

## 大孔吸附树脂纯化两色金鸡菊总黄酮的工艺研究

石凤英<sup>1</sup>, 赵 军<sup>2</sup>, 孙玉华<sup>2\*</sup>

1. 石河子大学 药学院, 新疆 石河子 832000

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830004

**摘 要:** **目的** 研究大孔树脂纯化两色金鸡菊总黄酮的工艺条件及参数。**方法** 采用静态吸附解吸法优选适宜的大孔树脂, 以树脂吸附量、总黄酮解吸率为考察指标, 对筛选出的树脂进行工艺优化。**结果** D-101 树脂具有较好的吸附及解吸性能, 其最佳工艺为: 上样液质量浓度 3.4 mg/mL, 树脂的上样量为 15 mL/g, 上样液 pH 值为 5.0, 上样流速 1.0 mL/min, 6 BV 去离子水洗脱除杂后, 用 pH 5.0 的 70%乙醇以 1.5 mL/min 洗脱 5 BV; 所得两色金鸡菊总黄酮质量分数为 73.5%, 得率为 8.8%。**结论** D-101 树脂综合性能好, 适合于两色金鸡菊总黄酮的分离纯化。

**关键词:** 两色金鸡菊; 总黄酮; 大孔吸附树脂; 纯化工艺

中图分类号: R284.2; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)03-0242-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.03.006

## Purification of total flavonoids from *Coreopsis tinctoria* with macroporous resins

SHI Feng-ying<sup>1</sup>, ZHAO Jun<sup>2</sup>, SUN Yu-hua<sup>2</sup>

1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China

2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830004, China

**Abstract:** **Objective** To explore the technological parameters and the purification process of total flavonoids from *Coreopsis tinctoria*. **Methods** Nine types of macroporous resins were compared through static adsorption-desorption methods with adsorbability and desorption ratio as indexes to optimize the purification parameters. **Results** D-101 resin showed better adsorption and desorption parameters, and the optimal parameters for purification process were as follows: the concentration of sample extract was 3.4 mg/mL, the loaded amount was 15 mL/g, pH value was 5.0, the flow rate was 1.0 mL/min, and after being eluted with 6 BV water, the optimal solution for desorption was 70% ethanol in pH 5.0 with 5 BV at the flow rate of 1.5 mL/min. The purity of total flavonoids was 73.5%, and the yield was 8.8%. **Conclusion** D-101 resin shows significant effect on the purification of flavonoids which is feasible to separate and purify total flavonoids from *C. tinctoria*.

**Key words:** *Coreopsis tinctoria* Nutt.; total flavonoids; macroporous resin; purification technology

两色金鸡菊又名雪菊, 为菊科金鸡菊属两色金鸡菊 *Coreopsis tinctoria* Nutt. 的干燥头状花序, 原产北美, 现广泛栽培种植于世界各地。其具有清热解毒、降血压、调血脂之功效<sup>[1]</sup>, 我国新疆和田地区居民将其用于茶饮。良好的疗效使两色金鸡菊产品在市场上倍受消费者青睐, 该药材的栽培面积也在逐年递增。研究显示黄酮类化合物是两色金鸡菊的主要标识性成分, 其总黄酮含量可达 25%<sup>[2]</sup>。本课题组前期通过药效学研究阐明了两色金鸡菊黄酮的

降压作用及其机制<sup>[3-6]</sup>。大孔吸附树脂是一种具有吸附容量大、工艺流程短、易放大、再生容易等特点的分离材料, 已被广泛用于中药有效成分的分离富集<sup>[7-8]</sup>。本实验通过大孔吸附树脂法富集两色金鸡菊总黄酮, 旨在建立适合工业化生产的纯化工艺, 为其进一步的新药开发提供数据参考。

### 1 仪器与材料

754 紫外可见分光光度计 (上海菁华科技有限公司), 梅特勒 AL204 型电子天平 (梅特勒-托利

收稿日期: 2013-12-17

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点实验室项目 (XYSY0207-2009-01); 新疆留学回国人员科技活动择优资助项目 (新人社函[2009]490 号)

