

《中国药典》三七项下供试品溶液制备方法的改进

梁笑¹, 钱珊珊², 孙寒², 王雨宵¹, 舒子璇¹, 张晓倩¹, 周卓¹, 何需棠¹, 徐国兵³, 桂双英^{1,4,5*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012
2. 安徽中医药大学第二附属医院 药学部, 安徽 合肥 230061
3. 安徽省食品药品检验研究院, 安徽 合肥 230051
4. 安徽省教育厅现代药物制剂工程技术研究中心, 安徽 合肥 230012
5. 中药复方安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012

摘要: 目的 优选三七含量测定时供试品溶液的制备方法。方法 采用 HPLC 法同时测定三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁, 结合 Box-Behnken 设计-响应面法考察提取溶剂、料液比、提取温度对皂苷类成分提取工艺的影响, 优选供试品溶液的制备方法。结果 最佳制备方法为采用 75% 甲醇, 回流提取 1 次, 料液比为 1:40, 提取温度为 100 °C。结论 优选出的供试品溶液制备方法简单可行, 成分提取率较高, 为三七含量测定时供试品溶液制备提供参考。

关键词: 三七; Box-Behnken 设计-响应面法; 三七皂苷 R₁; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Rb₁

中图分类号: R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)17-4145-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.17.020

Optimization of test solutions preparation of *Panax notoginseng* in Chinese Pharmacopoeia by Box-Behnken response surface methodology

LIANG Xiao¹, QIAN Shan-shan², SUN Han², WANG Yu-xiao¹, SHU Zi-xuan¹, ZHANG Xiao-qian¹, ZHOU Zhuo¹, HE Pei-tang¹, XU Guo-bing³, GUI Shuang-ying^{1,4,5}

1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China
2. The Second Hospital Affiliated to Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, China
3. Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China
4. Engineering Technology Research Center of Modernized Pharmaceutics, Education Office of Anhui Province, Hefei 230012, China
5. Anhui Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Compound, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To study and optimize the preparation method of test solution from *Panax notoginseng*. **Methods** The effects of extraction solvent, liquid-material ratio and extraction temperature on the optimization of the preparation method of test solution of notoginsenoside and ginsenosides in *P. notoginseng* were investigated by Box-Behnken response surface methodology. The content of notoginsenoside R₁, ginsenoside Rg₁, and ginsenoside Rb₁ was simultaneously determined by HPLC. **Results** The optimum method was as follow: 75% methanol was used for once reflux extraction, the ratio of liquid-material ratio was 1:40, the extraction temperature was 100 °C. **Conclusion** The optimum preparation of test solution is simple and feasible, and the extraction rate of components is high, which provides a reference for the preparation of test solution from *P. notoginseng*.

Key words: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; Box-Behnken response surface methodology; notoginsenoside R₁; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Rb₁

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎, 具有散瘀止血、消肿定痛等功效^[1], 临床给药多以粉末入药。其主

要活性成分为三七总皂苷, 现代研究表明, 三七总皂苷具有调血脂^[2]、保护脑神经细胞^[3-4]、抗动脉粥样硬化^[5]、防治心肌损伤^[6-8]和脂肪肝^[9-10]等作用。

收稿日期: 2019-08-01

作者简介: 梁笑 (1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药学。Tel: 13695657298 E-mail: 13695657298@163.com

*通信作者 桂双英, 女, 教授, 主要从事制剂新技术与新制剂研究。E-mail: guishy0520@126.com

课题组前期研究发现,《中国药典》2015 年版三七项下供试品溶液制备方法,三七指标成分三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 R_{b_1} 提取效率偏低,这对三七药材、三七粉及含三七产品质量分析和质量标准制订有不利影响。故本研究在单因素实验基础上,采用 Box-Behnken 设计-响应面法优化三七粉中皂苷类成分的提取工艺^[11-16],为三七质量控制提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Ultimate 3000 高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技公司,包括四元低压梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、DAD 检测器、Chromleon 7 色谱工作站;SHJ-4 恒温搅拌水浴锅,江苏金坛市宏华仪器厂;PA1005D 电子分析天平,上海中佳科学仪器有限公司;BT-9300HT 激光粒度分布仪,丹东百特仪器有限公司。

