

基于超滤分离行为研究三七总皂苷胶束的缔合规律

沈欣¹, 丘燃云¹, 邢丹彤¹, 张子涵¹, 支兴蕾¹, 李存玉^{1,2,3,4*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023
2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023
3. 江苏省经典名方研究中心, 江苏 南京 210023
4. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 南京 210023

摘要:目的 探究复杂溶液体系中三七皂苷类成分的存在状态, 结合超滤膜分离行为分析三七总皂苷胶束的缔合规律。方法 以三七总皂苷溶液为研究对象, 选用三七皂苷 R₁ 及人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Rd 为指标成分, 选择超滤截留率、透过率和胶束组成比例为考察指标, 分析无机盐浓度、温度、皂苷质量浓度等关键参数对皂苷分子存在状态与超滤行为的影响规律。结果 三七总皂苷因其两性亲水结构在水溶液中易形成胶束, 其超滤分离行为受多种环境因素调控。无机盐通过离子效应及盐析作用影响胶束稳定性: 二价阴离子 SO₄²⁻通过破坏水化层增强疏水作用, 促进胶束形成与析出, 无机盐盐析效应顺序为 Na₂SO₄>MgSO₄>KCl; 单价盐(如 KCl)在低浓度时, 可通过屏蔽电荷促进胶束的缔合, 而高浓度则会加剧盐析效应。人参二醇型皂苷如人参皂苷 Rb₁、Rd, 在无机盐诱导缔合的胶束中参与比例更高, 体现分子结构驱动的缔合倾向。温度升高加剧分子运动, 胶束分子间疏水相互作用减弱, 破坏分子间氢键, 促进胶束分解, 提高超滤透过率、降低截留率。皂苷质量浓度升高增强溶质分子间疏水相互作用和聚集作用, 促进胶束缔合。通过拟合不同溶质质量浓度下的超滤截留率和孔径大小的关系, 推算出截留率为 90%时, 各质量浓度的胶束相对分子质量及其特征成分的内部比例。结果表明, 溶质质量浓度为 10、20 mg/mL 时, 胶束中主要为人参二醇型皂苷, 但胶束缔合程度在低质量浓度下存在局限性; 溶质质量浓度为 30~60 mg/mL 时, 胶束相对分子质量明显升高, 说明高溶质质量浓度促进杂化胶束的形成。结论 揭示了制药参数对三七总皂苷胶束结构与超滤分离效率的调控机制, 为中药制剂中皂苷成分的质量控制及精制工艺优化提供了理论与实践指导。

关键词: 三七总皂苷; 超滤; 胶束; 溶液环境; 截留率; 透过率; 缔合规律; 三七皂苷 R₁; 人参皂苷; 盐析效应

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)05-1666-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.05.008

Investigating micellar aggregation principles of *Panax notoginseng* total saponins based on ultrafiltration separation characteristics

SHEN Xin¹, QIU Ranyun¹, XING Dantong¹, ZHANG Zihan¹, ZHI Xinglei¹, LI Cunyu^{1,2,3,4}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China
3. Jiangsu Province Engineering Research Center of Classical Prescription, Nanjing 210023, China
4. State Key Laboratory of New Technology for Traditional Chinese Medicine Manufacturing Process, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To investigate the existing states of *Panax notoginseng* total saponins in complex solution systems and elucidate the micellar association behavior of total saponins based on their ultrafiltration separation characteristics. **Methods** A total saponins solution of *P. notoginseng* was used as the research subject, with notoginsenoside R₁ and ginsenoside Rg₁, Rb₁, Rd selected as representative analytes. Ultrafiltration rejection rate, permeation rate, and micellar compositional ratio were employed as evaluation indices to analyze how key parameters—including inorganic salt concentration, temperature, and saponin concentration—affect

收稿日期: 2025-10-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(82274106); 中药制药过程控制与智能制造技术国家重点实验室创新项目(NZYXKL240207); 南京中医药大学中药学一流学科科学研究培育项目(ZYXPY2024-006)

作者简介: 沈欣(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制药技术与产品开发。E-mail: 20230895@njucm.edu.cn

*通信作者: 李存玉(1985—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为膜分离原理及产业应用。

Tel: (025)86798186 E-mail: licunyuok@njucm.edu.cn

saponin molecular states and ultrafiltration behavior. **Results** Owing to their amphiphilic structures, the saponins readily form micelles in aqueous solution, and their ultrafiltration performance is regulated by multiple environmental factors. Inorganic salts modulate micellar stability through ionic effects and salting-out actions: the divalent anion SO_4^{2-} disrupts hydration layers and strengthens hydrophobic interactions, thereby promoting micelle formation and precipitation, with salting-out intensity ranked as $\text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{MgSO}_4 > \text{KCl}$. Monovalent salts such as KCl facilitate micellar association at low concentrations via charge shielding, whereas high concentrations intensify salting-out. Dammarane-type saponins, particularly Rb₁ and Rd, showed higher participation in salt-induced micelles, indicating a structure-driven association preference. Increasing temperature enhances molecular motion, weakens hydrophobic interactions and intermolecular hydrogen bonding within micelles, thereby promoting micelle dissociation, increasing permeation rates, and reducing rejection. Elevating saponin concentration strengthens hydrophobic and aggregative interactions among solute molecules, facilitating micelle assembly. By fitting the relationship between ultrafiltration rejection and membrane pore size at different solute concentrations, the molecular weight of micelles at 90% rejection and the internal compositional ratio of characteristic saponins were estimated. The results showed that at 10—20 mg/mL, micelles mainly consisted of diol-type saponins, but their association degree remained limited at low concentrations. At 30—60 mg/mL, the micellar molecular mass increased markedly, indicating that higher solute concentrations promote the formation of hybrid micelles. **Conclusion** This study elucidates the mechanisms by which pharmaceutical processing parameters regulate the micellar structure and ultrafiltration efficiency of *P. notoginseng* total saponins, providing theoretical and practical guidance for quality control and purification process optimization in saponin-based traditional Chinese medicine formulations.

