

表 3 可见, 经 5 mg/L 青霉素溶液和 25 mg/L 6-BA 溶液处理后, 椭圆叶花锚种子平均发芽率有所提高, 但与对照无显著差异 ($F = 1.63 < F_{0.05} = 5.14$)。由此可见, 这两种处理浓度虽可显著提高椭圆叶花锚种子发芽率, 但对椭圆叶花锚种子在土壤中萌发影响不大(由于条件所限, 对其他处理未作详尽的室内土壤播种研究), 其原因有待进一步研究。

表 3 室温土壤播种椭圆叶花锚种子的发芽情况

Table 3 Germination of seeds sown in soil at room temperature

处理/ (mg · L ⁻¹)	平均发芽率/%			平均发芽率/%
	重复	重复	重复	
对照	4	8	6	6
青霉素 5	12	14	8	11.3
6-BA 25	14	4	14	10.7

3 小结

青霉素 (5~ 40 mg/L)、KCN (5~ 60 mg/L)、PEG-6000 (5%)、GA₃ (20 mg/L) 溶液和 6-BA (25、75 mg/L) 的溶液可提高椭圆叶花锚种子发芽率, 发芽势; 而 15% 和 25% 的 PEG-6000、80 mg/L IAA、160 mg/L GA₃、100 mg/L 6-BA 溶液对椭圆叶花锚种子萌发有抑制作用。综合效果来看, 25 mg/L 6-BA 和 5 mg/L 青霉素溶液处理种子效果较佳。室温土壤播种试验中经药剂处理后的种子平均发芽率与对照无显著差异。

致谢: 青海大学农牧学院的孙海群、杨国柱、李希来、康守鑫、裴海[※]等老师参加了种子的采集工作。

References

- [1] Plant Laboratory of Qinghai Institute of Plateau Biology. *Qinghai-Xizang Plateau Pictorial Handbook of Medicinal Herb* (青藏高原药物图鉴) [M]. Vol 2 Xining: Qinghai People's Publishing House, 1978.
- [2] Editorial Board of China National Medicinal Annals. *Chinese National Medicinal Annals* (中国民族药志) [M]. Vol 1. Beijing: People's Medical Publishing House, 1984.
- [3] Kkan A A. Cytokinins: permissive role in seed germination [J]. *Science*, 1971, 171 (3974): 853-859.
- [4] Susko D J, Mueller J P, Spears J F. An evaluation of methods for breaking seed dormancy in kudzu (*Pueraria lobata*) [J]. *Can J Bot*, 2001, 79: 197-203.
- [5] Qin U Y, Tang X G, Wang W Q, et al. Study general situation of medicinal plants seed treatment [J]. *Seed* (种子), 2001 (2): 37-39.
- [6] Zhi H, Chen H B, Ling L. A study on method of increasing seed vigor by PEG treatment in foxtail millet [J]. *Seed* (种子), 1998(3): 11-14.
- [7] Yang Y G, Guo Y M, Guo Y, et al. Advances in study on *Leymus chinensis* seed production and promoting seed germination rate [J]. *Seed* (种子), 2001(5): 40-42.
- [8] Li H H, Pan R C. Role of Penicillin in higher plant [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1987(5): 1-6.
- [9] Zhu J H, Fu X H. Effect of Penicillin on seed germination and seedling growth of several crops [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1995, 31(5): 344-346.
- [10] Yan Q C. *Seed Science* (种子学) [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2001.

三七药材中几种单体皂苷的含量测定

崔秀明^{1,2}, 徐珞珊¹, 王 强^{1*}, 陈中坚^{2*}

(1. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210009; 2. 云南省文山州三七研究所, 云南 文山 663000)

三七药材为植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的块根, 是五加科人参属名贵中药材, 主要用于治疗冠心病、心绞痛等心脑血管系统疾病^[1-3]。三七的主要有效成分之一是三七皂苷类成分, 其在三七中的含量最高, 有关药理活性研究也较为系统和全面^[1]。迄今为止, 从三七的不同部位已经分离到了 30 余种单体皂苷成分^[3-5]。三七皂苷含量成为三七质量控制的主要依据。《中华人民共和

