

基于 HPLC 法和灰色关联法评价不同产地、不同商品规格三七质量

丁永胜, 罗 静, 赵程博文, 李秋雨, 石晋丽*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘 要: 目的 客观评价三七内在质量, 构建三七质量评价的灰色关联模型, 为三七质量评价及多指标成分中药材质量评价提供参考。方法 采用 HPLC 法同时测定不同产地、不同商品规格三七样品中三七皂苷 R_1 , 人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_d 含量, 结合灰色关联法建立整体质量评价模型。结果 所建立方法同时测定了三七皂苷 R_1 , 人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_d 成分含量, 方法学考察结果良好; 灰色关联法可以区分出产地样品、合格样品和不合格样品。结论 所建立的 HPLC 测定方法简单准确、稳定快速、分离效果好, 可用于三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_d 的含量测定; 灰色关联法可用于多指标成分中药质量评价。

关键词: 三七; HPLC; 灰色关联法; 三七皂苷 R_1 ; 人参皂苷 R_{g_1} ; 人参皂苷 R_e ; 人参皂苷 R_{b_1} ; 人参皂苷 R_d

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)04-1069-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.04.034

Quality evaluation of different origins and commercial grades of *Panax notoginseng* by HPLC and grey correlation analysis

DING Yong-sheng, LUO Jing, ZHAO Cheng-bo-wen, LI Qiu-yu, SHI Jin-li

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To establish a method for determination of five saponins in *Panax notoginseng* by HPLC and comprehensively evaluate the quality of it by using grey correlation analysis. **Methods** The content of notoginsenoside R_1 and ginsenoside R_{g_1} , R_e , R_{b_1} , R_d in the different origins and commercial grades of *P. notoginseng* was simultaneously determined by HPLC, and the entire quality evaluation model was established by grey correlation analysis. **Results** The established method was applied to quantify five major bioactive components in *P. notoginseng* simultaneously with satisfactory results. Gray correlation method can distinguish the samples from genuine producing areas, qualified samples and unqualified samples, and provide reference for quality evaluation of *P. notoginseng* and quality evaluation of multi-index components of Chinese materia medica. **Conclusion** This HPLC method was simple, accurate, stable and rapid with better separation effect, which was suitable for determination of notoginsenoside R_1 and ginsenosides R_{g_1} , R_e , R_{b_1} , R_d ; The grey recognition analysis was suitable for the comprehensive quality evaluation of multi-component samples of Chinese materia medica.

Key words: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; HPLC; grey correlation analysis; notoginsenoside R_1 ; ginsenoside R_{g_1} ; ginsenoside R_e ; ginsenoside R_{b_1} ; ginsenoside R_d

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根及根茎, 具有散瘀止血、消肿定痛的功效, 常用于咯血、吐血、衄血、便血、崩漏、外伤出血、胸腹刺痛、跌扑肿痛等症^[1]。三七的主要活性成分是皂苷类化合物, 包括三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 、 R_d 、 R_e 等多种皂苷单体^[2], 其中人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 、 R_{b_2} 、 R_c 、 R_d 、 R_e 以及三七皂苷 R_1 在维持血液循环、改善心肌缺血、抗心律

失常、提高智力、抗衰老、抗氧化、抗细胞增殖和抗肿瘤等方面均表现出一定的药理作用^[3-6], 如血塞通注射液(三七总皂苷)治疗心肌梗死的主要活性成分为三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_d 5 种皂苷成分^[7], 且有研究表明三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、 R_d 5 种皂苷占三七总皂苷(PNS)含量的 90%以上^[8]。而药典中仅对三七中三七皂苷 R_1 , 人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 3 种皂苷总量进行控制, 不

收稿日期: 2019-08-05

基金项目: 北京市技术开发类横向课题(2017110031015577)

作者简介: 丁永胜, 硕士研究生, 研究方向为中药质量评价。Tel: 18811795287 E-mail: 18811795287@163.com

*通信作者 石晋丽, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药质量评价与创新药物研究。Tel: (010)84738623 E-mail: Shijinlibucm@163.com

能完全反映三七有效成分含量。因人参皂苷 R_{g1} 与人参皂苷 R_e ，极性相近，难以分离，目前已有的 5 种皂苷高效液相含量测定方法仍存在分析时间长，人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 分离度不佳等问题^[9-10]。因此本实验旨在利用 HPLC 法建立简单、准确、快速测定三七中 5 种皂苷成分含量的方法，更加全面地反映三七质量优劣，以期对三七质量控制提供依据和参考。