Key words: *Panax notoginseng* total saponins; ultrafiltration; micelles; solution environment; rejection rate; permeability; association law; notoginsenoside R₁; ginsenoside; salting-out effect

中药皂苷类成分多具有调节免疫、改善血脂等多种药理活性，且广泛存在于三七、人参、甘草等药材中，同时也是血塞通注射液、生脉注射液等制剂中的主要药效成分^[1]。三七总皂苷结构含有疏水性三萜苷元和亲水性糖基，表现出类似表面活性剂的物化性质，随着皂苷浓度升高并达到临界胶束浓度（critical micelle concentration, CMC）时，皂苷分子间主要通过疏水相互作用发生缔合，分子间氢键在缔合过程中起到辅助稳定的作用，从而在水溶液中形成相对分子质量（ M_w ）分布多样的胶束。胶束是由两亲性分子在达到 CMC 后自发形成的纳米级聚集体，其结构在溶液中呈现良好的热力学稳定性和均一性，并依靠外层的亲水基团保持有效分散，避免进一步聚集形成大颗粒。在血塞通注射液生产过程中，超滤作为去除热原保障注射液安全性的关键分离技术^[2]，而溶液中三七总皂苷复杂的存在状态引起了超滤分离行为的多样性，可能与胶束缔合状态有关，严重影响制剂质量均一性，是皂苷类制剂生产过程中难以解决的技术难题。

皂苷类成分的缔合行为与溶液中的离子强度、溶质浓度以及温度等因素相关。其中，无机盐的盐析作用会进一步促进皂苷胶束分子间的缔合^[3]。此外，皂苷浓度的增加，也会推动分子间缔合并形成胶束。相反，当温度升高时，皂苷分子的热运动会加剧，同时亲水基的水合作用减弱，疏水基周围的

“冰山结构”也随之被破坏；这些效应共同作用，不利于皂苷胶束的稳定，并通常导致皂苷胶束的解离。在超滤分离过程中，因缺乏“制药参数-皂苷存在状态-分离行为”的相关性分析，在浓度、温度等制药参数和生产环境的干预下，难以阐明三七总皂苷的超滤分离机制，从而无法有效控制有关中药制剂的超滤过程。

胶束缔合系数可以定量计算参与胶束形成的皂苷分子个数，用来反映皂苷类分子由单体态向聚集态转变的分子尺寸变化程度^[4]。胶束缔合系数综合体现了疏水作用、分子间氢键及溶液环境参数（如无机盐、温度、浓度等）对胶束结构的调控。通过分析不同条件下的超滤行为，可借助胶束缔合系数揭示溶液体系中成分状态的变化规律，为优化中药制剂的工艺参数和提升分离过程的可控性提供理论依据。

围绕三七总皂苷胶束状态与制药参数的相关性，以指标性成分三七皂苷 R₁(R₁)及人参皂苷 Rg₁、Rb₁、Rd (Rg₁、Rb₁、Rd) 的透过率为指标^[5]，采用单因素和多因素考察分析，考察皂苷质量浓度、温度对三七总皂苷分离行为的影响规律，通过皂苷胶束缔合系数拟合，分析皂苷存在状态，构建“制药参数-存在状态-分离行为”相关联的三七总皂苷超滤分离规律研究策略，为制药过程中皂苷类成分的有序分离提供技术支撑^[6]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪, PDA 检测器, 美国 Waters 公司; MS105 型电子分析天平, 十万分之一, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; JDT-12A/JDB-12A 型膜分离设备, 南京拓钰医药科技有限公司; ZEW3600 Zetasizer 型纳米粒径检测仪, 英国马尔文公司; AK-040SD 型超声波清洗机, 深圳市钰洁清洗设备有限公司; 1812 型聚醚砜卷式超滤膜, 膜截留 M_w 1 000、3 000、5 000、10 000, 有效滤过面积为 0.30 m^2 , 南京拓钰医药科技有限公司; Millipore 超滤离心管, 5 mL (15 mL 外管), 膜截留 M_w 1 000、3 000、5 000、10 000、30 000、50 000, 有效膜面积 3.0 cm^2 , 美国密理博公司。

1.2 试剂

对照品 R_1 (批号 JZ23123002)、 R_{g1} (批号 JZ22032101)、 R_{b1} (批号 JZ23071210)、 R_d (批号 JZ23071125), 质量分数 $\geq 98.0\%$, 均购自上海源叶生物科技有限公司; 三七总皂苷提取物(其中 4 种成分 R_1 、 R_{g1} 、 R_{b1} 、 R_d 质量比为 0.12 : 0.43 : 0.34 : 0.11, 总质量分数 $\geq 95.0\%$), 批号 JZ22032402, 南京景竹生物科技有限公司; KCl (批号 20230512)、 $MgSO_4$ (批号 20200827)、 Na_2SO_4 (批号 20230328), 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 甲醇、乙腈为色谱纯, 德国 Merck 公司; 水为超纯水, 由 Direct-Q® 5UV 超纯水仪制备; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

