小鼠 ig 给予不同商品规格三七后, 测定剪尾出血时间 (BT) 及凝血时间 (CT), 并采用全自动血液分析仪测定凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (FIB) 和计数血小板 (PLT), 同时采用 HPLC 法测定不同商品规格三七中三七素的量, 分析三七止血活性与商品规格划分的相关性及与三七素量的关系。**结果** 不同商品规格三七能明显缩短小鼠 BT 和 CT、增加 PLT 数量、缩短 PT 和 APTT, 止血活性与商品规格划分无相关性, 其中无数头三七粉剂止血效果最明显; 不同商品规格三七中三七素的量存在差异, 其中无数头三七中三七素质量分数最高达 0.98%, 80 头质量分数最低仅为 0.52%, 与止血活性和商品规格划分无相关性。**结论** 三七商品规格划分与止血活性及三七素的量无相关性, 但是不同商品规格三七中以价格低廉的无数头三七素的量最高, 也以无数头三七止血活性最佳, 价格昂贵的 13 头和 20 头三七止血活性并非最好。

关键词: 三七; 商品规格; 止血活性; 三七素; 凝血时间

中图分类号: R282.710.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)09-1779-04

Correlation analysis between hemostatic activity and commercial grades of *Panax notoginseng*

SHAN Li-mei¹, ZHAO Yan-ling¹, HONG Wei², ZHANG Ping¹, KONG Wei-jun¹, LIU Zhi-guo², XIAO Xiao-he¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, The 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China

2. Center for Clinical Laboratory, The 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China

Abstract: **Objective** To explore the correlation between the hemostatic activity and commercial grades of *Panax notoginseng*. **Methods** After treatment with different commercial grades of *P. notoginseng*, the mice bleeding time (BT) and clotting time (CT) were measured. At the same time the prothrombin time (PT), activation part thrombin time (APTT), fibrinogen (FIB), and platelet count (PLT) were also detected by fully automated blood cell analyzer. The contents of dencichine were determined by HPLC. **Results** Mice BT, CT, PT, and APTT were decreased and PLT was increased significantly in all the commercial grades of *P. notoginseng*. Among all the commercial grades, the countless Tou Sanqi Powder has the best hemostatic activity. There is no correlation between the commercial grades and hemostatic activity. Different contents of the extracted dencichine were observed among different commercial grades of *P. notoginseng*. The highest content of dencichine was 0.98% in countless Tou Sanqi and the lowest was 0.52% in 80 Tou Sanqi. There is no statistical correlation between the dencichine and hemostatic activity or dencichine and commercial grades of *P. notoginseng*. **Conclusion** There is no statistical correlation between the commercial grades of *P. notoginseng* and haemostatic activity or dencichine contents. The dencichine in countless Tou Sanqi which is the cheapest of all displays the better hemostatic activity than those in 13 or 20 Tou Sanqi whose cost is almost as ten times as countless Tou Sanqi's.

Key words: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; commercial grades; haemostatic activity; dencichine; clotting time (CT)

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为五加科人参属贵重中药材, 传统用于止血化瘀, 消肿定痛^[1]。在中药材商品流通市场上, 三七有明确的

商品规格划分, 不同商品规格的三七价格相差数倍, 其质量差别也很大。1981 年日本学者首次从三七中分离出三七素 (dencichine), 并证明了其具有止血

收稿日期: 2010-11-05

基金项目: 国家中医药管理局基金资助项目 (06-072P57); “重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2009ZX09502-022); 国家公益性行业科研专项基金资助项目 (200807020)

作者简介: 山丽梅 (1972—), 女, 山东龙口市人, 解放军 302 医院中西医结合中心中药研究所, 从事中药质控和药理学研究。

Tel: 13651281160 E-mail: slm0909@yahoo.com.cn

*通讯作者 肖小河 Tel: (010)66933320 E-mail: pharmy302@126.com

活性。不同商品规格三七中三七素的量没有明显规律性^[2],但三七素的量是否直接决定了三七的止血效果未见报道,本研究选用不同商品规格的云南省文山三七产业园三年生春三七进行研究,测定各商品规格三七中三七素的量及其止血活性,并与商品规格划分进行相关性分析,探讨不同商品规格三七中三七素的量与止血活性的关系,为指导三七的临床合理用药及质量评价提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