1.2 试剂

三七购自安徽亳药千草国药股份有限公司,经安徽中医药大学彭华胜教授鉴定为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根,批号 1701166;对照品三七皂苷 R_1 (批号 DST171109050)、人参皂苷 R_{g_1} (批号 DST180323009)、人参皂苷 R_{b_1} (批号 DST180131006),质量分数均 $\geq 98\%$,均购自成都德思特生物科技有限公司;不同粒径三七粉,自制,粒径由激光粒度分布仪测得;三七粉市售产品(A 厂家,批号 180901;B 厂家,批号 160108);色谱级甲醇;色谱级乙腈;超纯水。

2 方法与结果

2.1 三七中皂苷类成分的定量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo Synchronis C₁₈ 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5.0 μ m);流动相为乙腈-水,梯度洗脱:0~25 min, 24%~40%乙腈;25~30 min, 40%~24%乙腈;检测波长 203 nm;进样 20 μ L;体积流量 1.0 mL/min;柱温 25 $^{\circ}$ C;理论塔板数以三七皂苷 R_1 峰计算应不低于 4 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 适量,加甲醇制得含三七皂苷 R_1 0.525 0 mg/mL、人参皂苷 R_{g_1} 1.580 mg/mL 和人参皂苷 R_{b_1} 0.992 5 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液制备 取本品粉末(过 4 号筛) 0.6 g,精密称定,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,

放置过夜,置 80 $^{\circ}$ C 水浴上保持微沸 2 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 专属性试验 分别精密吸取混合对照品溶液与供试品溶液各 20 μ L,按“2.1.1”项下色谱条件进样,测定。结果表明三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 和人参皂苷 R_{b_1} 的保留时间依次为 6.380、7.620、18.983 min,各对照品与供试品其他组分分离度良好 ($R > 1.5$)。色谱图见图 1。

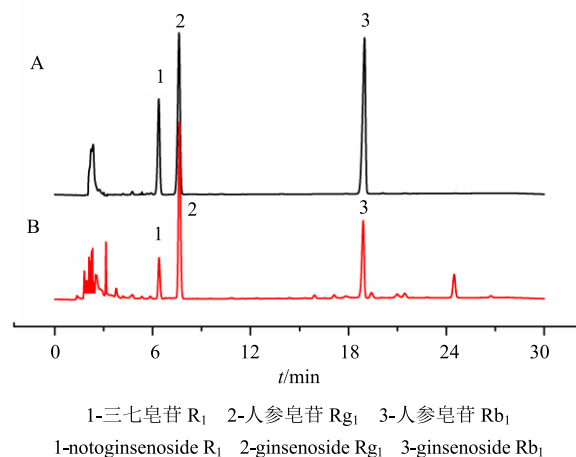


图 1 混合对照品 (A) 和三七供试品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and sample (B)

2.1.5 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下对照品溶液,加甲醇稀释。配制成三七皂苷 R_1 质量浓度分别为 525.00、262.50、131.30、65.63、32.81、16.41 μ g/mL,人参皂苷 R_{g_1} 质量浓度分别为 1 580.00、790.00、395.00、197.50、98.75、49.38 μ g/mL,人参皂苷 R_{b_1} 质量浓度分别为 992.50、496.30、248.10、124.10、62.03、31.02 μ g/mL 的溶液。按“2.1.1”项下色谱条件进样,所得线性方程为三七皂苷 R_1 : $A = 74.543 C + 1.680 9$, $r = 0.999 0$;人参皂苷 R_{g_1} : $A = 91.932 C + 1.844 7$, $r = 0.999 9$;人参皂苷 R_{b_1} : $A = 79.685 C + 0.188$, $r = 0.999 9$ 。结果表明三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 分别在 525.00~16.41、1 580.00~49.38、992.50~31.02 μ g/mL 线性关系良好。

