

大孔吸附树脂分离肿节风中总黄酮的研究

徐国良¹, 肖兵华², 邹胡斌³, 陈 奇^{2*}

(1. 江西中药学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330008; 2. 江中药业股份有限公司, 江西 南昌 330077; 3. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 考察 11 种大孔吸附树脂对肿节风总黄酮的吸附分离性能。方法 采用静态吸附分离法确定适合的大孔吸附树脂; 采用动态吸附分离法确定分离条件。以总黄酮吸附量、总黄酮质量分数和回收率为考察指标, 采用紫外分光光度法测定总黄酮。结果 HPD400 大孔吸附树脂对肿节风总黄酮有良好的吸附分离性能, 其分离肿节风总黄酮的工艺条件为: 肿节风总黄酮上样质量浓度为 10 mg/mL, 肿节风总黄酮最大吸附量为 9.5 mg/mL, 吸附体积流量为 2.5 mL/min, 洗脱剂为 70% 乙醇, 洗脱剂用量为 3 倍柱体积, 树脂可重复使用 3 次。结论 采用 HPD400 大孔吸附树脂吸附分离肿节风总黄酮简便有效, 总黄酮回收率为 85% 左右。

关键词: 肿节风; 总黄酮; 大孔吸附树脂; 吸附分离

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)07-1014-04

Separation of total flavone in *Sarcandra glabra* by macroporous adsorption resins

XU Guo-liang¹, XIAO Bin-hua², ZOU Hu-bin³, CHEN Qi²

(1. Key Laboratory of Preparation of Modern Chinese Materta Medica, Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Nanchang 330008, China; 2. Jiangxi Jiangzhong Pharmaceutical Co., Ltd., Nanchang 330077, China; 3. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006; China)

Abstract: **Objective** To set up the technology for adsorbing and separating total flavone in *Sarcandra glabra* with macroporous adsorption resin, 11 types of macroporous adsorption resins were investigated. **Methods** The static adsorption and separation were used in investigation of macroporous adsorption resin; the dynamic adsorption and separation were used in studying the condition of adsorption and separation. The total flavone adsorption capacity, total flavone content, and total flavone recovery rate were used as the evaluation criteria. The UV spectrophotometric method was used in the determination of total flavone content. **Results** The results showed that among 11 types of macroporous adsorption resins, the HPD400 was the best for adsorbing and separating the total flavone in *S. glabra* in the following technological condition; the concentration of *S. glabra* sample extract was 10 mg/mL; the maximum adsorbing capacity for total flavone in *S. glabra* was 9.5 mg/mL; the current velocity was 2.5 mL/min; the eluting reagent was 70% ethanol (three times as the volume of the resin); and the HPD400 resin could be used three times, repeatedly. **Conclusion** It is a simple and efficient to separate the total flavone in *S. glabra* under the technological conditions, and a total flavone recovery rate is about 85%.

Key words: *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai; total flavone; macroporous adsorption resin; adsorption and separation

肿节风为金粟兰科植物草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的干燥全株, 民间称为九节茶、接骨木、驳骨茶、骨风消等, 为多年生常绿草本或亚灌木。全草能祛风清热、活血、止痛、通经、接骨。用于治疗常见炎症性疾病, 也用于治疗绦虫病、类风湿性关节炎及预防感冒等。对多种恶性肿瘤如胰腺癌、

胃癌、直肠癌、肝癌和食道癌等效果显著。肿节风主含黄酮苷、甙苷、香豆素、内酯、挥发油。黄酮为主要有效部位, 但尚未有系统分离鉴定报道, 已知有落新妇苷(astibin)。大孔吸附树脂是近年来国内外新发展的分离技术, 并在医药领域(特别是天然药物精制)中广为应用, 是提取分离中草药中水溶性有效成

收稿日期: 2005-09-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30260122); 江西省教育厅课题(23-7-B-03)