Waters HP1100 高效液相色谱仪,AL 204 型电子分析天平(梅特勒-托得多仪器上海有限公司),Laborota 4000 型旋转蒸发仪(北京金欧亚科技有限公司),美国 Backman-Coulter GEN1S2 全自动血细胞分析仪。三七素(质量分数 99%)购自云南白药集团药物所;乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司);水为重蒸水;其他试剂均为分析纯;三七药材购自云南省文山三七产业园,为三年生春三七,均经本所肖小河教授鉴定,按商品规格分类,价格由高到底依次为 13 头、20 头、30 头、40 头、60 头、80 头、120 头、无数头。

1.2 动物

昆明种小鼠,SPF 级,体质量 18~22 g,雄性,由军事医学科学院实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK-(军)2007-004。

1.3 样品的制备

各样品于 45 °C 干燥,测定干质量,粉碎,过 120 目筛,备用。

1.4 HPLC 法测定三七素

样品 45 °C 减压干燥至质量恒定,精密称取 1 g,70% 甲醇 150 mL 超声提取 5 次(每次 30 min),合并提取液,减压干燥,称质量,重复 3 次,计算平均质量。

1.4.1 色谱条件 参照文献方法^[2],色谱柱为 Waters Symmetry C₁₈ 柱(150 mm×3.9 mm, 5 μm);流动相为水-甲醇(95:5);体积流量 0.5 mL/min;检测波长 213 nm;柱温 25 °C;理论塔板数按三七素计算≥2 600。

1.4.2 对照品溶液的制备 精密称取 10 mg 三七素,甲醇定容至 10 mL,配制 1 g/L 对照品溶液。

1.4.3 供试品溶液的制备 精密称取各商品规格三七粉 1 g,70% 甲醇 10 mL,超声处理 2 h,3 500 r/min 离心 15 min,连续 3 次提取,合并滤液,挥干,70%

甲醇定容,过 0.2 μm 微孔滤膜备用。

1.4.4 线性关系考察 三七素对照品溶液以 10、30、50、70、90 μL 间隔进样,测定。以峰面积(Y)对质量(X)进行线性回归,回归方程为 $Y=295\,625X+20\,815$, $R^2=0.999\,4$,在 10~90 μg 三七素线性关系良好。

1.4.5 精密度试验 以同一样品溶液 20 μL 重复进样 6 次,峰面积和保留时间的 RSD 分别为 2.4%、1.5%,表明精密度良好。

1.4.6 重现性试验 取同一样品溶液 6 份,测定色谱峰面积和保留时间的 RSD 分别为 1.2%和 0.2%,表明方法重现性好。

1.4.7 稳定性试验 取同一份样品溶液,分别在 0、1、2、4、8、12、24、36、48 h 进行测定,色谱峰面积和保留时间的 RSD 分别为 2.5%和 0.6%,表明供试样品在 48 h 内稳定。

1.5 小鼠剪尾出血时间(BT)测定

昆明种小鼠 90 只,体质量 18~22 g,随机分为对照组(生理盐水,ig)及 8 个商品规格三七给药组,每组 10 只,各给药组 ig 给予 1.5 g/kg(相当于人用临床剂量的 10 倍),每天 1 次,给药 3 d,第 3 天给药后 2 h,小鼠剪尾,距尾尖 0.5 cm 处剪断,待血液自行溢出开始计时,每隔 15 s 以滤纸吸去血滴 1 次,直至血液自然停止为止,测定 BT。

1.6 小鼠凝血时间(CT)测定

昆明种小鼠 90 只,分组和给药方法同“1.5”项,于末次给药 1 h 后,用内径 1 mm、长 15 cm 的玻璃毛细管插入小鼠左眼内眦后静脉丛取血,血液注满后取出,平放于桌面,每隔 30 s 折断毛细管两端约 0.3 cm,并缓慢左右拉开,观察折断处是否有凝血丝,自血液流入毛细管内开始计时,至血液凝丝出现为止,所历时间为毛细管该端凝血时间,取毛细管两端的平均值为 CT。

1.7 凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶时间(APTT)、纤维蛋白原量(FIB)测定和 PLT 计数

测定小鼠 BT 后,小鼠眼球取血,采用美国 Backman-Coulter GEN1S2 全自动血细胞分析仪测定 PT、APTT、FIB 和 PLT。

2 结果

2.1 不同商品规格三七中三七素差异

不同商品规格三七中的三七素以无数头最高,接近 1%,其他规格相差不多,均为 0.5%~0.6%,其质量分数与商品规格划分无明显规律性。见表 1。

表 1 不同商品规格三七中三七素的测定

Table 1 Determination of dencichine from different commercial grades of *P. notoginseng*