目前国内中药质量评价主要借鉴国外植物药的质量控制方法以及化学药品质量控制模式，化学定性鉴别与指标性成分检测是其主要内容。而对于中药，检测其任何一种活性成分均不能体现其整体疗效^[11]。因此，对三七中三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 、 R_d 含量进行简单比较很难综合评价三七质量。灰色关联模型对数据容量和概率分布没有严格要求，可充分利用较原始数据去发现规律。灰色理论系统作为模糊系统研究手段已广泛应用于各个研究领域，现已逐步用于中药质量评价中^[12-14]。为更客观评价三七内在质量，通过测定 10 个产地、不同规格共计 50 批三七样品构建三七质量评价的灰色关联模型，以期对三七质量评价及多指标成分中药质量评价提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

e2695 型 Waters 高效液相色谱仪（包括 2998 型 PDA 检测器、四元泵、在线脱气机、Empower 工作站，美国 Waters 公司）；SB-5200DTD 型超声清洗器（宁波新芝生物科技股份有限公司）；ME104E/02 型电子天平〔梅特勒-托利多国际贸易（上海）有限公司〕；HW.SY21-KP4 型智能恒温水浴锅（北京市长风仪器仪表公司）；FW-200 型高速万能粉碎机（北京科伟永兴仪器有限公司）。

1.2 试药

10 个产地、不同商品规格共 50 批三七样品经北京中医药大学石晋丽教授鉴定均为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根及根茎。样品产地信息见表 1。三七皂苷 R_1 （批号 18061104）、人参皂苷 R_e （批号 18091703）、人参皂苷 R_{b1} （批号 18020808）、人参皂苷 R_d （批号 18030803）均购于英联科技（北京）有限公司，人参皂苷 R_{g1} （批号 BG02B092，成都生物科技有限公司），所有对照品质量分数均 $\geq 98\%$ ；甲醇（分析纯，北京化工厂）；乙腈（色谱纯，美国 Fisher 公司）；娃哈哈矿泉水（杭州娃哈哈集团）。

表 1 三七样品信息

Table 1 Sample information of *P. notoginseng*

编号	产地	规格	采集日期
JX1	广西靖西	80~120 头	2018-06-03
JX2	广西靖西	120~200 头	2018-06-03
JX3	广西靖西	无数头	2018-06-03
JX4	广西靖西	筋条	2018-06-03
JX5	广西靖西	剪口	2018-06-03
QB1	云南丘北	20~40 头	2018-06-05
QB2	云南丘北	40~80 头	2018-06-05
QB3	云南丘北	80~120 头	2018-06-05
QB4	云南丘北	筋条	2018-06-05
QB5	云南丘北	剪口	2018-06-05
YS1	云南砚山	20~40 头	2018-06-05
YS2	云南砚山	40~80 头	2018-06-05
YS3	云南砚山	80~120 头	2018-06-05
YS4	云南砚山	筋条	2018-06-05
YS5	云南砚山	剪口	2018-06-05
WS1	云南文山	20~40 头	2018-06-06
WS2	云南文山	40~80 头	2018-06-06
WS3	云南文山	80~120 头	2018-06-06
WS4	云南文山	筋条	2018-06-06
WS5	云南文山	剪口	2018-06-06
MG1	云南马关	20~40 头	2018-06-07
MG2	云南马关	40~80 头	2018-06-07
MG3	云南马关	80~120 头	2018-06-07
MG4	云南马关	筋条	2018-06-07
MG5	云南马关	剪口	2018-06-07
SP1	云南石屏	20~40 头	2018-06-08
SP2	云南石屏	40~80 头	2018-06-08
SP3	云南石屏	80~120 头	2018-06-08
SP4	云南石屏	筋条	2018-06-08
SP5	云南石屏	剪口	2018-06-08
ML1	云南弥勒	20~40 头	2018-06-09
ML2	云南弥勒	40~80 头	2018-06-09
ML3	云南弥勒	80~120 头	2018-06-09
ML4	云南弥勒	筋条	2018-06-09
ML5	云南弥勒	剪口	2018-06-09
SL1	云南石林	20~40 头	2018-06-10
SL2	云南石林	40~80 头	2018-06-10
SL3	云南石林	80~120 头	2018-06-10
SL4	云南石林	筋条	2018-06-10
SL5	云南石林	剪口	2018-06-10
SZ1	云南师宗	20~40 头	2018-06-10
SZ1	云南师宗	40~80 头	2018-06-10
SZ1	云南师宗	80~120 头	2018-06-10
SZ1	云南师宗	筋条	2018-06-10
SZ1	云南师宗	剪口	2018-06-10
MZ1	云南蒙自	20~40 头	2018-06-11
MZ2	云南蒙自	40~80 头	2018-06-11
MZ3	云南蒙自	80~120 头	2018-06-11
MZ4	云南蒙自	筋条	2018-06-11
MZ5	云南蒙自	剪口	2018-06-11