作者简介: 石凤英 (1989—), 女, 硕士研究生, 从事中药制药研究。Tel: 15299467551 E-mail: maryandme@163.com

\*通信作者 孙玉华 (1965—), 硕士生导师, 研究员, 从事中药药理毒理研究工作。Tel: (0991)2812070 E-mail: sunyuh1117@yahoo.com.cn

多上海有限公司), BP211D 十万分之一电子分析天平(德国 Sartorius 公司), FW100 型植物粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司), RE—5298A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), 真空恒温干燥箱(北京市永光明医疗仪器厂)。

D-101 树脂(天津兴南允能高分子技术有限公司), AB-8 树脂(天津市光复准细化工研究所), HPD100、HPD200A、HPD300、HPD700、HPD400、HPD500、HPD826 树脂(沧州宝恩化工有限公司)。两色金鸡菊采自新疆和田地区皮山县, 由新疆维吾尔自治区药物研究所杨伟俊副研究员鉴定为菊科金鸡菊属植物两色金鸡菊 *Coreopsis tinctoria* Nutt. 的干燥花序。芦丁对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 100080-200707); 其他试剂均为国产分析纯试剂。

## 2 方法与结果

### 2.1 总黄酮的测定<sup>[9]</sup>

**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取 120 °C 下减压干燥至恒定质量的芦丁对照品 5.557 6 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用少量甲醇加热使其溶解, 冷却后用甲醇加至刻度, 即得 0.222 3 mg/mL 芦丁对照品溶液。摇匀、备用。

**2.1.2 标准曲线的绘制** 精密吸取 0.222 3 mg/mL 芦丁对照品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 各加水至 6.0 mL, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL, 混匀, 静置 6 min, 加 10% 硝酸铝溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加氢氧化钠溶液 10.0 mL, 再加水至刻度, 摇匀, 静置 15 min, 以相应试剂为空白, 照紫外-可见分光光度法, 在 509 nm 波长处测定吸光度(*A*)值。以 *A* 为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得标准曲线方程  $A=13.917X-0.0075$ ,  $r=0.999$ , 结果表明在 0.008 9~0.053 3 mg/mL 线性关系良好。

**2.1.3 测定波长的选择** 吸取 0.222 3 mg/mL 芦丁对照品溶液和样品溶液各 1.0 mL, 按“2.1.2”项下方法依法进行显色反应, 在 200~800 nm 扫描。结果表明, 芦丁对照品和样品的显色溶液均在 509 nm 处有最大吸收, 因此选定 509 nm 作为测定波长。

**2.1.4 总黄酮的测定和上样液的制备** 称取金鸡菊粉末适量, 加 18 倍量 70% 乙醇加热回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩后得粗提物。称取粗提物 19.2 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加水至刻

度, 从中精密吸取 1 mL, 按“2.1.2”项下“加 5% 亚硝酸钠溶液 1.0 mL 起”依法测定 *A* 值, 计算得粗提物中总黄酮质量分数为 44.54 %, RSD 值为 1.06% ( $n=3$ )。取适量粗提物溶于水, 制成吸附所需质量浓度的上样液。

### 2.2 树脂的筛选

**2.2.1 大孔树脂的预处理<sup>[9-10]</sup>** 将不同型号的树脂分别用 95% 乙醇浸泡 24 h, 充分溶胀后, 用 95% 乙醇在柱上流动冲洗, 不时检出洗出液加适量去离子水至无白色浑浊为止, 再用去离子水洗至无醇味, 备用。

**2.2.2 不同型号树脂对总黄酮的静态吸附-解吸性能考察<sup>[11-12]</sup>** 称取预处理好的 9 种型号大孔树脂 2.0 g (湿质量), 置 50 mL 锥形瓶中, 加入样品溶液 20.0 mL (3.24 mg/mL), 5 min 振摇 10 s, 持续 2 h, 然后静置 24 h, 使其充分吸附。吸取上层液测定 *A* 值, 计算总黄酮的质量浓度, 计算总黄酮的静态吸附量和吸附率。将滤出的各种树脂分别另置于 50 mL 锥形瓶中, 各加入 70% 乙醇 20.0 mL, 5 min 振摇 10 s, 持续 2 h, 然后静置 24 h, 使其充分解吸附, 抽滤, 得解吸后的滤液。测定解吸液的吸光度, 计算滤液中总黄酮质量浓度, 并计算总黄酮的静态解吸量和解吸率。结果见表 1。