2.1.6 精密度试验 精密吸取“2.1.2”项下制备的混合对照品溶液 20 μ L,按“2.1.1”项下色谱条件进样 6 次,连续 6 d 进样测定,记录峰面积,计算 3 种皂苷类成分日内和日间精密度结果 RSD 值,结果见表 1,3 种皂苷类成分峰面积日内和日间精密度 RSD $< 0.5\%$,表明仪器精密度良好。

表1 精密度、稳定性和重复性考察结果

Table 1 Results of accuracy, stability and repeatability

成分	精密度 RSD/%		稳定性 RSD/%	重复性 RSD/%
	日内	日间		
三七皂苷 R ₁	0.24	0.21	2.55	0.31
人参皂苷 R _{g1}	0.38	0.29	1.37	0.26
人参皂苷 R _{b1}	0.12	0.16	1.36	0.35

2.1.7 稳定性试验 取“2.1.3”项下方法制备的供试品溶液，分别于0、1、2、4、8、12、24 h 进样测定，记录指标成分峰面积，结果见表1，3种皂苷类成分峰面积 RSD<3%，表明供试品溶液在24 h 内稳定。

2.1.8 重复性试验 按“2.1.3”项下方法平行制备6份供试品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件进样，结果见表1，3种皂苷类成分峰面积 RSD<0.5%，表明方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取三七粉样品6份，每份0.6 g，精密称定，分别精密加入10 mL 三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 质量浓度分别为0.525 0、1.580、0.992 5 mg/mL 的对照品溶液。按“2.1.3”项下方法处理，按“2.1.1”项下色谱条件进样，计算三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 R_{b1} 3种成分的平均加样回收率分别为102.21%、95.35%、92.64%，RSD 分别为2.01%、1.68%、2.13%。

2.2 单因素实验

2.2.1 提取方式的考察 取粉末0.6 g，精密称定，加甲醇50 mL，分别以超声(40 kHz)提取2 h 和80 °C 回流提取2 h 2种提取方式进行提取^[15-16]，各平行3份，滤过，取续滤液，依法进样，结果如表

2所示，表明回流提取法对于三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 R_{b1} 的提取更有效，故后期研究采用回流提取。三七总皂苷质量分数为3种皂苷质量分数之和。

2.2.2 提取次数考察 取粉末0.6 g，精密称定，加入50 mL 甲醇，80 °C 水浴中回流提取2 h，滤过，滤液依法进样。取残渣，加50 mL 甲醇同上条件提取5次，并测定滤液中皂苷成分含量，结果三七粉在用甲醇提取1次后，三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 R_{b1} 均已基本溶出，故后续研究只提取1次。

2.2.3 提取溶剂考察 取粉末0.6 g，精密称定，分别加入50 mL 甲醇、80%甲醇、60%甲醇、40%甲醇、20%甲醇、纯水，每组平行3次，80 °C 水浴中回流提取2 h，滤过，滤液依法测定。结果见表3，后续研究甲醇体积分数为100%~60%。

2.2.4 料液比考察 取粉末0.6 g，精密称定，分别加入甲醇6、9、12、24、48、72、96、120、144、168、192 mL (1:10、1:15、1:20、1:40、1:80、1:120、1:160、1:200、1:240、1:280、1:320)，每组平行3次，80 °C 水浴中回流提取2 h，滤过，滤液依法进样测定。结果如表4所示，后续研究中料液比为1:10~1:40。

2.2.5 提取温度考察 取粉末0.6 g，精密称定，加入甲醇50 mL，分别于40、60、80、100 °C 水浴中提取2 h，滤过，滤液依法进样测定，每组平行3次。结果如表5所示，结果表明60~100 °C 间3种皂苷的提取量较高，故后续研究提取温度考察范围在60~100 °C。

表2 不同提取方式下指标成分的质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Content of indicator components by different extraction methods ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

提取方式	三七皂苷 R ₁ /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{g1} /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{b1} /(mg·g ⁻¹)	三七总皂苷/(mg·g ⁻¹)
超声提取	6.04±0.23	36.63±0.29	33.36±0.03	76.03±0.48
回流提取	7.20±0.44	42.23±0.31	37.28±0.06	86.71±0.20

