

无量山三七的种植模式与皂苷成分分析*

杨崇仁^{1,2,3}, 王 东³, 苏 梅^{1,2}, 乔春玲^{1,2}, 丁艳芬^{1,2}

(1. 云南维和药业股份有限公司, 云南玉溪 653100; 2. 云南省植物提取物工程研究中心, 云南玉溪 653100;
3. 中国科学院昆明植物研究所, 云南昆明 650201)

摘 要 目的: 分析无量山产三七的皂苷成分, 探讨种植模式与药材质量的关系。方法: 应用 HPLC 分析技术, 测定三七中人参皂苷 Rg1, Rb1, Rd, Re 以及三七皂苷 R1 等 5 个主要皂苷成分的含量, 并与文山产三七进行比较。结果: 无量山产三七不同种植年代、不同单株、以及不同地下部位部分的皂苷含量和 5 个主要皂苷的比例均有显著差异, 与文山三七单株分析结果相同。无量山产三七 3 年生植株与文山三七的质量相似, 4 年生植株显著优于文山三七。药材的质量不仅与种植年代有关, 单株差异也十分显著。结论: 无量山产三七采用传统模式种植, 有利于药材质量的保证和种质资源的保护, 种植成本低, 符合有机农业的要求, 有显著的生态效应, 值得在云南山区适宜地区推广。

关键词 三七; 皂苷; 含量分析; 栽培模式

中图分类号: R282.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000—2723(2012)03—0001—05

三七 [*Panax notoginseng*(Burk.) F. H. Chen] 为五加科植物, 是我国特有中药材, 也是云南重要的药用植物资源, 是中药和天然药物产业的重要原料^[1]。随着化学与生物学活性研究的深入, 三七在中医药以及医疗保健领域的应用日益广泛^[2]。三七是原产我国西南地区亚热带中山湿性常绿阔叶林的林下草本植物, 对光照、温度、湿度、土壤等生态因子十分敏感, 由于长期采集, 野生资源已难以寻迹。长期以来, 三七种苗以农民自繁、自用为主, 这使三七成为混杂的农家品系, 田间表型变异多样, 药材质量不稳定。由于规模化种植条件尚不能完全适应三七的生态要求, 病害日愈严重, 滥用农药导致抗性降低、农药残留超标、药材质量急速下降、种质资源退化, 加之连作障碍造成的环境压力, 对现行的种植模式和种植技术提出了挑战。云南省文山州是三七的道地产区, 但适种土地越来越少, 异地种植已成为当务之急。

南涧县无量山三七种植区地处北纬 24°, 东经 100°, 海拔 1 860 m 的民家房前, 朝向西南的山中凹地上, 坡度约 25°, 四周种有蔬菜和玉米等作物, 周围山地为云南松和桉木等混交林, 远山和近处的森林植被发育良好, 小环境温度均衡, 湿度较

大。无量三七种植的土壤系无量山地区森林黄棕壤, 有机质丰富, 松软, 通透性较红壤好, 在土壤基质中加入腐殖质和沤熟的圈肥, 增加土壤的肥力, 有利于三七的生长与根系的发育且透气利水。种植园用山竹子和紫茎泽兰搭棚, 透光度适中, 通风透气, 园内清洁, 少有杂物。

与文山等传统三七种植地区相比较, 南涧无量山纬度和海拔较高, 森林植被发育良好, 小生境多样化。无量山三七种植园地周边森林覆盖指数高, 雨量充沛, 旱季云雾缭绕, 空气湿度大, 入夜土壤回潮, 晨雾午时方散, 冬季的霜冻抑制园内病虫害的生长, 春季温度回升较迟, 使幼苗避开倒春寒的侵袭。园内温凉均衡, 光照和湿度适中, 生态环境适宜三七生长。

为了评价异地种植的药材质量, 对种植技术和种植模式进行探索。同时, 为发展云南山区特色中药农业经济提供思路和依据, 我们对无量山产三七进行了系统的研究。本文报道无量山产三七皂苷成分的分析结果。并对无量山三七种植模式进行初步讨论。

