

## 白头翁总皂苷溶解性能考察

陈振华<sup>1,2</sup>, 管咏梅<sup>3</sup>, 张妮<sup>3</sup>, 王森<sup>3</sup>, 朱卫丰<sup>3</sup>, 杨明<sup>1,3\*</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2. 江西科技师范大学药学院, 南昌 330013;  
3. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

**[摘要]** 目的: 考察白头翁总皂苷及其指标成分在不同试剂中的溶解情况, 研究在各溶剂中, 总皂苷溶解度、指标成分溶解度以及总皂苷分散情况三者之间的关系。方法: 运用沉淀法、指标成分含量测定法、粒径测定法对总皂苷溶解度、指标成分溶解度以及混悬液粒径进行测定。结果: 白头翁总皂苷及其指标成分在各溶剂中的溶解能力为甲醇 > 人工结肠液 > 人工小肠液 > 蒸馏水 > 人工胃液; 混悬液粒径为人工胃液 > 蒸馏水 > 人工小肠液 > 人工结肠液 > 甲醇。结论: 白头翁总皂苷及其指标成分在甲醇中溶解度较大, 人工胃液中相对最小, 混悬液的粒径变化趋势与溶解度变化趋势基本呈反相关。

**[关键词]** 白头翁总皂苷; 溶解性能; 指标成分; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0028-03

## Investigation of Dissolvability of Total Saponins from *Pulsatilla chinensis*

CHEN Zhen-hua<sup>1,2</sup>, GUAN Yong-mei<sup>3</sup>, ZHANG Ni<sup>3</sup>, WANG Sen<sup>3</sup>, ZHU Wei-feng<sup>3</sup>, YANG Ming<sup>1,3\*</sup>

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610075, China;  
2. Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China;  
3. Key Laboratory for Modern Preparation of TCM, Ministry of Education,  
Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate dissolvability of total saponins from *Pulsatilla chinensis* and its index component in different dissolvents, and to study relationship among solubility of total saponins, solubility of index component and dispersion situation in various solvents. **Method:** Solubility of total saponins, solubility of index component and particle size of suspension was determined by precipitation method, index component determination method and particle size determination method. **Result:** Sequence of dissolvability of total saponins from *P. chinensis* and its index component in various solvents was; methanol > artificial colon juice > artificial small intestinal juice > distilled water > artificial gastric juice; particle size of suspension in sequence of artificial gastric juice > distilled water > artificial small intestinal juice > artificial colon juice > methanol. **Conclusion:** Dissolvability of total saponins from *P. chinensis* and its index component was maximum in methanol and minimum in artificial gastric juice, and relationship between change trend of particle size of suspension and solubility was basically negative correlation.

**[Key words]** total saponins from *Pulsatilla chinensis*; solubility property; index component; HPLC

白头翁总皂苷为中药白头翁经提取、分离纯化

制得的有效部位, 现代药理试验证明其具有抗肿瘤、抗溃疡等作用<sup>[1-2]</sup>, 具有良好的开发应用前景。本试验以白头翁总皂苷为研究对象, 采用沉淀法、指标成分溶解量法、粒径测定法研究其在不同溶剂中的溶解情况, 探讨白头翁总皂苷及其指标成分在不同溶剂中的溶解性能, 以期为其制剂的处方设计与制备提供参考。

**[收稿日期]** 20120130(005)

**[基金项目]** 江西省教育厅科技落地计划项目(赣财教[2011]243); 江西科技师范大学重点科研课题(KY2011ZZ05)

**[第一作者]** 陈振华, 博士研究生, 讲师, 从事中药药剂学研究, Tel:13767154425, E-mail: zhenhuadeai@163.com

**[通讯作者]** \* 杨明, 教授, 博士生导师, Tel:0791-87118614

## 1 材料

TG328A 型分析天平(德国 Sartorius),GL-16 型离心机(上海安亭科学仪器厂),Zetasizer Nano S 型激光粒度仪(马尔文仪器有限公司),Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)。

白头翁总皂苷(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号 20110804),常春藤皂苷元 3-*O*- $\alpha$ -*L*-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 4)]-*L*-吡喃阿拉伯糖苷对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,批号 20111108),乙腈为色谱纯,水为自制蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 沉淀法** 称取白头翁总皂苷粉末 5 份,每份约 0.25 g,分别加入到甲醇、蒸馏水、人工胃液、人工小肠液,人工结肠液中(各 5 mL),于 37 °C 超声溶解 1 h(若能完全溶解,继续添加总皂苷粉末),直至达到固液平衡为止。离心,滤过,精密量取续滤液 3 mL,氮气吹干溶剂,析出物烘干恒重,计算总皂苷在各溶剂中平均溶解度依次为 50.17,10.53,3.60,24.87,41.97 g·L<sup>-1</sup>( $n=3$ )。RSD 分别为 1.13%,3.15%,4.95%,4.66%,2.12%。结果表明,不同溶剂中白头翁总皂苷溶解能力为甲醇>人工结肠液>人工小肠液>蒸馏水>人工胃液。

