

酸枣仁总黄酮和总皂苷部位制备工艺的稳定性考察

赵启铎¹, 舒乐新^{1*}, 蔡广知²

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 长春中医药大学, 长春 200001)

[摘要] **目的:**考察酸枣仁总黄酮和总皂苷部位制备工艺的稳定性,为后续药效学评价的样品制备提供保证。**方法:**采用相同工艺条件制备10批酸枣仁总黄酮和总皂苷部位样品。选择斯皮诺素、白桦酯酸及酸枣仁皂苷A、B为指标成分,利用ELSD/HPLC分析两部位样品的特征图谱,流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~10 min,12%~18% A;11~20 min,19%~23% A;21~30 min,23%~34% A;31~40 min,35%~45% A;41~50 min,46%~100% A;51~60 min,100%~11% A;61~70 min,12% A),漂移管温度40℃。**结果:**总黄酮部分的化学成分分布主要集中于前25 min,总皂苷部分化学成分集中在25 min后,总黄酮和总皂苷纯度均>50%,54.46 min处色谱峰确定为白桦酯酸。**结论:**制备酸枣仁总黄酮和总皂苷部位的工艺稳定性良好,可作为药效学试验的样品。

[关键词] 总黄酮;总皂苷;斯皮诺素;白桦酯酸;酸枣仁;稳定性

[中图分类号] R282.71;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0027-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240027

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141106.1400.004.html>

[网络出版时间] 2014-11-06 14:00

Stability of Preparation Process of Total Flavonoids and Total Saponins from Ziziphi Spinosae Semen

ZHAO Qi-duo¹, SHU Le-xin^{1*}, CAI Guang-zhi²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;
2. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 200001, China)

[Abstract] **Objective:** Stability of preparation process of total flavonoids and total saponins from Ziziphi Spinosae Semen was investigated, in order to provide a guarantee for sample preparation of follow-pharmacodynamic evaluation. **Method:** Ten batches of total flavonoids and total saponins from Ziziphi Spinosae Semen were prepared with the same preparation process. Spinosin, betulinic acid, jujuboside A and jujuboside B were taken as index components, ELSD/HPLC was employed to analyze feature profiles of these two parts samples with mobile phase of acetonitrile (A) -water (B) for gradient elution (0-10 min, 12% -18% A; 11-20 min, 19% -23% A; 21-30 min, 23% -34% A; 31-40 min, 35% -45% A; 41-50 min, 46% -100% A; 51-60 min, 100% -11% A; 61-70 min, 12% A) and drift tube temperature of 40℃. **Result:** Chemical compositions distribution of total flavonoids part focused on the former 25 min, but that of total saponins concentrated in after 25 min, purities of total flavonoids and total saponins were more than 50%, peak at 54.46 min was identified as betulinic acid. **Conclusion:** This preparation technology of total flavonoids and total saponins from Ziziphi Spinosae Semen is stable, which can be used as samples of pharmacodynamic experiment.

[Key words] total flavonoids; total saponins; spinosin; betulinic acid; Ziziphi Spinosae Semen; stability

[收稿日期] 20140224(013)

[基金项目] 天津市高等学校发展基金项目(20070305)

[第一作者] 赵启铎,在读博士,讲师,从事中药化学成分及活性研究,Tel:022-59596238,E-mail:zhaqiduo@tjutcm.edu.cn

[通讯作者] *舒乐新,硕士,实验师,从事药物制剂及分析研究,Tel:022-59596291,E-mail:shulexin@sina.com

酸枣仁具有补肝、宁心、敛汗、生津之功效^[1], 用于治疗虚烦不眠、惊悸多梦、体虚多汗、津伤口渴等证, 药用历史悠久, 《本草纲目》将其列为上品^[2], 在各类治疗失眠的中药制剂中常用广泛。前期研究表明酸枣仁各部位均具有明显抗抑郁作用^[3-4]。故本实验通过分离富集酸枣仁中黄酮类和皂苷类成分, 采用 ELSD/HPLC 进行 10 批样品的分析, 验证制备工艺和样品的稳定性, 为药效学试验提供样品支持。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂), CP225D 型 1/10 万电子分析天平(北京八方世纪科技有限公司), ST-02 型多功能摇摆粉碎机(浙江省永康市帅通电器厂)。

