

酸水解地榆总皂苷制备地榆皂苷元的工艺优选

代良敏¹, 熊永爱¹, 范奎¹, 伍振峰², 杨明^{1,2*}

1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137
2. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 优化地榆总皂苷的酸水解工艺, 提高水解产物地榆皂苷元的产量。方法 采用正交试验设计, 考察盐酸浓度、料液比、水解温度、水解时间对地榆总皂苷水解过程的影响。结果 影响水解的主次因素依次是盐酸浓度>水解时间>料液比>水解温度, 优选的最佳工艺为料液比 1:200, 盐酸浓度为 4 mol/L, 水解时间 0.5 h, 水解温度 92 ℃。结论 采用优化后的水解条件能够得到产量较高的地榆皂苷元, 适合工业化生产。

关键词: 地榆; 地榆总皂苷; 盐酸水解; 地榆皂苷元; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)14-2454-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.14.010

Process optimization of acid hydrolysis of burnet total saponins for preparation of burnet sapogenin

DAI Liang-min¹, XIONG Yong-ai¹, FAN Kui¹, WU Zhen-feng², YANG Ming^{1,2}

1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal, Ministry of Education, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611173, China
2. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To optimize the acid hydrolysis process of burnet (*Sanguisorbae Radix*, the roots of *Sanguisorba officinalis*) total saponins and to improve the yield of the hydrolyzate burnet sapogenin. **Methods** Using orthogonal test design, the concentration of hydrochloric acid, solid-liquid ratio, hydrolysis temperature, and hydrolytic time for the hydrolysis process of burnet total saponins were investigated. **Results** The primary and secondary factors that influenced the hydrolysis were followed by order of the concentration of hydrochloric acid > hydrolytic time > solid-liquid ratio > hydrolytic temperature, preferably optimum for the solid-liquid ratio of 1:200, hydrochloric acid concentration of 4 mol/L, hydrolytic time of 0.5 h, and hydrolytic temperature of 92 ℃. **Conclusion** High yield of burnet sapogenin can be obtained by using the optimized hydrolytic conditions, which are suitable for industrial production.

Key words: *Sanguisorbae Radix*; burnet total saponins; hydrochloric acid hydrolysis; burnet sapogenin; HPLC

地榆 *Sanguisorbae Radix* 是蔷薇科地榆属植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 的干燥根, 在我国主要分布于江苏、湖南、安徽、甘肃、陕西等省^[1]。秦岭山脉地榆资源十分丰富。研究表明, 地榆根中含鞣质约 7%、三萜皂苷 2.4%~4.0%, 已分离出地榆皂苷-I、地榆皂苷-II (其苷元为 19 α -羟基乌苏酸) 和地榆皂苷 B 及 E (其苷元为乌苏酸)^[2]。地榆具

有多种药用价值, 能够凉血、止血、抗菌、解毒、止吐等。

现代药理及临床研究表明, 以地榆为原料制备的地榆升白片能显著升高放、化疗引起的外周血白细胞减少^[3-4], 使癌症患者生活质量得到明显改善。通过用小鼠骨髓细胞体外筛选有效部位发现, 地榆总皂苷具有明显的促骨髓细胞增殖作用^[5]。体内动

收稿日期: 2016-03-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81373976); 国家新药创制重大专项 (2013ZX09103002-013)

作者简介: 代良敏, 硕士研究生在读, 从事中药新制剂、新剂型和新技术研究与应用工作。Tel: 18782903677 E-mail: 1542227478@qq.com

*通信作者 杨明, 博士, 教授, 从事中药制剂研究工作。Tel: (0791)87118118 E-mail: yangming16@126.com

物实验也证实,地榆总皂苷不仅能有效升高环磷酰胺(CTX)诱导的骨髓抑制小鼠骨髓有核细胞数量,同时对外周血白细胞、红细胞以及血小板数量也有明显的改善作用^[5-7],这些研究结果均表明地榆具有明显的促造血作用。

