

不同提取方法对菝葜中总皂苷提取效果的影响

王敏杰¹, 王丽莉², 杜晓曦¹, 张铁军^{2*}, 龚苏晓², 杨金颖³

1. 成都中医药大学, 四川 成都 611137

2. 天津药物研究院 中药现代研究部, 天津 300193

3. 天津中医药大学, 天津 300193

摘要: 目的 考察不同提取方法对菝葜中总皂苷提取效果的影响。方法 分别采用加热回流(水和乙醇溶液)、酶解、渗漉和超临界 CO₂ 流体萃取法对菝葜药材进行提取, 通过紫外-可见分光光度(UV-Vis)法检测菝葜总皂苷的量, 计算不同提取方法的转移率。结果 5种提取方法菝葜总皂苷转移率分别为 34.22%、86.48%、85.51%、78.68%、38.66%。结论 不同提取方法对菝葜中总皂苷的转移率影响较大, 采用乙醇加热回流提取法所得转移率较高, 且简单易行, 可作为菝葜总皂苷工艺提取方法应用。

关键词: 菝葜; 总皂苷; 酶解; 超临界流体萃取; 紫外-可见分光光度法

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)11-2194-03

Effects of different extracting methods on total saponins extraction efficacy from *Smilax china*

WANG Min-jie¹, WANG Li-li², DU Xiao-xi¹, ZHANG Tie-jun², GONG Su-xiao², YANG Jin-ying³

1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Department of Morden Chinese Materia Medica, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Key words: *Smilax china* L.; total saponins; zymolysis; supercritical fluid extraction; UV-visible spectrophotometry

菝葜 *Smilax Chinae Rhizoma* 又称金刚藤, 收载于《中国药典》2010年版一部, 为百合科菝葜属植物菝葜 *Smilax china* L. 的干燥根茎, 具有利湿去浊、祛风除痹、解毒散瘀等功效, 临床广泛用于治疗妇科慢性炎症、附件炎症等病症^[1]。菝葜主要含有皂苷、黄酮、氨基酸及其他类化合物, 其中皂苷为菝葜抗炎的主要活性成分之一^[2-3]。

菝葜根茎内的皂苷类成分通过糖基与纤维素结合而存在于细胞壁中, 所以不容易被提取完全^[4], 本实验考虑到甾体皂苷的极性以及细胞壁的致密结构, 比较了酶解法^[5]、超临界 CO₂ 流体萃取法^[6]同常规提取方法(加热回流和渗漉)对菝葜药材中总皂苷提取的影响, 为菝葜药材中总皂苷的质量控制以及深层次的研究和开发奠定了基础。

1 仪器与材料

UV-1601 紫外分光光度仪, R501B 星海旋转蒸发仪, AS3120 超声仪, AB204-N 十万分之一天平, HA220-50-06 超临界萃取仪。

薯蓣皂苷对照品(批号 111707-200501)由中国药品生物制品检定所提供, 聚酰胺(60~90目, 江苏临江试剂化工厂), 植物精提复合酶 SPE-007(由纤维素酶和果胶酶组成, 宁夏夏盛实业集团有限公司生产), 实验所用药材购于河北安国药材市场, 经天津药物研究院中药现代研究部张铁军研究员鉴定为百合科植物菝葜 *Smilax china* L. 的干燥根茎, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品提取方法

2.1.1 水加热回流提取 称取菝葜药材 100 g, 置于

收稿日期: 2012-02-03

作者简介: 王敏杰(1984—), 女, 硕士研究生。E-mail: wangminjie-good@163.com

*通讯作者 张铁军 E-mail: tiezheng4@sina.com

网络出版时间: 2012-10-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20121019.1031.002.html>