表3 不同提取溶剂下指标成分的质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Content of indicator components by different extraction solvents ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

溶剂	三七皂苷 R ₁ /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{g1} /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{b1} /(mg·g ⁻¹)	三七总皂苷/(mg·g ⁻¹)
甲醇	6.71±0.32	36.02±0.85	28.15±0.81	70.88±1.98
80%甲醇	10.87±0.29	46.72±0.40	32.79±0.21	90.38±0.67
60%甲醇	9.94±0.91	43.26±4.30	30.10±3.73	83.30±8.84
40%甲醇	8.76±0.71	37.18±2.29	28.15±1.36	74.09±3.00
20%甲醇	10.17±0.20	43.96±0.05	26.62±1.73	80.74±1.59
纯水	9.30±0.14	39.10±0.86	20.21±1.12	68.62±0.66

表 4 不同料液比下指标成分的质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Content of indicator components at different liquid-material ratio ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

料液比	三七皂苷 R ₁ /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{g1} /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{b1} /(mg·g ⁻¹)	三七总皂苷/(mg·g ⁻¹)
1 : 10	11.42 ± 0.11	39.71 ± 1.98	29.88 ± 1.07	81.01 ± 3.16
1 : 15	11.02 ± 0.68	37.16 ± 0.71	27.81 ± 1.20	75.98 ± 1.81
1 : 20	10.87 ± 0.35	43.09 ± 0.62	32.33 ± 0.70	86.28 ± 1.43
1 : 40	9.63 ± 0.32	39.36 ± 3.21	27.45 ± 2.98	76.44 ± 2.55
1 : 80	8.28 ± 0.08	38.79 ± 0.92	27.17 ± 0.95	74.24 ± 1.80
1 : 120	8.31 ± 0.52	33.22 ± 1.51	37.10 ± 3.82	75.83 ± 3.96
1 : 160	7.25 ± 0.35	40.36 ± 2.29	29.41 ± 1.37	77.01 ± 4.01
1 : 200	6.36 ± 0.05	32.64 ± 0.11	34.17 ± 0.63	73.17 ± 0.58
1 : 240	6.06 ± 0.57	34.01 ± 2.05	33.70 ± 1.19	73.77 ± 1.43
1 : 280	5.03 ± 0.10	30.77 ± 0.61	29.26 ± 1.58	65.06 ± 0.87
1 : 320	2.69 ± 0.28	33.85 ± 0.71	28.59 ± 0.58	65.13 ± 1.20

表 5 不同提取温度下指标成分的质量分数 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Content of indicator components at different extraction temperatures ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

温度/°C	三七皂苷 R ₁ /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{g1} /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{b1} /(mg·g ⁻¹)	三七总皂苷/(mg·g ⁻¹)
40	5.93 ± 0.39	32.20 ± 1.02	26.19 ± 1.10	64.32 ± 2.51
60	6.57 ± 0.06	34.42 ± 0.22	27.19 ± 0.15	68.19 ± 0.05
80	7.20 ± 0.44	42.23 ± 0.31	37.28 ± 0.06	86.71 ± 0.20
100	7.70 ± 0.46	38.15 ± 0.51	27.84 ± 0.43	73.69 ± 0.79

2.3 Box-Behnken 响应面法优化提取工艺

2.3.1 响应面试验设计及结果 在单因素实验结果的基础上,以提取溶剂(X_1)、料液比(X_2)、提取温度(X_3)作为考察指标,以三七总皂苷质量分数(Y ,即3种皂苷质量分数之和)为响应值进行Box-Behnken响应面设计,因素及水平见表6。

采用Design-Expert软件设计试验方案,对提取溶剂、料液比、提取温度进行研究,结果见表7。

2.3.2 试验结果分析 采用Design expert 10.0.4软件对数据进行多重回归分析,得到2阶多项式方程为 $Y = 80.10 + 0.96 X_1 + 3.09 X_2 + 4.01 X_3 - 3.81 X_1 X_2 - 1.16 X_1 X_3 - 1.83 X_2 X_3 - 6.78 X_1^2 - 1.76 X_2^2 + 0.33 X_3^2$,方差分析见表8。 $P < 0.05$ 为显著项、 $P < 0.01$ 为极显著项,可以发现提取温度(X_3)为极显