本课题组前期已研究闪式提取^[8]结合三步碱沉法制备地榆总皂苷,在地榆总皂苷的基础上进行地榆皂苷类成分对 CTX 诱导的骨髓抑制小鼠骨髓作用以及对 Baf3/Mpl、UT-7 和 NSF-60 细胞的增殖作用研究,均表明地榆皂苷元具有较强的药理活性。

五环三萜皂苷类成分由于口服吸收较差以及机体代谢作用,致使其生物利用度普遍较低^[9-11]。大多数五环三萜皂苷主要经各种酶系、菌群等转化为苷元而产生生物活性^[12-13]。药物进入机体后,在各种酶、体液环境等影响下可发生一系列代谢反应,导致药物化学结构发生变化,其中主要包括肠道和肝脏代谢。

已有的研究表明,地榆皂苷类成分能够治疗骨髓抑制,而通过地榆皂苷类成分对 CTX 致小鼠骨髓抑制的保护作用研究表明地榆皂苷类成分可显著升高小鼠白细胞数目(WBC),显著升高小鼠骨髓 DNA 水平,显著促进 CD34⁺和 MGMT 蛋白的表达。通过实验研究可以看出地榆皂苷类成分中地榆皂苷元比地榆皂苷更能够显著拮抗 CTX 所致小鼠骨髓抑制。

本实验在地榆总皂苷及其水解产物中分离得到地榆皂苷元,其中地榆皂苷元(3 α ,19 α -羟基乌索-12-烯-28-羧酸)是在地榆总皂苷制备及水解过程中产生的,在结合药理实验(体内及体外实验)中明确其能够显著升高 CTX 导致的小鼠骨髓抑制的白细胞数,对地榆药材采用系统溶剂法以及硅胶柱色谱梯度洗脱最终筛选地榆有效成分为地榆皂苷元成分,并通过药效学考察,初步确定其为保髓升白的有效成分,因此对其制备工艺的研究,能够为研制保髓升高白细胞数目新药的研究带来积极的意义。

同时本课题组已报道从地榆中分得的地榆总皂苷具有显著的升高白细胞活性,地榆总皂苷中含有的地榆皂苷-I 与地榆皂苷-II 均具有较强的药理活性,地榆皂苷-I 与地榆皂苷-II 的皂苷元均为同一种物质。所以,如果能够大量制备地榆皂苷元成分,以此为先导化合物进一步结构修饰,制备和寻求活性更强的保髓升高白细胞药物,对发现新的活性成分或半合成原料,扩大药用资源及进行创新药物的

开发研究将具有十分重要的意义。

1 仪器与材料

Agilent1260 型高效液相色谱仪,Agilent 公司;BT25S 型 1/10 万电子分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;JA2003 型 1/1000 电子分析天平,上海良平仪器仪表有限公司;BT25S 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

乙腈、甲醇均为色谱级,Fisher Scientific 公司;水为超纯水,其他试剂均为分析纯,成都市科龙化工试剂厂。

地榆饮片,批号 20141202,购自四川科伦药业股份有限公司,经成都中医药大学中药鉴定教研室卢先明教授鉴定为蔷薇科地榆属植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 的干燥根。地榆皂苷元对照品,质量分数>98%,实验室自制。

2 方法与结果

2.1 酸水解地榆总皂苷制备地榆皂苷元

2.1.1 地榆总皂苷制备工艺^[14-17] 取地榆饮片 1 kg,适当粉碎后加 8 倍量 70%乙醇回流提取 2 次,每次 1.5 h,滤过,合并 2 次提取液,静置放冷后,调乙醇体积分数至 90%,加 10% NaOH 溶液调 pH 值至 12~14,静置过夜(12 h),离心去沉淀,滤液抽滤得到上清液。上清液减压浓缩至适当体积,加水适量至乙醇体积分数 20%左右,用 10% NaOH 溶液调 pH 值至 11~12,静置 12 h,离心收集沉淀;上清液继续用 10% NaOH 溶液调 pH 值至 12~13,静置 12 h,离心收集沉淀;合并两侧沉淀,于 70 °C 减压至干,用无水乙醇回流 45 min,滤过,收集滤液,减压回收乙醇至有固形物析出,挥干,所得固形物减压干燥 12 h,即得地榆总皂苷。