酸枣仁皂苷 B, A(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110814-200607, 110734-200509), 白桦脂酸、斯皮诺素对照品(上海同田生物有限公司, 批号分别为 09120822, E-0391, 纯度均 > 98%), D101 型大孔树脂(南开大学化工厂), 乙腈为色谱纯, 水为二次重蒸水, 其他试剂均为分析纯。炒酸枣仁购自天津中新药业集团有限公司, 经天津中医药大学中药学院中药鉴定教研室张丽娟教授鉴定为鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* 的干燥成熟种子, 符合 2010 年版《中国药典》炒酸枣仁项下有关规定。

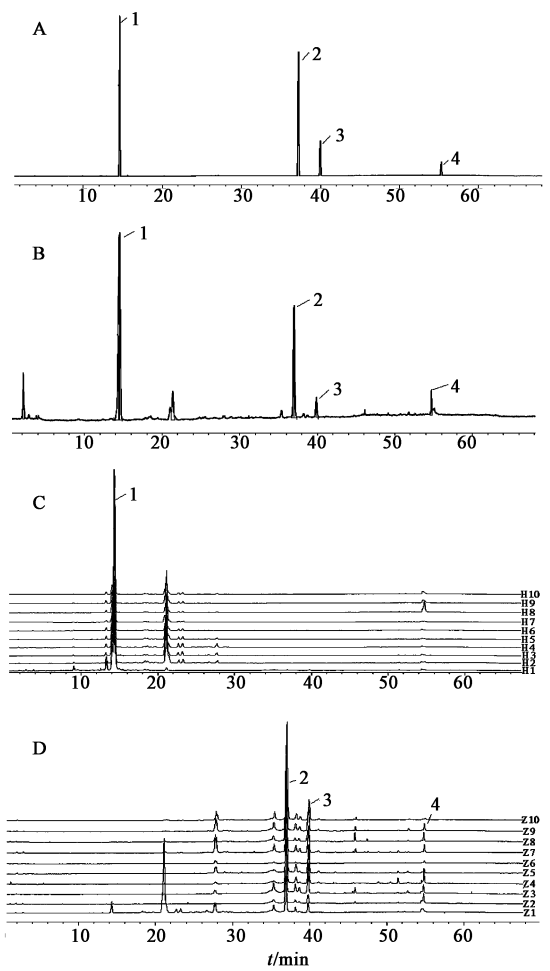
2 方法与结果

2.1 色谱条件 BDS-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 12% ~ 18% A; 11 ~ 20 min, 19% ~ 23% A; 21 ~ 30 min, 23% ~ 34% A; 31 ~ 40 min, 35% ~ 45% A; 41 ~ 50 min, 46% ~ 100% A; 51 ~ 60 min, 100% ~ 11% A; 61 ~ 70 min, 12% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 5 μL, 漂移管温度 40 °C, 柱温 30 °C, 见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取白桦脂酸、斯皮诺素及酸枣仁皂苷 A, B 对照品适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 配制成质量浓度分别为 621.6, 1 188.990, 407 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 酸枣仁饮片提取物的制备 在预试验基础上, 称取炒酸枣仁 500 g, 干燥, 粉碎, 过 20 目筛, 加 5 倍量石油醚回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 回收石油醚层, 备用; 药渣继续加 4 倍量 95% 乙醇



A. 对照品; B. 饮片; C. 总黄酮供试品(H1 ~ 10);
D. 总皂苷供试品(Z1 ~ 10); 1. 斯皮诺素;
2. 酸枣仁皂苷 A; 3. 酸枣仁皂苷 B; 4. 白桦脂酸

图 1 炒酸枣仁不同提取物 HPLC

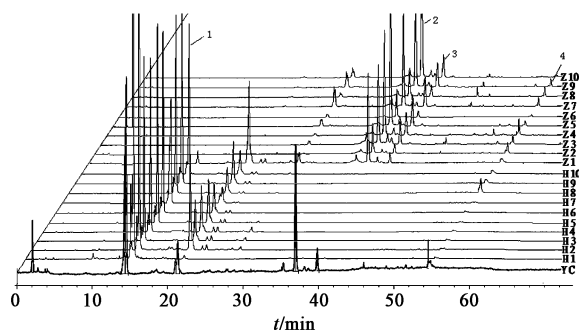
超声提取 3 次, 每次 40 min, 合并提取液, 回收溶剂得浸膏, 真空干燥, 即得。