著项,料液比(X_2)为显著项,提取溶剂(X_1)为不显著项;2次项中, X_1^2 ($P = 0.0008$)为极显著项,表明考察指标与响应间不呈线性关系;提取溶剂(X_1)与料液比(X_2)间交互作用显著($P = 0.0186$)。模型整体显著性好($P = 0.0043$),且失拟合程度不显著($P = 0.1577$),说明此模型能较好反映各考察指标与响应间的关系,能预测和分析三七中皂苷类成分的提取工艺。回归方程中 $r^2 = 0.9200$ 、 $R_{adj}^2 = 0.8172$,表明该模型可解释81.72%响应值的变化,可靠性较高,变异系数(CV) = 3.28%,说明该方法可信。

应用Design expert 10.0.4软件绘制各指标对响应值得到三维曲面图与等高线图,结果见图2。由软件可得最佳条件为提取溶剂为76.69%甲醇,料液比为1 : 33.03,提取温度为100 °C。考虑实际可操作性,将其修正为提取溶剂为75%甲醇,料液比为1 : 40,提取温度为100 °C。

2.4 验证试验

2.4.1 优选工艺验证 根据优化工艺进行验证试验,平行3次,测得三七总皂苷质量分数分别为83.64、80.79、82.64 mg/g,平均值为82.36 mg/g,

表 6 因素水平表

Table 6 Factor level table

水平	因素		
	X_1 /%	X_2	X_3 /°C
-1	60	1 : 10	60
0	80	1 : 25	80
1	100	1 : 40	100

表 7 Box-Behnken 响应面试验设计及结果

Table 7 Design and results of Box-Behnken response surface methodology

序号	X ₁ /%	X ₂	X ₃ /°C	三七皂苷 R ₁ /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{g1} /(mg·g ⁻¹)	人参皂苷 R _{b1} /(mg·g ⁻¹)	Y/(mg·g ⁻¹)
1	-1	0	1	9.94	40.67	28.82	79.42
2	1	0	-1	11.41	39.11	31.07	81.59
3	1	-1	0	10.14	41.47	28.08	79.70
4	0	0	0	8.32	37.11	28.36	73.79
5	-1	-1	0	10.18	41.12	30.41	81.70
6	1	0	1	9.14	38.61	27.86	75.61
7	-1	1	0	8.27	38.73	28.41	75.41
8	0	0	0	7.94	34.96	27.03	69.94
9	0	-1	-1	10.38	43.43	30.20	84.01
10	0	-1	1	10.00	40.12	29.52	79.65
11	0	1	1	9.54	34.75	25.38	69.67
12	0	0	0	8.52	31.45	21.75	61.72
13	0	0	0	10.28	40.81	30.32	81.41
14	1	1	0	10.07	40.71	29.81	80.60
15	0	1	-1	10.05	37.30	27.79	75.14
16	-1	0	-1	9.90	38.92	28.33	77.16
17	0	0	0	8.84	35.43	25.31	69.57

表 8 方差分析

Table 8 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	501.90	9	55.77	8.94	0.004 3**
X ₁	7.36	1	7.36	1.18	0.313 3
X ₂	76.32	1	76.32	12.24	0.010 0*
X ₃	128.84	1	128.84	20.67	0.002 6**
X ₁ X ₂	58.03	1	58.03	9.31	0.018 6*
X ₁ X ₃	5.41	1	5.41	0.87	0.382 7
X ₂ X ₃	13.44	1	13.44	2.16	0.185 5
X ₁ ²	193.50	1	193.50	31.04	0.000 8**
X ₂ ²	13.04	1	13.04	2.09	0.191 3
X ₃ ²	0.46	1	0.46	0.07	0.794 0
残差	43.64	7	6.23		
失拟项	30.23	3	10.08	3.01	0.157 7
净误差	13.41	4	3.35		
总误差	545.55	16			