吸附量=(初始质量浓度-剩余质量浓度)×溶液体积/干树脂质量

吸附率=(吸附量-初始总黄酮量)/初始总黄酮量

解吸量=(解吸液质量浓度×解吸液体积)/干树脂质量

解吸率=解吸量/吸附量

结果显示, 在静态吸附试验中, HPD826、HPD200A、D-101 3 种树脂静态吸附量较高, 其吸附率均达到 95% 以上。在静态解吸试验中, 解吸率达到 65% 以上的树脂有 HPD700、HPD100、HPD400、HPD200A、D-101 树脂。综合静态吸附和解吸试验, 可知 D-101 树脂对两色金鸡菊总黄酮具有较好的吸附和解吸性能, 且在制药工业中, 以 D-101 树脂应用最为广泛, 因此选定 D-101 型树脂作为两色金鸡菊总黄酮富集纯化的树脂型号。

### 2.3 D-101 树脂分离纯化两色金鸡菊总黄酮的工艺参数考察<sup>[13]</sup>

**2.3.1 吸附曲线的绘制及上样量的确定** 准确称取已处理的 D-101 树脂 1 份(相当于干树脂 10.0 g), 取两色金鸡菊总黄酮溶液(含总黄酮 14.62 mg/mL),

表 1 不同大孔树脂对两色金鸡菊总黄酮的静态吸附和解吸性能

Table 1 Static adsorption of total flavonoids from *C. tinctoria* by nine types of macroporous resins

| 树脂类型     | 极 性 | 吸附量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 吸附率/% | 解吸量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/% |
|----------|-----|---------------------------|-------|---------------------------|-------|
| HPD-100  | 非极性 | 30.6                      | 94.5  | 20.9                      | 68.3  |
| HPD-200A | 非极性 | 30.9                      | 95.5  | 21.1                      | 68.3  |
| HPD-300  | 非极性 | 30.8                      | 94.9  | 19.6                      | 63.8  |
| HPD-700  | 非极性 | 29.7                      | 91.7  | 21.5                      | 72.2  |
| D-101    | 非极性 | 30.8                      | 95.1  | 20.8                      | 67.5  |
| HPD-826  | 氢 键 | 30.8                      | 95.2  | 20.0                      | 64.9  |
| AB-8     | 弱极性 | 30.5                      | 94.4  | 17.5                      | 57.4  |
| HPD-400  | 中极性 | 30.5                      | 94.0  | 21.5                      | 70.4  |
| HPD-500  | 极 性 | 30.4                      | 93.9  | 17.5                      | 57.6  |

以 1.0 mL/min 上柱, 按树脂床体积数收集流出液, 并测定每次流出液中总黄酮的质量浓度。结果见图 1。从第 3 个 BV 开始, 总黄酮出现少量泄漏, 到第 12 个 BV 时, D-101 树脂对两色金鸡菊总黄酮的吸附达到饱和, 即 10.0 g D-101 树脂对总黄酮最大吸附量可达到 555.5 mg。为了避免总黄酮的泄漏, 故拟定上样量为 15.0 mL/g (总黄酮 3.4 mg/mL)。

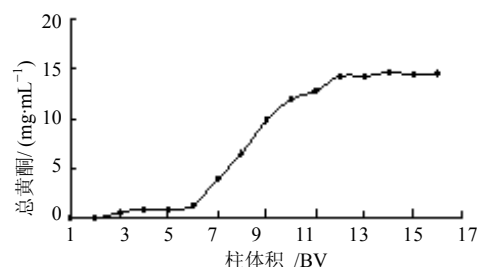


图 1 D-101 树脂对两色金鸡菊总黄酮的吸附曲线

Fig. 1 Dynamic adsorption curves of D-101 on total flavonoids from *C. tinctoria*