1 仪器、试剂

仪器: Agilent 1 200 高压液相色谱仪, 含在线

* 收稿日期: 2012—04—10 修回日期: 2012—05—25

作者简介: 杨崇仁 (1942 ~), 男, 云南昆明人, 药学博士, 教授, 博士生导师。从事植物化学与植物资源研究。

真空脱气机 (G-1322A), 高压四元梯度泵 (G-1311A)、标准自动进样器 (G-1313A)、智能化柱温箱 (G-1316A)、可变波长紫外检测器 (G-1314A)、二极管紫外检测器, Agilent 1200 series 色谱工作站。超纯水系统 (MILLIPORE)。

试剂: 色谱纯乙腈 (德国默克), 分析纯甲醇 (天津化工厂), 纯水。三七总皂苷对照提取物 (经云南省药品检验所标定), 含人参皂苷 Rg1 29.58%, Re 4.18%, Rb1 30.48%, Rd 7.59%, 三七皂苷 R1 7.47%。

2 分析样品

无量山产三七采自云南省大理州南涧县无量山区, 北纬 24°, 东经 100°地区, 海拔 1860m。采集同一草棚中不同栽培年份的三七单株, 取根部, 清水洗净, 45℃真空干燥至恒重。对照分析样品文山三七为市售药材。

3 实验方法

3.1 水分测定

按中国药典 (2010 年版一部附录 IX H 第一法) [3]。

3.2 含量测定

按中国药典 (2010 年版一部)

3.2.1 高压液相色谱条件与系统适应性实验

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ 柱 (5μm, 4.6mm × 250mm); 流动相: 乙腈 (A) - 水 (B) 梯度洗脱, 0 - 20min, 20% (A), 20 - 45min, 20% - 46% (A), 45 - 55min, 46% - 55% (A), 55 - 60min, 55% (A); 柱温: 25℃; 检测波长 203nm; 分析时间:

60min; 流速: 1.5mL/min; 进样量: 供试品溶液与对照品溶液各 10μL; 人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Re 的分离度应大于 1.5。理论塔板数按人参皂苷 Rg1 峰计算应不低于 6000。

3.2.2 对照提取物溶液的制备

取三七总皂苷对照提取物适量, 精密称定, 加 70% 甲醇溶解, 稀释, 制成每 1mL 含 2.5mg 的溶液。

3.2.3 供试品溶液的制备

分别取测试样品, 粉碎, 过 4 号筛, 精密称取各 0.6g, 加入甲醇 50mL, 称定重量, 放置过夜, 置 80℃水浴上保持微沸 2h, 放冷, 再称重, 并用甲醇补足重量, 摇匀, 滤过, 滤液供测试。

3.2.4 测定法

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10μL, 注入液相色谱仪, 测定。

4 结果

该三七棚以种植 4 年的三七为主, 分析样品包括 7 年生单株 (1 株) (No. 1, 17, 33, 37, 46)、5 年生单株 (1 株) (No. 2, 18, 34, 38, 47)、4 年生单株 (11 株) (No. 3 - 13, 19 - 29, 35, 39 - 44, 48 - 58)、4 年生植株 (5 株合并) (No. 14, 30, 58)、以及 3 年生植株 (7 株合并) (No. 15, 31)。取根茎、主根、筋条、侧根和须根分别进行分析。按《中国药典》(2010 年版一部) 的要求, 以三七根的 5 个主要皂苷成分 (人参皂苷 Rg1, Rb1, Re, Rd 和三七皂苷 R1) 为指标进行含量分析, 结果如表 1。

