

太白橐木总皂苷提取物的质量标准研究

窦芳, 奚苗苗, 文爱东*

(第四军医大学西京医院药剂科, 西安 710032)

[摘要] 目的: 建立太白橐木根皮中总皂苷含量的测定方法。方法: 采用 TLC 薄层色谱法, 以甲醇-氯仿-水 (6.5:3.5:1) 为展开剂展开后, 用 10% 硫酸乙醇溶液显色, 并在 105 °C 下加热进行鉴别。接着以香草醛-冰醋酸法显色, 以屏边三七苷为对照品, 在检测波长 553 nm 处对太白橐木总皂苷采用紫外-可见分光光度法进行含量测定。结果: 在 TLC 色谱中, 供试品与对照品色谱相应的位置上, 日光下显相同的紫色斑点; 紫外灯 (365 nm) 下显相同的紫色荧光斑点。屏边三七苷在 0.020 65 ~ 0.123 9 g·L⁻¹ 线性关系良好 ($r=0.999\ 9$), 平均加样回收率为 100.20%, RSD 0.88% ($n=6$), 太白橐木根皮中总皂苷中总皂苷含量为 61.30%。结论: 以太白橐木根皮总皂苷含量为主要评价指标, 所建立的方法准确、简便、快速, 重复性好, 可作为太白橐木根皮中总皂苷含量控制方法。

[关键词] 太白橐木; 总皂苷; 紫外-可见分光光度法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0076-03

[doi] 10.11653/syjf2013120076

Determination of the Total Saponins Content of *Aralia taibaiensis*

DOU Fang, XI Miao-miao, WEN Ai-dong*

(Department of Pharmacy, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of total saponins of *Aralia taibaiensis*. **Method:** *A. taibaiensis* was identified by TLC and spots were visualized by heating silica gel plates sprayed with 10% H₂SO₄ in EtOH, and the content of total saponins of *A. taibaiensis* was determined by visible ultraviolet spectrophotometry. **Result:** The TLC spots of *A. taibaiensis* were clear and well separated. The linear ranges of total saponins was 0.020 65-0.123 9 g·L⁻¹ ($r=0.999\ 9$), and the average recovery rate was 100.20% (RSD 0.885%). **Conclusion:** The established standard is applicable for the quality control of *A. taibaiensis*.

[Key words] *Aralia taibaiensis*; total saponins; ultraviolet spectrophotometry; content determination

太白橐木 *Aralia taibaiensis* 系王忠壮课题组^[1]于 1994 年建立的橐木属 *Aralia* 一新种, 特产于我国中西部秦巴山区及其余脉, 主要为陕西南部及西部、甘肃兰州以东、四川川北及川东北、山西中条山及宁

夏六盘山区, 特别在我省太白、周至、户县、佛坪、留坝、凤县、宁强、南郑、略阳、勉县、洋县、宁陕、柞水、镇巴、紫阳、安康、平利、岚皋、旬阳、合阳、华山以及甘肃榆中、天水, 四川穆坪、峨眉山等地有丰富的野生资源。其根皮、茎皮、叶、嫩芽及果实在民间作草药使用, 功效及应用同橐木。

太白橐木的化学成分主要有皂苷类、萜类及生物碱类等^[1], 目前对太白橐木有效部位的研究主要集中在三萜皂苷类, 皂苷元均为五环三萜类, 包括齐墩果酸、常春藤皂苷元、caulophyllogenin、刺囊酸、16 β -hydroxy-18 β -H-oleanolic acid 和乌苏酸等; 在苷元的 3 位或 (和) 28 位连接糖基, 形成单糖链或双糖链皂苷^[2]。本课题前期从太白橐木根皮中分离得到具有抗糖尿病活性的单体化合物^[3-4], 同时在优

[收稿日期] 20121009(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81001673); 陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项 (2010ZDKG-62); 陕西省自然科学基金基础研究项目 (2010JQ4018)

[第一作者] 窦芳, 硕士, 药师, 从事中药活性成分及质量标准研究, Tel: 029-84775475-8035, E-mail: doufangl@126.com

[通讯作者] *文爱东, 博士, 主任药师, 从事中药药代动力学研究, Tel: 029-84773636, E-mail: adwen-2004@hotmail.com

化太白橐木有效部位提取纯化的工艺基础上^[5-6],进一步对获得的总皂苷进行质量标准研究^[7],对10个批次符合药典质量要求的太白橐木,按照提取纯化工艺分离制备了10批太白橐木总皂苷提取物,并参照《中国药典》2010年版一部质量标准相应项,对其制法、性状鉴别、检查、含量测定等项进行规定,初步建立其质量标准^[8],为规范其作为制剂原料和提取纯化工艺在生产中的推广应用提供依据^[9]。