圆底烧瓶中,水加热回流提取3次,溶剂用量分别为1 000、800、800 mL,提取时间分别为2.0、1.5、1.5 h。抽滤,合并3次滤液。

2.1.2 乙醇加热回流提取 称取菝葜药材100 g,置于圆底烧瓶中,60%乙醇为溶剂加热回流提取3次,溶液用量分别为1 000、800、800 mL,提取时间分别为2.0、1.5、1.5 h。抽滤,合并3次滤液。

2.1.3 酶解法提取 称取菝葜药材100 g,置于圆底烧瓶中,加入600 mL温水(40 ℃)浸泡30 min;取复合酶适量(药材干质量的0.5%)加入温水(40 ℃)活化10 min;待水浴温度为50 ℃,pH值调至5时,缓慢加入酶液并轻轻搅拌,恒温酶解2.0 h。滤过,药渣加入60%乙醇加热回流提取3次,同“2.1.2”项操作,抽滤,合并滤液。

2.1.4 渗漉法提取 称取菝葜药材(粉碎后过20目筛)100 g,60%乙醇作为渗漉溶剂(用量为药材干质量的20倍),以2.0 mL/min的体积流量渗漉24 h,收集渗漉液。

2.1.5 超临界CO₂流体萃取法提取 称取菝葜药材(粉碎后过40目筛)150 g投入萃取釜中,95%乙醇作为夹带剂,分别对萃取釜、分离釜进行加热,使萃取温度为40 ℃,分离釜温度为45 ℃,压力为25 MPa。当温度达到要求时开启CO₂钢瓶,通过加压泵对系统加压,静态提取1 h,CO₂循环提取1 h,收集并合并萃取液。

2.2 总皂苷定量测定

2.2.1 供试品溶液的制备 精密吸取上述方法制备的不同提取液适量,蒸干,残渣加提取溶剂使溶解,加于10 g聚酰胺柱上端,70%乙醇洗脱收集洗脱液200 mL,蒸干,加甲醇使溶解并转移至10 mL量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.2 对照品储备液的制备 精密称取薯蓣皂苷对照品10.31 mg,置25 mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配成质量浓度为412.4 μg/mL的储备液。

2.2.3 吸收波长的选择 分别精密量取薯蓣皂苷对照品溶液和供试品溶液各0.1 mL,水浴挥干溶剂,加5 mL高氯酸,摇匀,于70 ℃水浴加热15 min,取出,立即置冰水浴中冷却2~3 min,摇匀,以试剂作空白,在波长200~700 nm进行扫描,对照品溶液与供试品溶液均在405~409 nm处有最大吸收,故选择测定波长为407 nm。

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取薯蓣皂苷对照

品储备液0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,按“2.2.3”项方法显色,在407 nm处测定吸光度(A)值。以质量浓度为横坐标(X)、A值为纵坐标(Y)进行线性回归,得回归方程 $Y=16.618 X-0.008 6$, $r=0.999 3$,结果表明薯蓣皂苷在4.124~41.24 μg/mL与A值具有良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密量取供试品溶液0.1 mL,按“2.2.3”项方法显色后,在407 nm处重复测定A值6次,计算得其RSD为0.02%。

2.2.6 重复性试验 取同一批金刚藤药材粉末6份,按“2.2.1”项操作制备供试品溶液,再按“2.2.3”项显色后,在407 nm处测定A值,并计算每份总皂苷的量,其RSD为3.22%。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,按“2.2.3”项显色后,分别在0、5、10、15、20、25、30 min时在407 nm处测定A值,并计算其RSD为0.52%。

2.2.8 加样回收率试验 取已知总皂苷量(3.08%)的菝葜药材粉末9份,每份0.1 g,精密称定,分别精密加入412.4 μg/mL薯蓣皂苷对照品溶液0.6、0.75、0.9 mL各3份,按“2.2.1”项方法制备供试品溶液,再按“2.2.3”项方法显色后,在407 nm处测定A值,并计算薯蓣皂苷回收率,得平均回收率为97.9%,RSD为2.71%。