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

将三七粉碎，过 65 目筛，精密称取 1.0 g，加甲醇 50 mL 放置过夜，加热回流 2 h，补足甲醇质

量, 过 0.35 μm 微孔滤膜, 于液相小瓶中备用。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取三七皂苷 R_1 4.31 mg、人参皂苷 R_{g1} 10.50 mg、人参皂苷 R_e 4.01 mg、人参皂苷 R_{b1} 12.02 mg、人参皂苷 R_d 2.30 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 配制成含三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 质量浓度分别为 0.172 4、0.420 0、0.160 4、0.480 8、0.092 0 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Zorbax SB-Aq 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水; 梯度洗脱: 0~10 min,

20%乙腈; 10~40 min, 20%~40%乙腈; 40~50 min, 40%~20%乙腈; 体积流量 1 mL/min, 检测波长 203 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL 。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 取混合对照品溶液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 置于液相小瓶中, 分别进样 2、5、10、15、20、30、50 μL , 记录色谱图, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 作标准曲线, 求回归方程, 见表 2。将混合对照品溶液等度稀释, 稀释液分别进液相检测, 以各对照品峰信噪比为 3:1 时的对照品质量浓度定为检测限, 峰信噪比为 10:1 时的对照品质量浓度为定量限。线性范围浓度及检测限、定量限见表 2。

表 2 三七中 5 种皂苷成分的线性关系考察

Table 2 Linear relationship of five saponins in *P. notoginseng*

对照品	回归方程	r^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	检测限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	定量限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
三七皂苷 R_1	$Y=3\ 218\ 724.75 X-4\ 325.19$	0.999 6	34.48~862.00	7.240	21.72
人参皂苷 R_{g1}	$Y=4\ 027\ 858.24 X-85\ 818.08$	0.999 2	84.00~2\ 100.00	8.400	25.20
人参皂苷 R_e	$Y=1\ 297\ 587.14 X-9\ 075.94$	0.999 6	32.08~802.00	6.416	19.25
人参皂苷 R_{b1}	$Y=1\ 287\ 416.18 X+15\ 561.58$	0.999 5	96.16~2\ 404.00	24.040	72.12
人参皂苷 R_d	$Y=1\ 286\ 399.38 X+2\ 188.17$	0.999 9	46.00~460.00	11.040	33.12

2.4.2 精密度试验 取混合对照品溶液, 连续进样 6 针, 记录各色谱峰面积, 计算各对照品质量分数的 RSD 值。三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 的 RSD 值分别为 0.18%、0.08%、0.16%、0.21%、0.18%。

2.4.3 重复性试验 精密称取三七样品 0.994 6、0.996 7、0.995 7、0.996 0、0.995 3、0.994 6 g, 按“2.1”项方法制备, 进高效液相色谱仪检测, 记录各色谱峰面积并计算质量分数的 RSD 值。三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 质量分数的 RSD 值分别为 0.55%、0.37%、1.62%、0.33%、0.47%。

2.4.4 稳定性试验 精密称取三七样品 0.994 6 g, 按供试品样品制备方法制备, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进高效液相色谱仪检测, 记录各色谱峰面积并计算质量分数的 RSD 值。三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 质量分数的 RSD 值分别为 0.05%、0.10%、1.75%、0.25%、0.30%。

2.4.5 加样回收率试验 精密取已测定的同一批样品 6 份, 分别精密加入三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 对照品适量, 按供试品溶液制备项下制备待测溶液, 进高效液相检测, 计算各指标加样回收率及 RSD 值。三

七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_e 、人参皂苷 R_{b1} 、人参皂苷 R_d 回收率分别为 100.82%、98.80%、101.03%、99.82%、99.08%; RSD 值分别为 1.50%、1.30%、2.27%、1.53%、0.81%。

2.5 样品测定

按“2.1”项下方法制备各产地不同商品规格三七样品, 按“2.3”项下条件检测, 记录上述皂苷峰面积, 依据对照品标准曲线计算被测样品三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 、 R_d 含量, HPLC 色谱图见图 1, 结果见表 3。

