

七叶树种子皂苷含量及其组分的产地变异分析*

费学谦¹, 丁明¹, 周志春¹, 江志标²

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400;

2 浙江省桐庐县林业科技推广中心, 浙江 桐庐 311500)

关键词: 七叶树; 七叶皂苷; 含量; 组分

中图分类号: S722.1 文献标识码: A

Variation of Escin Contents and Components in *Aesculus* Seeds among Different Origins

FEI Xue-qian¹, DING Ming¹, ZHOU Zhi-chun¹, JIANG Zhi-biao²

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, Zhejiang, China;

2 The Extending Center for Forestry Science and Technology of Tonglu County, Zhejiang Province, Tonglu 311500, Zhejiang, China)

Abstract: Total contents and components of escin were studied in seeds of *Aesculus chinensis*, *A. chinensis* var. *chekiangensis* and *A. wilsonii* collected from 8 origins. Results showed that total escin content ranged from 71.43 mg·g to 112.69 mg·g, with the highest in origin of Mabian, Sichuan Province and the lowest in origin of Kangxian, Gansu Province. It was suggested that escin content was correlated with geological zone to a certain extent. *A. wilsonii* was richer than that of *Aesculus chinensis* in escin content. The proportion of 4 types of escin varied dramatically among different origins. Component A in Mabian and Cangwang origin from Sichuan Province, Kangxian origin from Gansu Province, Mianxian origin from Shanxi Province and Xixia origin from Henan Province reached 35%~41% of total escin that was much higher than that of other components, while components D was below 15% that was only 1/3 of component A. Sum of Component A and C was nearly equal in Enshi, Hubei Province and Sangzhi, Hunan Province origins, which accounted for 58% of the total content. Lin'an origins from Zhejiang Province only got 17.17% of component A while holding much higher proportion of component D. Statistical analysis also approved that the proportion of escin was correlated to geological zone.

Key words: *Aesculus*; escin; content; component

七叶树属(*Aesculus* Linn.)植物的种子即中药材娑罗子,具有宽中理气,和胃止痛,杀虫等功效。该属植物全世界有30余种,我国有16种^[1,2],广泛分布于我国黄河流域及以南大部分地区。目前已收入药典,并能形成商品药材的七叶树属植物有3种,分别是中华七叶树(*Aesculus chinensis* Bunge)、浙江七叶树(*A. chinensis* var. *chekiangensis* (Hu et Fang) Fang)

和天师栗(*A. wilsonii* Rehd)。近几十年来德国、日本等国对同属植物欧洲七叶树(*A. hippocastanum* L)所含的七叶皂苷(Escin)进行了大量的药理活性和临床应用试验,并广泛用于静脉血栓、静脉机能不全、各种类型的脑瘤、动脉硬化、颅水肿、血栓性水肿及周围血管疾病的治疗,显示出独特的疗效^[3~5]。20世纪80年代以来,国内对七叶树种子提取物成分

收稿日期: 2004-09-06

基金项目: 948项目“药用七叶树优良种质资源和栽培技术引进”(2001-11);浙江省自然科学基金项目“七叶树属植物遗传差异及药效成分变异研究”(302085)和浙江省科技厅一般项目“药用七叶树种质资源开发和特色基地营建技术研究”

作者简介: 费学谦(1953-),男,甘肃临夏人,副研究员。

* 中国林科院亚林所金国庆、饶龙兵、方学智参加了部分工作,致此谢忱。同时感谢四川省林科院郭洪英、中国林科院泡桐中心庞辉、康县林业局张国钧等协作采集七叶树种源种子。

的研究也取得了很大进展。杨岚^[6]、杨秀伟^[7]、赵静^[8]等分别从天师栗、中华七叶树和日本七叶树 (*Aesculus turbinate* Blume) 种子中分离出与欧洲七叶树相同的七叶皂苷类成分。目前国内已有多个厂家生产七叶皂苷钠针剂。研究表明,七叶皂苷主要包