作者简介: 徐国良(1966—), 江西新建人, 博士, 副教授, 研究方向: 中药药理及成分研究。Tel: (0791) 7118657

* 通讯作者 陈 奇 Tel: (0791) 6825769 E-mail: chenqi606@263.net

分的一种有效方法^[1]。同时,大孔吸附树脂分离技术也是我国制药工业亟需推广的高新技术之一^[2]。本实验采用大孔吸附树脂分离技术,通过对 11 种树脂的静态吸附筛选试验,寻找到对肿节风总黄酮具有较好吸附分离性能的树脂,并研究了该树脂吸附分离的工艺条件。该研究为肿节风总黄酮的提取分离提供实验方法,为大孔吸附树脂在大生产中的应用提供技术参数。

1 仪器、材料与试剂

756MC 紫外可见分光光度计(上海第三分析仪器厂);HL—2 恒流泵(上海精科实业有限公司);AB204—N 型 1/10 万电子分析天平(Mettler Toledo)。D4006、AB-8 树脂为南开大学化工厂产品;24-6 树脂为上海树脂厂产品;LD605、LD606、LD607 为化工部晨光化工研究院精化所产品;HPD100、HPD300、HPD400、HPD500、HPD600 树脂为河北沧州宝恩化工有限公司产品;肿节风由江中药业股份有限公司提供。芦丁(中国药品生物制品检定所,批号:0080-9705)。水为双蒸水,洗脱用乙醇为食用级,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 肿节风浸膏溶液的制备:肿节风全草 8 倍水煎煮 2 h,4~6 倍水再煎煮 1.5 h,合并煎煮液浓缩至密度为 1.05 g/mL (20 ℃)。乙醇终体积分数为 65%醇沉 48 h,回收乙醇浓缩至密度为 1.25 g/mL (20 ℃),得肿节风浸膏(含生药 15.6 g/mL)。取肿节风浸膏 72 g,用水稀释至 1 200 mL,得肿节风浸膏溶液。

2.2 树脂的预处理:以乙醇湿法装柱,用 95%乙醇洗脱,检查乙醇流出液,至乙醇-水(1:1)流出液不呈白色浑浊为止,然后用大量的蒸馏水洗去乙醇。取出树脂,备用。

2.3 总黄酮的测定:采用以芦丁为对照品的紫外-分光分光光度法^[3]。

2.4 吸附量的测定:准确移取 2 mL 各种经预处理树脂于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 30 mL 肿节风浸膏溶液。室温于空气浴振荡器中振荡 24 h(振荡频率为 140 r/min)。充分吸附后,滤过,测定滤液中的总黄酮,按下式计算各树脂室温下的吸附量,结果见表 1。可见,各树脂在达到饱和和吸附后,吸附量几乎没有差异。

$$Q = (C_0 - C_t) \times V_1 / V_2$$

Q 为吸附量(mg/mL), C_0 为起始质量浓度(mg/mL), C_t 为剩余质量浓度(mg/mL), V_1 为溶液体积(mL), V_2 为树脂

体积 mL)

2.5 解吸率的测定:吸附树脂在分离中药有效成分方面的应用是利用吸附的可逆性(即解吸)。由于树脂极性不同,解吸难易亦不同。因此,解吸剂及其解吸率的测定是树脂筛选试验的重要环节。

取充分吸附后的树脂,分别精密加入 50%乙醇、95%乙醇、甲醇各 20 mL,浸泡振荡 20 h,滤过,测定滤液中总黄酮,计算解吸率,结果见表 2。

$$\text{解吸率} = \frac{\text{解吸剂中总黄酮量}}{\text{树脂吸附的总黄酮量}} \times 100\%$$

表 1 不同吸附树脂对肿节风总黄酮吸附量的影响

Table 1 Effect of different macroporous adsorption resins on adsorption capacity of total flavone in *S. glabra*

树脂	吸附量/(mg · mL ⁻¹)	树脂	吸附量/(mg · mL ⁻¹)
AB-8	177	HPD100	179
24-6	175	HPD300	179
LD605	175	HPD400	179
LD606	176	HPD500	178
LD607	177	HPD600	177
D4006	176		

表 2 不同溶剂对肿节风总黄酮解吸率的影响

Table 2 Effect of different solvents on elution rate of total flavone in *S. glabra*

