皂荚总皂甙的纯化与含量测定

上海医科大学药学院（200032） 陈道峰*
上海第二医科大学 张 敏
中科院上海药物研究所 郛 宇
上海中医药大学 徐宏喜

摘要 以精制的皂荚总皂甙及其甙元刺囊酸为对照品，建立了皂荚总皂甙的含量测定的分光光度法，皂甙的加样回收率为101.3%

关键词 皂荚 皂甙 比色法

皂荚又名皂角，系豆科植物皂荚*Gleditsia sinensis* Lam.的果实，具有祛风痰、除湿毒、杀虫的功效，常用于咳嗽痰喘、痈肿便毒、疮癣疥癞等症，其主要活性成分是三萜皂甙[1]。皂荚富含皂甙类成分而具为良好的去污能力。皂荚总皂甙是一种在医药和日用化工上均有着广泛应用前景的天然产物，近来已有厂家将皂荚总皂甙用于洗发膏的生产。

为了提供工业化生产皂荚总皂甙和进一步研究其生产工艺所必需的质量检测手段，以纯化的皂荚总皂甙及甙元和刺囊酸为对照品，建立了分光光度法测定皂荚总皂甙含量方法。

1 仪器与试剂

显微熔点测定仪，温度未校正；HP5989A质谱仪，电离电压70eV；Bruker AM-300型核磁共振仪；721分光光度计；柱层析硅胶为200～300目层析硅胶，薄层层析板为烟台化工科技开发实验厂所产$HSGF_{254}$板，喷10%硫酸后加热显色；香草醛分析纯，上海化学试剂站，国产分装，其余试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 皂荚总皂甙的纯化：取皂荚的正丁醇萃取物水溶液1500ml置分液漏斗中，乙酸乙酯萃取（1500ml×6）去脂溶性杂质后，用水饱和的正丁醇萃取（1500ml×2），正丁醇液用适量的蒸馏水洗，减压蒸馏后得200g粗总皂甙（GS-1）。取30g粗总皂甙上硅胶柱层析，用水饱和的正丁醇洗脱，经硅胶TLC检查后，将含有皂甙的流份按颜色深浅合并，其中中部流份蒸干后得到2.9g较纯的总皂甙，经活性炭脱色，即得精制的皂荚总皂甙，为近无色的粉末，熔点188～192℃，经TLC检查，主要含一种皂甙成分。

2.2 刺囊酸的制备：取由紫菀属植物中分离得到的紫菀甙Hc[2]200mg，加入8%盐酸水溶液20ml和少量苯，100℃回流反应5h后，蒸去苯，冷却后用适量乙酸乙酯萃取3次，乙酸乙酯用适量蒸馏水洗并经无水硫酸钠脱水后，滤过，蒸干，经硅胶柱层析，氯仿-乙酸乙酯（9：1)洗脱纯化后得到50mg刺囊酸，为无色粉末，熔点306～307℃（295升华为针状结晶）。^{1}H-NMR（C_5D_5N）：δ0.84，0.94，0.96，0.98，1.09，1.13，1.76（各3H，s，Me×7），5.18（1H，br.s），5.58（1H，br.s），EI-MS m/e：454（$M-H_2O$）$^+$，410（$M-H_2O-CO_2$）$^+$，264，246，207，201，189，与皂荚甙C水解得到的甙元刺囊酸[3]一致。

2.3 标准曲线的制备：精密称定精制总皂甙，配成10.0mg/ml甲醇溶液，分别吸取5、10、15、20、25、30μl各3份于10ml具塞试管中，加热挥干溶剂后，将试管置冰水浴中，然后精密加入8%香草醛乙醇液0.5ml和77%硫酸5.0ml，充分摇匀，置60℃恒温水浴中加热30

*Address：Chen Daofeng, College of Pharmacy, Shanghai Medical University, Shanghai

min，立即置冰水浴中冷却，同时在另一试管中不加总皂甙溶液，按同样步骤显色作为空白。测定前取出，放至室温后及时在454nm处测定吸收值，每管测定3次，取平均值计算。以吸收值（As）对总皂甙量（Xs，μg）求得直线回归方程：$As=0.002939Xs-0.004$，相关系数$r=0.9995$，线性范围：0～300μg。

精密称定刺囊酸，配成2.0mg/ml甲液溶醇，分别吸取5、10、20、30、40、50μl各3份置10ml具塞试管中，加热挥干溶剂后，同上操作，以吸收值（Aa）对刺囊酸量（Xa，μg）求得直线回归方程：$Aa=0.006885Xa-0.015$，$r=0.9992$，线性范围：0～100μg。

2.4 含量测定：取样品约100mg，精密称定，适量甲醇加热溶解，冷却后定容至10.0ml，取20μl置10ml具塞试管中，按标准曲线制备步骤测定吸收值A，依下面两公式求得总皂甙含量St（%）。A式：$St=(A+0.004)/0.002939\times Vs\times Ws$，B式：$St=2.323\times[(A+0.015)/0.006885-0.86]/Vs\times Ws$，式中：Vs-样品液微升，Ws-样品重（g）。结果见表。