1 材料

BS110S型电子天平(德国Sartorius公司),RE2000型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-D(III)型循环水式真空泵(上海豫康科教有限公司),DHG-9240A型电势恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司),ZFC型三用紫外-可见分光光度计(上海康华生化仪器制造厂),KQ52000DE型超声波清洗器(昆山市超生仪器有限公司)。

对照品屏边三七苷 elatoside I (3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucuronopyranosyl]-oleanolic acid, 200903)由第四军医大学西京医院药剂科提供;大孔树脂D101(西安蓝晓科技有限公司),乙醇(西京医院药剂科提供),香草醛(西安中信精细化工有限责任公司,批号070512),冰醋酸(天津市富宇精细化工有限责任公司,批号110224),甲醇(天津市富宇精细化工有限责任公司,批号120207),正丁醇(天津市富宇精细化工有限责任公司,批号090620)。

太白橐木根皮2009年5月采自陕西省凤县的秦岭山脉,经第四军医大学西京医院药剂科汤海峰教授鉴定为橐木属太白橐木根皮。

2 方法与结果

2.1 太白橐木总皂苷提取物的制备 取上述10批太白橐木干燥根茎适量,置回流瓶中,加70%乙醇加热回流提取,合并提取液,减压回收乙醇至无醇味,得浸膏,在60℃水浴上蒸干,得粗浸膏。精密称取适量干粗浸膏过D101大孔树脂,分别用不同体积分数的乙醇30%,70%,95%梯度洗脱,收集其中不同梯度的洗脱液,回收乙醇得馏分。精密称取70%适量馏分置于50 mL的量瓶中,加甲醇适量,摇匀,并定容至刻度,作为供试品溶液,20℃保存。

2.2 薄层鉴别 分别取10批供试品,作为供试品溶液。另取屏边三七苷对照品,加甲醇制成1 g·L⁻¹的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VIB)试验,吸取供试品溶液及对照品溶液各10 μL,分别点于同一硅胶GF₂₅₄板

上,以甲醇-氯仿-水(6.5:3.5:1)为展开剂,展开,取出,晾干。晾干后用10%硫酸乙醇溶液喷雾显色,置105℃下加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,日光下显相同的紫色斑点;紫外灯(365 nm)下显相同的紫色荧光斑点。经过多次重复实验,表明该方法专属性强,重复性好,可用于太白橐木药材的薄层鉴别。

2.3 干燥失重 取10批太白橐木提取物约1.00 g,在105℃下干燥至恒重,测定减失质量。结果10批样品的平均干燥失重是4.12%,故规定干燥限度≤5%。

2.4 总皂苷含量测定

2.4.1 溶液的制备 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的对照品屏边三七苷适量,加甲醇制成质量浓度为0.0413 g·L⁻¹,20℃保存。

供试品溶液的制备:将上述70%乙醇提取得到的粗浸膏用水饱和的正丁醇按1:1体积萃取3次后,减压回收浓缩正丁醇层,得浸膏,在60℃水浴上蒸干。精密称取适量用甲醇溶解,作为供试品正丁醇层溶液,20℃保存。

2.4.2 线性关系及吸收波长的选择 精密移取对照品溶液与供试品溶液0.2 mL,分别置10 mL具塞磨口试管中,在60℃水浴锅中挥干有机试剂甲醇,依次加新鲜配制的5% (g·L⁻¹) 香草醛-冰乙酸溶液0.2 mL,高氯酸0.8 mL摇匀显色,置60℃恒温水浴中反应15~20 min,立即取出,流水冷却至室温,再分别加冰醋酸5 mL稀释,放置,以试剂为空白参比^[10-11]。在波长400~600 nm扫描,得到吸收光谱。结果发现在553 nm有最大吸收峰,故选择553 nm为最大吸收波长测定吸光度。

以屏边三七苷为横坐标(X),吸光度为纵坐标(Y),以质量对吸光度值做标准曲线,得回归方程 $Y=6.55X-0.079$ ($r=0.9999$),在0.02065~0.1239 g·L⁻¹线性关系良好。

2.4.3 精密度 取同一份屏边三七苷对照品溶液,按线性关系考察项下方法操作,重复测定5次,吸光度平均值为0.367,RSD 1.21%,表明精密度良好。

2.4.4 重复性 取6份样品0.5 g配制成一定比例的供试品,分别按上述方法制备样品溶液,测定样品中总皂苷含量平均值为62.3%,RSD 1.21%,表明本测定方法的重复性良好。

2.4.5 稳定性 取一份已制备的供试品溶液,在仪器不关闭的状态下,分别在0,0.5,1,2,4,8,12 h进行检测,测定吸光度平均值为0.247,RSD 1.81%,