国药典》2000 年版规定了采用双波长扫描方法测定三七中人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 的含量作为三七质量控制指标^[2]。近几年来, 采用 HPLC 分析三七药材及其制剂的皂苷含量的研究时有报道^[6,7]。但限于样品来源的局限, 目前的报道仍缺乏全面系统的研究。笔者采用 HPLC 方法, 系统分析了三七不同产地、不同采收期、不同规格三七中单体皂苷 R₁、Rg₁、Rb₁、Rd 的含量, 旨在为制定三七药材质量标准提供可靠

* 收稿日期: 2004-03-19

基金项目: 云南省自然科学基金重点项目 (1999C0009Z)

作者简介: 崔秀明 (1963-), 男, 云南文山人, 云南省文山州三七研究所所长, 研究员, 中国药科大学在读博士研究生, 主要从事中药材 GAP 研究, 承担国家科技攻关项目、成果转化项目及省级重大科技项目多项, 在国内外发表论文 40 余篇。

Tel: (0876) 2141062 E-mail: sanqi37@vip.sina.com

* 通讯作者 Tel: (025) 83316659 13851412275

的科学依据

1 仪器、试剂与试药

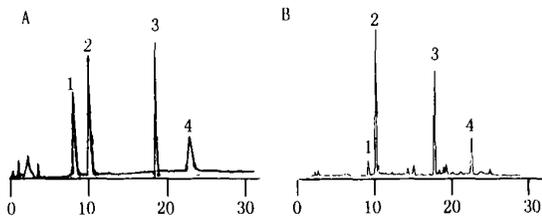
1.1 仪器: Waters 600E 高效液相色谱仪, Waters 2487 UV 检测器, Waters Millennium 色谱工作站, Brnason 5200 超声仪器。

1.2 试剂与试药: 乙腈 HPLC 级, 甲醇分析级, 均从 Sigma 公司购买, 对照品人参皂苷 R_{g₁}、R_{b₁}、R_d 和三七皂苷 R₁ (均购自中国药品生物制品检定所)。

三七药材不同采收期: 于文山州三七研究所试验场定点定时采收三年生三七样品, 采收时期为 3 月至 11 月 (包含出苗期、展叶期、现蕾期、开花期、收获期), 每月采收 1 次, 每次采收 10~30 株。不同产地: 于三七采收期 (10 月) 分别于云南文山、砚山、马关、广西靖西、广东南雄采收; 所有样品均采收 30 株, 清洗干燥后取块根混合备用。不同规格: 于云南文山同一块地采收, 每种规格 500 g。所有样品均经云南省文山州三七研究所陈昱君研究员鉴定。

2 方法

2.1 色谱条件: 分析柱 Nova-Pak C₁₈ (300 mm × 3.9 mm), 流动相: CH₃CN-50 mmol/L KH₂PO₄ · H₂O (20:80)。二元梯度洗脱; 体积流量: 1.0 mL/min, UV 检测器, 检测波长 203 nm, 进样量 10 μL。色谱图见图 1。



1-三七皂苷 R₁ 2-人参皂苷 R_{g₁} 3-人参皂苷 R_{b₁} 4-人参皂苷 R_d
 1-notoginsenoside R₁ 2-ginsenoside R_{g₁}
 3-ginsenoside R_{b₁} 4-ginsenoside R_d

图 1 三七主要皂苷对照品(A)及药材样品(B) HPLC 图谱
 Fig. 1 HPLC chromatogram of saponin reference substance (A) and *P. notoginseng* (B)

2.2 对照品溶液的制备: 分别取人参皂苷 R_{g₁}、R_{b₁}、R_d 及三七皂苷 R₁ 对照品 1 mg, 用甲醇配成 1 mg/mL 对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取待测样品 5 g, 加 70% 甲醇溶液 50 mL, 超声提取 2 h, 4 000 r/min 离心, 重复提取 3 次, 取上清液合并, 过 0.2 μm 滤膜, 续滤液作为供试品溶液。

2.4 标准曲线的制备: 分别取三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{b₁}、R_{g₁} 和 R_d 1 mg, 加 70% 甲醇制成 1 mg/mL

