

不同切制法对楸木根皮中皂苷类成分的影响

崔春利^{1*}, 王敏², 郭东艳¹, 唐志书¹, 李瑾¹, 冀德富³

(1. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医学院第二附属医院, 陕西 咸阳 712000;
2. 山西中医学院, 太原 030024)

[摘要] 目的: 研究不同切制法对楸木根皮中皂苷类成分的影响。方法: 采用鲜切法和干切法对楸木根皮进行切制, 以属性较强的显色法进行总皂苷含量测定, 并以 HPLC 测定皂苷元齐墩果酸的含量。结果: 齐墩果酸在 2.08 ~ 10.4 mg·L⁻¹ 线性关系良好 ($r=0.9995$), 平均回收率 98.33%, RSD 0.83%。鲜切与传统切制根皮总皂苷平均质量分数分别为 8.26%, 6.59%; 鲜切与传统切制根皮齐墩果酸质量分数分别为 5.26%, 5.23%。结论: 楸木根皮采用鲜切法优于传统切制法, 能有效降低皂苷类成分的损失, 为今后将楸木开发应用提供参考。

[关键词] 鲜切; 传统切制; 楸木根皮; 齐墩果酸; 总皂苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0009-03

Influence of Saponins from Root Bark of *Aralia chinensis* by Different Cutting Method

CUI Chun-li^{1*}, WANG Min², GUO Dong-yan¹, TANG Zhi-shu¹, LI Jin¹, JI De-fu³

(1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;
2. Second Affiliated Hospital of Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, China;
3. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[Abstract] **Objective:** To study on effect of saponins from root bark of *Aralia chinensis* with different cutting methods. **Method:** Using fresh cutting method and dry cutting method to cut root bark of *A. chinensis*, determined total saponins by spectrophotometry which is a specificity for saponins. At the same time, determined the content of oleanolic acid by HPLC. **Result:** Regression equations revealed good linear relationships between peak-area ratios and concentrations. Oleanolic acid had good linearity in the range of 2.08-10.4 mg·L⁻¹ ($r=0.9995$), average recovery was 98.33%, RSD 0.83% ($n=6$). The content of total saponins from root bark of *A. chinensis* with fresh-cut method was 8.26%, dry cutting was 6.59%. The content of oleanolic acid was 5.26% and 5.23% respectively. **Conclusion:** Root bark of *A. chinensis* using fresh-cut method was superior to conventional dry cutting method, it could effectively reduce losses of saponins component, it could supply reference for development and utilization of *A. chinensis* in future.

[Key words] fresh cutting; conventional cutting; root bark of *Aralia chinensis*; oleanolic acid; total saponins

楸木又名飞天蜈蚣七, 系五加科楸木属植物楸

木 *Aralia chinensis* L., 药用部位为根皮, 亦称楸木白皮, 性平、味甘、微苦, 具有驱风除湿、利水消肿、活血散瘀、止痛、健脾的功效。主要含有楸木皂苷类成分, 可以水解成楸木皂苷元, 即齐墩果酸^[1], 尚含鞣质, 胆碱和挥发油等。民间常用于风湿性关节炎、肾炎水肿、肝硬化腹水、急慢性肝炎、胃痛、淋虫、血崩、跌打损伤、痈肿等的治疗^[2]。现代研究亦表明楸木

[收稿日期] 20110817(003)

[基金项目] 陕西省中医管理局项目 (zy30, zy31)

[通讯作者] * 崔春利, 硕士, 实验师, 从事中药新制剂新技术研究, Tel: 029-38185180, E-mail: ccl906@163.com

根皮对肾炎、肝炎^[3]、类风湿性关节炎等均具有良好的防治效果。本研究以总皂苷及齐墩果酸含量为评价指标考察不同切制法对槲木根皮质量的影响,以得出科学合理,经济可行的槲木加工炮制方法。

1 仪器与试剂

Waters2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,Empower 色谱工作站,Waters 2996 DAD),UV-2550 型紫外-可见分光光度仪(日本岛津),GB-204 型(1/10 万)电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110709-200304),槲木药材采自于秦岭主峰西太白,由陕西中医学院王继涛高级实验师鉴定为槲木 *A. chinensis* L. 植物的根皮,甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 槲木根皮饮片的制备