分别精密称取干燥至恒定质量的对照品 R_1 10.02 mg、 R_{g1} 13.30 mg、 R_{b1} 15.20 mg、 R_d 10.15 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 得含 4 种对照品成分质量浓度分别为 2.004、2.660、3.040、2.030 mg/mL 的混合对照品溶液^[6]。

2.2 三七总皂苷提取物溶液的制备

精密称取三七总皂苷提取物适量, 加纯水制成质量浓度为 50.00 mg/mL 的三七总皂苷提取物溶液, 在室温 (25 $^{\circ}C$)、功率 240 W、频率 40 kHz 条件下超声 10 min, 即得三七总皂苷提取物溶液。溶液中 R_1 、 R_{g1} 、 R_{b1} 、 R_d 的质量浓度比例为 1 : 4.45 : 2.81 : 0.91。

2.3 三七总皂苷胶束溶液的制备

精密称取三七总皂苷提取物适量, 室温环境 (25 $^{\circ}C$) 下加水超声 (功率 240 W、频率 40 kHz)

溶解, 配制成质量浓度为 50.00 mg/mL 的三七总皂苷提取物溶液, 分别逐步加入无机盐超声溶解, 促进三七总皂苷胶束析出, 无机盐的终点浓度分别达到 KCl 8.05 mol/L、 Na_2SO_4 4.22 mol/L、 $MgSO_4$ 4.98 mol/L 时, 滤过, 分离三七总皂苷提取物溶液中的絮状物沉淀, 加无水乙醇超声 (功率 240 W、频率 40 kHz) 溶解, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得三七总皂苷胶束溶液。

2.4 样品检测

2.4.1 色谱条件^[7] 色谱柱为 Kromasil C_{18} 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~20 min, 20%乙腈; 20~45 min, 20%~46%乙腈; 45~55 min, 46%~55%乙腈; 55~60 min, 55%乙腈; 平衡时间 10 min; 体积流量 1 mL/min; 柱温 25 $^{\circ}C$; 检测波长为 203 nm; 进样量 10 μL 。

2.4.2 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 1、2、5、10、20 μL , 按照“2.4.1”项下色谱条件进样检测, 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 对照品进样量为横坐标 (X) 进行线性回归^[8], 得线性回归方程分别为 $R_1 Y = 375.830 X + 95.428$, $R^2 = 0.999 2$, 线性范围 2.004~40.080 μg ; $R_{g1} Y = 804.820 X + 304.290$, $R^2 = 0.999 3$, 线性范围 2.660~53.200 μg ; $R_{b1} Y = 976.870 X + 418.240$, $R^2 = 0.999 1$, 线性范围 3.040~60.800 μg ; $R_d Y = 317.300 X - 45.758$, $R^2 = 0.999 7$, 线性范围 2.030~40.600 μg ; 结果表明各成分峰面积与进样量之间线性关系良好。

2.5 无机盐对三七总皂苷胶束比例的影响

皂苷类成分在水溶液中具有类表面活性的作用, 质量浓度达到 CMC 后, 分子间通过疏水作用、氢键等作用力缔合形成胶束^[8], 在胶束形成过程中加入无机盐可以破坏皂苷类成分表面水化层、加速胶束形成^[9], 从而呈现出盐析效应, 结果见表 1。根据溶液中胶束析出速度, 分析无机盐的盐析效果为 $Na_2SO_4 > MgSO_4 > KCl$ 。以水溶液中三七总皂苷中

表 1 三七总皂苷胶束中 4 种皂苷质量浓度比例 (25 $^{\circ}C$, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Proportional concentrations of four saponins in micelles (25 $^{\circ}C$, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

溶液环境	浓度/ (mol·L ⁻¹)	4种皂苷质量浓度比例			
		R_1	R_{g1}	R_{b1}	R_d
KCl	8.05	1.00	1.01 \pm 0.03	1.17 \pm 0.03	1.27 \pm 0.02
Na_2SO_4	4.22	1.00	1.04 \pm 0.03	1.08 \pm 0.04	1.10 \pm 0.02
$MgSO_4$	4.98	1.00	1.03 \pm 0.04	1.09 \pm 0.02	1.12 \pm 0.03

4种指标性成分的质量浓度比例为参照,不同的无机盐对皂苷胶束的形成存在差异性。 Na_2SO_4 中 SO_4^{2-} 通过破坏皂苷分子间的水化层,增强其疏水作用,促进皂苷中疏水结构聚集,从而形成胶束。 Na^+ 主要通过静电屏蔽效应,削弱皂苷分子亲水端糖基间的静电斥力,从而促进胶束的紧密堆积。 MgSO_4 中 Mg^{2+} 虽然能与水分子结合形成强水化层,但由于其溶剂化能力较强,削弱了 SO_4^{2-} 破坏水化层的能力,导致皂苷分子聚集形成胶束的能力稍弱于 Na_2SO_4 。与KCl相比,由于 Mg^{2+} 的电荷密度较高,加上 SO_4^{2-} 的二价特性,从而促进胶束的析出。

无机盐促进三七总皂苷胶束析出过程中,人参二醇型皂苷和人参三醇型皂苷的胶束缔合趋势,均表现出浓度驱使和结构驱使样作用,其中人参二醇型皂苷(R_{g_1} 和 R_{b_1})在胶束中参与比例高于人参三醇型皂苷(R_1),可能是溶质浓度驱使 R_{g_1} 和 R_{b_1} 参与胶束的缔合过程,而人参二醇型皂苷在水溶液中的亲水性弱于人参三醇型皂苷,因此呈现出一定的结构驱使胶束缔合的规律。