对照品溶液, 分别吸取对照品溶液 5、10、15、20 和 25 μL 作 HPLC 分析, 以峰面积对进样量进行回归处理, 得回归方程 (表 1)。表明三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{b₁}、R_{g₁} 和 R_d 在 5~25 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.5 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 1.3% 和 0.2%, 表明试验方法稳定。

2.6 精密度试验: 取同一份供试品溶液, 连续进样 5 次, 色谱峰面积和保留时间的 RSD 分别为 1.5% 和 0.3%, 仪器的精密度良好。

2.7 重现性试验: 取 5 份样品, 按测定方法测定, 色谱峰面积和保留时间的 RSD 分别为 1.4% 和 0.2%, 重现性好。

2.8 加样回收率试验: 取已知含量三七样品 1 g, 精密加入三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{b₁}、R_{g₁} 和 R_d 1 mg, 提取并测定各皂苷含量, 计算加样回收率 (表 1)。

表 1 三七皂苷及人参皂苷测定的标准曲线和加样回收率 (n=5)

Table 1 Calibration of notoginsenoside and ginsenosides and their recovery (n=5)

标准品	标准曲线	r	回收率/%	线性范围
三七皂苷 R ₁	Y = 547 904 X + 240 765	0.998 8	96	5~25 μg
人参皂苷 R _{g₁}	Y = 388 057 X + 678 882	0.999 1	93	5~25 μg
人参皂苷 R _{b₁}	Y = 240 491 X + 175 137	0.999 8	97	5~25 μg
人参皂苷 R _d	Y = 127 725 X + 65 269	0.999 3	103	5~25 μg

3 结果

3.1 三七不同规格的单体皂苷含量: 三七主根按传统分为 20、30、40、60、80、120、160、200 头等规格 (“头”系指质量为 500 g 的干燥三七主块根个数)。笔者分析了三七不同规格的三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g₁}、R_{b₁} 和 R_d 含量, 20~60 头的 4 种单体皂苷有逐步递减的趋势, 80 和 160 头的含量较高, 60 和 120 头含量相当 (表 2)。

表 2 不同规格三七的皂苷及人参皂苷含量分析

Table 2 Contents of notoginsenoside and ginsenosides from different grades of *P. notoginseng*

规格/头	R ₁ /%	R _{g₁} /%	R _{b₁} /%	R _d /%	合计/%
20	0.54	4.30	2.56	0.84	8.25
30	0.82	3.61	1.72	0.86	7.03
40	0.64	3.16	1.76	0.71	6.26
60	0.37	2.34	1.50	0.77	4.97
80	0.56	3.87	1.80	0.64	6.88
120	0.45	2.99	1.17	0.36	4.97
160	0.62	4.00	1.72	0.73	7.05
200	0.43	3.2	1.51	0.64	5.78

3.2 三七不同采收期的单体皂苷含量: 采收期对药材的质量有重要影响, 是研究药材质量控制必须重点考察的因素之一。根据三七的生长规律, 于三七生长的第 3 年, 分不同时期采集样品, 并进行了单体皂苷的含量分析。结果在三七不同的采收时期, 其皂苷含量却有明显的变化。在三七生长的前期(出苗期)皂苷含量最高, 中期(开花期)减少, 后期(收获期)增加, 与曾报道^[8]过的研究结果一致(表 3)。

表 3 不同采收期三七皂苷及人参皂苷含量分析(n=3)

Table 3 Contents of notoginsenoside and ginsenosides from different harvest times of *P. notoginseng* (n=3)

采收时间/月	R ₁ /%	R _{g1} /%	R _{b1} /%	R _d /%	合计/%
3	0.62	4.59	2.65	0.96	8.82
4	0.70	4.86	3.47	0.93	9.98
5	0.73	5.04	2.77	0.92	9.45
6	0.63	3.92	1.90	0.61	7.06
7	0.35	3.44	1.76	0.73	6.28
8	0.72	3.40	1.62	0.66	6.41
9	0.50	3.83	2.21	1.09	7.65
10	0.55	4.39	2.16	1.00	8.09
11	0.72	4.01	1.70	0.81	7.24