2.1.1 鲜切法 取新鲜槲木根,快速淋洗去除泥沙及杂物,晾干表面水分,趁鲜刮下根皮,用切药刀切制成细丝,晒干或烘干,即得。

2.1.2 传统切制法 同鲜切法趁鲜刮下槲木根皮,晒干,贮存。切制前,抢水洗净,取出,以沾湿水的八层湿纱布裹严放置,闷润至药材无干硬心时,用切药刀切制成细丝,晒干或烘干,即得。

2.2 齐墩果酸含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 Hypersil GOLD aQ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(90:10),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,检测波长 210 nm,按齐墩果酸峰计算理论板数为 6 575。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取齐墩果酸对照品适量,加甲醇制成 0.088 g·L⁻¹ 的对照品溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取鲜切和传统切槲木根皮粗粉各约 0.25 g,精密称定,分别置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 2 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 5 mL,置烧瓶中,挥去溶剂,加 10% 稀硫酸溶液 20 mL,超声处理 2 min,加热回流 4 h,放冷,置分液漏斗中,用三氯甲烷提取 3 次,每次 20 mL,合并三氯甲烷液,用水 10 mL 洗涤 1 次,弃去水洗液,减压回收溶剂至干,残渣加甲醇溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过(0.45

μm),取续滤液,即得。

2.3 槲木总皂苷含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取齐墩果酸对照品适量,加甲醇制成 0.217 g·L⁻¹ 的对照品溶液,即得。

2.3.2 供试品溶液的制备 取鲜切槲木根皮粗粉约 0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加水饱和和正丁醇 30 mL,超声提取 30 min,滤过,重复 3 次,合并正丁醇液,加正丁醇饱和的水洗涤 3 次,每次 15 mL,弃去水洗液,减压回收溶剂至干,残渣加甲醇溶解,转移至 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过(0.22 μm),取续滤液,即得。

2.3.3 标准曲线的绘制 精密吸取齐墩果酸对照品溶液 100,200,300,400,500 μL,分别置于 10 mL 具塞试管中,水浴挥干溶剂,加入新鲜配制 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL,摇匀,再加入高氯酸 0.8 mL,摇匀,于 65 °C 水浴加热 20 min,冰浴冷却,加入乙酸乙酯 5 mL,摇匀,以不加对照品的样品管为溶剂空白,采用 UV-2550 于可见光区 400 ~ 800 nm 波扫描,结果龙胆苦苷在 555 nm 处有最大吸收,故将上述溶液在 555 nm 波长处测定吸光度,以吸光度(A)为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标,绘制标准曲线,得齐墩果酸回归方程为 $A = 53.42C - 0.0244$ ($r = 0.9995$),齐墩果酸在 2.08 ~ 10.4 mg·L⁻¹ 线性关系良好。

2.3.4 精密度试验 精密量取鲜切槲木根皮供试液 400 μL 于具塞试管中,按 2.3.3 项下方法自“水浴挥干溶剂……”起操作,连续测定 5 次 A,结果 RSD 0.03%,表明该方法精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 以 2.3.4 项下测试液,分别于 0,0.5,1,2 h 测定 A,结果 RSD 0.24%,表明显色后测试液在 2 h 内稳定性良好。

2.3.6 重复性试验 取鲜切槲木根皮粗粉 6 份,平行称取约 0.1 g,精密称定,按 2.3.2 项下方法制备供试液,分别精密移取 400 μL 按 2.3.3 项下方法自“水浴挥干溶剂……”起操作,测定 A,结果总皂苷含量分别为 8.214%, 8.207%, 8.513%, 8.221%, 8.264%, 8.264%, RSD 1.41%,表明该方法重复性良好。

2.3.7 加样回收率试验 精密称取已知含量鲜切槲木根皮粗粉(总皂苷质量分数 82.80 mg·g⁻¹) 适量,共 6 份,置 50 mL 量瓶中,各加入适量齐墩果酸

对照品,按 2.3.2 项下方法制备供试液,分别精密移取 400 μL ,按 2.3.3 项下方法自“水浴挥干溶剂……”起操作,测定 A,计算回收率,结果见表 1。结果表明,本方法回收率良好。

表 1 齐墩果酸加样回收率测定 ($n=6$)

