

# 椴木总皂苷提取物在不同介质中平衡溶解度的测定

刘艳<sup>1</sup>, 何兵<sup>1</sup>, 熊伟<sup>2</sup>, 李春红<sup>1</sup>, 田吉<sup>1\*</sup>

(1. 泸州医学院药物与功能性食品中心, 四川 泸州 646000;

2. 泸州医学院公共卫生学院, 四川 泸州 646000)

**[摘要]** 目的:测定椴木总皂苷在水,0.1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸和不同 pH 磷酸盐缓冲液中的平衡溶解度,为椴木总皂苷提取物的剂型设计提供实验依据。方法:以椴木皂苷 A 为指标,采用 HPLC 测定椴木皂苷 A 在不同介质中平衡溶解度,流动相乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~18 min,35%~43% A;18~19 min,43% A;19~25 min,43%~35% A),检测波长 205 nm。结果:37℃时,椴木皂苷 A 在水,0.1 mol·L<sup>-1</sup>盐酸和 pH 2,4,6,7,8,10 的磷酸盐缓冲液中平衡溶解度分别为 1.780,0.241,0.420,0.472,1.196,1.746,0.180,0.242 g·L<sup>-1</sup>。结论:椴木总皂苷提取物微溶于水,但受介质的 pH 影响大。

**[关键词]** 椴木总皂苷; 椴木皂苷 A; 平衡溶解度; 磷酸盐缓冲液

**[中图分类号]** R283.6;R284.1;R282.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0051-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200051

## Determination of Equilibrium Solubilities of Total Saponins Extract from *Aralia chinensis* in Different Mediums

LIU Yan<sup>1</sup>, HE Bing<sup>1</sup>, XIONG Wei<sup>2</sup>, LI Chun-hong<sup>1</sup>, TIAN Ji<sup>1\*</sup>

(1. Research Center for Drug and Function Food, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China;

2. School of Public Health, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for determination equilibrium solubilities of total saponins extract from *Aralia chinensis* in different mediums. **Method:** Taking araloside A as index, an HPLC method was performed and adopted to detect the concentration of araloside A in water, 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl and different phosphate buffer with pH of 2, 4, 6, 7, 8, 10 at 37℃, mobile phase of acetonitrile (A)-0.1% phosphoric acid solution (B) for gradient elution (0-18 min, 35%-43% A; 18-19 min, 43% A; 19-25 min, 43%-35% A), detection wavelength was set at 205 nm. **Result:** Equilibrium solubilities of araloside A in different mediums were 1.780, 0.241, 0.420, 0.472, 1.196, 1.746, 0.180, 0.242 g·L<sup>-1</sup>. **Conclusion:** Total saponins extract from *A. chinensis* dissolves in water, its equilibrium solubility is influenced greatly by pH values.

**[Key words]** total saponins from *Aralia chinensis*; araloside A; equilibrium solubility; phosphate buffer

椴木又称椴木白皮,为五加科植物椴木 *Aralia chinensis* 的根皮,具有祛风湿、利小便、散瘀血、消肿毒的功效<sup>[1]</sup>。皂苷类成分为椴木属植物的有效部位,具有抗肿瘤、强壮、增强免疫、抗病毒等作用<sup>[2]</sup>。前期研究发现椴木总皂苷的体内外抗肿瘤作用突出,可抑制小鼠 S180, H22 移植性肿瘤,提高荷瘤小

鼠的胸腺指数和脾指数,且无明显毒性作用。将该成分制成普通口服胶囊剂治疗消化道肿瘤,存在给药频繁、患者顺应性差的问题,故考虑改制成缓控释制剂<sup>[3-4]</sup>。药物吸收的前提是药物在吸收部位呈现溶解状态,若药物的溶解速度小于吸收速度,溶解则成为吸收过程的限速步骤<sup>[5-6]</sup>。故本实验选择水,

**[收稿日期]** 20140318(002)

**[基金项目]** 泸州市科技局项目(泸市科[2011]108号);泸州医学院2013年青年基金项目(2013ZRQN084)

**[第一作者]** 刘艳,硕士,助理研究员,从事药物制剂研究,Tel:15283007251,E-mail:liuyanlucky@126.com

**[通讯作者]** \*田吉,硕士,研究员,从事药物制剂研究,E-mail:759211049@qq.com

0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸及 pH 2~8 磷酸盐缓冲液为溶剂,模拟胃肠液的酸碱环境,以橐木皂苷 A 为指标成分,采用 HPLC 测定橐木总皂苷在不同介质中平衡溶解度,为橐木总皂苷缓控释新剂型的研制及其体内外评价奠定基础。