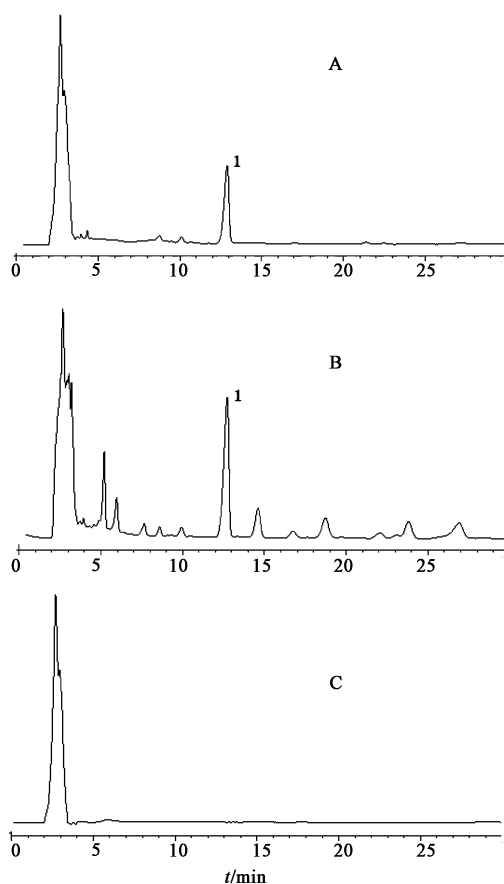
### 2.2 指标成分溶解量法

#### 2.2.1 指标成分含量测定方法的建立

**2.2.1.1 色谱条件** Hypersil ODS<sub>2</sub>C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5  $\mu$ m),流动相乙腈-0.1%磷酸水溶液(39:61),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,检测波长 203 nm,进样量 20  $\mu$ L。指标成分常春藤皂苷元 3-*O*- $\alpha$ -*L*-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 4)]-*L*-吡喃阿拉伯糖苷出峰位置无干扰,分离度与峰形较好(图 1)。

**2.2.1.2 标准曲线的绘制** 精密称取对照品约 20 mg,加甲醇溶解并定容至 10 mL,作为储备液。精密吸取该储备液 0.25,0.5,1.0,1.5,2.5 mL,分别用甲醇定容至 5 mL。按上述色谱条件进样,记录。以质量浓度( $C$ )为横坐标,峰面积( $A$ )为纵坐标,得回归方程  $A=4888.1C+49.188$ ( $r=0.9993$ ),线性范围 0.1005~1.005 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2.1.3 回收率试验** 精密量取已测定含量的总皂苷样品 10 mL,精密加入对照品约 10 mg,甲醇定容至 25 mL,平行 3 份,按上述色谱条件测定,计算平均回收率为 98.34%,RSD 1.06%。说明方法回收率良好。



A. 对照品;B. 供试品;C. 空白溶剂;1. 常春藤皂苷元 3-*O*- $\alpha$ -*L*-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 4)]-*L*-吡喃阿拉伯糖苷

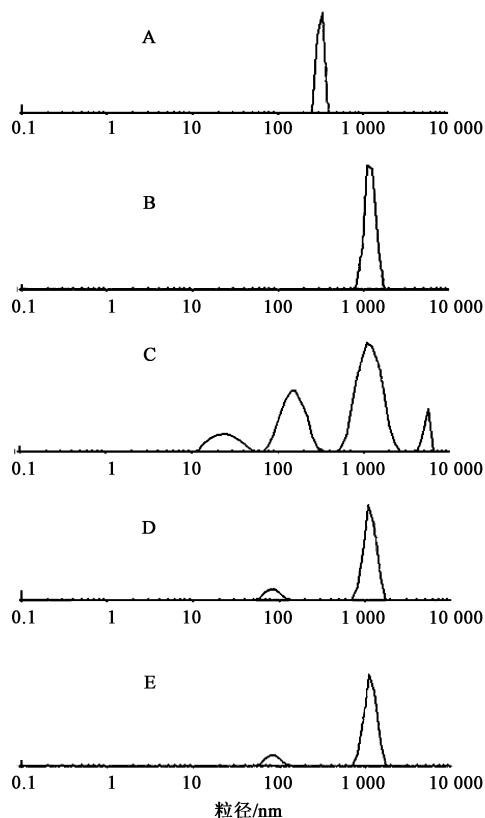
图 1 白头翁指标成分 HPLC

**2.2.1.4 精密度试验** 取同一白头翁总皂苷样品,按上述色谱条件于同 1 天测定 3 次并连续测定 3 天,计算日内精密度和日间精密度分别为 0.028%,0.72%。

**2.2.2 供试品的制备与含量测定** 称取白头翁总皂苷粉末 5 份,每份约 0.25 g,分别加至甲醇、蒸馏水、人工胃液、人工小肠液、人工结肠液中(各 5 mL),于 37 °C 超声溶解 1 h。离心,滤过,精密量取续滤液 1 mL,稀释适当倍数,作为供试品溶液。按照上述色谱条件进样,计算常春藤皂苷元 3-*O*- $\alpha$ -*L*-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 4)-*L*-吡喃阿拉伯糖苷在不同溶剂中溶解度中平均溶解度依次为 10.40,0.50,0.09,0.62,1.88 g·L<sup>-1</sup>( $n=3$ );RSD 分别为 1.83%,3.87%,3.43%,2.35%,1.87%。结果表明,不同溶剂中指标成分溶解能力为甲醇>人工结肠液>人工小肠液>蒸馏水>人工胃液,与总皂苷的溶解情况一致。

