

• 制剂工艺 •

# 蒺藜总皂苷提取工艺研究

李瑞海\*, 李君玲, 杨松松  
(辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

**[摘要]** 目的: 确定合理的蒺藜总皂苷的提取纯化的方法。方法: 以分光光度法测定蒺藜总皂苷的含量为指标, 采用正交试验设计, 对蒺藜水提醇沉液用大孔吸附树脂法富集的工艺进行优选。结果: 经多种树脂的比较, AB-8 树脂对蒺藜总皂苷有较高的吸附容量, 同时采用正交试验, 确定 AB-8 树脂的最佳实验条件。结论: 采用 AB-8 树脂分离纯化蒺藜总皂苷方法可行, 确定最佳工艺条件为药液浓度 0.500g/mL, 流速 1.44BV/h; 径高比 1:40。

**[关键词]** 蒺藜; 皂苷; 大孔吸附树脂; AB-8 树脂; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)08-0001-02

蒺藜为蒺藜科蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 的干燥成熟果实。有平肝解郁、活血祛风、明目、止痒之功效。其全草对于心脑血管性疾病有良好的疗效。国内外研究证明, 蒺藜全草主要活性成分为皂苷类成分, 且皂苷类成分在防治衰老、增强性功能、抑制迟发型变态反应等方面具有良好的效果。蒺藜全草中皂苷类成分主要有延龄草苷、薯蓣二葡萄糖苷、薯蓣素、纤细薯蓣苷、原薯蓣苷、原纤细薯蓣苷、蒺藜苷 F、新海柯皂苷等皂苷, 其中主要有甾体皂苷, 蒺藜所含的甾体皂苷分为螺甾醇 (spirostanol) 和呋甾醇 (furostanol) 两类, 螺甾醇含量较高。

本文结合文献报道, 采用水提醇沉法, 得到初提液, 并以分光光度法测定蒺藜总皂苷的含量为指标, 对树脂型号及其工艺条件进行优选, 确定了蒺藜总皂苷提取工艺最佳实验条件。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 4 孔恒温水浴锅 (天津泰斯特仪器有限公司)、7520 型分光光度计 (上海分析仪器厂)、电子天平 Mettler AE240、紫外扫描仪 Shimadzu UV265FW。

**1.2 材料** 蒺藜样品经鉴定符合 2005 年版药典的要求, 菝葜皂苷元对照品 (110744-200306) (中国药品生物制品检定所, 供含量测定用); 所用试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 样品含量测定方法** 取样品溶液, 置水浴中挥

干, 加 10mL 高氯酸, 在 65℃ 水浴加热显色 15min 后, 取出, 摇匀, 置冰水浴中 15min 停止反应, 以试剂同法制备空白, 在 310nm 处测定吸收值。

**2.2 薯蓣皂苷标准曲线的建立** 精密称取菝葜皂苷元对照品 14.40mg, 置于 50mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 精密吸取对照品溶液 0.8mL、1.0mL、1.5mL、2mL、2.5mL 于三角瓶中, 以试剂同法制备空白, 按 2.1 项下, 在 310nm 处测定吸收值。以菝葜皂苷元质量 (mg) 为横坐标, 吸收值 A 为纵坐标, 绘制标准曲线, 经计算得回归方程为:  $Y = 1.0438X + 0.0001$ ,  $r = 0.9993$ , 菝葜皂苷元在 0.2304~0.7200mg 范围内具有良好的线性关系。

**2.3 样品提取和样品溶液的制备** 根据正交实验得到的蒺藜水提条件提取蒺藜。取蒺藜全草 2kg, 提取 2 次 (加水 12, 10 倍; 煎煮 3, 2h), 合并, 滤过, 滤液浓缩至浸膏状。搅拌下加等量乙醇, 静置 2h, 滤过, 滤液减压回收乙醇至无醇味, 转移至容量瓶中, 加蒸馏水定容至 1000mL, 备用。

## 2.4 大孔吸附树脂的筛选

**2.4.1 不同型号树脂吸附容量的对比** 取 9 根规格相同的层析柱 (12mm × 300mm), 装适量树脂 (加 5cm 高), 湿法上柱。量取样品溶液 80mL (约含总皂苷 6%), 上柱 (流速 2mL/min), 待样品溶液充分吸附后, 以水为洗脱液冲至流出液还原糖反应, 改用 95% 乙醇洗脱至流出液无还原糖反应, 收集乙醇洗脱液, 减压回收乙醇至无醇味, 加甲醇定容至 1000mL 的容量瓶中, 分别吸取 0.1mL 置于 100mL 的容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 分别吸取 1mL 按 2.1 项测定总皂