括 4 种成分,即组分 A、B、C、D。根据李菁德国药典定义, A、B 为 β -七叶皂苷, C、D 为 α -七叶皂苷^[9]。它们都有共同的三帖皂苷元母核, 由于各自侧链不同 (见图 1), 其活性也不同。因此, 七叶皂苷类药物的质量与其所含的 4 种皂苷比例密切相关。

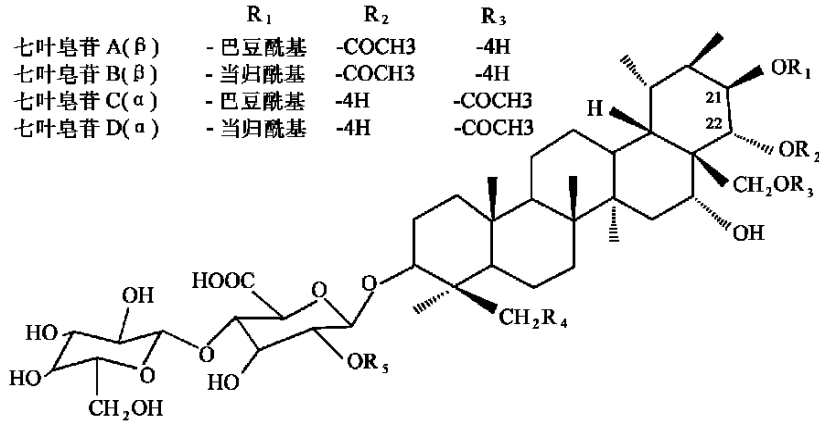


图 1 七叶皂苷结构示意图^[9]

对于七叶皂苷含量和组分研究, 仅有针剂质量控制和原料药皂苷总量测定方法方面的报道^[9,10]。由于中药娑罗子和生产七叶皂苷药物的原料来源于不同物种和不同产地, 其有效成分含量高低和组分差异会直接影响到原料的质量控制和生产效率。为此, 本文研究了 8 个主要产地七叶树属种子中七叶皂苷含量和组分的差异, 试图为原料药的质量控制和优良药用七叶树资源的开发提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 样品采集

供试七叶树种子采自 8 个样点, 分别是: 中华七叶树: 甘肃康县、陕西勉县; 天师栗: 河南西峡、湖北恩施、湖南桑植、四川马边、旺苍; 浙江七叶树: 浙江临安。每个样点各选 15 株以上样树, 采集自然成熟的果实, 混合后取部分种子, 105 °C 杀青 20 min, 60 °C 烘干, 粉碎, 过 60 目筛后备用。

1.2 仪器、试剂

仪器为 Waters 公司 millennium 2010 液相色谱系统。YT-1300 大孔树脂由上海医工院生产。标准样品七叶皂苷混合样和 β -七叶皂苷均购自 Sigma 公司。其它试剂均为市售分析纯试剂。所有试验均在国家林业局亚热带林木培育重点实验室进行。

1.3 七叶皂苷提取和测定

分别称取不同产地七叶皂苷种子干粉 0.2 g, 各 3 份, 加入体积分数 50% 乙醇 20 mL, 超声波提取 30

min, 过滤, 用 50% 乙醇洗涤残渣。将滤液蒸干, 再用 10 mL 水重新溶解, 取 2.0 mL, 加入已处理的大孔树脂柱, 先用 20 mL 水洗, 弃去洗出液, 再分别用 20 mL 50%、80% 乙醇洗脱, 合并洗脱液, 浓缩至干, 用 3 mL 甲醇溶解后备用。

1.3.1 皂苷总量测定 采用张新等^[11]方法。

1.3.2 七叶皂苷组分测定 采用高效液相色谱法, 色谱条件为: Novar PakC₁₈ (3.9 mm × 150 mm) 柱, 流动相为乙腈: 水 (35: 65), pH 值 2.8; 检测波长: UV210 nm。以标准七叶皂苷对各组分定性, 以面积归一法计算各组分的比例。