2.6 无机盐浓度对三七总皂苷胶束比例的影响

配制质量浓度为50 mg/mL的三七总皂苷水溶液,分别添加KCl、 MgSO_4 、 Na_2SO_4 使得三七总皂苷水溶液中相应无机盐的浓度分别见表2。溶液在室温(25 °C)、功率240 W、频率40 kHz条件下超声10 min,滤过,取絮状物沉淀,采用无水乙醇超声溶解,0.45 μm微孔滤膜滤过,滤液采用HPLC法检测三七总皂苷中4种皂苷类成分质量浓度,并计算成分浓度比例,结果见表2。

随着无机盐浓度升高, MgSO_4 和 Na_2SO_4 浓度达到1.66、1.41 mol/L时,溶液中絮状物出现,早于相应浓度的KCl溶液。对比分析,无机盐在促进胶体析出过程中, R_d 参与的比例逐步增加,且升高比例高于 R_{g_1} 和 R_{b_1} ,说明中药复杂溶液体系中,皂苷在达到CMC,因溶质间的相互作用,可能会影响胶束的缔合过程和组成比例。

SO_4^{2-} 在促进胶体析出方面强于 Cl^- ,因为二价阴离子具有较高的电荷密度和较强的溶剂化破坏能力,这使其能够显著削弱水分子之间的相互作用,从而破坏了水化层的完整性,增强了疏水效应。由于皂苷分子中含有亲水头部和疏水尾部,水化层的削弱有助于皂苷分子中的疏水部分相互吸引,从而加速胶束缔合的过程。

无机盐中的阳离子同样具有较高的电荷密度,

表2 KCl、 MgSO_4 、 Na_2SO_4 浓度对胶束组成比例的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of KCl, MgSO_4 , Na_2SO_4 concentrations on compositional ratio of micelles ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

KCl/ (mol·L ⁻¹)	胶束组成比例			
	R ₁	R _{g₁}	R _{b₁}	R _d
1.34	-	-	-	-
2.68	-	-	-	-
4.02	1.00	0.98 ± 0.03	0.93 ± 0.02	0.94 ± 0.03
5.36	1.00	0.99 ± 0.04	0.99 ± 0.02	0.99 ± 0.02
6.71	1.00	1.00 ± 0.03	1.08 ± 0.03	1.15 ± 0.03
8.05	1.00	1.01 ± 0.02	1.17 ± 0.04	1.27 ± 0.04
MgSO ₄ / (mol·L ⁻¹)	胶束组成比例			
	R ₁	R _{g₁}	R _{b₁}	R _d
0.83	-	-	-	-
1.66	1.00	0.95 ± 0.02	0.95 ± 0.04	0.94 ± 0.02
2.49	1.00	0.98 ± 0.02	0.97 ± 0.03	1.03 ± 0.03
3.32	1.00	0.99 ± 0.03	0.99 ± 0.02	1.08 ± 0.02
4.15	1.00	1.01 ± 0.03	1.04 ± 0.02	1.10 ± 0.03
4.98	1.00	1.03 ± 0.03	1.09 ± 0.04	1.12 ± 0.04
Na ₂ SO ₄ / (mol·L ⁻¹)	胶束组成比例			
	R ₁	R _{g₁}	R _{b₁}	R _d
0.70	-	-	-	-
1.41	1.00	0.96 ± 0.03	0.94 ± 0.02	0.94 ± 0.03
2.11	1.00	0.99 ± 0.02	0.95 ± 0.03	0.99 ± 0.02
2.82	1.00	1.01 ± 0.02	1.01 ± 0.03	1.02 ± 0.02
3.52	1.00	1.03 ± 0.04	1.05 ± 0.04	1.06 ± 0.04
4.22	1.00	1.04 ± 0.04	1.08 ± 0.04	1.10 ± 0.03

“-”未发生盐析效应。

“-” means no salting-out effect.

能够增强离子-离子相互作用和电子屏蔽效应,在一定程度上协助阴离子破坏水化层。然而,由于阳离子与溶剂的较强相互作用(如水化作用),其部分溶剂化效应将消耗原本可以用于破坏水化层的离子-溶剂解离能,从而降低了对疏水效应的整体促进作用。因此,二价阳离子的盐析效应强于一价阳离子盐,可以促进胶束析出。

2.7 温度对三七总皂苷胶状态的影响

温度与皂苷缔合行为存在相关性,采用孔径筛分原理^[10]的超滤分离直接表征溶液中皂苷的缔合程度。调节溶液温度为5、10、20、30、40 °C,采用系列孔径(M_w 1 000、3 000、5 000、10 000、30 000、50 000)超滤膜分离质量浓度为50 mg/mL的三七总皂苷溶液,计算三七总皂苷中4种指标性皂苷类成分的透过率,结果见表3。

表3 温度对三七总皂苷超滤透过率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of temperature on ultrafiltration permeability of *P. notoginseng* total saponins ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