树脂	50%乙醇/%	95%乙醇/%	甲醇/%
24-6	22.6	19.0	19.6
LD605	21.6	17.6	19.0
LD606	35.7	29.9	34.5
LD607	34.0	34.0	36.6
D4006	31.1	25.4	26.8
AB-8	32.1	30.0	32.8
HPD100	41.8	38.8	43.2
HPD300	45.0	41.4	42.2
HPD400	54.2	41.4	43.1
HPD500	36.0	36.0	36.0
HPD600	31.4	34.6	34.2

结果表明,各树脂对总黄酮的解吸率差异较大,且溶剂不同解吸率亦不同,溶剂的浓度与种类对肿节风总黄酮的解吸具有很大的选择性。其中 HPD400 对肿节风总黄酮的解吸率较高。

2.6 HPD400 树脂分离肿节风总黄酮的工艺参数考察

2.6.1 上样液质量浓度的确定:将不同质量浓度的肿节风总黄酮溶液分别通过 HPD400 大孔吸附树脂柱,进行动态吸附。用 1% FeCl₃ 乙醇溶液检测流出液,待反应呈阳性时,停止上样,记录上样量,计算总黄酮吸附量。结果见表 3。可知,上样液质量浓度以 10 mg/mL 为佳。

2.6.2 吸附体积流量的确定:将 10mg/mL 肿节风

表 3 上样液质量浓度对肿节风总黄酮吸附量的影响
Table 3 Effect of different concentration of sample on adsorption capacity of total flavone in *S. glabra*

上样液质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)	总黄酮吸附量/ (mg · mL ⁻¹)	上样液质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)	总黄酮吸附量/ (mg · mL ⁻¹)
3	7.4	10	24.6
7	15.9	15	18.2

溶液通过 HPD400 树脂柱, 分别以 0.5、1.6、2.5 mL/min 的体积流量进行动态吸附。用 1% FeCl₃ 乙醇溶液检测流出液, 待反应呈阳性时, 停止上样, 记录上样量, 计算总黄酮吸附量。树脂柱依次用水、70%乙醇洗脱, 收集乙醇洗脱液蒸干, 称定质量, 测定总黄酮, 计算总黄酮回收率(总黄酮回收率为洗脱物中总黄酮量与树脂吸附总黄酮量的比值), 结果见表 4。综合考虑工艺的可行性, 确定上样体积流量 2.5 mL/min 为宜。

表 4 不同吸附体积流量对肿节风总黄酮的影响
Table 4 Effect of different flow velocity of sample solution on total flavone in *S. glabra*

上样体积流量/ (mL · min ⁻¹)	总黄酮吸附量/ (mL · min ⁻¹)	总黄酮回收率/ %
0.5	10.8	96
1.6	9.5	86
2.5	9.5	93

2.6.3 动态吸附曲线的考察: 按上述确定的上样条件, 取肿节风溶液通过 HPD400 树脂柱, 进行动态吸附, 用 1% FeCl₃ 乙醇溶液检测流出液, 待反应呈阳性时, 每 10 mL 收集 1 份, 共收集 35 份。每份进行总黄酮测定, 结果见图 1。可以看出, 流出液为 3 倍柱体积时未有黄酮泄漏, 即 HPD400 树脂的载样量为 3 倍柱体积。该条件下的树脂最大吸附量为 9.5 mg/mL。

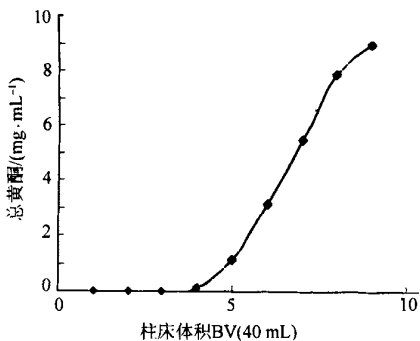


图 1 肿节风总黄酮在 HPD400 树脂柱上的动态吸附曲线

Fig. 1 Dynamic adsorption curve of total flavone in *S. glabra* in HPD400 resin column