**2.3.2 上样液质量浓度的考察** 取两色金鸡菊总黄酮溶液 20.0 mL (含总黄酮为 12.14 mg/mL), 分别加水使上样液质量浓度分别为 0.81、1.21、3.36、3.84、4.86 mg/mL, 通过装有 10.0 g D-101 树脂的色谱柱上, 至吸附完全后, 先用去离子水洗脱, 再用 95%乙醇 100.0 mL 洗脱至基本无黄酮, 收集流出液, 测定 A 值, 计算树脂吸附量和总黄酮解吸率。结果见表 2。上样液质量浓度为稀释 5 倍时, D-101 树脂对总黄酮的解吸率最高, 稀释倍数过大或过小均不利于 D-101 树脂对两色金鸡菊总黄酮的吸附。故选择 5 倍稀释液即 3.40 mg/mL 为上样液质量浓度。

表 2 上样液质量浓度对两色金鸡菊总黄酮的影响

Table 2 Effect of sample concentration on total flavonoids from *C. tinctoria*

| 上样液质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> ) | 吸附量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/% |
|--------------------------------|---------------------------|-------|
| 0.81                           | 22.88                     | 70.6  |
| 1.21                           | 23.60                     | 72.9  |
| 3.36                           | 24.68                     | 76.2  |
| 3.84                           | 18.07                     | 55.8  |
| 4.86                           | 23.39                     | 72.2  |

**2.3.3 上样液 pH 值的影响** 准确吸取 150.0 mL 上样液 (总黄酮为 3.40 mg/mL) 4 份, 用 1.0 mol/L HCl 溶液或 1.0 mol/L NaOH 溶液调 pH 值为 4.0、5.0、6.0、7.0, 加于装有 10.0 g D-101 树脂的色谱柱上, 至吸附完全后, 先用去离子水洗脱, 再用 95%乙醇 100.0 mL 洗脱至基本无黄酮, 收集流出液, 测定 A 值, 计算树脂吸附量和总黄酮解吸率, 结果见表 3。pH 值低于 5.0 时吸附效果好, 随着上样液的 pH 值的升高, 树脂对总黄酮的吸附能力下降, 说明树脂在酸性条件下对总黄酮的吸附性能好。因此选择 pH 值为 5.0 为上样液的最佳 pH 值。

表 3 上样液 pH 值对两色金鸡菊总黄酮的影响

Table 3 Effect of different pH value of sample on total flavonoids from *C. tinctoria*

| 上样液 pH 值 | 吸附量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/% |
|----------|---------------------------|-------|
| 4.0      | 41.6                      | 81.6  |
| 5.0      | 41.5                      | 82.7  |
| 6.0      | 37.3                      | 73.1  |
| 7.0      | 34.9                      | 68.5  |

**2.3.4 上样流速的选择** 准确吸取 150.0 mL 上样液（总黄酮为 3.40 mg/mL）4 份，将其 pH 值调为 5.0，以 0.5、1.0、1.5、2.0 mL/min 上柱，吸附完全后，先以去离子水洗脱，再用 95%乙醇 100.0 mL 洗脱至基本无黄酮，收集流出液，测定 *A* 值，计算树脂吸附量和总黄酮解吸率。结果见表 4。树脂对总黄酮的吸附性能随着上样流速增大而下降，流速慢有利于树脂对总黄酮的吸附。可能是树脂的内扩散效应所致。流速过大，溶液通过树脂床的速度大于传质速度，总黄酮分子来不及扩散到树脂的内孔便已流出，使得树脂对总黄酮的吸附量减少。当上样流速为 1.0 mL/min 时，树脂对总黄酮的吸附效果最好，因此选择 1.0 mL/min 的流速进行上柱。

表 4 上样流速对两色金鸡菊总黄酮的影响

Table 4 Effect of adsorption rate on total flavonoids from

| <i>C. tinctoria</i>          |                           |       |
|------------------------------|---------------------------|-------|
| 上样流速/(mL·min <sup>-1</sup> ) | 吸附量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/% |
| 0.5                          | 37.6                      | 73.7  |
| 1.0                          | 38.3                      | 75.1  |
| 1.5                          | 36.5                      | 71.6  |
| 2.0                          | 36.1                      | 70.9  |