批 次	三七素/%							
	13 头	20 头	30 头	40 头	60 头	80 头	120 头	无数头
1	0.57	0.65	0.57	0.64	0.58	0.52	0.69	0.98
2	0.62	0.55	0.54	0.63	0.54	0.62	0.66	1.02
3	0.61	0.58	0.57	0.63	0.61	0.54	0.65	0.96

2.2 对小鼠 BT 和 CT 的影响

如表 2 所示,不同商品规格的三七均能明显缩短小鼠 BT 和 CT,无数头三七粉剂效果最明显,而三七素作为重要的止血活性物质在不同商品规格三七中以无数头的量最高。为了明确是否不同商品规格三七中三七素的量直接反映三七的止血功效,对三七素的量与小鼠 BT 和 CT 进行相关性分析,得到回归方程分别为 $Y = -0.0017X + 0.8999$, $r = 0.45$, $P > 0.05$ 及 $Y = 0.0013X + 0.3604$, $r = 0.59$, $P > 0.05$, 均无明显的相关性,这可能与三七止血活性主要的有效成分除三七素外还包括钙离子和槲皮

苷有关。但本实验结果表明,仅从三七的止血活性角度而言,无数头三七止血活性最佳,昂贵的 13 头和 20 头三七止血活性并非最好。

2.3 对小鼠 PT、APTT、FIB 和 PLT 的影响

如表 2 所示,不同商品规格的三七均能明显增加 PLT 计数,不同程度地缩短 PT 和 APTT,其中无数头三七效果最明显,对 FIB 的量无明显影响。分别对 PLT、PT 和 APTT 与三七素的量进行相关性分析,结果无明显的相关性,但该研究提示,无数头三七最佳的止血活性与其增加 PLT 计数,缩短 PT 和 APTT 密切相关,对纤溶系统无明显影响。

表 2 不同商品规格三七对小鼠 BT、CT、PT、APTT、PLT 和 FIB 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effect of different commercial grades of *P. notoginseng* on BT, CT, PT, APTT, PLT, and FIB of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组 别	BT/s	CT/s	PT/s	APTT/s	PLT/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	FIB/($g \cdot L^{-1}$)
对照	233.20 $\pm$ 54.67	95.40 $\pm$ 11.44	9.13 $\pm$ 1.40	22.69 $\pm$ 4.17	131.20 $\pm$ 48.32	0.87 $\pm$ 0.40
13 头	154.80 $\pm$ 19.57**	67.40 $\pm$ 8.8**	8.45 $\pm$ 1.22	22.94 $\pm$ 4.03	194.89 $\pm$ 36.21**	0.98 $\pm$ 0.44
20 头	158.40 $\pm$ 29.20**	70.90 $\pm$ 11.25**	8.74 $\pm$ 1.03	21.81 $\pm$ 4.20	203.90 $\pm$ 46.12**	1.03 $\pm$ 0.28
30 头	184.00 $\pm$ 36.42*	66.90 $\pm$ 14.41**	9.01 $\pm$ 1.23	26.23 $\pm$ 4.87	190.50 $\pm$ 33.92**	0.95 $\pm$ 0.35
40 头	151.60 $\pm$ 24.85**	68.90 $\pm$ 15.65**	7.35 $\pm$ 1.32**	25.34 $\pm$ 4.28	209.20 $\pm$ 47.81**	0.85 $\pm$ 0.24
60 头	149.00 $\pm$ 46.03**	67.60 $\pm$ 15.70**	8.44 $\pm$ 1.90	17.84 $\pm$ 5.12*	208.70 $\pm$ 43.54**	0.94 $\pm$ 0.27
80 头	154.00 $\pm$ 27.57**	64.70 $\pm$ 12.60**	8.79 $\pm$ 1.30	22.92 $\pm$ 5.05	194.30 $\pm$ 34.46**	1.05 $\pm$ 0.22
120 头	130.60 $\pm$ 30.12**	62.00 $\pm$ 14.61**	7.32 $\pm$ 2.00*	18.38 $\pm$ 2.87*	226.33 $\pm$ 65.71**	1.08 $\pm$ 0.37
无数头	109.90 $\pm$ 32.77**	54.20 $\pm$ 15.90**	6.66 $\pm$ 2.07**	16.02 $\pm$ 4.01**	309.80 $\pm$ 79.95**	0.94 $\pm$ 0.42