2.1.2 先碱水解后酸水解地榆总皂苷工艺 称取地榆总皂苷约 1.0 g,加 80 倍量 20% NaOH 溶液,82 °C 下水浴 3.5 h。取出,放冷到室温,加入 10% HCl 调 pH 值至 6~7,再用纯净水洗至中性,抽滤,滤出水解产物(白色沉淀),水解得到的产物为地榆皂苷-II 为主的地榆总皂苷(地榆皂苷-II>80%),沉淀于烘箱中 70 °C 干燥 4 h,即得地榆总皂苷(以地榆皂苷-II 为主);称取碱水解后地榆总皂苷(地榆皂苷-II 为主)0.2 g,分别置 50 mL 量瓶中,加入 4 mol/L 的盐酸溶液,在 92 °C 下水浴回流时间为 30 min,取出,放冷到室温,加入等体积氯仿萃取 2 次,静置分层,下层于水浴锅上挥干。沉淀于烘箱中 70 °C 干燥 4 h,再置干燥器中 30 min 后取出称

质量, 称得产物干质量为 0.19 g, 其质量作为考察指标。酸水解地榆总皂苷得到的产物为地榆皂苷元。

2.2 地榆皂苷元的转化率测定

将得到的定量碱水解后的地榆总皂苷酸水解获得地榆皂苷元, 按照公式计算地榆皂苷元转化率(转化率=地榆皂苷元质量分数×水解产物干质量/总皂苷取样量)。

2.3 地榆皂苷元的定量测定

2.3.1 色谱条件 Agilent extend-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.5%磷酸水溶液 (70:30); 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 40 °C; 检测波长 205 nm, 进样量 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的配制 精密称取地榆皂苷元对照品 5.12 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇溶解至刻度, 摇匀, 超声 30 min, 冷却, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得地榆皂苷元对照品储备液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取地榆总皂苷水解产物粉末 0.01 g, 置于 25 mL 量瓶中, 加入甲醇 20 mL, 超声 30 min, 冷却, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 备用。

2.3.4 专属性考察 分别配制阴性对照溶液 (空白溶剂)、对照品溶液、供试品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件进行试验, 结果见图 1。在该分析条件, 地榆皂苷元色谱峰理论塔板数大于 5 000, 与其他组分的色谱峰分离良好, 且无阴性干扰。结果表明, 本方法具有较好的专属性。

2.3.5 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 1、2、4、6、8、10 μL 注入高效液相色谱仪中, 测定, 以对照品进样量为横坐标 (X), 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 经线性回归, 回归方程为 $Y=742.55 X-9.637 3$, $r=1.000 0$, 对照品地榆皂苷元进样量在 51.2~512.0 μg/mL 线性关系良好。

2.4 地榆总皂苷酸水解单因素考察

取同一批地榆总皂苷, 均按照“2.1”项下进行处理, 以地榆皂苷元的产量为评价指标, 按照“2.2”和“2.3”项下方法测定地榆皂苷元的转化率与地榆皂苷元的产量。

2.4.1 盐酸浓度对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响 分别称取 0.2 g 地榆总皂苷, 共 5 份, 分别加入浓度为 1、2、3、4、5 mol/L 的盐酸 20 mL, 90 °C 水解 2 h, 放冷至室温, 加入等量的氯仿萃取 2 次, 挥干, 水解产物经 HPLC 检测, 计

算地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量及地榆皂苷元转化率。表 1 反映了不同浓度的盐酸对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响, 可以看出, 不同浓度的盐酸对地榆总皂苷水解效果的影响很明