2 结果与分析

2.1 不同种和产地七叶树皂苷总量

8 个产地的七叶树均含有比较丰富的七叶皂苷类物质, 平均含量为 87.45 mg·g⁻¹ (见表 1), 不同产地间皂苷总量存在很大差异, 有 3 个产地的七叶皂苷总量高于平均值, 其中四川马边和旺苍的皂苷含量达到 112.69 mg·g⁻¹ 和 108.94 mg·g⁻¹, 比 8 个产地平均值分别超过 28.86% 和 24.57%, 比含量最低的甘肃康县高出 57.76% 和 52.51%。尽管四川旺苍和陕西勉县、甘肃康县距离不远, 含量却相差很大, 但地理距离较近的湖北恩施和湖南桑植, 勉县和康县、马边和旺苍的七叶皂苷总量都比较接近, 反映出总体上有一定的地缘规律。从结果也可以看出虽然两个中华七叶树产地勉县和康县与属于天师栗的恩施、桑植、西峡七叶

皂苷总量差距不太显著,但总体上还是天师栗高于中华七叶树。浙江七叶树分布范围较小,从本试验仅有

的产地临安来看,含量高于中华七叶树和部分天师栗产地,这与张新^[11]等人的测定结果相似。

表 1 不同产地七叶树种子中七叶皂苷含量

mg·g⁻¹

树种	天师栗				中华七叶树		浙江七叶树	平均含量	
	马边	旺苍	恩施	桑植	西峡	勉县	康县		临安
含量	112.69	108.94	78.01	79.77	74.39	72.47	71.43	101.91	87.45
平均含量	90.76				71.95		101.91		

2.2 不同产地七叶树皂苷组分差异

从各产地七叶皂苷组成液相色谱分析结果看,七叶树种子中皂苷成分比较复杂,但主要成分只有 4 种,即 A、B、C 和 D,其它组分含量都很低。从图 2 可以看出,不同产地七叶皂苷组分比例各不相同,但大体上可以分为 3 种类型,一类包括马边、旺苍、西峡、勉县和康县,特点是组分 A 比例达 35%~41%,显著高于其它组分,而组分 D 的比例均在 15% 以下, A/D 比值平均达到 3.05,其中勉县和旺苍高达 3.55。另一特点是 β 型(组分 A、B)明显占优,超过总量的 62%,除了旺苍和勉县

外,其余产地 4 个组分 A、B、C、D 比例呈阶梯式下降。第二类是临安,特点是组分 A 比例只有 17.17%,明显低于第一类型,而组分 D 比例高达 31.41%,是第一类型 6 个产地的 2.06~2.75 倍, A/D 比值平均只有 0.56,而组分 B、D 占优,两者之和超过 55%;第三类是恩施和桑植,特点是组分 A 和 C 比例相当,两者之和平均达到总量的 58% 以上,而 A/D 比值介于前两个类型之间。与第一类型相比,第二、三类型的共同之处是组分 A 比例低于第一类型,而组分 D 比例相对较高,从而显得 4 种组分含量比较均衡。