**2.3.5 洗脱剂体积分数的选择** 准确吸取 150.0 mL 上样液（总黄酮为 3.40 mg/mL）4 份，将其 pH 值调为 5.0，以 1.0 mL/min 上柱，至吸附完全后，先用水洗脱后，再分别用 30%、50%、70%、95% 乙醇 100.0 mL 洗脱，收集流出液，测定流出液吸光度值，计算树脂解吸量和总黄酮解吸率。结果见表 5。结果表明，树脂对总黄酮的解吸量随乙醇体积分数增大而增大，70%乙醇的树脂解吸量和解吸率最高，当乙醇体积分数大于 70%时，解吸率下降。可能是由于乙醇体积分数增大，醇溶性的杂质增多，降低了解吸率。因此，选择 70%乙醇溶液进行洗脱。

表 5 乙醇体积分数对两色金鸡菊总黄酮的影响

Table 5 Effect of eluent concentration on total flavonoids from *C. tinctoria*

| 乙醇体积分数/% | 解吸量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/% |
|----------|---------------------------|-------|
| 30       | 34.1                      | 66.8  |
| 50       | 39.7                      | 77.9  |
| 70       | 42.3                      | 82.9  |
| 95       | 41.0                      | 80.6  |

**2.3.6 洗脱剂 pH 值的影响** 准确吸取 150.0 mL 上样液（总黄酮为 3.40 mg/mL）4 份，将其 pH 值调为 5.0，以 1.0 mL/min 上柱，至吸附完全后，先用去离子水洗脱后，分别将 70%乙醇 100.0 mL 的 pH 值调为 4.0、5.0、6.0、7.0，洗脱至基本无黄酮。收集流出液，测定流出液 *A* 值，计算树脂解吸量和总黄酮解吸率。结果见表 6。结果表明，树脂对总黄酮的解吸附效果随洗脱剂 pH 值增大而增大，即在弱酸条件下有利于树脂解吸总黄酮，但 pH 值增大到一定值时，解吸附效果有所下降。当 pH 值为 5.0 时，其解吸率最高。因此选择洗脱剂的 pH 值为 5.0 进行洗脱。

表 6 洗脱剂 pH 值对两色金鸡菊总黄酮的影响

Table 6 Effect of eluent pH value on total flavonoids from *C. tinctoria*

| 洗脱剂 pH 值 | 解吸量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/% |
|----------|---------------------------|-------|
| 4.0      | 42.7                      | 83.7  |
| 5.0      | 48.5                      | 95.0  |
| 6.0      | 47.8                      | 93.8  |
| 7.0      | 43.8                      | 85.9  |

**2.3.7 洗脱速度的考察** 准确吸取 150.0 mL 上样液（总黄酮为 3.40 mg/mL）4 份，将其 pH 值调为 5.0，以 1.0 mL/min 上柱，至吸附完全后，先用去离子水洗脱后，再分别用 pH 值为 5.0 的 70%乙醇以 0.5、1.0、1.5、2.0 mL/min 进行洗脱。收集流出液至 100.0 mL，测定流出液 *A* 值，计算树脂解吸量和总黄酮解吸率。结果见表 7。结果表明，树脂对总黄酮的解吸附效果随着洗脱速度的增大而增大，但洗脱速度增大到一定值时，解吸附的效果下降。当洗脱速度为 1.5 mL/min 时，总黄酮的解吸率最高，因此选择洗脱速度为 1.5 mL/min 进行洗脱。

表 7 洗脱速度对两色金鸡菊总黄酮的影响

Table 7 Effect of eluting rate on total flavonoids from *C. tinctoria*

| 洗脱速度/(mL·min <sup>-1</sup> ) | 解吸量/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 解吸率/% |
|------------------------------|---------------------------|-------|
| 0.5                          | 39.3                      | 77.0  |
| 1.0                          | 42.8                      | 83.9  |
| 1.5                          | 46.8                      | 91.8  |
| 2.0                          | 41.7                      | 81.8  |