3.3 三七不同产地的单体皂苷含量: 三七的产地范围分布较小, 目前仅有云南、广西和广东种植, 其中云南文山三七种植占全国总面积的 90% 以上, 是公认的地道三七产地。结果表明, 产地不同, 4 种单体皂苷含量有一定差异, 同一产地的不同地区单体皂苷含量也有不同(表 4)。

4 讨论

4.1 《中华人民共和国药典》2000 年版中规定了三七主根中 R_{b1}、R_{g1} 的总量不低于 3.8%^[2]。笔者认为, 三七皂苷 R₁ 为三七特有的皂苷成分, R_d 在三七中的含量也较高, 应在评价指标中体现。通过对不同产区三七根茎皂苷含量的测定, 三七根茎中 R_{b1}、R_{g1}、R₁、R_d 的总量应不低于 5% 为宜。

4.2 HPLC 方法分析三七单体皂苷含量具有快速、稳定、重现性好的特点, 可作为三七的质量控制方法。

4.3 云南是三七的道地产区, 分析结构表明, 总体上云南三七单体皂苷含量比非道地产区的广西和广东要高, 但云南产区之间也有差异; 不同采收期三七单体皂苷的变化也是明显的, 提示固定产地和采收期确实是保证三七药材质量的有效途径。至于不同规格三七单体皂苷的含量, 其差异是明显的, 总体上大规格三七含量较高, 小规格的较低, 但没有明显的

表 4 不同产地三七皂苷及人参皂苷含量分析(n=3)

Table 4 Contents of notoginsenoside and ginsenosides from different habitats of *P. notoginseng* (n=3)

产地	R ₁ /%	R _{g1} /%	R _{b1} /%	R _d /%	合计/%
WS*-19**	0.22	4.31	2.16	1.03	7.71
WS-22	0.49	4.04	2.20	1.03	7.76
WS-24	0.80	4.29	2.93	1.24	9.26
WS-25	0.73	3.65	2.32	1.09	7.79
WS-29	0.72	4.28	3.09	1.63	9.72
WS-31	0.62	4.46	2.66	1.46	9.19
WS-36	0.69	4.33	2.78	1.12	8.92
WS-39	0.68	4.21	2.44	1.57	8.90
WS-46	0.65	4.23	2.63	1.30	8.80
WS-57	0.68	4.39	2.67	1.07	8.79
WS-58	0.43	4.02	2.50	1.07	8.03
GX-01	0.62	3.81	2.39	0.76	7.07
GX-03	0.61	3.60	2.54	1.03	7.18
GD-80	0.46	3.42	3.00	0.80	7.68

*WS 指文山; GX 指广西; GD 指广东。** 为样品编号

*WS means this specimen collected from Wenshan, GX collected from Guangxi, GD collected from Guangdong; ** means series number of specimen

规律性, 有待进一步研究。

References

- [1] Wei J X, Du Y C. *Modern Science Research and Application of Panax notoginseng* (三七—现代科学研究及应用) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 1996.
- [2] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol I. 2000.
- [3] Zheng G Z, Yang C R. *Biology of Panax notoginseng and Its Application* (三七生物及其应用) [M]. Beijing: Science Press, 1994.
- [4] Ping Z, Yu Q L, Chong R Y. Minor dammarrane saponins from *Panax notoginseng* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(5): 1419-1422.
- [5] Wei G M, Massanori M, Karl E M, et al. Saponins from the roots of *Panax notoginseng* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 1133-1139.
- [6] Mao C Q, Lu T L, Ye D J. Determination of ginsenoside R_{g1} of different processed products of *Radix Notoginseng* by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(12): 942-943.
- [7] Wang M, Fan Y G, Gao W F. Quantitative determination of notoginsenoside R₁, and ginsenosides R_{g1}, R_{b1} content in total notoginsenoside of *Panax notoginseng* and Xuesaitong Injection by HPLC gradient elution method [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20(6): 410-413.
- [8] Cui X M, Chen Z J, Zeng J. Studies on saponin accumulative in regularities *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(1): 27-28.