

太白参中桃叶珊瑚苷的分离鉴定和提取工艺研究

李发荣^{1,2},杨建雄²,李宝林³,张尊听³,李 伟²⁽²⁰⁾

(1. 西安交通大学电信学院,陕西 西安 710049; 2. 陕西师范大学生命科学学院,陕西 西安 710062; 3. 陕西师范大学化学与材料科学学院,陕西 西安 710062)

太白参又称煤参、黑洋参,是玄参科马先蒿属植物美观马先蒿 *Pedicularis deora* Franch. 的根,是我国特有植物药,在陕西、甘肃、四川、湖北等地分布广泛,资源丰富。太白参在民间药用历史悠久,有滋阴补肾、健脾胃、消炎止痛、补中益气之功效,用于身体虚弱、肾虚、骨蒸潮热、不思饮食等症^[1]。对太白参的药效学研究表明,太白参有健脾、补肾、抗氧化等生理活性^[2~4]。化学成分研究显示,太白参含有环烯醚萜苷、酚酸、不饱和脂肪酸等多种生物活性物质^[5~6]。本文报道了太白参中桃叶珊瑚苷的分离鉴定及其提取工艺的研究。

1 材料与试剂

太白参(采于陕西长安县秦岭梁,由陕西师范大学生命科学学院植物教研室田先华副教授鉴定);柱色谱用硅胶(160~200目)为上海五四试剂厂生产,提取用乙醇为工业乙醇,其余试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 太白参中桃叶珊瑚苷的分离及鉴定

2.1.1 太白参中桃叶珊瑚苷的分离: 太白参 2 kg 粉碎,分别用 10 倍量 95%、70%、60% 乙醇冷浸 48 h 后滤过,合并滤液,减压浓缩至无醇味。分别用乙醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,得正丁醇萃取物 120 g,正丁醇萃取物经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇(9:1)洗脱,薄层色谱检查,收集相同组份洗脱液,浓缩,置乙醇中重结晶 3 次,可得白色针晶。

2.1.2 太白参中桃叶珊瑚苷的鉴定: 白色针晶(乙醇) mp 181℃~182℃; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): 6.31 (1H, dd, J= 6.1, 1.8 Hz), 5.76 (1H, s), 5.09 (1H, dd, J= 6.1, 3.9 Hz), 4.95 (1H, d, J= 7.2 Hz), 4.68 (1H, dd, J= 8.0 Hz), 4.43 (1H, dd, J= 3.3, 1.7 Hz), 4.35, 4.18 (各 1H, AB, J= 15.4 Hz), 3.86 (1H, dd, J= 12.8, 1.5 Hz), 3.64 (1H, dd, J= 12.8, 5.3 Hz), 3.37 (1H, t, J=

8.5 Hz), 3.30 (1H, m), 3.20 (1H, dd, J= 8.5, 8.0 Hz), 2.89 (1H, t, J= 7.2 Hz), 2.65 (1H, m)。 ¹³C-NMR (CD₃OD): 148.0 (s), 141.6 (d), 130.2 (d), 99.9 (d), 97.7 (d), 82.8 (d), 78.2 (d), 77.8 (d), 74.9 (d), 71.5 (d), 62.6 (t), 61.4 (t), 47.9 (d), 46.2 (d)。 IR ^κ_{max} cm⁻¹: 3 450, 2 880, 1 690, 1 458, 1 351。根据以上数据确定为桃叶珊瑚苷(aucubin)。

2.2 太白参中桃叶珊瑚苷的提取工艺研究

2.2.1 试验方案设计: 预试验显示,乙醇-水作为溶剂皆可以提取出桃叶珊瑚苷。由于桃叶珊瑚苷在加热、有酸或碱存在条件下不稳定,易分解为苷元,苷元易反应生成黑色不溶聚合物而影响其得率,同时考虑到经济因素,我们以桃叶珊瑚苷提取量为指标,用正交试验设计法对水提取工艺和乙醇提取工艺进行分析,因素水平见表 1、2。

表 1 乙醇提取工艺因素水平表

水平	因 素		
	A 乙醇浓度 /%	B 提取时间 /min	C 提取次数
1	100	45	1
2	70	90	2
3	60	120	3

表 2 水提取工艺因素水平表

水平	因 素		
	A 乙醇浓度 /%	B 提取时间 /min	C 提取次数
1	60	45	1
2	80	90	2
3	100	120	3

2.2.2 标准曲线的制备: 精密称取桃叶珊瑚苷对照品(自制,经色谱峰归一化法测得纯度大于 98.5%) 15 mg,用甲醇溶解后定容至 50 mL。分别精确取 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 置 10 mL 容量瓶中,定容,比色法测定^[7],以吸光度 A 对浓度 C 做标准曲线,得回归方

(20) 收稿日期: 2002-12-16
基金项目: 陕西省自然科学基金项目(2000SM20)
作者简介: 李发荣(1972-),男,陕西白水人,讲师,西安交通大学在读博士,主要从事中药活性组份药理研究,发表论文 10 余篇。
Tel (029) 5308451 E-mail Lifarong 12@sohu.com

程为 $C=0.469884-0.08828r$, $r=0.9998$

2.2.3 样品液中桃叶珊瑚苷的测定: 精确称取药材粉末 5.000 g, 置烧瓶中加热回流提取, 每次试验的提取液滤过后, 混合, 定容至 250 mL, 按“标准曲线的制备”方法测定桃叶珊瑚苷的含量。