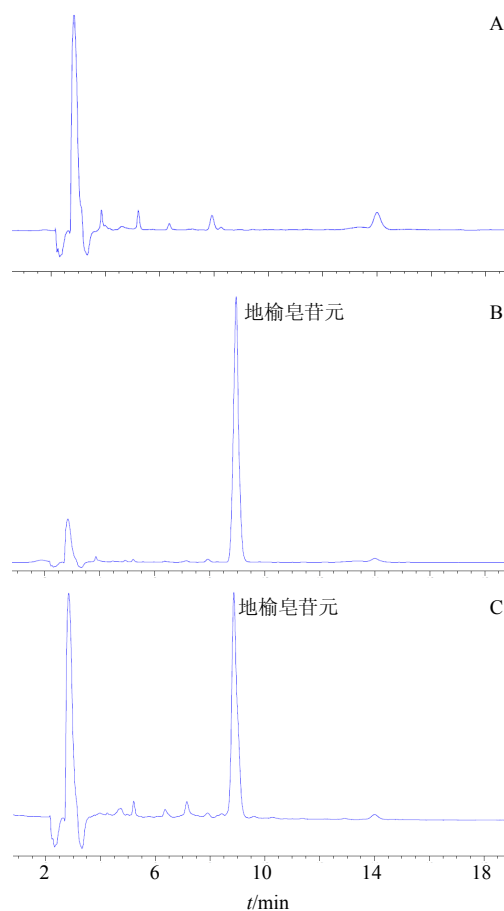


图 1 阴性对照 (A)、地榆皂苷元对照品 (B) 及供试品 (C) 的专属性试验 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of burnet sapogenin specificity test of negative control (A), burnet sapogenin reference substance (B), and test samples (C)

表 1 不同浓度的盐酸对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响

Table 1 Effects of hydrochloric acid at different concentration on yield of burnet sapogenin from hydrolyzate of burnet total saponins

盐酸的浓度/ (mol·L ⁻¹)	总皂苷取 样量/g	沉淀 量/g	得率/ %	地榆皂苷元 质量分数/%	转化 率/%
1	0.20	0.169	84.5	34.98	29.56
2	0.20	0.186	93.0	45.33	42.15
3	0.20	0.198	99.0	40.30	39.90
4	0.20	0.148	74.0	46.77	34.61
5	0.20	0.165	82.5	42.71	35.24

显, 各浓度盐酸水解地榆总皂苷获得地榆皂苷元产量是有差异的, 当盐酸的浓度为 1、3、5 mol/L 时所水解得到的地榆皂苷元的产量较低; 当盐酸的浓度为 2、4 mol/L 时所水解得到的地榆皂苷元的产量升高。当盐酸浓度为 4 mol/L 时地榆皂苷元达到最高值, 说明地榆皂苷元在一定的酸度下才能得到较彻底的水解。

2.4.2 料液比对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响 分别称取 0.2 g 地榆总皂苷, 共 5 份, 分别加入浓度为 4 mol/L 的盐酸 10、20、30、40、50 mL, 在 90 °C 水解 2 h, 放冷至室温, 加入等量的氯仿萃取 2 次, 挥干, 水解产物经 HPLC 检测, 计算地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量及地榆皂苷元转化率。表 2 反映了不同料液比对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响, 地榆总皂苷酸水解为皂苷元并不是料液比越大, 水解程度越高。当料液比为 1:200 时, 地榆总皂苷酸水解为地榆皂苷元的程度最大; 当料液比继续增大时, 地榆总皂苷酸水解为地榆皂苷元的产量反而下降。这可能是当料液比超过一定值时, 淀粉、蛋白质等其他杂质大量浸出并变性沉淀包裹了部分皂苷, 当料液比为 1:200 时地榆皂苷元达到最高值, 因此, 料液比以 1:200 左右为宜。

表 2 不同料液比对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响

Table 2 Effects of different solid-liquid ratios on yield of burnet sapogenin from hydrolyzate of burnet total saponins