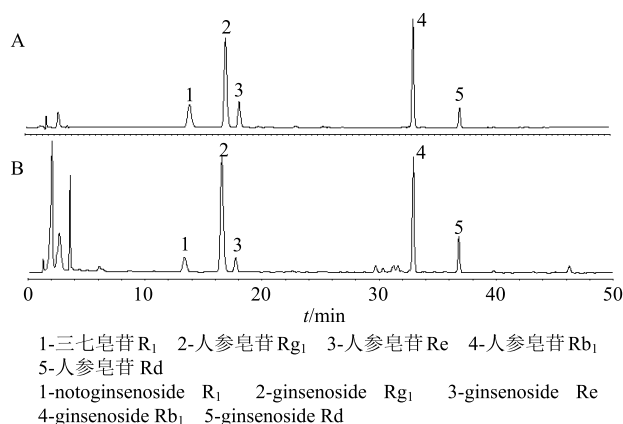


图 1 混合对照品 (A) 和样品 (B) 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed standards (A) and sample (B) of *P. notoginseng*

表 3 不同产地、不同商品规格三七中 5 种皂苷含量测定结果

Table 3 Determination of five saponins in *P. notoginseng* of different producing areas and different commodity specifications

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)					总量
	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	人参皂苷 Rd	
JX1	7.16	42.80	12.78	55.53	8.50	126.79
JX2	6.79	45.76	13.41	62.37	8.96	137.29
JX3	7.45	43.09	12.27	57.11	6.95	126.87
JX4	6.95	40.22	11.52	56.47	7.09	122.25
JX5	7.22	51.32	12.75	58.49	8.86	138.64
QB1	9.84	29.66	7.74	30.52	8.37	86.13
QB2	8.58	30.03	3.83	34.21	8.54	85.19
QB3	8.45	25.92	3.66	29.71	6.66	74.40
QB4	4.25	17.25	2.49	25.55	4.72	54.27
QB5	13.19	46.23	9.83	51.78	15.52	136.55
YS1	6.63	32.45	6.32	24.37	6.15	75.91
YS2	9.28	31.86	5.59	33.67	8.66	89.06
YS3	6.67	27.93	4.38	27.92	7.01	73.92
YS4	7.16	27.72	5.10	28.49	7.26	75.73
YS5	9.62	46.66	25.92	47.46	11.57	141.23
WS1	10.84	28.90	4.92	42.47	11.19	98.33
WS2	7.06	36.06	5.94	39.08	10.87	99.02
WS3	8.47	41.85	5.03	37.93	10.31	103.59
WS4	10.01	32.34	5.17	37.20	10.33	95.05
WS5	10.30	43.14	9.75	56.52	15.71	135.43
MG1	9.59	33.11	6.82	33.91	9.66	93.09
MG2	5.42	36.15	10.38	50.61	9.97	112.53
MG3	6.83	36.08	7.15	36.74	9.16	95.96
MG4	7.63	30.73	5.63	35.84	9.19	89.03
MG5	11.51	51.07	10.44	54.17	13.59	140.78
SP1	8.34	37.49	5.85	38.92	9.38	99.97
SP2	9.93	43.15	6.90	40.00	8.83	108.81
SP3	5.79	25.22	4.08	27.21	7.86	70.15
SP4	7.11	25.66	4.67	24.46	6.36	68.26
SP5	17.38	51.22	7.08	48.77	17.42	141.88
ML1	10.06	32.22	6.32	31.95	7.31	87.87
ML2	9.17	40.83	7.02	32.53	8.67	98.22
ML3	7.55	32.25	6.33	34.44	8.65	89.22
ML4	7.35	25.32	4.18	26.31	5.39	68.56
ML5	15.52	33.32	6.51	39.93	8.81	104.10
SL1	9.05	29.43	4.99	30.04	8.00	81.50
SL2	9.79	31.92	4.84	29.25	7.29	83.08
SL3	9.32	32.49	4.84	33.10	8.67	88.43
SL4	9.74	28.34	4.77	30.17	9.45	82.48
SL5	15.34	54.51	8.95	52.99	18.59	150.38
SZ1	10.36	38.59	6.10	29.73	9.32	94.09
SZ1	11.08	50.67	13.42	53.73	11.81	140.71
SZ1	8.06	28.70	3.25	29.67	7.37	77.05
SZ1	7.39	26.01	4.43	25.23	6.79	69.86
SZ1	13.41	49.27	8.74	47.87	11.95	131.24
MZ1	10.60	33.53	5.07	37.30	7.80	94.31
MZ2	9.47	35.88	7.50	32.41	7.68	92.94
MZ3	8.00	33.36	5.69	33.51	8.20	88.76
MZ4	6.10	30.81	5.44	30.83	6.77	79.95
MZ5	13.21	42.20	6.91	40.55	11.13	114.00