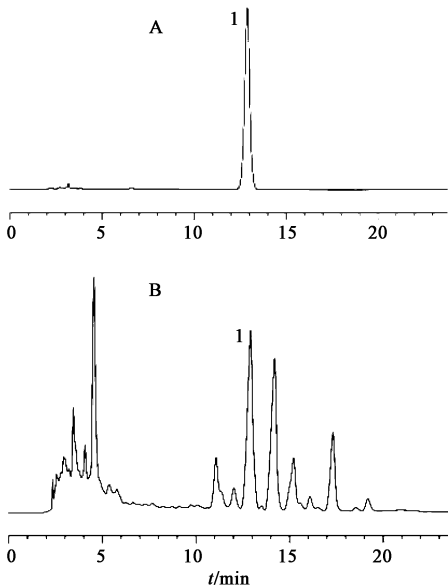
### 1 材料

P680A 型高效液相色谱仪(美国戴安公司),XR 205SM-DR 型 1/10 万电子天平(瑞士 Precisa 公司),PB-10 型 pH 计(德国赛多利斯公司),Milli-Q Advantage A10 型超纯水系统(美国密理博公司)。橐木总皂苷提取物(自制,总皂苷质量分数以橐木皂苷 A 计>63.8%),橐木皂苷 A 对照品(沈阳药科大学宋少江教授提供,经 HPLC 峰面积归一化法计算纯度>98%),乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 橐木皂苷 A 的含量测定<sup>[7-8]</sup>

**2.1.1 色谱条件** 依利特 SinoChrom ODS-BP 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~18 min,35%~43% A;18~19 min,43% A;19~25 min,43%~35% A),检测波长 205 nm,柱温 30℃,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 5 μL。结果显示橐木皂苷 A 与相邻色谱峰的分度度>1.5,理论塔板数以橐木皂苷 A 峰计大于 10 000,溶剂无干扰,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;1. 橐木皂苷 A

图 1 橐木总皂苷提取物 HPLC

**2.1.2 线性关系考察** 精密称取橐木皂苷 A 对照品 12.65 mg,加 35% 乙腈 10 mL 制成 1.265 g·L<sup>-1</sup>

的对照品溶液。精密吸取该溶液加 30% 乙腈稀释 5 倍,精密吸取 2.5,5.0,7.5,10.0,15.0,20,100 μL 注入液相色谱仪,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程  $Y = 833.671X - 0.283$  ( $r = 0.9999$ ),结果表明橐木皂苷 A 在 0.6325~25.300 μg 与峰面积有良好线性关系。

**2.1.3 精密度试验** 精密量取对照品溶液 5 μL,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 5 次,记录橐木皂苷 A 峰面积的 RSD 0.75%,表明仪器精密度良好。

#### 2.2 平衡溶解度的测定

**2.2.1 缓冲液的制备** 取 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸二氢钾溶液,加 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠调制 pH 2,4,6,7,8,10 的系列磷酸盐缓冲液。

**2.2.2 溶解平衡时间的测定** 取水,0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液及 pH 2,4,6,7,8,10 的磷酸盐缓冲液各 25 mL,分别置于 100 mL 锥形瓶中,加入过量橐木总皂苷提取物,直到管壁上挂有不溶解的总皂苷为止。放入恒温水浴振荡器中,温度保持在(37±1)℃,每隔 1 h 吸取上清液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.1.1 项下色谱条件测定,记录峰面积,计算橐木皂苷 A 含量,绘制质量-时间曲线,以确定该成分达溶解平衡的时间点,见图 2~5。结果表明橐木皂苷 A 在水,0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸中分别在第 6,5 h 溶解时达平衡;橐木皂苷 A 在 pH 2,4 缓冲液中分别在第 4,5 h 时溶解达平衡;橐木皂苷 A 在 pH 6,7 缓冲液中分别在第 7,6 h 时溶解达平衡;橐木皂苷 A 在 pH 8,10 缓冲液中分别在第 4,6 h 时溶解达平衡。

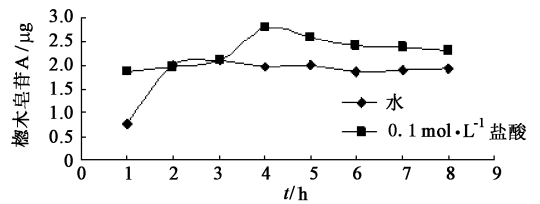


图 2 橐木皂苷 A 在 37℃ 水和 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸中溶解曲线

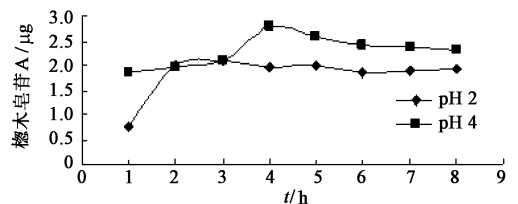


图 3 橐木皂苷 A 在 37℃ 不同 pH 2,4 磷酸盐缓冲液中溶解曲线

**2.2.3 样品测定** 在不同 10 mL 离心管中加入以下 8 种溶剂(水,0.1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸溶液及 pH 2,4,6,7,8,10 的磷酸盐缓冲液)各 2 mL,加入过量橐木总