*P < 0.05 **P < 0.01

与预测值 84.80 mg/g 接近, 表明该模型具有较高的准确性和精密性, 工艺稳定可行。

2.4.2 对不同粒径三七粉进行提取工艺验证 取粉末 0.6 g, 精密称定, 分别按《中国药典》2015 年版三七项下供试品溶液制备方法和优化方法处理样品,

依法进样测定, 每组平行 3 次, 结果见表 9、10。

2.4.3 对不同厂家三七粉进行提取工艺验证 取粉末 0.6 g, 精密称定, 分别按《中国药典》2015 年版三七项下供试品溶液制备方法和优化方法处理样品, 依法测定, 每组平行 3 次, 结果见表 11。

3 讨论

前期研究发现《中国药典》2015 年版三七项下含量测定方法中三七供试品溶液制备方法对三七皂苷类成分的提取效率偏低, 本实验采用 Box-Behnken 设计-响应面法对其进行优化。实验中, 将三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 质量分数的总和作为响应, 整体评价和考察了提取溶剂、温度、料液比对皂苷类成分提取的影响, 避免了单一成分为指标的局限性。同时为了更好地验证所优化方法的耐用性, 在 3 批验证试验的基础上增加了对不同粒径三七粉和不同厂家三七粉的验证试验, 通过与药典法对比可以发现, 优化法可以显著提高三七中指标成分三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 的溶出量, 建议《中国药典》对三七供试品溶液的制备方法进一步优化, 使三七饮片质量得到有效控制。而对不同粒径三七粉皂苷类成分溶出总量的比较研究发现, 粒径对皂苷类成分的溶出存在一定影响, 该现象有待继续开展实验研究。