2.6 数据处理与结果分析

2.6.1 不同产地 5 种皂苷含量对比分析 对 10 个产地三七样品中 5 种皂苷总量, 利用 SAS 9.4 软件进行多组 F 检验、多重比较分析, 各组均正态, 方差齐。 $F=1.37$, $P>0.05$, 表示各组间 5 种皂苷总量无明显差异, 但广西靖西产地三七样品与云南各产地三七样品 5 种皂苷总量具有显著性差异, $P<0.001$, 结果如图 2 所示。广西靖西产地三七样品 5 种皂苷总量显著高于云南各产地三七样品 5 种皂苷总量; 5 种皂苷总量产地排序结果为靖西>文山>马关>师宗>石屏>石林>蒙自>砚山>弥勒>丘北。因气候和连作障碍等原因, 广西三七个头小、产量低, 目前广西省已大幅缩减三七种植面积, 但从 5 种皂苷总量上看, 广西靖西产地 5 种皂苷总量最高, 均值为 130.36 mg/g, 云南文山产地 5 种皂苷总量居第二, 均值为 106.28 mg/g。广西产地三七 5 种皂苷总量处于绝对优势, 因此广西三七减产原因有必要进一步探索, 以恢复其道地产区, 增大三七产量。此外, 分析不同产地三七样品中 5 种皂苷含量发现 (表 3), 广西靖西产地三七样品与云南各产地样品相比, 三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_d 含量较低, 而人参皂苷 R_{b1} 和人参皂苷 R_e 含量较高, 这可为三七中皂苷单体提取原材料的选择及不同产地三七药效差异研究提供参考。

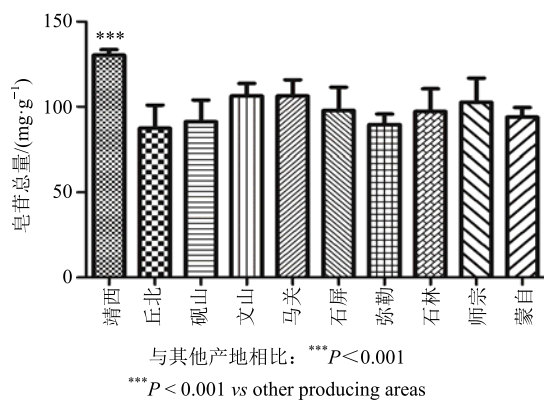


图 2 不同产地三七 5 种皂苷总量对比分析

Fig. 2 Comparison and analysis of amounts of five saponins of *P. notoginseng* from different producing areas

2.6.2 不同商品规格三七中 5 种皂苷含量对比分析 对云南 9 个产地不同商品规格三七 (因广西未收集到 20~40 头、40~80 头三七样品, 去除广西产地数据) 利用 SAS 9.4 软件对 20~40 头三七、40~80 头三七、80~120 头三七、筋条、剪口进行多组 F 检验、多重比较分析, 各组均正态, 方差齐。 $F=$

20.73, $P<0.0001$ 表示各组间 5 种皂苷总量有差异, 结果如图 3-A 所示, 三七中 5 种皂苷总量分布为三七剪口>40~80 头三七>20~40 头三七>80~120 头三七>筋条; 将 10 个产地三七分为剪口、主根 (20~40 头、40~80 头、80~120 头)、筋条 3 组, 利用 SAS 9.4 软件进行多组 F 检验分析, 各组均正态, 方差齐。 $F=25.44$, $P<0.0001$ 表示各组间 5 种皂苷总量有差异, 结果如图 3-B 所示, 三七中 5 种皂苷含量剪口>主根>筋条。此外, 对单个皂苷分析发现, 除三七皂苷 R_1 , 其他 4 种皂苷含量均为剪口>40~80 头三七>20~40 头三七>80~120 头三七>筋条; 三七皂苷 R_1 含量为剪口>20~40 头三七>40~80 头三七>80~120 头三七>筋条, 三七主根中三七皂苷 R_1 含量可能与其头数有关。