**2.3.8 洗脱剂用量的确定** 准确称取已处理好的 D-101 树脂 (约相当于干树脂 10.0 g) 1 份, 准确吸取 150.0 mL 上样液 (总黄酮为 3.40 mg/mL), 将其 pH 值调为 5.0, 以 1.0 mL/min 上柱, 至吸附完全后, 先用去离子水洗脱后, 再用 pH 值为 5.0 的 70%乙醇以 1.5 mL/min 洗脱, 按树脂床体积数收集流出液, 至流出液基本无黄酮时停止。测定各流出液总黄酮  $A$  值, 绘制洗脱曲线, 见图 2。在第 2 BV 洗脱体积时, 总黄酮质量浓度达到最高, 随后总黄酮质量浓度逐渐降低。当洗脱到 5 BV 时, 树脂将绝大部分的总黄酮基本洗脱下来。因此拟定洗脱剂用量为 5 BV。

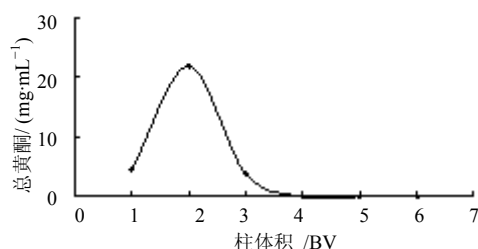


图 2 两色金鸡菊总黄酮的洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve of total flavonoids from *C. tinctoria*

**2.3.9 洗脱除杂用水量的考察** 准确吸取 150.0 mL 上样液 (总黄酮为 3.40 mg/mL), 将其 pH 值调为 5.0, 以 1.0 mL/min 通过装有 10.0 g D-101 树脂的色谱柱, 至吸附完全后, 用去离子水以 1.0 mL/min 洗脱, 按树脂床体积数收集流出液, 浓缩干燥至恒定质量, 称定杂质质量, 结果见图 3。随着用水量的增加, 所得杂质质量不断减少, 当洗脱用水量达到 6 BV 时, 大部分杂质被洗脱洗脱下来。综合考虑选定用 6 BV 去离子水进行洗脱除杂。

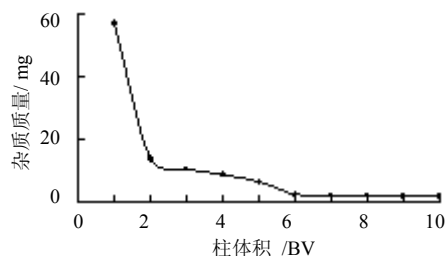


图 3 洗脱除杂用水量的考察

Fig. 3 Effect of volume of washing water on total flavonoids from *C. tinctoria*

## 2.4 最佳工艺条件验证

称取已处理好的 D-101 型大孔树脂 10 g。吸取

150 mL 上样液 (总黄酮 3.4 mg/mL), 调 pH 值为 5, 以 1 mL/min 上样。至吸附完全后, 用 6 BV 去离子水以 1.5 mL/min 洗脱后, 再用 pH 5.0 的 70%乙醇溶液 5 BV, 以 1.5 mL/min 进行洗脱, 平行 3 次试验。结果总黄酮的解吸率为  $(94.30 \pm 0.46)\%$ , 所得两色金鸡菊总黄酮的质量分数为  $(73.57 \pm 4.81)\%$ , 得率为  $(8.80 \pm 0.45)\%$ 。纯化前, 提取液中总黄酮的质量分数为  $(44.54 \pm 1.06)\%$ 。结果表明, 在上述工艺条件下 D-101 树脂对总黄酮的吸附纯化稳定, 且总黄酮的质量分数有所提高。