2.2.4 乙醇提取工艺: 结果见表 3, 4 直观分析可以看出, 试验因素的主次顺序为提取次数> 提取时间> 乙醇浓度, 最优水平为 $A_3B_3C_3$ 方差分析说明提取次数对试验影响差异达到显著水平。

表 3 乙醇提取工艺正交试验方案和结果

Table 3 Orthogonal test of EtOH extracting process				
试验号	A	B	C	桃叶珊瑚苷含量 %
1	1	1	1	0.413
2	2	1	2	0.538
3	3	1	3	0.706
4	1	2	2	0.659
5	2	2	3	0.689
6	3	2	1	0.514
7	1	3	3	0.728
8	2	3	1	0.543
9	3	3	2	0.692
K_1	1.800	1.657	1.470	
K_2	1.770	1.862	1.889	
K_3	1.912	1.963	2.123	
R	0.142	0.306	0.653	

表 4 乙醇提取工艺方差分析表

Table 4 Variance analysis of EtOH extracting process					
方差来源	方差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	0.003734	2	0.001867	1.13	
B	0.016210	2	0.008105	4.93	
C	0.072970	2	0.036480	22.02	$P<0.05$
误差	0.003286	2	0.001643		

$F_{0.05}(2,2)=19.0$ $F_{0.01}(2,2)=99.0$

表 5 水提取工艺正交试验方案和结果

Table 5 Orthogonal test of H ₂ O extracting process				
试验号	A	B	C	桃叶珊瑚苷含量 %
1	1	1	1	0.417
2	2	2	2	0.572
3	3	3	3	0.477
4	1	2	3	0.617
5	2	3	1	0.402
6	3	1	2	0.502
7	1	3	2	0.430
8	2	1	3	0.582
9	3	2	1	0.467
K_1	1.464	1.501	1.286	
K_2	1.556	1.656	1.504	
K_3	1.446	1.309	1.676	
R	0.110	0.347	0.390	

2.2.5 水提取工艺: 结果见表 5, 6 直观分析可以看出, 试验因素的主次顺序为: 提取次数> 提取温度> 提取时间, 最优水平为 $A_2B_2C_3$ 方差分析说明

提取次数、提取温度对试验影响差异达到显著水平。

表 6 水提取工艺方差分析表

Table 6 Variance analysis of H ₂ O extracting process					
方差来源	方差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	0.020140	2	0.010070	36.56	$P<0.05$
B	0.002321	2	0.001160	4.21	
C	0.025470	2	0.012740	46.22	$P<0.05$
误差	0.000551	2	0.000276		

$F_{0.05}(2,2)=19.0$ $F_{0.01}(2,2)=99.0$

3 讨论

3.1 桃叶珊瑚苷具有止痛、抗炎、抗病毒、保肝等多种生理活性^[8], 在杜仲、车前、地黄等中药中广泛存在, 是其中的药效成分。本研究首次从太白参中分离得到了桃叶珊瑚苷, 有助于进一步了解太白参的药理作用机制, 也有助于太白参药材质量标准的制定。

3.2 桃叶珊瑚苷属环烯醚萜苷类化合物, 化学性质活泼, 在加热、有酸或碱存在的条件下不稳定。本实验结果显示在水提取工艺条件下, 提取温度对结果影响较大, 差异具有显著性, 可能是因为太白参中含有的酸性物质溶出, 使桃叶珊瑚苷在长时间加热分解所致。建议在用水提取溶剂时, 采用 $A_2B_2C_3$; 乙醇提取工艺试验中, 提取次数是最主要因素, 试验中最优水平为 $A_3B_3C_3$, 但在实际提取中, 考虑到经济因素, 建议采用 $A_3B_2C_3$ 或 $A_3B_2C_2$ 。在采用 60% 乙醇提取时, 可避免用水作溶剂时提取杂质多, 过滤操作困难等不利因素, 也可提取出较多的水溶组份, 保证药效物质的充分溶出, 是一种比较适合大量提取的方法。

References

[1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1976.

[2] Li F R, Xu W Y, Cao Y X. Effect of Taibai-ginsen on the mice pathology model of “kidney yin deficiency” induced by excessive throxine [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 2001, 24(3): 190-191.

[3] Yang JX, Gao M L, Li F R. Effects of Taibai-ginsen extract on anti-oxidation damnification of mice [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 2002, 25(1): 37-39.

[4] Li F R, Song J D, Xu W Y, et al. Effects of Taibai-ginsen on the mice pathology model of spleen deficiency induced by hunger-cure [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med* (陕西中医), 2002, 23(2): 180-181.

[5] Li C, Zhang C Z. Nor-monoterpene glucosides from small woodbetony root (*Pedicularis decora*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(7): 482-484.

[6] Li C, Tao B Q, Zhang C Z, et al. Indoid glycosides from *Pedicularis decora* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志) 1999, 24(1): 40-41.

[7] Xun L C, Sha S Y. *Analysis Methods of Chemical Components in Chinese Traditional Drugs* (中草药有效成分分析法) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1984.

[8] Lee D H, Cho I G, Park M S, et al. Studies on the possible mechanisms of protective activity against alpha-amanitin poisoning by aucubin [J]. *Arch Pharm Res*, 2001, 24(1): 55-63.