料液比	总皂苷取 样量/g	沉淀 量/g	得率/ %	地榆皂苷元 质量分数/%	转化 率/%
1:50	0.20	0.187	93.5	41.63	38.92
1:100	0.20	0.148	74.0	47.22	34.94
1:150	0.20	0.145	72.5	46.64	33.81
1:200	0.20	0.172	86.0	52.19	44.88
1:250	0.20	0.17	85.0	42.40	36.04

2.4.3 水解时间对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响 分别称取 0.2 g 地榆总皂苷共 5 份, 加入 40 mL 4 mol/L 的盐酸, 在 90 °C 分别水解 1、2、3、4、5 h, 放冷至室温, 加入等量的氯仿萃取 2 次, 挥干, 水解产物经 HPLC 检测, 计算地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量及地榆皂苷元转化率。表 3 反映了不同水解时间对地榆总皂苷水解的影响, 可以看出, 当水解时间从 1 h 增加到 5 h, 地

表 3 不同水解时间对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响

Table 3 Effects of different hydrolytic time on yield of burnet sapogenin from hydrolyzate of burnet total saponins

水解时 间/h	总皂苷取 样量/g	沉淀 量/g	得率/ %	地榆皂苷元 质量分数/%	转化 率/%
1	0.20	0.167	83.5	53.07	44.32
2	0.20	0.172	86.0	51.50	44.29
3	0.20	0.164	82.0	51.90	42.56
4	0.20	0.172	86.0	40.21	34.58
5	0.20	0.167	83.5	36.98	30.89

榆皂苷元的产量呈下降趋势; 其原因可能是水解初期时水解基本完全, 随着水解时间的增加, 可能存在副反应的进行, 导致地榆皂苷元的生成逐渐减少。

2.4.4 水解温度对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响 分别称取 0.2 g 地榆总皂苷, 共 5 份, 加入 40 mL 4 mol/L 的盐酸, 分别在 75、80、85、90、95 °C 水解 1 h, 放冷至室温, 加入等量的氯仿萃取 2 次, 挥干, 水解产物经 HPLC 检测, 计算地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量及地榆皂苷元转化率。表 4 反映了不同温度对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响, 可以看出, 水解温度 90 °C 时, 地榆皂苷元的得率明显高于 85 °C 和 95 °C 的。由于温度过低, 地榆皂苷水解较慢, 同时有些地榆皂苷未发生水解; 温度过高, 可能杂质过多浸出而抑制皂苷浸出水解或部分苷元发生转化, 生成的不是真正的皂苷类物质。因此, 水解温度以 90 °C 左右为宜。

2.5 地榆总皂苷酸水解的正交试验

根据单因素得出的最佳提取条件范围, 设计 4 因素 3 水平正交试验, 并进行极差分析和方差分析。

表 4 不同水解温度对地榆总皂苷水解产物中地榆皂苷元产量的影响

Table 4 Effects of different hydrolytic temperature to yield of burnet sapogenin from hydrolyzate of burnet total saponins

水解温 度/°C	总皂苷取 样量/g	沉淀 量/g	得率/ %	地榆皂苷元 质量分数/%	转化 率/%
75	0.20	0.175	87.5	42.82	37.47
80	0.20	0.162	81.0	50.08	40.56
85	0.20	0.168	84.0	46.16	38.77
90	0.20	0.167	83.5	52.98	44.24
95	0.20	0.179	89.5	47.52	42.53

根据单因素实验考察结果以及重复单因素实验验证,以地榆皂苷元质量分数(地榆皂苷元质量分数=水解产物中地榆皂苷元质量/水解产物的质量)为考察指标,设计以盐酸浓度(稀盐酸,A)、料液比(B)、水解温度(C)、水解时间(D)4个因素3水平的 $L_9(3^4)$ 正交试验,优化地榆总皂苷酸水解工艺参数。精密称取地榆总皂苷0.2 g,平行9份,置圆底烧瓶中,按 $L_9(3^4)$ 正交表分别进行试验,试验设计及结果见表5。不考虑交互作用,进行方差分析,结果见表6。