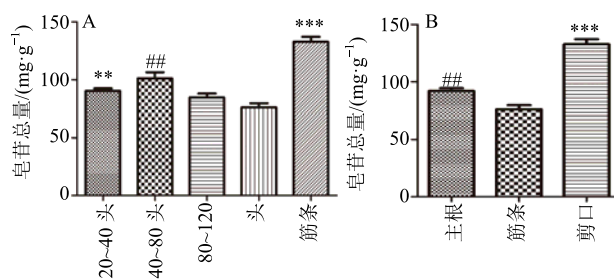


图 A 中与筋条、剪口组相比: ** $P<0.05$; 与 80~120 头三七、筋条、剪口组相比: ** $P<0.05$; 与其他组相比: *** $P<0.001$; 图 B 中与其他组相比: ** $P<0.05$ *** $P<0.001$

Fig. A: ** $P<0.05$ vs Jintiao and Jiankou groups; ** $P<0.05$ vs 80—120 tou of *P. notoginseng*, Jintiao and Jiankou groups; *** $P<0.001$ vs other groups. Fig. B: ** $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs other groups.

图 3 不同商品规格 (A) 和不同部位 (B) 三七 5 种皂苷总量对比分析

Fig. 3 Comparison and analysis of amounts of five saponins of *P. notoginseng* in different commodity specifications (A) and different parts (B)

2.6.3 灰色关联分析法综合评价不同产地、不同规格三七样品质量 对不同产地、不同商品规格三七 5 种皂苷采用灰色关联法分析, 计算各样品相对于最优参考序列关联系数、相对于最差参考序列关联系数、相对于最优参考序列关联度、相对关联度。计算方法参照严倩如等^[14]报道方法。最后按照相对关联度对三七样品进行排序并依据相对关联度人为进行等级划分 (I 级: 相对关联度 ≥ 0.50 ; II 级: $0.50>$ 相对关联度 ≥ 0.45 ; III 级: $0.45>$ 相对关联度 ≥ 0.40 ; IV 级: $0.40>$ 相对关联度 ≥ 0.35 ; V 级: 相对关联度 >0.35), 结果见表 4。从灰色关联结果可见, 广

表 4 各样品相对于最优参考序列的关联系数、关联度、相对关联度、排序及等级

Table 4 Correlation coefficient, correlation degree, relative correlation degree, sequence and grade of each sample relative to optimal reference sequence