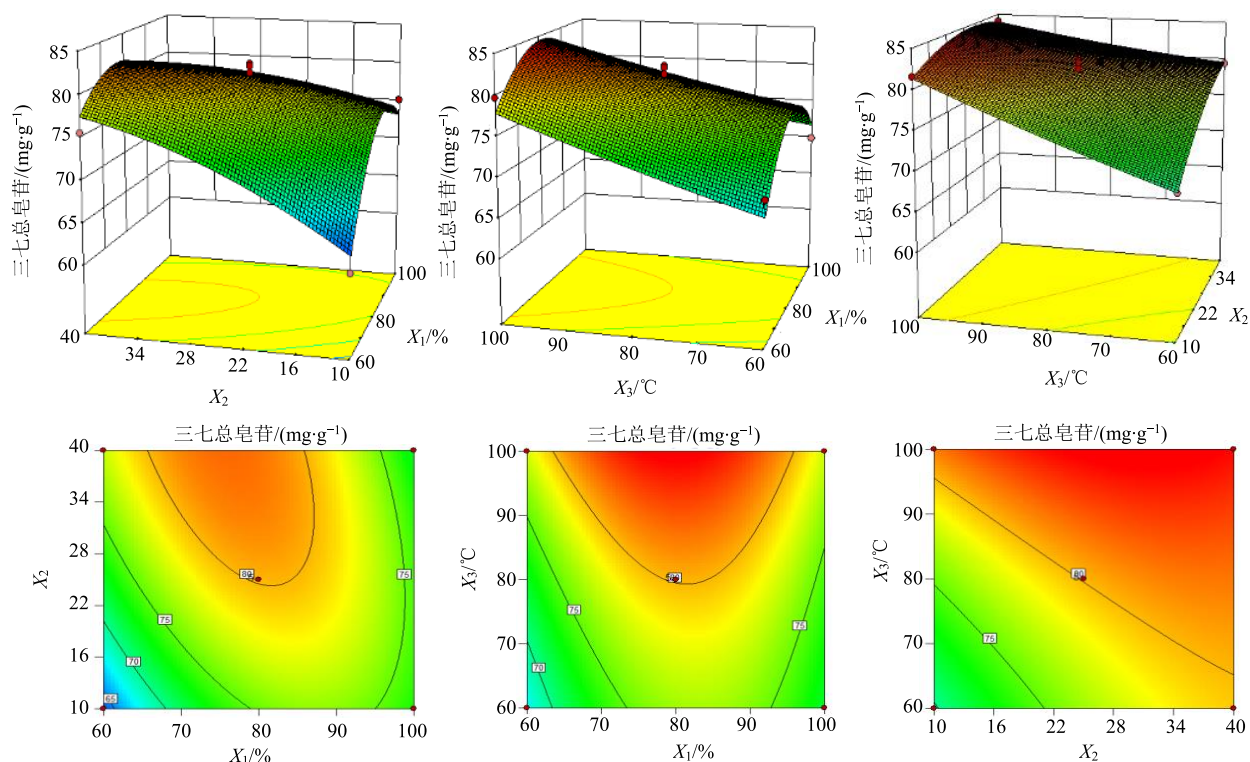


图 2 提取溶剂 (X_1)、料液比 (X_2) 和提取温度 (X_3) 的交互作用

Fig. 2 Interactions among extraction solvent (X_1), liquid-material ratio (X_2), and extraction temperature (X_3)

表 9 不同粒径三七粉的提取工艺验证 (药典法, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 Verification of extraction process of *P. notoginseng* powder with different particle sizes (pharmacopoeia method, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	粒径/ μm	三七皂苷 R_1 /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	人参皂苷 R_{g1} /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	人参皂苷 R_{b1} /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	三七总皂苷/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
粉体 1	213.93 \pm 7.06	4.71 \pm 0.06	31.14 \pm 1.04	28.13 \pm 0.05	63.97 \pm 0.92
粉体 2	170.02 \pm 2.72	5.08 \pm 0.45	31.50 \pm 0.14	31.68 \pm 1.10	68.25 \pm 1.69
粉体 3	103.77 \pm 2.78	6.84 \pm 0.84	37.11 \pm 0.64	29.77 \pm 0.42	73.72 \pm 1.89
粉体 4	90.38 \pm 8.28	4.55 \pm 0.33	30.95 \pm 2.62	28.73 \pm 0.36	64.23 \pm 3.31
粉体 5	72.77 \pm 0.13	4.28 \pm 0.36	29.77 \pm 1.43	26.87 \pm 1.94	60.93 \pm 3.74
粉体 6	59.89 \pm 0.06	4.29 \pm 0.36	28.64 \pm 2.38	27.69 \pm 0.75	60.62 \pm 1.99

表 10 不同粒径三七粉的提取工艺验证 (优化法, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 10 Verification of extraction process of *P. notoginseng* powder with different particle sizes (optimization method, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	粒径/ μm	三七皂苷 R_1 /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	人参皂苷 R_{g1} /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	人参皂苷 R_{b1} /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	三七总皂苷/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
粉体 1	213.93 \pm 7.06	11.39 \pm 0.06	43.17 \pm 0.11	30.39 \pm 0.14	84.95 \pm 0.31
粉体 2	170.02 \pm 2.72	11.20 \pm 0.30	42.01 \pm 0.20	30.74 \pm 0.44	83.94 \pm 0.94
粉体 3	103.77 \pm 2.78	11.72 \pm 0.26	42.86 \pm 0.58	30.95 \pm 0.46	85.53 \pm 1.30
粉体 4	90.38 \pm 8.28	11.04 \pm 0.64	41.92 \pm 1.23	28.81 \pm 0.86	81.78 \pm 2.73
粉体 5	72.77 \pm 0.13	10.85 \pm 0.10	41.94 \pm 0.71	28.85 \pm 0.46	81.64 \pm 1.27
粉体 6	59.89 \pm 0.06	10.02 \pm 0.17	38.53 \pm 0.24	28.18 \pm 0.13	76.73 \pm 0.54