表 1 三七皂苷的 HPLC 含量分析结果

植株	生长年份	检测部位	重量/g	水分/%	R1/%	Rg1/%	Re/%	Rb1/%	Rd/%	总和/%
1	7 年生	剪口	10.72	9.2	1.94	9.48	4.57	7.55	0.97	24.51
2	5 年生	剪口	5.34	9.1	3.10	9.36	0.68	10.00	1.30	24.44
3	4 年生 A	剪口	3.95	8.0	3.42	10.24	0.73	10.22	1.61	26.22
4	4 年生 B	剪口	5.79	9.7	2.58	9.32	1.22	5.99	0.84	19.95
5	4 年生 C	剪口	4.80	11.3	6.39	6.05	0.39	5.43	0.68	18.94
6	4 年生 D	剪口	0.86	10.3	2.07	7.69	0.93	6.71	1.51	18.91
7	4 年生 E	剪口	7.96	10.3	5.07	4.26	0.95	5.84	1.31	17.43
8	4 年生 F	剪口	1.05	9.8	1.46	9.53	0.32	4.84	0.97	17.12
9	4 年生 G	剪口	5.77	8.9	2.47	8.90	0.80	4.19	0.62	16.98
10	4 年生 H	剪口	8.89	9.4	2.30	6.16	0.96	6.17	0.64	16.23

续表1

三七皂苷的 HPLC 含量分析结果

植株	生长年份	检测部位	重量/g	水分/%	R1/%	Rg1/%	Re/%	Rb1/%	Rd/%	总和/%
11	4年生 I	剪口	1.09	10.8	1.27	6.95	0.95	6.03	0.76	15.96
12	4年生 J	剪口	0.62	10.5	5.22	4.58	0.84	3.65	0.46	14.75
13	4年生 K	剪口	0.65	12.5	1.18	6.54	0.89	5.39	0.44	14.44
14	4年生	剪口	3.44	9.6	1.34	4.36	0.24	3.80	0.29	10.03
15	3年生	剪口	1.23	10.1	0.83	5.28	0.70	2.79	0.26	9.86
16	文山3年生	剪口		12.2	1.03	4.93	0.62	4.96	0.98	12.52
17	7年生	主根	6.12	9.4	2.04	11.28	4.84	7.24	0.84	26.24
18	5年生	主根	7.91	8.6	2.16	7.94	0.89	8.59	0.96	20.54
19	4年生 A	主根	8.13	8.1	3.26	12.26	1.33	9.68	1.56	28.09
20	4年生 B	主根	9.77	9.6	2.20	8.80	0.11	4.24	0.81	16.16
21	4年生 C	主根	11.28	8.5	5.20	4.98	0.61	4.48	0.96	11.23
22	4年生 D	主根	4.61	9.8	0.87	4.08	0.22	3.22	0.60	8.99
23	4年生 E	主根	24.83	10.9	3.58	2.62	0.40	4.36	1.26	12.22
24	4年生 F	主根	6.37	11.3	0.79	4.16	0	2.57	0.73	8.25
25	4年生 G	主根	11.73	9.1	1.33	5.67	0.12	2.26	0.41	9.79
26	4年生 H	主根	16.71	8.9	2.00	5.39	0.41	4.68	0.54	13.02
27	4年生 I	主根	1.66	9.7	1.08	10.52	0.39	4.37	0.62	16.98
28	4年生 J	主根	3.80	9.4	3.31	3.58	0.21	2.12	0.40	9.62
29	4年生 K	主根	1.56	11.2	1.42	5.20	0.36	5.80	0.46	13.24
30	4年生	主根	8.75	9.1	0.92	4.76	0.40	2.63	0.25	8.96
31	3年生	主根	2.65	9.7	1.29	2.96	0.14	2.58	0.19	7.16
32	文山3年生	主根		13.3	0.65	3.28	0.43	2.72	0.47	7.55
33	7年生	筋条	10.55	8.2	1.81	9.74	4.34	6.18	0.62	22.69
34	5年生	筋条	16.84	8.5	1.70	6.05	0.78	6.42	0.70	15.65
35	4年生 H	筋条	4.11	9.6	2.42	4.55	0.23	5.00	0.56	12.76
36	文山3年生	筋条		11.0	0.50	1.77	0.22	1.38	0.20	4.07
37	7年生	侧根	5.71	9.5	2.00	7.46	2.75	5.79	0.51	18.51
38	5年生	侧根	9.21	8.2	1.74	5.26	0.74	5.84	0.60	14.18
39	4年生 A	侧根	4.72	9.7	3.44	11.45	1.27	10.01	1.44	27.61
40	4年生 B	侧根	4.66	9.4	1.83	6.20	0	3.39	0.64	21.46
41	4年生 C	侧根	7.27	9.2	4.17	3.07	0.25	3.89	1.07	12.45
42	4年生 E	侧根	5.50	9.4	3.08	2.10	0.34	4.00	1.20	10.72
43	4年生 G	侧根	3.91	10.0	1.13	4.43	0.05	1.84	0.36	7.81
44	4年生 H	侧根	4.25	9.2	1.86	4.56	0.34	3.62	0.40	10.78
45	文山3年生	侧根		10.5	0.56	1.85	0.12	1.85	0.3	4.68
46	7年生	须根	1.93	10.55	1.04	4.16	0	2.57	0.73	8.25
47	5年生	须根	2.94	9.3	1.60	4.42	0.52	4.76	0.33	11.63
48	4年生 A	须根	1.91	9.7	1.29	5.17	0.69	3.12	0.30	10.57