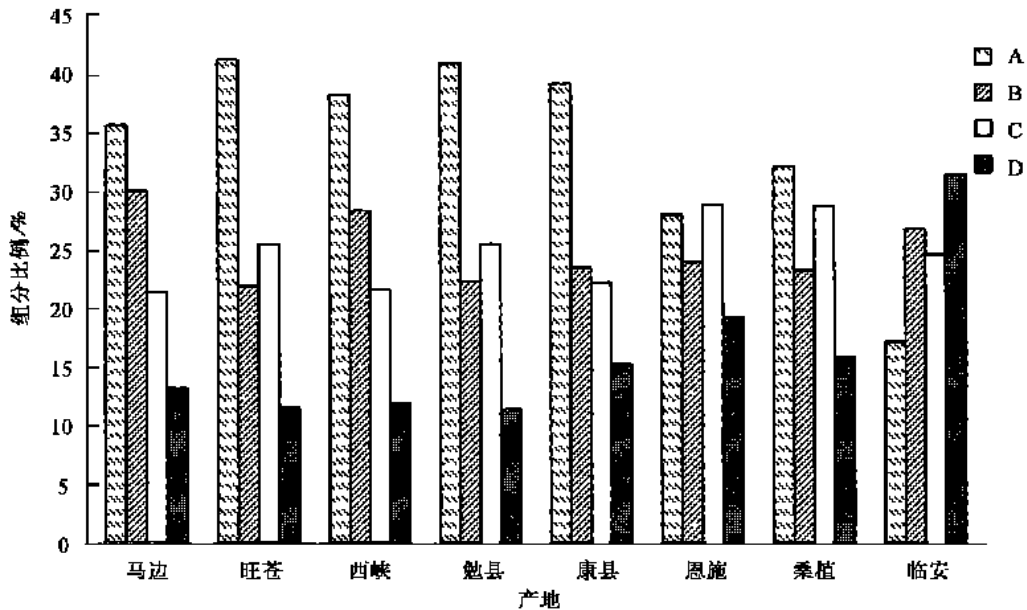
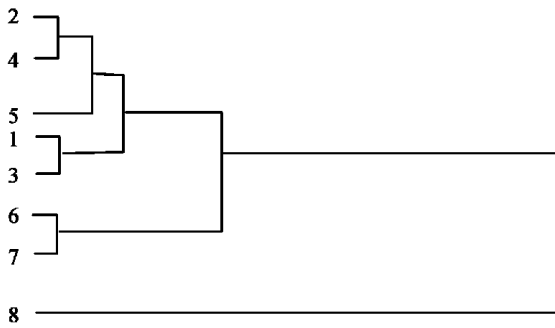


图 2 不同产地七叶树种子皂苷组分差异

利用 SPSS 软件对 8 个产地七叶树种子 4 种七叶皂苷组分比例所作的聚类分析结果(图 3)显示,多数相邻产地七叶皂苷组成类型相近,总体上可以分为西部旺苍、勉县、康县、马边和西峡类型,中部恩施和桑植类型及东部的临安类型,表明七叶皂苷组

成类型有比较明显的地域特点,而在中华七叶树和天师栗两个种之间无规律性差异。不过,马边和西峡两个产地虽然地理距离较远,同属天师栗,也归为同一类型,表明七叶皂苷组成不完全取决于产地环境。



1. 马边, 2. 旺苍, 3. 西峡, 4. 勉县, 5. 康县, 6. 恩施,
7. 桑植, 8. 临安

图 3 不同产地七叶树种子皂苷组分聚类图

3 结论与讨论

(1) 8 个产地七叶树种子中主要药效成分七叶皂苷含量为 $71.43 \sim 112.69 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间, 其中四川的马边、旺苍含量最高, 浙江临安次之, 其余相对较低, 从总体上显示出一定的种间差异。但由于样品来自不同产地, 这种差异在很大程度上是产地特征, 起主导作用的是遗传因素还是环境因素还难以定论。无论何种原因, 对于七叶皂苷药物生产厂家来说, 选择马边、旺苍、临安等产地有效成分含量高的原料将有助于提高生产效率, 降低生产成本。