温度/ °C	孔径 (M_w)	超滤透过率/%			
		R ₁	R _{g1}	R _{b1}	R _d
5	1 000	3.20±1.26	4.84±1.32	0.99±1.97	1.12±1.64
	3 000	23.14±1.77	21.66±1.54	1.23±1.85	2.75±1.43
	5 000	30.04±1.69	33.41±2.01	4.03±1.37	3.64±1.83
	10 000	43.83±1.33	47.19±1.64	25.24±2.04	24.44±2.06
	30 000	56.45±1.68	62.52±1.79	38.24±1.23	35.74±1.17
10	50 000	63.30±1.25	77.12±1.57	52.90±1.84	53.45±2.01
	1 000	5.20±2.11	5.00±1.73	1.38±1.57	1.19±1.36
	3 000	31.48±1.31	38.78±1.97	8.80±1.55	7.47±1.30
	5 000	44.76±1.77	45.27±1.67	13.03±2.05	12.72±2.00
	10 000	57.41±1.32	58.11±1.41	31.17±1.19	29.33±1.23
20	30 000	66.19±1.43	70.99±1.57	52.71±2.01	50.37±1.09
	50 000	79.34±1.87	84.62±1.23	70.35±1.55	60.84±1.94
	1 000	7.15±2.01	13.14±1.75	1.83±1.64	1.56±1.87
	3 000	37.19±1.13	41.47±1.08	14.72±1.52	12.93±1.45
	5 000	51.11±2.05	57.79±2.14	22.72±2.03	22.67±1.89
30	10 000	69.10±1.35	63.45±1.16	33.12±1.08	31.12±1.76
	30 000	75.91±2.00	72.54±1.78	56.40±1.42	57.99±1.96
	50 000	83.91±1.41	82.81±1.53	84.00±1.22	85.05±1.78
	1 000	12.90±1.69	14.38±1.04	7.42±1.27	6.48±1.39
	3 000	38.76±2.13	34.50±2.07	14.95±1.62	14.24±1.35
40	5 000	56.21±1.88	53.38±1.75	26.84±2.01	25.82±1.59
	10 000	73.60±1.57	79.08±1.62	34.40±1.90	33.63±1.75
	30 000	88.36±1.98	90.57±1.52	66.30±1.36	63.86±1.29
	50 000	90.40±2.00	95.90±2.01	88.87±1.62	86.62±1.58
	1 000	13.21±1.31	15.36±1.25	7.06±1.07	6.16±1.62
	3 000	46.82±2.03	54.16±1.77	27.03±1.24	26.09±1.47
	5 000	77.71±1.02	74.32±1.23	37.20±1.28	36.18±1.70
	10 000	88.99±1.99	89.64±1.74	79.31±2.02	79.42±1.54
	30 000	93.45±2.13	96.61±1.39	90.79±1.72	89.04±1.59
	50 000	95.61±1.37	97.97±1.52	93.49±1.55	91.98±1.60

温度和膜孔径对三七总皂苷胶束缔合与皂苷单体分子透过行为均存在正相关。首先,超滤膜孔径对三七总皂苷胶束的透过具有决定性影响。在小孔径(M_w 1 000~5 000)分离条件下,人参二醇型皂苷(R_{b1}和R_d)透过率低于人参三醇型皂苷(R₁和R_{g1}),表明三七总皂苷主要以胶束或大粒径聚集体形式存在,其中R_{b1}和R_d是胶束的主要组成成分。温度处于较低水平时,胶束缔合度升高,分子团尺寸增大,难以通过膜层。随着膜孔径增大至 M_w 10 000及以上,4种单体皂苷分子的透过率均显著提升,且在 M_w 30 000和50 000时趋于一致,说明

此时超滤膜对分子的筛分作用减弱,胶束缔合对透过行为的影响显著降低。

温度升高通过加剧分子热运动,有效削弱了驱动胶束组装的核心作用力——疏水相互作用、破坏了分子间氢键,从而导致胶束解离,释放出更多皂苷单体,促进溶液中成分状态由胶束状态向分子态转变,更易于通过超滤膜^[11]。表3数据显示,温度升高对人参二醇型皂苷(R_{b1}和R_d)透过率的提升效应更为剧烈,尤其是在膜孔径小于 M_w 10 000时。这有力地证明,人参二醇型皂苷在低温下被大量“锁”在胶束结构中,难以透过;温度升高通过解离胶束,将其“释放”为单体,改善了超滤透过行为。相比之下,人参三醇型皂苷(R₁和R_{g1})本身缔合度低,其透过率随温度的提升主要源于扩散能力的增强,故增幅相对平缓。

超滤过程中三七总皂苷分子透过率的变化主要受2方面因素影响:其一是超滤膜的孔径与皂苷分子的 M_w 匹配关系,体现为分子筛效应;其二是温度对分子间运动和胶束缔合状态的调节作用,温度升高促使胶束裂解,提高单体分子的扩散能力,尤其有利于大分子的透过,这2种分离机制决定了不同条件下三七总皂苷分子的缔合程度。胶束缔合行为在超滤分离过程中起到了重要调节作用。皂苷类化合物因其两亲性结构,易在水溶液中自发形成胶束或聚集体,胶束的粒径远大于单体分子的尺寸,进而影响其在不同孔径膜下的透过效率。

2.8 溶质质量浓度对三七总皂苷胶束状态的影响

溶质质量浓度对三七总皂苷超滤截留率的影响结果见表4,随着溶质质量浓度升高,4种皂苷类成分的截留率均呈现出上升的趋势,说明溶质质量浓度升高引起了胶束分子团尺寸的增加。根据超滤截留 M_w 的计算方法,溶质截留率为90%时,对应的溶质 M_w 可以标示为超滤膜的截留 M_w 。通过拟合系列质量浓度下皂苷类成分在 M_w 1 000~50 000超滤膜截留率的相关性,计算皂苷类成分截留率为90%时对应的超滤膜截留 M_w ,可以用于估算溶液中胶束分子团的 M_w 分布范围。