表5 地榆总皂苷酸水解 $L_9(3^4)$ 正交试验Table 5 $L_9(3^4)$ orthogonal test for acid hydrolysis of burnet total saponins

试验号	A/ (mol·L ⁻¹)	B	C/℃	D/h	地榆皂苷元 质量分数/%
1	3.5 (1)	1 : 180 (1)	88 (1)	0.5 (1)	46.24
2	3.5 (1)	1 : 200 (2)	90 (2)	1.0 (2)	46.92
3	3.5 (1)	1 : 220 (3)	92 (3)	1.5 (3)	41.79
4	4.0 (2)	1 : 180 (1)	90 (2)	1.5 (3)	47.63
5	4.0 (2)	1 : 200 (2)	92 (3)	0.5 (1)	63.16
6	4.0 (2)	1 : 220 (3)	88 (1)	1.0 (2)	48.92
7	4.5 (3)	1 : 180 (1)	92 (3)	1.0 (2)	45.58
8	4.5 (3)	1 : 200 (2)	88 (1)	1.5 (3)	46.12
9	4.5 (3)	1 : 220 (3)	90 (2)	0.5 (1)	47.86
K_1	44.983	46.483	47.093	52.420	
K_2	53.237	52.067	47.470	47.140	
K_3	46.520	46.190	50.177	45.180	
R	8.254	5.877	3.084	7.240	

表6 方差分析

Table 6 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	方差	F值	显著性
A	115.592	2	4.390	6.810	无
B	65.795	2	3.312	3.876	无
C(误差)	16.975	2	1.682	1.000	无
D	84.138	2	3.745	4.957	无

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$$

根据正交试验结果分析可知各因素对工艺影响顺序为A>D>B>C,最优提取工艺为 $A_2B_2C_3D_1$,各因素对实验结果无显著影响。综合实际成本考虑,确定工艺为 $A_2B_2C_3D_1$:加200倍量4 mol/L盐酸溶液,92℃下水浴0.5 h。

2.6 验证试验

选取3批地榆饮片,均按照“2.1”项下进行处理,分别称取1 kg地榆饮片,按照最优工艺进行验证,分别按照“2.2”和“2.3”项方法测定地榆皂苷元的转化率及地榆皂苷元质量分数,地榆皂苷元转化率分别为65.38%、64.78%、64.92%,RSD为0.48%,地榆皂苷元质量分数分别为61.73%、62.12%、62.51%,RSD为0.63%。验证结果说明优选的工艺条件稳定可行。

3 讨论

地榆总皂苷是一类活性很好的化合物,具有广泛的生理活性。这些化合物都是通过运用传统经典的植化手段和现代色谱技术获得,其单体皂苷的制备过程通常经过提取、萃取、柱色谱等步骤,整个过程显得比较漫长、繁琐。目前,有关地榆总皂苷及其单体皂苷的研究多集中于提取纯化工艺和定量测定方面,水解作为一种获得地榆皂苷单体的手段对其研究还比较少。

地榆皂苷的升高白细胞作用^[18-20]已经得到证实,而地榆皂苷的结构与这些活性单体皂苷相似。因此,利用其皂苷元进行一定程度上的结构修饰,有望筛选出活性更强、有潜在开发价值的衍生物。

地榆总皂苷中以地榆皂苷-I与地榆皂苷-II为主,地榆总皂苷中以地榆皂苷-I为主要组分,地榆总皂苷氢氧化钠水解后以地榆皂苷-II为主要组分,地榆皂苷-I与地榆皂苷-II在结构式上的唯一区别—地榆皂苷-I比地榆皂苷-II 28位上多了1个葡萄糖,而地榆皂苷-I与地榆皂苷-II的皂苷元均为同一成分。本课题前期的药理实验证明地榆总皂苷对CTX所致小鼠骨髓抑制有显著的保护作用,若能够通过简单的水解工艺得到地榆皂苷元,有望修饰获得一系列衍生物,为能从中筛选出有开发潜力的化合物打下基础。