续表 1三七皂苷的 HPLC 含量分析结果

植株	生长年份	检测部位	重量/g	水分/%	R1/%	Rg1/%	Re/%	Rb1/%	Rd/%	总和/%
49	4 年生 B	须根	1.96	9.6	1.10	4.04	0.24	1.70	0.18	7.26
50	4 年生 C	须根	1.52	9.58	1.93	2.26	0.13	1.27	0.29	5.88
51	4 年生 D	须根	0.34		0.80	3.50	0.27	2.05	0.49	7.11
52	4 年生 E	须根	0.90	10.4	1.14	0.89	0.25	2.38	0.38	5.04
53	4 年生 F	须根	1.03	10.8	0.58	3.66	0.15	1.76	0.35	6.50
54	4 年生 G	须根	5.42	9.8	1.17	3.36	0	1.68	0.18	6.39
55	4 年生 H	须根	1.44	9.1	0.76	2.04	0.35	1.22	0.08	4.45
56	4 年生 I	须根	1.18	10.06	0.82	7.04	0.38	2.98	0.43	11.65
57	4 年生 J	须根	0.44	10.5	1.75	2.00	0.18	1.13	0.30	5.36
58	4 年生 K	须根	0.24	10.4	0.86	3.07	0.40	1.92	0.10	6.35
59	文山 3 年生	须根		10.16	0.56	2.19	0.25	1.08	0.10	4.18

因样品采集困难，7 年生和 5 年生、3 年生样品较少，但从数据可以看出，种植时间越长，有效成分越高。

按中国药典和三七总皂苷原料药产品的质量要求，将 4 年生三七不同部位的 5 个单体皂苷相加，结果如表 2:

表 2 无量山 4 年生三七 5 个总皂的和

样品	重量/g	5 个皂苷的和/%
4 年生 A	17.09	25.80
4 年生 B	20.05	17.48
4 年生 C	22.55	12.72
4 年生 D	5.27	10.32
4 年生 E	35.05	12.90
4 年生 F	7.52	9.15
4 年生 G	24.33	10.37
4 年生 H	32.16	13.18
4 年生 I	3.53	15.10
4 年生 J	4.50	9.91
4 年生 K	2.19	12.80
平均值	15.84	13.61
RSD/%	75.21	34.68

由上表得知，单株重量及 5 个主要皂苷含量之和差异较大，RDS 分别为 75.21%（> 5.0%）、

34.68%（> 5.0%），这和文山单株分析结果相同^[4]。将 4 年生三七按地下部位汇总，结果见表 3。

表 3 4 年生无量山三七 5 个主要皂苷的含量

品名	重量/g	五个单体总和/%
4 年生剪口	3.40	18.38
4 年生主根	8.25	13.25
4 年生筋条	3.72	12.76
4 年生须根	1.35	7.05

同一植株，5 个主要皂苷的和呈以下的趋势：剪口 > 主根 > 筋条 > 须根。这一趋势与文山等传统栽培地区一致，只是植株各部位的含量均明显高于后者。

5 讨论

分析结果表明，栽培三七个体间皂苷成分的含量差异十分显著，具有多样化的特点，与过去在文山的分析结果基本一致^[4]。多数植株的人参皂苷 Rg1 含量高于 Rb1，个别植株（例如：5 年生 No. 2，18，34，38，46；4 年生样品 E，No. 7，23，42，51）则反之。值得注意的是，与我们曾分析的文山三七的结果相同，无量山产三七也发现有富含三七皂苷 R1 的个体，其含量达 5% 以上。这一结果显示，对三七种植的进一步研究及优质种质资源的筛选是非常重要的。