样品	关联系数					关联度	相对关联度	排序	等级
	三七皂苷 R_1	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 R_e	人参皂苷 R_{b1}	人参皂苷 R_d				
JX1	0.832 4	0.471 3	0.901 1	0.597 8	0.471 3	0.654 8	0.481 4	11	II
JX2	0.869 2	0.483 6	1.000 0	0.609 0	0.483 6	0.689 1	0.500 2	9	I
JX3	0.835 9	0.461 9	0.922 2	0.563 0	0.461 9	0.648 9	0.475 1	12	II
JX4	0.802 7	0.448 6	0.913 5	0.566 0	0.448 6	0.635 9	0.465 5	13	II
JX5	0.948 0	0.470 8	0.941 4	0.606 5	0.470 8	0.687 5	0.500 8	8	I
QB1	0.700 6	0.391 9	0.661 7	0.594 7	0.391 9	0.548 2	0.409 4	29	III
QB2	0.703 8	0.346 5	0.688 7	0.598 8	0.346 5	0.536 9	0.392 7	37	IV
QB3	0.670 4	0.344 8	0.656 1	0.556 9	0.344 8	0.514 6	0.370 9	45	IV
QB4	0.609 5	0.333 3	0.628 6	0.519 5	0.333 3	0.484 8	0.327 3	50	V
QB5	0.875 4	0.421 3	0.854 7	0.830 1	0.421 3	0.680 6	0.516 9	6	I
YS1	0.725 0	0.374 1	0.621 2	0.546 6	0.374 1	0.528 2	0.379 4	41	IV
YS2	0.719 7	0.365 6	0.684 6	0.601 6	0.365 6	0.547 4	0.406 4	31	III
YS3	0.686 3	0.352 3	0.644 0	0.564 3	0.352 3	0.519 8	0.372 5	44	IV
YS4	0.684 6	0.360 1	0.647 8	0.569 6	0.360 1	0.524 4	0.379 2	42	IV
YS5	0.881 1	1.000 0	0.806 9	0.681 2	0.654 9	0.804 8	0.561 2	1	I
WS1	0.694 3	0.358 1	0.757 9	0.669 6	0.358 1	0.567 6	0.425 9	20	III
WS2	0.759 2	0.369 6	0.727 9	0.660 2	0.369 6	0.577 3	0.426 2	19	III
WS3	0.821 2	0.359 3	0.718 3	0.644 3	0.359 3	0.580 5	0.429 7	18	III
WS4	0.724 0	0.360 8	0.712 3	0.644 8	0.360 8	0.560 6	0.419 2	25	III
WS5	0.836 5	0.420 1	0.914 2	0.838 9	0.420 1	0.686 0	0.513 1	7	I
MG1	0.731 0	0.380 2	0.686 5	0.626 8	0.380 2	0.560 9	0.420 2	24	III
MG2	0.760 1	0.429 8	0.841 2	0.635 0	0.429 8	0.619 2	0.454 0	15	II
MG3	0.759 4	0.384 3	0.708 5	0.614 0	0.384 3	0.570 1	0.420 5	23	III
MG4	0.709 8	0.366 0	0.701 4	0.614 7	0.366 0	0.551 6	0.406 4	32	III
MG5	0.944 1	0.430 8	0.883 7	0.750 0	0.430 8	0.687 9	0.517 8	5	I
SP1	0.773 6	0.368 6	0.726 6	0.619 5	0.368 6	0.571 4	0.424 4	22	III
SP2	0.836 6	0.381 2	0.735 8	0.605 8	0.381 2	0.588 1	0.441 2	16	III
SP3	0.665 1	0.349 1	0.639 3	0.582 9	0.349 1	0.517 1	0.367 6	46	IV
SP4	0.668 4	0.355 4	0.621 7	0.550 8	0.355 4	0.510 3	0.364 2	48	IV
SP5	0.946 4	0.383 4	0.820 8	0.927 6	0.383 4	0.692 3	0.524 5	3	I
ML1	0.722 9	0.374 1	0.671 9	0.570 7	0.374 1	0.542 8	0.403 6	34	III
ML2	0.809 6	0.382 7	0.676 2	0.601 9	0.382 7	0.570 6	0.425 1	21	III
ML3	0.723 2	0.374 2	0.690 5	0.601 4	0.374 2	0.552 7	0.407 5	30	III
ML4	0.665 8	0.350 2	0.633 4	0.531 9	0.350 2	0.506 3	0.359 7	49	IV
ML5	0.732 9	0.376 4	0.735 2	0.605 3	0.376 4	0.565 2	0.434 4	17	III
SL1	0.698 7	0.358 9	0.658 4	0.586 1	0.358 9	0.532 2	0.391 1	38	IV
SL2	0.720 2	0.357 2	0.652 9	0.570 3	0.357 2	0.531 6	0.391 0	39	IV
SL3	0.725 4	0.357 2	0.680 4	0.601 9	0.357 2	0.544 4	0.402 7	35	III
SL4	0.689 7	0.356 5	0.659 3	0.621 3	0.356 5	0.536 6	0.396 7	36	IV
SL5	1.000 0	0.408 4	0.869 2	1.000 0	0.408 4	0.737 2	0.548 9	2	I
SZ1	0.785 1	0.371 5	0.656 2	0.618 0	0.371 5	0.560 5	0.418 8	26	III
SZ2	0.938 0	0.483 8	0.878 2	0.688 7	0.483 8	0.694 5	0.520 9	4	I
SZ3	0.692 6	0.340 7	0.655 8	0.572 0	0.340 7	0.520 4	0.374 8	43	IV
SZ4	0.671 1	0.352 8	0.626 5	0.559 7	0.352 8	0.512 6	0.367 2	47	IV
SZ5	0.917 3	0.405 4	0.811 2	0.693 1	0.405 4	0.646 5	0.493 7	10	II
MZ1	0.734 9	0.359 7	0.713 1	0.581 6	0.359 7	0.549 8	0.409 9	28	III
MZ2	0.757 4	0.388 7	0.675 3	0.578 9	0.388 7	0.557 8	0.415 9	27	III
MZ3	0.733 3	0.366 7	0.683 4	0.590 7	0.366 7	0.548 2	0.403 7	33	III
MZ4	0.710 5	0.363 9	0.663 9	0.559 2	0.363 9	0.532 3	0.383 2	40	IV
MZ5	0.825 3	0.381 3	0.740 6	0.667 8	0.381 3	0.599 3	0.458 3	14	III

西靖西产地 5 个样品、云南文山产地 5 个样品均属于 I~III 级, 相对关联度排序均列于前 30, 表明靖西产地、文山产地三七质量较优, 实验结果与人们对三七道地产区为靖西和文山的认识一致^[15]。丘北筋条三七样品属于 V 级, 质量最差, 而丘北产地筋条样品中三七皂苷 R₁, 人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 总量为 4.7%, 不符合《中国药典》2015 年版要求 (5.0%), 灰色关联法和《中国药典》2015 年版方法评价结果一致。