取样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得总 量/mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.051 3	4.247 6	3.5	7.682 7	98.14	98.33	0.83
0.052 1	4.313 9	3.5	7.703 7	96.85		
0.056 4	4.669 9	4.0	8.609 7	98.49		
0.057 2	4.736 2	4.0	8.670 8	98.37		
0.050 9	4.214 5	4.5	8.673 4	99.09		
0.058 1	4.810 7	4.5	9.268 6	99.06		

2.3.8 样品测定 分别称取鲜切和传统切制槲木根皮粗粉适量,按 2.2.3 项下供试品溶液制备方法制得 HPLC 测定齐墩果酸的供试液,以 2.2.1 色谱条件测定,计算齐墩果酸含量;按 2.3.2 项下方法制备鲜切和传统切制槲木根皮供试液,各精密移取样品溶液 400 μL ,按 2.3.3 项下方法自“水浴挥干溶剂……”起操作,测定 A,根据曲线方程计算总皂苷质量分数。见表 2。

表 2 不同切制法槲木根皮中皂苷类成分测定 %

No.	总皂苷		齐墩果酸	
	鲜切	传统切制	鲜切	传统切制
1	8.21	6.49	5.31	5.14
2	8.20	6.55	5.23	5.22
3	8.19	6.55	5.20	5.20
4	8.08	6.42	5.18	5.24
5	8.14	6.58	5.37	5.27
6	8.22	6.71	5.43	5.13
7	8.43	6.39	5.25	5.28
8	8.50	6.47	5.18	5.21
9	8.34	6.53	5.26	5.42
10	8.27	6.59	5.20	5.19
平均值	8.26	6.53	5.26	5.23

3 讨论

从鲜切法与传统切制法槲木根皮皂苷类成分测定结果可以看出,鲜切根皮总皂苷含量高出传统切制根皮达 1.73%,而两者皂苷元齐墩果酸含量变化则不明显,仅略微高出。考虑到槲木中皂苷类成分主要以糖苷形式存在,结合鲜切与传统切制槲木根

皮方法不难看出,鲜切法没有软化操作,就减少了药材与水接触的机会,有效降低对槲木根皮中主要水溶性皂苷成分的溶解损失,又省去了槲木产地加工工序,省工省时,科学经济。

鉴于目前国内尚无总皂苷测定的法定对照品,多采用人参皂苷 Re 或齐墩果酸等作为对照品。以齐墩果酸为对照测定略高于人参皂苷 Re 为对照^[4]。根据槲木皂苷主要结构与性质,结合总皂苷比色试剂香草醛-高氯酸显色的模糊机制可能是在酸作用下形成阳碳离子盐而呈色,为此本研究选用结构接近,槲木皂苷能水解得到的皂苷元齐墩果酸作对照,槲木总皂苷的量以齐墩果酸($\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$)来计。

试验过程中,还考察了显色剂能否成比例加倍。在相同供试液相同取样量同步条件下,进行显色剂成比例加倍测试液与不变显色剂量测试液比较试验,结果显示成比例加倍显色剂情况下吸光度会显著降低,这可能是因为测试液被成比例加倍的显色剂稀释的缘故。

并非所有的药材都适于鲜切,含挥发油类成分的药材如当归^[5]就不适宜,为此作者初步考察了鲜切法与传统切制法所得饮片成分含量及水分的稳定性,结果显示鲜切法总皂苷含量始终高于传统切制法,水分随着时间会有所增加,提示切制饮片贮存干燥通风处为好。饮片进一步的稳定性还在继续考察。本研究是从定量角度考察,下一步还要进行 TLC 等定性角度的试验研究,以期为今后槲木的开发应用提供更为科学、可靠的试验依据。

[参考文献]

- [1] 董晓东. 槲木的开发与利用[J]. 大理师专学报, 1998(3): 115.
- [2] 王忠壮, 汤海峰, 苏中武, 等. 槲木属药用植物资源调查[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(1): 3.
- [3] 胡文军, 熊敏娟. 太白槲木总皂苷对小鼠的保肝作用[J]. 第一军医大学分校学报, 2000, 23(1): 21.
- [4] 吴红, 梁恒, 刘永红, 等. 山茱萸总皂苷的提取分离与含量测定[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(5): 432.
- [5] 唐力英, 王祝举, 宋秉生, 等. 当归饮片趁鲜切制的可行性探讨[J]. 中国中药杂志, 2011, 35(23): 3147.

[责任编辑 全燕]