2.5 加样回收率试验：取GS-4甲醇液10μl 5份，分别加入10.0mg/ml皂荚总皂甙甲醇液10μl，加热挥干溶剂后，按含量测定方法测定A值，并计算加样回收率。平均加样回收率为101.3%，变异系数2.29%。

表　皂荚总皂甙产品与自制品的皂甙含量（n=5）

编号	皂甙含量st（%）和cv（%） A式		皂甙含量st（%）和cv（%） B式		备注
94001	76.8±1.8	2.41	77.0±1.8	2.40	产品，黄色
94002	76.0±1.8	2.32	76.2±1.7	2.28	同上
94003	74.7±2.2	3.01	74.9±2.2	2.97	同上
GS-1	86.7±2.4	2.01	86.8±2.4	2.81	土黄色
GS-2	86.1±1.1	1.31	86.3±1.1	1.33	淡黄色
GS-3	91.9±1.9	2.10	91.1±1.9	2.01	黄白色
GS-4	91.0±2.9	3.16	91.1±2.9	3.16	淡红色
GS-5	92.7±0.8	0.09	92.9±0.8	0.09	淡黄白色

3 小结与讨论

3.1 由于香草醛-硫酸试剂与皂荚总皂甙的显色反应极为灵敏，温度、时间对实验结果影响较大，因此显色时间和温度应严格控制，加入硫酸时和测定吸收值前，试管一定要置冰水浴中，并及时测定。另外，加热显色前一定要充分振摇，否则实验误差较大。

3.2 皂荚属植物的主要皂甙成分是皂荚甙C，甙元为刺囊酸[3,4]，因此本文以刺囊酸为对照品制备标准曲线并按C式：$St=4.161(A+0.015)/0.006885\times Vs\times Ws$计算总皂甙含量（按皂荚甙C计算，4.161为皂荚甙C与刺囊酸分子量的倍数），结果发现，精制皂荚总皂甙的皂甙含量竟高达180%。上述结果提示，皂荚甙C结构中，末端鼠李糖上的2个单萜取代基[5,6]也能与香草醛-硫酸试剂显色。为校正皂荚甙C的单萜取代基对测定结果的影响，经数学处理得B式，按此公式计算的皂甙含量与A式结果完全一致。

3.3 测定结果表明，皂荚甙产品的皂甙含量较高，均高于74%。经乙酸乙酯脱去脂溶性杂质后，其皂甙含量可提高到86%，硅胶柱层析和活性炭脱色后，皂甙含量可达90%以上。

参 考 文 献

1 江苏新医学院.中药大辞典.上册.上海：上海科学技术出版社，1986.1144

2 Fujioka T, et al. Chem Pharm Bull, 1989, 37: 2355

3 Konoshima T, et al. Phytochemistry, 1981, 20: 139

4 Konoshima T, et al. Chem Pharm Bull, 1981, 29: 2695

5 Okada Y, et al. Planta Medica, 1980, 40: 185

6 Okada Y, et al. Planta Medica, 1984, 46: 74

（1994-10-05收稿）

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on Chemical Constituents of Rhizome of Sheathstipe Greenbrier (*Smilax stans*)

Sun Xuejun, Ju Yong, Du Mei, et al

From the rhizome of *Smilax stans* Maxim., nine compounds were isolated and their structures were determined to be friedelin, diosgenin, 3, 5, 4′-trihydroxy stilbene, 3, 5, 3′, 4′-tetrahydroxy stilbene, n-butanol-O-β-D-fructopyranoside, sitosterol-3-O-β-D-glucoside, dioscin, methyl protodioscin and pseudo protodioscin on the basis of chemical, spectral methods and comparison with authentic samples.

(Original article on page 395)

Studies on the Chemical Constituents of Dayecai (*Selaginella doederleinii*)

Chen Ping, Sun Jingyun, Xie Niangeng, et al

Five compounds isolated from the herb of *Selaginella doederleinii* Hiero were identified asdoederleinic acid (I), apigenin (Ⅱ), isopimpinellin (Ⅲ) , β-sitosterol (Ⅳ) and stearic acid (V) respectively on the basis of physical and chemical properties and spectral data. I is a new natural product while others were all isolated for the first time from this plant.

(Original article on page 397)

Purification and Quantification of Saponin Constituents of Chinese Honeylocust (*Gleditsia sinensis*)

Chen Daofeng, Zhang Min, Shao Yu, Xu Hongxi

With purified *Gleditsia* saponins(PGS)and their aglycone echinocystic acid as standard, the content of saponin constituents from *G. sinensis* were determined by spectrophotometric method. The recovery of PGS was 101.3%.

(Original article on page 401)

Effect of Different Alcohol Concentration on the Content of Saikosaponin from Chaihu

Zhang Ling, Li Baoguo, , Xu Xingang, et al

Rational processing for the alcoholic precipitation of saikosaponin from Chaihu was studied by the use of TLC densitometry. The concentration of alcohol for the optimum yield of saikosaponin A was found to be 60%.