表 11 不同厂家的三七粉提取工艺验证 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 11 Verification of extraction process of *P. notoginseng* powder from different manufacturers ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	药典法质量分数/(mg·g ⁻¹)				优化法质量分数/(mg·g ⁻¹)			
	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Rb ₁	三七总皂苷	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Rb ₁	三七总皂苷
A 厂家	4.41±0.56	20.56±1.97	16.28±1.42	41.25±3.95	12.41±0.09	43.24±0.29	31.90±0.08	87.55±0.38
B 厂家	3.41±0.13	20.14±0.70	13.76±0.45	37.30±1.29	11.16±0.04	45.39±0.69	30.32±0.14	86.86±0.79

本实验建立的三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rb₁ 含量测定方法相较《中国药典》2015 年版三七项下含量测定方法，有效缩短了洗脱时间 (50%)，使得检测效率得到明显提高，同时方法的灵敏度、准确性、重复性良好，可为三七饮片质量标准的提升提供参考和依据。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
 [2] Xia W, Sun C, Zhao Y, *et al.* Hypolipidemic and antioxidant activities of sanchi (*Radix Notoginseng*) in rats fed with a high fat diet [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(6): 516-520.
 [3] Huang J L, Feng Y Q, Bai L R, *et al.* Fraction *n*-butanol of *Radix Notoginseng* protects PC12 cells from Aβ₂₅₋₃₅-induced cytotoxicity and alleviates cognitive deficits in samp8 mice by attenuating oxidative stress and Aβ accumulation [J]. *Evid Based Compl Alter Med*, 2017, doi: 10.1155/2017/8469754.
 [4] Li H, Qiang L, Zhang C, *et al.* Publication trends in studies examining *Radix Notoginseng* as a treatment for ischemic brain injury [J]. *Neur Regen Res*, 2014, 9(17): 1635-1642.
 [5] 刘桂林, 窦迎春, 乔云. 三七总皂苷对动脉粥样硬化血管内皮的保护作用 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2013, 11(9): 1094-1096.
 [6] 李娟莉, 苏式兵. 三七总皂苷对大鼠急性心肌梗死的保护作用 [J]. *中药药理与临床*, 2013, 33(1): 68-72.
 [7] 樊清波, 李小威, 简立国, 等. 三七总皂苷对大鼠心肌

梗死后血管新生及微小 RNA-21 表达的影响 [J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2014, 49(1): 48-52.
 [8] 刘咏梅, 孙秀玲, 刘瑞华, 等. 三七总皂苷调控 miRNA-466b 抑制急性心肌梗大鼠心肌细胞凋亡的研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(22): 6-10.
 [9] Liu Z L, Xie L Z, Zhu J, *et al.* Herbal medicines for fatty liver diseases [J]. *Cochr Database Syst Rev*, 2013, doi: 10.1002/14651858.CD009059.pub2.
 [10] 张声生, 吴震宇, 陈剑明, 等. 三七总皂苷改善高脂诱导脂肪肝大鼠模型氧化应激及胰岛素抵抗的研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(1): 56-61.
 [11] 宋燕, 冉姝, 孙方方, 等. Box-Behnken 设计-响应面法优化木鳖子霜炮制工艺 [J]. *中草药*, 2019, 50(2): 382-387.
 [12] 王玥, 吕露阳, 李莹, 等. Box-Behnken 响应面法优化彝药蜜酒同制大黄工艺 [J]. *中草药*, 2019, 50(4): 844-851.
 [13] 孟冉, 张振凌, 王胜超, 等. BOX-Behnken 响应面法优选麸炒白芍工艺 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(2): 357-360.
 [14] 陈林伟, 秦昆明, 王琴, 等. Box-Behnken 响应面法优选气血双补酒的渗漉提取工艺 [J]. *中草药*, 2015, 46(8): 1151-1155.
 [15] 程艳刚, 谭金燕, 叶文冲, 等. 基于 Plackett-Burman 设计和 Box-Behnken 响应面法优化仙鹤草总黄酮超声提取工艺及其抗氧化抗肿瘤活性研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(10): 2414-2419.
 [16] 王正宽, 刘圆, 周茆, 等. 中试规模下 Box-Behnken 法优化延胡索微波提取工艺 [J]. *中草药*, 2015, 46(16): 2394-2399.