**2.3 粒径测定法**<sup>[3]</sup> 称取白头翁总皂苷粉末 5 份,每份约 0.25 g,分别加至甲醇、蒸馏水、人工胃液、人工小肠液、人工结肠液中(各 5 mL),于 37 °C 超声溶

解 1 h, 静置, 测定粒径(图 2)。



A. 甲醇; B. 蒸馏水; C. 人工胃液; D. 人工小肠液; E. 人工结肠液

图 2 白头翁总皂苷在不同溶剂中粒径分布

结果表明, 白头翁总皂苷在不同溶剂中混悬液粒径为人工胃液 > 蒸馏水 > 人工小肠液 > 人工结肠液 > 甲醇, 与总皂苷及指标成分溶解度结果相反。白头翁总皂苷在甲醇和蒸馏水中只出现 1 个粒径分布区域, 表明总皂苷各成分在甲醇和蒸馏水中能保持原比例分散, 溶解能力具有均一性。

### 3 讨论

本试验分别利用沉淀法、指标成分溶解量法、粒径测定法对白头翁总皂苷的溶解性能进行研究, 结果表明白头翁总皂苷及其指标成分在各种溶剂中的溶解度为甲醇 > 人工结肠液 > 人工小肠液 > 蒸馏水 > 人工胃液, 混悬液粒径分布则与之相反。表明沉淀法、指标成分溶解量法以及粒径测定法研究中药有效部位的溶解性能具有良好的相关性。

白头翁总皂苷为中药白头翁抗肿瘤和抗溃疡的有效部位, 含多种皂苷类成分, 本文所选择的指标成分常春藤皂苷元 3-O- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 4)]-L-吡喃阿拉伯糖苷是其主要成分之一。根据试验结果, 其溶解度与总皂苷的

溶解度呈正相关, 故可将其作为白头翁总皂苷溶解性能考察及制剂研究中的指标成分。有关其是否为抗肿瘤和抗溃疡的药效成分还有待于下一步研究。

指标成分常春藤皂苷元 3-O- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 4)]-L-吡喃阿拉伯糖苷波长选择上考察了 200, 203, 205 nm, 发现于 203 nm 检测时杂质峰干扰较小, 图谱特征性较强。对流动相的选择时, 发现乙腈-水体系较甲醇-水体系基线稳定, 但乙腈-水体系无法有效分离指标成分在人工小肠液和人工结肠液中的样品, 而乙腈-磷酸水溶液体系能有效解决这一问题, 特征峰与杂质峰明显分离, 峰形较好<sup>[4-5]</sup>。

粒径分布图中白头翁总皂苷在甲醇和蒸馏水中呈单一峰分布, 表明白头翁总皂苷中各物质在这两种溶剂中溶解性能相似, 而在人工胃液、人工小肠液和人工结肠液中呈多峰分布, 表明白头翁总皂苷中各物质在酸性介质或含盐介质中溶解性能不一致, 推测可能是白头翁总皂苷中某些皂苷成分含有游离羧基, 而某些成分不含游离羧基。

溶解度结果显示, 白头翁总皂苷及其指标成分在人工小肠液和人工结肠液中的溶解度明显大于其在蒸馏水和人工胃液中的溶解度。分析原因可能是白头翁总皂苷中含有众多以常春藤皂苷元 3-O- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 4)]-L-吡喃阿拉伯糖苷为代表的酸性皂苷, 在人工小肠液和人工结肠液中成盐, 溶解度增大。这对下一步的制剂处方工艺设计具有一定的指导意义。

### [参考文献]

- [1] 钟邱, 倪琼珠. 白头翁中皂苷成分对肿瘤细胞的抑制作用[J]. 中药材, 2004, 27(8): 604.
- [2] 殷刚峰, 卜平, 朱海航. 白头翁加味汤调节溃疡性结肠炎大鼠血清白介素-4 和肠黏膜环氧化酶-2 的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12): 84.
- [3] 裘荣刚, 吴立军, 王晓波, 等. 纳米雄黄粒度测定的扫描电镜法和激光光散射法[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(2): 174.
- [4] 鹿燕敏, 王蓓, 薛小平, 等. RP-HPLC 法测定清热解毒浸膏白头翁皂苷 B<sub>4</sub> 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(10): 8.
- [5] 冯果, 刘文, 冯勇. 复方白头翁汤结肠缓释片质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 81.

[责任编辑 仝燕]