2.3.2 总黄酮和总皂苷部位的制备 在预试验基础上, 称取炒酸枣仁粗粉 500 g, 按 2.3.1 项下方法提取得浸膏, 将浸膏分散于水中, 分别用石油醚、三氯甲烷、正丁醇萃取, 备用。正丁醇萃取部分, 回收溶剂至干, 溶于水成 5 g·L⁻¹ 溶液, 经 D101 型大孔树脂纯化, 依次用水及 15%, 35%, 65% 的乙醇溶液洗脱, 将 35% 乙醇洗脱液, 减压回收, 真空干燥得总黄酮部位粉末, 将 65% 乙醇洗脱液减压回收, 真空干燥, 得总皂苷部位粉末。上述操作重复 10 次, 分别制得 10 批酸枣仁总黄酮部位、酸枣仁总皂苷部位。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取酸枣仁饮片提取物粉末、总黄酮粉末、总皂苷粉末各约 0.025 g, 分别置于具塞锥形瓶中, 各精密加入 70% 乙醇

10 mL,称定质量,超声处理 10 min,放冷,加 70% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.4 样品测定 取 10 批总黄酮粉末,按 2.1 项下方法检测分析,结果显示除样品 1 外,其他 9 批样品在 25 min 内出峰情况基本相同,见图 1C,说明总黄酮的制备工艺稳定。取 10 批总皂苷粉末,经 HPLC-ELSD 检测分析,结果表明除样品 1 外,其他 9 批样品在 25 min 后出峰情况基本相同,见图 1D,说明总皂苷的制备工艺稳定。二者的特征谱三维图见图 2。结果发现总黄酮部位的化学成分分布主要集中于前 25 min,总皂苷部位化学成分集中在 25 min 后,总黄酮样品 8,9,10 在 54.46 min 处有色谱峰,与对照品比较,确定为白桦酯酸。结合上述分析结果,总黄酮部位和总皂苷部位基本分开,提示制备样品的工艺稳定合理。



YC. 药材;1~10. 总黄酮和总皂苷部位;S. 斯皮诺素;
A. 酸枣仁皂苷 A;B. 酸枣仁皂苷 B;C. 白桦酯酸

图 2 10 批相同制备工艺的总黄酮和总皂苷部位三维特征谱

3 讨论

有关酸枣仁中总黄酮部位或总皂苷部位的提取工艺研究文献报道很多^[5-6],但未见从药材中同时提取总黄酮和总皂苷的研究,本文从正丁醇萃取部分,经大孔树脂分离,可同时将总黄酮和总皂苷两个部位较好地分离。经含量测定,两部位中总黄酮和总皂苷质量分数均 > 50%^[7],可作为药理学试验评价样品。

本文对提取分离总黄酮和总皂苷部位的工艺进行稳定性研究,通过相同工艺条件重复 10 次操作,采用 HPLC-ELSD 分析,结果显示总黄酮和总皂苷两个部位分离度良好,10 批样品间化学成分分布差异较小,制备工艺稳定,该方法可作为酸枣仁药效评价样品的制备方法。

[参考文献]

- [1] 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,2010:343.
- [2] 李时珍. 本草纲目(白话精译)[M]. 赤峰:内蒙古科学技术出版社,2004:408.
- [3] 赵启铎,舒乐新,王颖,等. 酸枣仁总黄酮抗抑郁作用的实验研究[J]. 天津中医药,2011,28(4):335.
- [4] 赵启铎,舒乐新,王颖,等. 酸枣仁总皂苷抗抑郁作用的实验研究[J]. 中南药学,2011,9(7):489.
- [5] 张野,杨世海. 酸枣仁总黄酮成分的提取工艺及其含量分析[J]. 人参研究,2012(2):28.
- [6] 程小丽,张伟. 酸枣仁总皂苷的提取分离及含量测定[J]. 陕西中医,2012,33(5):607.
- [7] 赵启铎,舒乐新. 酸枣仁总皂苷的含量测定[J]. 天津中医药大学学报,2013,32(4):229.

[责任编辑 刘德文]