## 3 讨论

本实验通过大孔吸附树脂法对两色金鸡菊总黄酮分离纯化进行了研究。实验中选用 9 种不同极性的大孔吸附树脂进行筛选。从中选取了一种树脂, 进行样液总黄酮质量浓度的预实验, 将配制的总黄酮溶液稀释不同倍数, 结果表明总黄酮质量浓度过大或过小, 会导致树脂吸附过饱和或吸附较少, 表现为吸附率均大或均小, 不能体现树脂吸附性能的差异。因此, 在筛选过程中, 需选择适中的总黄酮质量浓度。在静态吸附性能考察试验中, 不同类型树脂对两色金鸡菊总黄酮的吸附性能表现为非极性树脂 (HPD-200A、D101、HPD-300、HPD-100) > 氢键 (HPD-826) > 弱极性 (AB-8) > 中极性 (HPD-400)、极性 (HPD-500), 结果显示非极性、氢键树脂具有较好的吸附性能, 但解吸率却显示为非极性树脂 (HPD-200A、D101、HPD-100、HPD-700) > 中极性 (HPD-400) > 氢键 (HPD-826) > 弱极性 (AB-8)、极性 (HPD-500)。由此可以判断, 非极性树脂对两色金鸡菊总黄酮有良好的综合性能, 考虑到 D-101 树脂在医药工业应用的广泛性, 因此, 选择了 D-101 树脂对两色金鸡菊总黄酮进行分离纯化。

实验中考察了最大上样量、上样液浓度、上样液 pH 值、洗脱剂体积分数、洗脱 pH 值、洗脱剂用量及洗脱除杂用水量等影响树脂分离纯化的主要因素。通过验证试验进一步确定 D-101 树脂分离纯化两色金鸡菊总黄酮的最佳工艺条件为: 树脂的上样量为 15 mL/g, 上样质量浓度为 3.4 mg/mL, 上样液 pH 值为 5.0, 以 1.0 mL/min 进行上样, 6 BV 去离子水洗脱后, 用 pH 值为 5 的 70%乙醇溶液 5 BV, 以 1.5 mL/min 洗脱。在此条件下, 总黄酮解吸率为 94% 左右, 得率为 8.8%, 质量分数达 73.5%, 为纯化前的 1.6 倍。该工艺简单易操作、实验成本低、

无污染,且能达到较好的分离纯化效果等优点,可为两色金鸡菊总黄酮的工业化生产提供数据参考。

#### 参考文献

- [1] 朱 筠,夏剑辉,张礼根,等. 金鸡菊黄色素提取工艺研究 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2005, 29(4): 359-362.
- [2] 朱 筠,陈飞彪,夏剑辉,等. 金鸡菊总黄酮的提取及含量测定 [J]. 食品科学, 2005, 26(9): 314-317.
- [3] Sun Y H, Zhao J, Jin H T, *et al.* Vasorelaxant effects of the extracts and some flavonoids from the buds of *Coreopsis tinctoria* [J]. *Pharm Biol*, 2013, 51(9): 1158-1164.
- [4] 凌 冰,张兰兰,哈木拉提,等. 金鸡菊有效部位对高血压小鼠的血压和肾素-血管紧张素系统的影响 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(4): 253-256.
- [5] 梁淑红,哈木拉提,庞市兵,等. 金鸡菊提取物降压化学成分实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1619-1621.
- [6] 刘伟新,邓继华,徐 鸿. 一种金鸡菊花的生药学研究 [J]. 中国民族医药杂志, 2009, 1(1): 24-25.
- [7] 史作清,施荣富. 树脂吸附法在中草药有效成分提取中的应用 [J]. 中草药, 2001, 32(7): 660-662.
- [8] 赵 军,谭 为,徐 芳,等. 大孔树脂纯化薰衣草总黄酮的工艺 [J]. 食品研究与开发, 2012, 33(12): 42-45.
- [9] 盛 萍,帕丽达·阿不力孜,刘 波,等. 大孔树脂吸附法富集野菊花总黄酮工艺研究 [J]. 中草药, 2006, 37(8): 1170-1173.
- [10] 陶遵威,张 岩,王文彤. 大孔吸附树脂对苦豆子多糖纯化工艺研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(4): 515-518.
- [11] 程文明,张 明,李 俊,等. 大孔树脂纯化野菊花总黄酮的工艺研究 [J]. 中成药, 2011, 33(9): 1508-1513.
- [12] 石忠峰,陈蔚文,李卫民,等. 大孔树脂纯化黄芪总皂苷的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(9): 1322-1325.
- [13] 王国军,唐 辉,张淑兰,等. 大孔树脂纯化核桃隔膜总黄酮的工艺研究 [J]. 中草药, 2013, 44(19): 2688-2692.