本实验在充分积累本课题组前期大量有关地榆皂苷及其水解研究的基础上,首次对地榆总皂苷酸水解产物地榆皂苷元的水解工艺进行了研究,运用单因素考察和正交设计试验得出了地榆皂苷元的最佳水解工艺:料液比1:200,盐酸浓度为4 mol/L,水解时间0.5 h,水解温度92℃。通过验证实验证明,此条件下地榆皂苷元的质量分数可达62.12%,非常适合工业化生产。

参考文献

[1] 宝鸡市卫生局. 太白山本草志 [M]. 西安: 陕西科技出

- 版社, 1993.
- [2] 原春兰, 李宗孝, 杨佩云, 等. 地榆中熊果酸的提取 [J]. 中国医药工业杂志, 2002, 33(10): 478-479.
- [3] 万楚成, 郭仁慈, 夏云金, 等. 地榆升白片治疗白细胞减少症 146 例临床观察 [J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(3): 241.
- [4] 许新华, 李松, 薛峰, 等. 地榆升白片预防放疗中白细胞减少症的疗效评价 [J]. 临床荟萃, 2005, 20(8): 458-459.
- [5] 高小平, 吴建明, 邹文俊, 等. 地榆促造血作用的有效部位筛选 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(2): 49-52.
- [6] 李佑民, 乐风华, 邹银水, 等. 地榆升白片预防非小细胞肺癌患者化疗外周血细胞下降的临床研究 [J]. 肿瘤防治杂志, 2004, 11(9): 964-966.
- [7] 王士金. 地榆升白片用于化疗后白细胞减少症疗效观察 [J]. 西部医学, 2004, 16(4): 341.
- [8] 苏柘僮, 刘英, 徐佳丽, 等. 应用 Box-Behnken 设计优化地榆皂苷的闪式提取工艺研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 501-504.
- [9] Han M, Sha X, Wu Y, *et al.* Oral absorption of ginsenoside Rb₁ using *in vitro* and *in vivo* models [J]. *Planta Med*, 2006, 72(1): 398-404.
- [10] Liang M J, Zhang W D, Zhang C, *et al.* Quantitative determination of the anticancer agent tubeimoside I in rat plasma by liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 845(1): 84-89.
- [11] 王娟, 单进军, 狄留庆, 等. 五环三萜皂苷类活性成分口服吸收与代谢研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 196-200.
- [12] Hattori M, Sakamoto T, Kobashi K, *et al.* Metabolism of glycyrrhizin by human intestinal flora [J]. *Planta Med*, 1983, 48(1): 38-42.
- [13] Paek I B, Moon Y, Kim J, *et al.* Pharmacokinetics of a ginseng saponin metabolite compound K in rats [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2006, 27(2): 39-45.
- [14] 魏凤林, 朱春波, 朱立平, 等. 三七总皂苷提取工艺优选 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(12): 722-723.
- [15] 曹爱民, 张东方, 沙明, 等. 地榆中皂苷类化合物分离、鉴定及其含量测定 [J]. 中草药, 2003, 34(5): 397-399.
- [16] 林硕, 高学玲, 岳琳娜, 等. 正交法优选绞股蓝皂苷提取工艺及稳定性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2009(2): 89-92.
- [17] 孙光芝, 王继彦, 刘志, 等. 正交试验优选人参中丙二酰基人参皂苷的提取工艺研究 [J]. 中草药, 2006, 37(8): 1194-1195.
- [18] 高小平, 吴建明, 邹文俊, 等. 地榆促造血作用的有效部位筛选 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(2): 137-140.
- [19] 邹文俊, 刘芳, 吴建明, 等. 地榆总皂苷促造血细胞增殖效应研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 929-933.
- [20] 秦三海, 李坤, 周玲, 等. 地榆总皂苷抗肿瘤作用的实验研究 [J]. 山东医药, 2010, 50(15): 24-26.