表明供试品溶液在 12 h 内的稳定性良好。

2.4.6 加样回收率 取 6 份重约 20 mg 太白橐木粗浸膏粉末,精密称定,分别精密加入 0.041 3 g·L⁻¹对照品溶液 10 mL,依法制备供试品溶液,并测定太白橐木总皂苷的含量,测得平均加样回收率为 100.20%,RSD 0.88%,表明总皂苷回收率良好,结果见表 1。

表 1 太白橐木总皂苷回收率试验

样品相当量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.505	0.413	0.920	100.48		
0.503	0.413	0.912	99.03		
0.504	0.413	0.922	101.21	100.20	0.88
0.507	0.413	0.917	99.27		
0.500	0.413	0.921	100.24		
0.501	0.413	0.918	100.97		

2.4.7 太白橐木药材中总皂苷的含量测定 取 10 批太白橐木药材提取物各 3 份,按以上方法制成供试品溶液,按上述紫外-可见分光光度法测定,在波长 553 nm 处测定吸光度,由标准曲线计算太白橐木总皂苷中总皂苷的平均含量为 61.30%。见表 2。

表 2 药材总皂苷含量测定 %

批次	吸光度(A)	含量	批次	吸光度(A)	含量
1	0.375	61.61	7	0.374	61.75
2	0.392	64.28	8	0.371	61.34
3	0.358	59.82	9	0.369	61.07
4	0.365	60.52	10	0.367	60.79
5	0.372	61.48	平均含量		61.30
6	0.364	60.39			

3 讨论

太白橐木中皂苷类成分中屏边三七苷含量较高,故选择屏边三七苷作为对照,建立薄层鉴别。总皂苷薄层鉴别条件,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄板上,以甲醇-氯仿-水(6.5:3.5:1)为展开剂,展开,取出,晾干。晾干后用 10% 硫酸乙醇溶液喷雾显色,置 105℃下加热至斑点显色清晰。经过多次重复实验,表明该方法专属性强,重复性好,可用于太白橐木药材的薄层鉴别。

本研究在使用紫外-可见分光光度法测定太白橐木根皮药材中总皂苷的含量时,对正丁醇粗品再次过大孔树脂,取其中的 70% 馏分。然后用香草

醛-冰醋酸显色,使太白橐木总皂苷中总皂苷含量为 61.30%。采用紫外-可见分光光度法测定太白橐木总皂苷中总皂苷的含量,操作简便,灵敏度高,重复性好,可用于药材或纯化样品中总皂苷的质量控制。

本研究建立了太白橐木根皮药材的质量标准,使太白橐木药材的研究更趋于完善。文中采用紫外-可见分光光度法对太白橐木总皂苷进行了含量测定,以屏边三七苷为对照品,经波长扫描确定最大吸收波长为 553 nm。总皂苷在检测浓度范围内线性良好,加样回收率符合要求,且对仪器要求不高,能准确快速实现对太白橐木总皂苷的质量控制。

[参考文献]

[1] 王忠壮,郑汉臣. 中国橐木属一新种[J]. 植物资源与环境, 1994, 3(1):60.

[2] 王忠壮,胡晋红. 橐木属植物的生物学研究及应用[M]. 上海:第二军医大学出版社, 2001:102.

[3] Xi M, Hai C, Tang H, et al. Antioxidant and antiglycation properties of triterpenoid saponins from *Aralia taibaiensis* traditionally used for treating diabetes mellitus[J]. Redox Rep, 2010, 15:20.

[4] Bi L, Tian X, Dou F, et al. New antioxidant and antiglycation active triterpenoid saponins from the root bark of *Aralia taibaiensis* [J]. Fitoterapia, 2012, 83:234.

[5] 窦芳,汤海峰,洪良建,等. 太白橐木中橐木总皂苷提取纯化工艺研究[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(2):101.

[6] 窦芳,陈晓莉,文爱东. 正交实验法优选肠泻停胶囊的提取工艺[J]. 陕西中医, 2012, 33(12):1667.

[7] 申海艳,龚小见,李文敏,等. 苗药黑骨藤中总皂苷含量的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11):94.

[8] 崔春利,王敏,郭东艳,等. 不同切制法对橐木根皮中皂苷类成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22):9.

[9] 陈孟平,乔为平,乔晓彧,等. 黔产棘茎橐木抗炎作用及部分机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8):156.

[10] 乔为平,乔晓彧,隋艳华,等. 黔棘茎橐木对佐剂性关节炎大鼠治疗作用及机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10):165.

[11] Liu H G, Li T, Zhao Y L. Determination of some metabolites of *Cordyceps sobolifera* [J]. African J Microbiology Res, 2011, 5:5518.

[责任编辑 顾雪竹]