2.2.9 样品测定 分别精密量取对照品溶液、供试品溶液各0.1 mL置具塞试管中,按“2.2.3”项方法显色后在407 nm处测定A值,计算不同提取方法所得菝葜提取物中总皂苷的量,计算质量分数、转移率和出膏率,结果见表1。

总皂苷质量分数=提取物中总皂苷质量/提取物干膏质量

转移率=提取物中总皂苷质量/药材中总皂苷质量

出膏率=提取物干膏质量/药材干质量

3 讨论

从结果来看,加入复合酶并没有达到预期提高菝葜总皂苷提取的效果,而是增大了出膏率,由此推测,采用60%乙醇提取已经能够穿透细胞壁,酶的作用是进一步破坏细胞壁,将高分子物质降解为糊精、纤维二糖等,从而增大非指标成分的溶出,引入了更多杂质。超临界CO₂流体萃取法的质量分数高于其他提取方法,但转移率很低,可见在提取过程中,造成了大量损失。而水加热回流法和渗漉法无论是转移率还是质量分数都小于醇加热回流提取。因此,醇加热回流的提取方法在菝葜的提取中

表 1 不同提取方法菝葜总皂苷提取效果

Table 1 Extraction efficacy of total saponins from *S. china* by different methods

| 提取方法 | 总皂苷 /mg | 质量分数 /% | 转移率 /% | 出膏率 /% |
|-------|----------|---------|--------|--------|
| 水加热回流 | 429.50 | 1.7 | 34.22 | 6.94 |
| 醇加热回流 | 1 085.37 | 4.1 | 86.48 | 7.50 |
| 酶解法 | 1 073.11 | 3.3 | 85.51 | 9.37 |
| 渗漉 | 987.44 | 3.4 | 78.68 | 9.91 |
| 超临界萃取 | 1 455.63 | 7.0 | 38.66 | 4.22 |

是一种值得广泛推广的方法。

在显色剂的选择上分别选用香草醛-冰醋酸和硫酸、香草醛-冰醋酸和高氯酸，在 30 min 内高氯酸相对前两种显色剂稳定，因此选择高氯酸作为显色剂。

菝葜红色素是一种水溶性色素，从外观来看，除超临界提取液外，其他提取液中其量均较高，这直接影响了总皂苷定量测定的准确性，因此，本实验分别采用了 3 种不同方法进行前处理：直接过大孔吸附树脂、水饱和和正丁醇萃取氨试液除杂后过聚酰胺、直接过聚酰胺柱。结果表明，选用直接过聚酰胺柱的前处理方法制备的菝葜总皂苷样品，与红色素分离效果好、损失少，并且经过全波长扫描，最大吸收出现在 407 nm 附近。同时对未显色的样品进行了全波长扫描，无干扰。因此菝葜提取物的预处理选择直接过聚酰胺柱的方法。

皂苷类化合物为菝葜中的主要成分之一，同时又是活性成分，如采用不当的测定方法会使结果偏

离真实值，从而影响对菝葜质量的真实评价。本实验所建立的菝葜总皂苷定量测定方法，操作简便，准确性和精确性较高，为菝葜药材的质量评价和进一步开发奠定了基础。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 姚新生. 天然药物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001.
- [3] 仇萍, 盛孝邦, 邱赛红. 菝葜不同工艺提取物对慢性盆腔炎大鼠的治疗作用 [J]. 中草药, 2010, 41(12): 2046-2049.
- [4] 罗敏, 舒军, 陆茵. 薯蓣皂苷及苷元提取分离和抗肿瘤研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(4): 318-320.
- [5] 杨军宣, 伊蓉莉. 纤维素酶在三七提取工艺中的应用 [J]. 中国中医药科技, 2001, 8(5): 12-14.
- [6] 华小黎, 陈东生. 菝葜超临界 CO₂ 萃取物中薯蓣皂苷元的含量测定 [J]. 中药材, 2006, 26(4): 339-340.