4 年生无量山产三七剪口、主根、筋条和侧根

的5个皂苷之和均符合国家药典的要求,并与文山三七相接近,应属于优质的三七药材。4年生植株的皂苷含量明显高于3年生和文山三七(3年生)。提示三七的种植年份对于药材质量有重要的影响。上世纪80年代之前,三七通常种植5年采收。由于规模化种植引起病害严重,以及作为中成药原料工业生产的需求增加,加之考虑成本的因素等,逐渐改变为育苗1年,移栽2年的3年种植方式^[3]。

从无量山产三七的分析结果,以及我们最近报道的云南红河州栽培三七的分析结果均证明^[4],只要选择适宜的种植环境,采取合理的栽培管理措施,三七异地种植不会引起药材的质量下降。

无量山山区村民用传统方式栽培三七,选择适宜的小环境,采用简易荫棚,施用大量腐殖土和农家肥,病害少,不施农药和化肥。管理粗放,种植成本低,连续种植10多年未发现连作障碍。与规模化大面积种植出现的问题相比较,具有显著的优势,且符合有机农业的要求。显然,充分利用云南山区生态环境多样化的特点,采取化整为零的方式,选择适宜的小环境,发展特色三七种植业,对于保证三七药材质量,保护种质资源,促进三七产业可持续发展,改变山区农村经济结构,增加农民

收入,繁荣山区经济,保护山区生态环境等均有着重要的意义。应引起重视,并进一步探索和推广。

致谢:邓德山,苏国海,李萍萍参加部分工作。

参考文献

- [1] 郑光植,杨崇仁.三七——生物学及其应用[M].昆明:云南科技出版社,1994.
- [2] 魏均娴,杜元冲.三七现代科学与应用[M].昆明:云南科技出版社,1996.
- [3] 中国药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:北京科技出版社,2010.
- [4] 游建军,龙莉,王东.三七不同单株的皂苷成分比较分析[J].云南中医学院学报,2009,32(4):10-13.
- [5] 王东.植物活性成分的生物转化及重要中药三七和龙胆的进一步研究[D].中国科学院昆明植物研究所博士学位论文,2005.
- [6] 乔春玲,官金梅,丁艳芬,等.不同产地三七皂苷的HPLC指纹图谱与含量的比较研究[J].现代中药研究与实践,2011,25(5):25-27.

(编辑:迟越)

The Discussion of Saponin Constituents and Cultivated Pattern of Notoginseng in Wuliang Mountain

YANG Chong-ren^{1,2,3}, WANG Dong³, SU Mei^{1,2}, QIAO Chun-ling^{1,2}, DING Yan-fen^{1,2}

(1. Yunnan Weihe Pharmaceuticals Co. Ltd. Yuxi Yunnan 653100, China;

2. Yunnan Engineering Research Center of Plant Extracts, Yuxi Yunnan 653100, China;

3. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan 650201, China)

[ABSTRACT] Objective: Analysis of saponin constituents of notoginseng from Wuliang Mountain and discussion the relationship between cultivated pattern and herbal quality. Methods: By means of HPLC techniques the content of five major saponins: ginsenoside Rg1, Rb1, Rd, Re and notoginsenoside R1 were determined and compared between Wulian and Wenshan. Results: The results showed significant differences of the content and the ratio of the main saponins of notoginseng between Wuliang Mountain and other cultivate areas, that including different ages, different individuals and different underground parts of cultivated plants. Conclusion: It is noticed that the traditional cultivate model in Wuliang Mountain is beneficial to product quality and germplasm resources protection of notoginseng. This cultivate model is much suited to the mountain area of Yunnan since its low planting cost, organic as well as the obvious ecological effect.

[KEY WORDS] *Panax notoginseng*; saponins; cultivated model; Wuliang mountain