3 讨论

三七在心脑血管、中枢神经系统、抗炎、抗肿瘤、抗氧化等方面均具有显著的药理作用^[16], 广泛应用于临床及保健品行业中, 市场上三七供不应求, 因此三七质量评价的可靠性、科学性、快捷性及准确性显得尤为重要。《中国药典》2015 年版采用 HPLC 法对三七中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 R_{b1} 3 种皂苷总量进行控制, 需要 60 min 才能完成 3 种皂苷的含量测定。本实验建立的 HPLC 法 40 min 内即可完成三七中 5 种皂苷成分的含量测定, 大幅缩减了三七含测时间, 且各峰基线分离, 分离度良好, 方法学考察符合要求, 可用于三七中 5 种皂苷含量的测定, 为三七质量控制提供参考。

实验还比较了 Zorbax SB-Aq 柱、Eclipse Plus C₁₈ 柱和文献报道^[17]的对三七分离效果较好的 Zorbax SB-C₁₈ 柱对三七中 5 种皂苷的分离效果, 发现相同条件下 Eclipse Plus C₁₈ 柱和 Zorbax SB-C₁₈ 柱均不能将人参皂苷 R_{g1}、R_e 有效分离, 而 Zorbax SB-Aq 柱可将 5 种皂苷完全分离, 有效缩短检测时间。

灰色关联法排除了人为因素干扰, 将多维问题转化为一维问题, 提高了多指标评价药材质量的科学性与准确性。该法对成分复杂的中药质量评价具有一定的参考价值。本研究首次将灰色关联法应用于不同产地、不同商品规格三七样品的等级划分和质量评价中, 依据此法可以区分出道地产区样品、不合格样品, 为三七质量评价及多指标成分中药质量评价提供参考。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Li S P, Qiao C F, Chen Y W, *et al.* A novel strategy with standardized reference extract qualification and single

compound quantitative evaluation for quality control of *Panax notoginseng* used as a functional food [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1313: 302-307.

- [3] 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]. *Chineerbjed*, 2012, 4(4): 340-344.
- [4] 杨秋娅, 李晓宇, 刘皋林. 人参皂苷 R_{b1} 的药理作用研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(15): 1233-1237.
- [5] 杨逸, 杨丽瑛, 戴景峰, 等. 人参皂苷 R_{g1} 药理活性的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(12): 3121-3123.
- [6] 高洁, 张楠楠, 韩彦琪, 等. 三七抗增殖作用的有效成分筛选及机制研究 [J]. 中草药, 2014, 45(6): 801-806.
- [7] Wang L, Li Z, Shao Q, *et al.* Dissecting active ingredients of Chinese medicine by content-weighted ingredient-target network [J]. *Mol Bio Systems*, 2014, 10(7): 1905-1911.
- [8] Liu J J, Wang Y T, Qiu L, *et al.* Saponins of *Panax notoginseng*: Chemistry, cellular targets and therapeutic opportunities in cardiovascular diseases [J]. *Expert Opin Invest Drugs*, 2014, 23(4): 523-539.
- [9] 刘大会, 徐娜, 郭兰萍, 等. 三七药材质量特征和商品规格等级标准研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 776-785.
- [10] 黄旭东, 刘伟, 徐新元. HPLC 法同时测定新癢片中 8 个成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(10): 1852-1856.
- [11] 陈曦. 中药质量评价技术的国内外研究现状及分析 [J]. 中药与临床, 2011, 2(2): 59-62.
- [12] 徐珍珍, 史星星, 樊旭蕾, 等. 基于灰色关联度法和 FCM 算法的木香质量评价研究 [J]. 中草药, 2018, 49(24): 5916-5922.
- [13] 刘书斌. 甘肃地产党参商品等级划分合理性分析及相关性的研究 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2016.
- [14] 严倩茹, 邬伟魁. 基于 TOPSIS 与灰色关联分析的维 C 银翘片质量评价 [J]. 中国合理用药探索, 2017, 14(2): 34-36.
- [15] 孙千惠, 刘海娇, 杨小玉, 等. 三七本草考证 [J]. 中医药信息, 2017, 34(5): 113-117.
- [16] 王莹, 褚扬, 李伟, 等. 三七中皂苷成分及其药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(9): 1381-1392.
- [17] 陈朝. 三七及其制剂中皂苷类成分含量测定方法研究概述 [J]. 中医药导报, 2017, 23(5): 49-53.