以 Y 为超滤截留率、 X 为超滤膜孔径,拟合溶质截留率与超滤孔径的相关性数学方程,结果见表5。计算4种皂苷类成分截留率为90%时对应的膜孔径,即为截留率90%时的缔合胶束的分子团质量。三七总皂苷胶束主要由R₁、R_{g1}、R_{b1}和R_d组成,分别计算系列质量浓度下的各成分在胶束中的

表 4 溶质质量浓度对三七总皂苷超滤截留率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effects of solute concentration on ultrafiltration rejection rate of *P. notoginseng* total saponins ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

溶质/ (mg·mL ⁻¹)	孔径 (M _w)	超滤截留率/%				溶质/ (mg·mL ⁻¹)	孔径 (M _w)	超滤截留率/%			
		R ₁	R _{g1}	R _{b1}	R _d			R ₁	R _{g1}	R _{b1}	R _d
10	1 000	72.62±1.13	65.99±1.75	98.08±1.90	96.04±1.52	40	1 000	93.58±1.09	89.13±1.13	99.65±1.23	99.76±1.07
	3 000	46.18±2.01	35.37±1.33	52.09±1.43	84.71±1.97		3 000	85.22±1.80	68.59±1.89	99.15±1.75	99.21±1.99
	5 000	35.21±1.56	35.62±1.42	87.45±1.28	92.08±1.02		5 000	77.36±1.53	58.81±2.07	98.94±1.85	99.00±1.10
	10 000	10.84±1.86	4.98±1.57	13.86±1.86	12.10±1.25		10 000	39.43±1.43	30.61±1.94	72.42±1.26	78.11±1.77
	30 000	10.04±1.50	3.44±1.86	13.46±2.00	14.62±2.11		30 000	16.63±2.03	14.14±1.75	38.44±1.39	41.27±2.05
	50 000	3.73±1.27	1.12±1.60	5.68±1.29	4.64±1.17		50 000	8.57±1.27	4.65±1.54	12.92±1.19	10.53±1.15
20	1 000	88.73±1.32	81.99±1.59	98.70±1.83	97.28±1.20	50	1 000	96.30±1.08	90.94±1.43	99.78±1.22	99.87±2.03
	3 000	54.40±1.46	43.68±2.02	81.10±1.97	96.65±1.66		3 000	86.11±1.42	74.43±1.28	99.36±1.74	99.27±1.87
	5 000	47.07±1.28	37.84±1.83	95.14±1.70	95.62±2.01		5 000	83.86±1.15	68.05±1.08	99.77±1.04	99.10±1.35
	10 000	11.62±2.00	12.12±1.65	14.33±1.39	16.23±1.11		10 000	63.43±1.94	54.47±1.60	77.57±2.05	84.13±1.78
	30 000	10.87±1.98	4.70±1.27	16.02±1.55	17.66±1.82		30 000	35.85±1.10	18.82±1.72	43.85±1.53	47.55±1.07
	50 000	4.67±2.12	1.22±1.63	8.98±1.77	9.29±1.81		50 000	9.37±2.11	9.83±1.32	16.44±1.85	19.69±1.88
30	1 000	92.88±1.13	86.27±1.08	99.46±1.20	99.16±1.37	60	1 000	97.79±1.29	91.20±1.03	99.86±1.10	99.94±1.32
	3 000	70.86±1.06	61.44±1.33	96.16±1.57	98.09±1.64		3 000	94.65±1.36	88.97±1.53	99.45±1.78	99.45±1.02
	5 000	62.60±2.01	44.36±1.90	98.40±1.75	98.23±1.34		5 000	97.38±1.17	95.03±1.26	99.81±1.39	99.48±1.53
	10 000	32.79±1.31	19.03±1.59	56.15±2.03	60.17±1.89		10 000	67.11±1.75	59.79±1.98	82.88±1.23	86.07±1.11
	30 000	11.11±1.88	10.18±1.23	22.06±1.62	22.24±1.96		30 000	42.26±1.45	36.28±2.01	52.55±1.75	54.11±1.30
	50 000	7.75±1.21	3.06±1.38	11.01±1.47	9.68±2.03		50 000	14.89±2.02	27.24±1.58	16.54±1.19	23.11±1.82

表 5 三七总皂苷不同质量浓度下 4 种皂苷类成分超滤孔径和截留率的回归方程

Table 5 Regression equations of pore size and rejection of four saponins at various concentrations of *P. notoginseng* total saponins