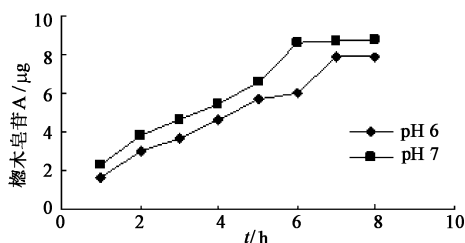


图4 椴木皂苷 A 在 37 °C 不同 pH 6,7 磷酸盐缓冲液中溶解曲线

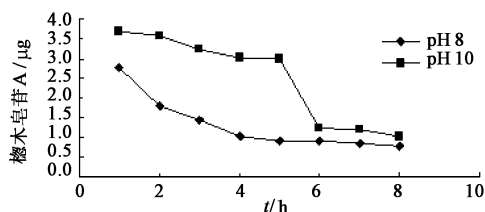


图5 椴木皂苷 A 在 37 °C 不同 pH 8,10 磷酸盐缓冲液中溶解曲线

皂苷提取物,直到管壁上挂有不溶解的总皂苷为止。分别用封口膜封好后放入恒温水浴振荡器中,温度保持在 $(37 \pm 1)$  °C,振摇 12 h 使其达到充分溶解后,混悬液于 $3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,上清液过 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜,取续滤液按 2.1.1 项下色谱条件测定,超出线性范围的样品用 35% 乙腈稀释一定倍数后进样,记录峰面积,计算椴木皂苷 A 在各介质中平衡溶解度分别为 1.780, 0.241, 0.420, 0.472, 1.196, 1.746, 0.180, 0.242  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结果显示椴木皂苷 A 在酸性磷酸盐缓冲液中平衡溶解度减小;pH 为中性时又增大;缓冲液 pH 增加为碱性时,平衡溶解度减小。提示椴木皂苷 A 在中性环境中溶解度最大,在酸性及碱性溶液中的溶解度减小。

### 3 讨论

椴木总皂苷提取物中含有多种三萜皂苷,椴木皂苷 A 为其中一种,含量较高,作为指标成分研究提取物的平衡溶解度,具有一定代表性。由于体内温度约 37 °C,胃肠道的生理 pH 1.4 ~ 8.0,故选择温度 $(37 \pm 1)$  °C,选用 pH 2 ~ 10 磷酸盐缓冲液和 $0.10\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl 溶液(pH 约 1.2)为溶剂。

本文测得椴木皂苷 A 在 37 °C 水中平衡溶解度 $1.780\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,根据 2010 年版《中国药典》对药物溶解度的表述<sup>[9]</sup>,表现为微溶于水,说明在人体温度下,椴木皂苷 A 在水中溶解性能不好,而缓控释制剂候选药物溶解度应不低于 $0.1\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[10]</sup>,提示椴木皂苷 A 可开发成缓、控释制剂。皂苷类成分的极性较大,根据相似相溶原理,一般易溶于水,而测定

结果显示其在水中平衡溶解度较低,原因可能是使用的是椴木总皂苷提取物纯度仅 68%,提取物中其他成分可能对溶解度存在一定影响。

实验结果显示 pH 对椴木皂苷 A 的平衡溶解度具有一定的影响。pH 2,4 时椴木皂苷 A 平衡溶解度减小;pH 5 ~ 7 时,椴木皂苷 A 平衡溶解度随 pH 的增加而增加;至 pH 8 时反而下降。原因可能是由于椴木皂苷 A 为酸性化合物,当 pH 较低时,药物以分子型为主要存在形式,平衡溶解度较小;pH 增大时,椴木皂苷 A 溶解度减小,质量浓度减小,推测可能是在碱性环境中三萜类化合物的酯键水解影响了溶液中椴木皂苷 A 的浓度,具体水解产物或机制有待采用液质方法进一步确认。

口服药物给药系统的扩散和溶出主要取决于药物在 pH 发生变化的胃液酸碱水性介质中溶解度,目前未见有相关研究报道椴木总皂苷在人体温度 37 °C 和胃液酸碱环境水性介质条件下的溶解度,本文为椴木总皂苷缓、控释给药系统的研究打下基础。

### [参考文献]

- [1] 湖南省卫生厅. 湖南中药材标准[S]. 长沙:湖南省科学技术出版社,1993:339.
- [2] 王忠壮,郑汉臣,苏中式,等. 8 种椴木属药用植物化学成分分析[J]. 中国中药杂志,1994,19(1):6.
- [3] 任美萍,刘明华,陈怡,等. 椴木皂苷抗肿瘤活性研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(10):2417.
- [4] 李蓉,张潇,任美萍,等. 椴木总皂苷对 S180 小鼠肿瘤生长及免疫细胞功能的影响[J]. 重庆医科大学学报,2011,36(2):148.
- [5] 张阳阳,陈莉,张莉,等. 积雪草苷平衡溶解度和油水分配系数的测定[J]. 解放军药学学报,2013,29(3):189.
- [6] 罗喜荣,任荣,钱志瑶,等. HPLC 法测定柠檬苦素的平衡溶解度和表观油水分配系数[J]. 药物分析杂志,2013,33(10):1711.
- [7] 李丽. 辽东椴木芽的化学成分及根皮的质量标准研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2006.
- [8] 刘艳,田吉,何兵,等. HPLC 测定不同产地椴木中的椴木皂苷 A[J]. 华西药学杂志,2010,25(2):217.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:15.
- [10] 唐星. 口服缓控释制剂[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:15.

[责任编辑 刘德文]