[收稿日期] 2005-10-14

[通讯作者] 李瑞海, Tel: 13504970879

苷含量, 收集各树脂, 于 80℃ 烘干至恒重, 称重并记录结果。结果见表 1。

表 1 不同型号树脂吸附容量的对比

树脂型号	总皂苷的量(mg)	干树脂的量(g)	吸附量(mg/g)
AB-8	3319.0	5.0	663.8
HPD450	1721.9	3.9	441.5
D101	1228.0	2.6	472.3
SP825	1243.6	4.7	264.6
NKA-9	1208.7	3.0	402.9
HP20	1612.4	3.3	488.6
HPD600	945.5	3.1	305.0
HPD700	1729.9	4.8	360.4
HPD100	2356.2	3.0	785.4

吸附容量= 总皂苷的量(mg)/干树脂的量(g)

结果 AB-8 和 HPD100 对于蒺藜总皂苷均有较高的吸附容量, 根据现有条件, 本实验确定采用 AB-8 富集蒺藜总皂苷。

## 2.5 用 AB-8 树脂富集蒺藜总皂苷条件的考察

**2.5.1 树脂解析** 先用水洗脱至还原糖反应显阴性(Molish 反应), 改用 10% ~ 90% 浓度的乙醇梯度洗脱, 按 2.1 项下方法测定皂苷, 发现 10% 乙醇洗脱液中无皂苷, 70% 以上浓度的乙醇中未检出皂苷, 70% 乙醇洗脱 6BV 后无皂苷, 故确定 70% 乙醇 6BV 洗脱, 即可将柱上的皂苷全部解析。

**2.5.2 正交实验方案设计** 选用  $L_9(3^4)$  正交表进行实验, 因素水平安排见表 2。

表 2 因素水平表

	A 径高比	B 药液浓度(g/mL)	C 流速(BV/h)
1	1: 40	0.500	0.48
2	1: 20	0.250	0.98
3	1: 10	0.125	1.44

**2.5.3 实验方法** 精密吸取样品溶液, 按正交实验设计进行操作, 收集各流出液, 减压回收乙醇至无醇味, 按 2.1 项下方法测定总皂苷含量, 结果见表 3。

结果: 从表 4 方差分析试验结果可见, B 因素影响显著。从直观分析中极差值可看出, 影响本实验的因素 B > C > A, 即: 药液浓度 > 流速 > 径高比。

最佳工艺条件确定为  $A_1B_3C_3$ 。即以药液浓度 0.500g/mL, 流速 1.44BV/h; 径高比 1: 40。

表 3 正交试验表  $L_9(3^4)$

因素	A	B	C	总皂苷含量%
1	1	1	1	25.5
2	1	2	2	49.5
3	1	3	3	71.1
4	2	1	2	20.9
5	2	2	3	38.1
6	2	3	1	59.9
7	3	1	3	32.3
8	3	2	1	28.6
9	3	3	2	58.9
$\bar{K}_1$	48.71	26.23	38.01	
$\bar{K}_2$	39.63	38.73	43.10	
$\bar{K}_3$	39.93	63.30	47.17	
R	9.067	37.067	9.167	

表 4 方差分析表

变异来源	离均差平方和(1)	自由度(n)	均方(MS)	F	P
A 因素	159.14	2	79.57	1.75	> 0.05
B 因素	2133.7	2	1066.85	23.49	< 0.05
C 因素	126.5	2	63.28	1.39	> 0.05
误差	90.82	2	45.41		
总计	2510.2				

查方差分析表,  $F_{0.05(2,2)} = 19.00$

## 3 讨论

由于当前市场上, 树脂型号较多, 本实验选取 9 种常用树脂, 用比色法, 对蒺藜总皂苷的吸附容量进行了对比, 优选树脂 AB-8。同时对 AB-8 树脂富集总皂苷的工艺条件进行了考察, 确定最佳工艺条件为药液浓度 0.500g/mL, 流速 1.44BV/h; 径高比 1: 40。树脂解析时先用水及 10% 乙醇洗脱至还原糖反应显阴性, 用 70% 乙醇 16BV 洗脱, 收集洗脱液, 即得全部皂苷。

## [参考文献]

- [1] 王光忠, 胡迪, 陈敬炳. 正交设计优选黄芪总黄酮和总皂苷的提取工艺[J]. 中成药, 2004, 10(26): 3.
- [2] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997, 620-621.