三七总皂苷/ (mg·mL ⁻¹)	成分	回归方程	R ²	截留率90% 对应截留M _w	三七总皂苷/ (mg·mL ⁻¹)	成分	回归方程	R ²	截留率90% 对应截留M _w
10	R ₁	Y=-13.635 X+77.494	0.913 8	-	40	R ₁	Y=-19.107 X+120.340	0.945 4	1 590
	R _{g1}	Y=-12.879 X+69.498	0.870 6	-		R _{g1}	Y=-17.541 X+105.720	0.982 7	900
	R _{b1}	Y=-18.614 X+110.250	0.741 2	1 090		R _{b1}	Y=-18.351 X+134.480	0.863 4	2 420
	R _d	Y=-21.350 X+125.420	0.810 8	1 660		R _d	Y=-18.310 X+135.400	0.838 5	2 480
20	R ₁	Y=-16.753 X+94.861	0.901 4	290	50	R ₁	Y=-17.310 X+123.070	0.921 6	1 910
	R _{g1}	Y=-15.615 X+84.909	0.900 3	-		R _{g1}	Y=-16.742 X+111.350	0.950 8	1 280
	R _{b1}	Y=-20.704 X+124.840	0.793 6	1 680		R _{b1}	Y=-17.298 X+133.340	0.844 8	2 500
	R _d	Y=-21.609 X+131.090	0.804 5	1 900		R _d	Y=-16.315 X+132.040	0.810 5	2 580
30	R ₁	Y=-18.135 X+109.800	0.968 0	1 090	60	R ₁	Y=-17.198 X+129.210	0.871 6	2 280
	R _{g1}	Y=-17.005 X+96.906	0.959 8	410		R _{g1}	Y=-14.660 X+117.730	0.849 3	1 890
	R _{b1}	Y=-20.194 X+134.550	0.880 7	2 210		R _{b1}	Y=-16.407 X+132.600	0.810 1	2 600
	R _d	Y=-20.372 X+135.900	0.877 4	2 250		R _d	Y=-15.245 X+130.380	0.806 0	2 650

比例组成。三七总皂苷质量浓度为 10、20 mg/mL 时，溶液中皂苷类成分的缔合程度偏低。三七总皂苷质量浓度为 30 mg/mL 时，R₁、R_{g1}、R_{b1}、R_d 的比例是 0.18 : 0.07 : 0.37 : 0.38；三七总皂苷质量浓度为 40 mg/mL 时，4 种皂苷比例是 0.21 : 0.12 : 0.33 : 0.34；三七总皂苷质量浓度为 50 mg/mL 时，4 种皂苷比例是 0.23 : 0.16 : 0.30 : 0.31；三七总皂

苷质量浓度为 60 mg/mL 时，4 种皂苷比例是 0.24 : 0.20 : 0.28 : 0.28。此方法可计算出复杂溶液体系中形成胶束的内部比例，有利于分析胶束杂化规律。

随着三七总皂苷质量浓度由 30.00 mg/mL 逐步升至 60.00 mg/mL 时，胶束的表观截留 M_w 呈现整体上升趋势，说明较高质量浓度的皂苷可能有利于胶束的进一步聚集与相对稳定。同时，人参三醇型

皂苷 (R_1 和 R_{g1}) 在胶束形成的初始阶段参与度偏低。相比之下, 人参二醇型皂苷 (R_{b1} 和 R_d) 主导了胶束的组成。不同皂苷质量浓度条件下, 胶束内部成分的动力学重排: 在较低质量浓度下以人参二醇型皂苷缔合为主, 而在较高质量浓度下人参三醇型皂苷逐渐共同参与, 从而形成更具杂化特征的胶束结构。基于不同皂苷质量浓度条件下的超滤数据拟合, 对复杂体系中三七总皂苷的胶束缔合特征进行了定量描述。该方法不仅能够较直观地呈现胶束形成及其分子组成变化趋势, 也为理解质量浓度梯度下的缔合机制提供了数据支持。

2.9 溶质浓度对三七总皂苷胶束粒径分布的影响

根据动态光散射 (dynamic light scattering, DLS) 理论测定溶液中胶束的布朗运动, 分析三七总皂苷质量浓度由 20.00 mg/mL 增加至 60.00 mg/mL 时, 溶液的粒径分布变化, 样品采用 3 000 r/min 离心处理 10 min, 取上清液检测粒径分布情况。检测温度为 25 °C, 分散剂纯化水, 波长为 633 nm, 折射率为 1.330。三七总皂苷质量浓度由 20.00 mg/mL 增加至 60.00 mg/mL 时 (图 1), 溶液中皂苷类成分的粒径分布表现出分子态 (<10 nm) 和胶束态 (≥ 10 nm) 的多状态分布特点。随着三七总皂苷质量浓度由 20.00 mg/mL 逐步升至 60.00 mg/mL 时, DLS 测试结果显示, 粒径分布曲线逐步向胶束态迁移。低质量浓度 (20.00 mg/mL) 时, 胶束粒径分布峰主要集中在 105 nm 左右; 质量浓度升至 30.00 mg/mL 时, 胶束粒径分布峰上移至约 120 nm; 40.00 mg/mL 时, 粒径分布峰进一步上移至约 135 nm, 并且峰宽略有增加; 50.00 mg/mL 时, 粒径分布峰位置约为 150 nm, 且小粒径区信号有减弱趋势; 在最高质量浓度 60.00 mg/mL 时, 粒径分布峰位置达到约 1 065 nm, 分布曲线呈现向高粒径分布端延伸的趋势。胶

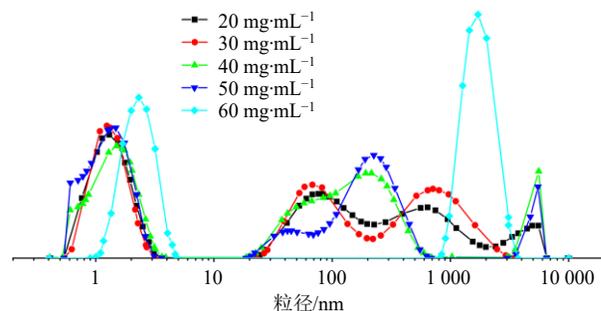


图 1 溶质质量浓度 20~60 mg·mL⁻¹ 时的粒径分布示意图
Fig. 1 Particle size distribution at 20—60 mg·mL⁻¹ solute concentrations