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

三七素是三七中重要的止血活性物质,是云南白药的主要药效成分之一。本研究结果提示,价格低廉的无数头三七中三七素量最高,而且无数头三七缩短小鼠 BT 和 CT、增加 PLT 数量、缩短 PT 和 APTT 效果最佳。进一步对不同商品规格三七中三七素的量与止血活性相关指标进行相关性分析,结果表明三七素的量与止血活性相关指标没有明显的相关性。这可能与三七止血活性主要的有效成分除三七素外还包括钙离子和槲皮苷有关。但从三七素

量最高的无数头三七止血活性表现最好可以看出,三七素还是三七中起决定性作用的重要止血活性物质。以上结果说明,无数头三七止血效果最好,而价格昂贵的 13 头及 20 头三七止血活性并非最佳。有研究表明,三七素加热处理后易被破坏^[3],如需三七止血功效应用。建议临床如主要需求三七的止血功能,可采用价格低廉的无数头三七干粉入药,物美价廉。

三七的商品规格划分以 20 头价格最高,无数头最低,两者相差十几倍。但从止血功效来看,高价格

三七药效并非最好。三七功效众多,止血仅为其一种功效,据报道,三七除具有抗心律失常、改善心肌耗氧、降血压、抗休克,保护脑缺血等心脑血管功效外,还具有抗衰老、抗氧化、抗肿瘤、抗炎、调节免疫功能、镇静、镇痛、益智等多方面功效^[4-7]。三七的商品规格划分是以经验感知为依据,其合理性与否目前尚没有科学的评判。本研究仅就止血一方面对其功效进行拆分研究,继续进行其他功效及物质基础的研究将有助于全面阐述三七商品规格,有利于拆分或组合起来指导临床合理用药的同时,降低成本,做到物尽其用,合理开发利用三七药用资源。

参考文献

- [1] 魏均娴,杜元冲.三七—现代科学研究及应用[M].昆明:云南科技出版社,1996.
- [2] 崔秀明,徐珞珊,王强,等.三七中三七素的含量测定[J].中国药学杂志,2005,40(13):1017-1019.
- [3] 刘环香,张洪,蔡鸿生,等.温度对三七有效成分的影响[J].中国医院药学杂志,1995,15(11):513-514.
- [4] 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):59-61.
- [5] 陈云红,施鹤高,王玉梅.近年来三七的药理研究进展[J].中草药,1995,26(3):160-162.
- [6] 甘雨,徐惠波,孙晓波.三七总皂苷的药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2007,189(5):1251-1252.
- [7] 时圣明,袁永兵,陈常青.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.
- [8] 王薇.三七总皂苷对脑出血患者血肿吸收及血浆基质金属蛋白酶-9的影响[J].中草药,2011,42(5):963-965.

中草药杂志社 售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于2009年8月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines*、《现代药物与临床》(2009年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿,欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本:1974—1975年、1976年、1979年、1988—1993年(80元/年),1996、1997年(110元/年),1998年(120元/年),1999年(135元/年),2000年(180元/年),2001—2003年(200元/年),2004年(220元/年),2005年(260元/年),2006—2008年(280元/年),2009年(400元/年)。

《中草药》增刊:1996年(50元),1997年(45元),1998年(55元),1999年(70元),2000、2001年(70元),2002—2007年(65元/年),2008、2009年(55元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者,购买增刊7折优惠,款到寄刊。

Chinese Herbal Medicines 合订本:2010年(120元/年)

《现代药物与临床》合订本:2009年(100元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本:1996—2008年(80元/年),2006—2008年(90元/年)。

《药物评价研究》2009年单行本,每册15元。

《中文科技资料目录·中草药》:1993—2006年合订本(全套2040元),2007—2008年单行本,每册定价30元,全年订价210元(6期+十年索引)。

天津中草药杂志社

地址:天津市南开区鞍山西道308号

邮编:300193

电话:(022)27474913 23006821

传真:(022)23006821

电子信箱:zcy@tiprpress.com

网址:www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com

开户银行:兴业银行天津南开支行

账号:44114010010081504

户名:天津中草药杂志社