(2) 不同产地七叶树种子中七叶皂苷组分指纹具有明显的差异, 且显示出较明显的地域特点。七叶皂苷是一类复杂的三萜皂苷类化合物, 主要成分 β -七叶皂苷(组分 A、B)和 α -七叶皂苷(组分 C、D)。杨秀伟等^[4]认为, 皂苷元 C_{21} 和 C_{22} 位的取代基团对该化合物发挥药效是必需的, 其中 C_{21} 位取代基为当归酰基的组分 B 和 D 比取代基为巴豆酰基的组分 A 和 C 活性更强。从这一点上讲, 临安的组分 B 和 D 总和达到总量的 56% 以上, 远高于其它产地, 应该具有更强的药物活性。而李菁^[9]则认为 β 型七叶皂苷 A、B 和 α 型七叶皂苷 C、D 的比例为 7:3, 组分 A、B、C、D 比例呈阶梯状下降时, 综合药效好, 刺激性小, 是比较好的比例组合。根据这一观点, 马边、旺苍、勉县、康县和西峡的组分 A、B 之和在 62% ~ 66% 之间, 接近这一比例, 其中马边、康县和西峡的组分 A > B > C > D, 是生产高质量七叶皂苷类药物的最佳原料。李菁^[9]对国内外 7 种来源的七叶皂苷钠剂组分比例的研究表明, 不同厂家生产的产品 4 种组分比例各不相同, 由于这些药品是从七叶树种子直接提取而得, 原料的来源不同可能是产生这种差异的主要因素。因此, 选用七叶皂苷组分适当

的七叶树原料, 对于稳定产品质量具有重要意义。

(3) 不同产地七叶树种子七叶皂苷组分的聚类分析结果表明, 相邻产地有相似的七叶皂苷组成类型, 但中华七叶树和天师栗之间却没有明显的种间差异, 而浙江七叶树与其他两个有较大区别。在中药研究与应用实践中, 以上 3 种七叶树的种子均作为娑罗子, 可以混用, 迄今也未见它们药效有别或成分不同的报道。由于本研究中试验材料直接来自不同的产地, 分析结果在很大程度上受到产地环境条件的影响, 组分的聚类分析结果主要反映了不同产地七叶皂苷组成类型的特征。七叶皂苷组分变异是否由遗传因素引起, 以及组分分析可否成为一种分析药效成分遗传规律的有效手段, 还有待于通过严格的种源试验和大量的分析测试工作来验证。但不管怎样, 七叶皂苷指纹的产地特征对药用优良七叶树资源的选择和七叶皂苷钠生产的原料药质量控制具有重要的参考价值。

参考文献:

- [1] 植物志编辑委员会. 中国植物志(第 46 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1981: 274~289
- [2] 杜向红, 雷留成, 李平. 娑罗子植物资源调查[J]. 中药材, 1999, 22(4): 172~173
- [3] Guillaume M, Padioleau F. Veinotonic effect, vascular protection, anti-inflammatory and free radical scavenging properties of horse chestnut extract[J]. *Arzneimittelforschung*, 1994, 44(1): 25~35
- [4] Diehm C, Vollbrecht D, Amendt K, et al. Medical edema protection—clinical benefit in patients with chronic deep vein incompetence. A placebo controlled double blind study[J]. *Vasa*, 1992, 21(2): 188~192
- [5] Schrader E, Schwankl W, Sieder C, et al. Comparison of the bioavailability of beta-aescin after single oral administration of two different drug formulations containing an extract of horse-chestnut seeds[J]. *Pharmazie*, 1995, 50(9): 623~627
- [6] 杨兰, 赵晓昂, 马立斌. 天师栗中三萜皂甙成分研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(10): 618~617
- [7] 杨秀伟, 赵静. 应用 2D NMR 技术研究原七叶树皂甙元的结构[J]. 波谱学杂志, 1999, 16(5): 417~422
- [8] 赵静, 杨秀伟. 日本七叶树化学成分的研究 I. 七叶皂苷 Ia 和 Ib 的分离鉴定[J]. 中草药, 1999, 30(5): 327~333
- [9] 李菁. HPLC-ELSD 法在注射用七叶皂苷钠质量控制中的应用[J]. 中草药, 2000, 31(8): 583~584
- [10] 高天兵, 魏峰, 田金改, 等. 测定七叶树制剂中七叶皂苷 Ia 含量的高效液相色谱法[J]. 分析测试学报, 2002, 22(6): 94~95
- [11] 张新, 王志伟, 马琳. 娑罗子总皂甙的比色测定[J]. 天然产物化学, 2000, 12(5): 28~30