束粒径分布随着皂苷质量浓度的动态变化, 可以佐证三七总皂苷胶束尺寸与溶质质量浓度相关, 直接影响超滤分离行为^[12]。

3 讨论

研究发现, 溶液环境参数对三七总皂苷的胶束缔合行为具有明显的调控作用。由于三七总皂苷兼具亲水糖基和疏水三萜苷元^[13], 其两亲特性决定了胶束形成过程对超滤截留与透过行为的敏感性。无机盐的加入进一步改变了体系中的疏水相互作用和水化结构, 从而影响胶束稳定性。其中, 二价阴离子 SO_4^{2-} 通过削弱亲水基团周围的水化层并增强疏水缔合, 使胶束更易形成并诱导明显的盐析, 盐析速度呈 $Na_2SO_4 > MgSO_4 > KCl$ 。相反, 单价盐 KCl 在低浓度下主要提供电荷屏蔽效应, 但在高浓度时因与水竞争而破坏水化结构, 加速盐析效应。人参二醇型皂苷 (R_{b1} 和 R_d) 在盐效应作用下更易参与胶束缔合, 其相对富集反映了其较强的疏水性对胶束结构具有主导作用。皂苷类成分选择性缔合的现象提示, 三七总皂苷胶束的内部组成受溶液条件调控, 进而可能影响其在分离纯化或体内递送过程中的行为。

温度作为热力学参数, 直接影响皂苷分子间运动和非共价键的稳定性。升高温度可增强三七总皂苷分子间运动, 有效削弱疏水相互作用和分子间氢键, 促进胶束裂解为单体或小聚集体, 改善三七总皂苷分子的超滤透过率, 尤其是疏水性更强的人参二醇型皂苷, 符合超滤的分子筛原理与热力学解聚效应。溶质浓度也是促进三七总皂苷分子形成胶束的关键因素, 当三七总皂苷质量浓度超过其 CMC 时, 皂苷分子通过疏水作用力缔合形成胶束。随着溶质质量浓度的升高, 4 种皂苷类成分的截留率整体上升, 表明随着胶束粒径增大, 结构的稳定性也增强。

基于超滤膜孔径筛分理论, 溶质截留率为 90% 时, 对应的溶质 M_w 可以标示为超滤膜的截留 M_w , 结合不同膜孔径下的截留数据和回归方程, 推算出截留率为 90% 时的特征 M_w 及内部比例。结果表明, 10、20 mg/mL 时, 人参三醇型皂苷几乎不参与缔合, 人参二醇型虽为胶束骨架成分但缔合度有限; 30~60 mg/mL 时, 总胶束 M_w 由约 5 960 增至约 9 420, 显示高溶质质量浓度促进杂化胶束的形成。通过不同质量浓度下的超滤数据拟合, 本研究对三七总皂苷的胶束缔合行为进行了定量表征, 较为直观地展

示了胶束形成及其组成变化趋势,并为理解质量浓度梯度下的缔合机制提供了支持。对比中药皂苷胶束的缔合行为,本研究揭示的浓度相关性趋势与部分报道的“高浓度促进多组分协同装配”结论一致,但在胶束组成比例变化上表现出更明显的人参二醇型向人参三醇型协同转变,说明三七总皂苷体系中分子间作用力和空间构型的浓度敏感性更高。这种差异可能源于三七皂苷特有的糖链结构和亲疏水平衡。

本研究从胶束与表面化学的层面系统揭示了溶液环境参数如何通过调控三七总皂苷的离子化状态、水化作用、分子间氢键及疏水相互作用,进而决定其胶束结构和超滤分离规律。通过构建“制药参数-存在状态-分离行为”的关联框架,为中药复杂溶液体系中皂苷类成分的精准、高效分离提供了坚实的技术支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 韩敏莉,张涛,高涛. 血栓通序贯联合常规治疗在脑梗死恢复期患者中的应用 [J]. 黔南民族医学学报, 2025, 38(3): 325-329.
- [2] 尹楠,郑云枫,彭国平. 基于超滤技术的血塞通注射液的工艺优化 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(1): 159-162.
- [3] 邢丹彤,丘燃云,沈欣,等. 中药复杂溶液环境中成分

存在状态解析及制药控制研究 [J]. 中草药, 2026, 57(3): 1123-1137.

- [4] 罗晓健. 复方丹参多层缓释片及其体内外评价方法的研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2001.
- [5] 李存玉,马赟,陈涛,等. 一种适用于制药行业中快速评价超滤膜孔径的方法 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1603-1608.
- [6] 李存玉,支兴蕾,牛学玉,等. 基于成分状态分析溶液环境对三七总皂苷超滤分离行为的影响 [J]. 中草药, 2019, 50(21): 5246-5252.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 423-424.
- [8] 李存玉,邹雨岑,马莉,等. 超声辅助膜组合技术探索绞股蓝总皂苷部位的分离机制与精制模式 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 91-98.
- [9] 王超,唐年初,刘诚毅. 忧遁草总皂苷的提取工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2023, 42(5): 63-70.
- [10] 李存玉. 超微孔过滤原理的研究与应用 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [11] 饶程. 天然低共熔溶剂对三七皂苷类成分的稳定性及生物利用度的影响研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2024.
- [12] 顾佳美,李存玉,郑云枫,等. 三七总皂苷胶束状态与超滤分离的相关性 [J]. 中成药, 2017, 39(8): 1608-1611.
- [13] 于颖. 阿司匹林-三七总皂苷共递送功能化脂质体的制备与表征 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2024.

[责任编辑 郑礼胜]