2.6.4 洗脱剂的确定: 按上述确定的上样条件, 取

肿节风溶液分别通过 4 根 HPD400 树脂柱, 进行动态吸附。4 根树脂柱分别用水洗脱至洗脱液无色, 再分别用 30%、50%、70%、90%乙醇洗脱至用 1% FeCl₃ 乙醇溶液检测呈阴性。将乙醇洗脱液分别蒸干, 测定总黄酮, 计算总黄酮回收率, 结果见表 5。洗脱剂可用甲醇、乙醇等。本着安全, 无公害的原则, 选择乙醇作洗脱剂。可知, 70%乙醇洗脱物中, 总黄酮回收率最高, 故确定 70%乙醇为最佳洗脱剂。

表 5 不同洗脱剂对肿节风总黄酮的影响
Table 5 Effect of different eluents on total flavone in *S. glabra*

洗脱剂	用量/mL	总黄酮回收率/%
30%乙醇	200	84.4
50%乙醇	135	92.5
70%乙醇	86	93.4
90%乙醇	60	82.4

2.6.5 洗脱曲线的考察: 按上述确定的吸附和洗脱条件, 取肿节风溶液上样、吸附和洗脱, 分段收集洗脱液。每 10 mL 收集 1 份, 共收集 11 份, 测定总黄酮, 结果见图 2。第 1 流份与第 10 流份的黄酮的量相当, 即至第 10 流份黄酮已洗脱完全。以树脂柱体积计, 约为 3 倍柱体积可完全洗脱肿节风中总黄酮。

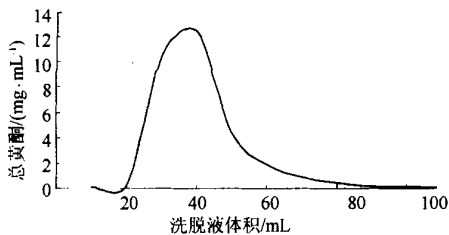


图 2 HPD400 树脂柱上肿节风总黄酮的动态洗脱曲线
Fig. 2 Dynamic elution curve of total flavone in *S. glabra* in HPD400 resin column

2.6.6 树脂重复使用次数考察: 按上述确定的吸附、洗脱条件, 取肿节风溶液进行上柱、吸附和洗脱, 在同一根树脂柱上重复操作 5 次, 分别计算 5 次总黄酮的吸附量, 结果见表 6。可知, 上样次数越多, 总黄酮吸附量越低, 总黄酮的回收率亦越低。综合考虑总黄酮吸附量及总黄酮回收率在 85%左右, 树脂柱重复使用 3 次后, 树脂柱必须再生才可继续使用。

表 6 树脂重复使用次数对肿节风总黄酮的影响
Table 6 Effect of resin times being used repeatedly on total flavone in *S. glabra*

次数	总黄酮吸附量 (mg · mL ⁻¹)	总黄酮回收率/%	次数	总黄酮吸附量 (mg · mL ⁻¹)	总黄酮回收率/%
1	7.9	94	4	5.3	74
2	5.8	94	5	4.6	74
3	5.3	83			

3 讨论

各大孔吸附树脂对肿节风总黄酮的最大吸附能力差别不大,但各树脂在不同溶剂中的解吸性能却有很大差异。HPD400 树脂表现出较好的解吸性能,其吸附、分离肿节风总黄酮的工艺条件为:肿节风总黄酮上样质量浓度为 10 mg/mL,肿节风总黄酮最大吸附量为 9.5 mg/mL,吸附体积流量为 2.5 mL/min,洗脱剂为 70%乙醇,洗脱剂用量为 3 倍柱体积,树脂可重复使用 3 次。在此条件下,用 HPD400 大孔吸附树脂吸附分离肿节风总黄酮,总黄酮回收率为 85%左右。

树脂对化学成分的吸附及解吸研究,目前文献报道的有动态吸附法和静态吸附法。动态吸附法筛选大孔吸附树脂工作量大,静态吸附法则相对工作量小。本实验采用静态吸附法筛选适合目标分离的大孔吸附树脂,其结果是否与动态法相一致,还有待进一步研究。

影响树脂吸附分离中药化学成分的因素很多。

目前,大孔吸附树脂分离纯化中药中的化学成分还有许多问题尚未解决,如工艺条件研究的规范性方法和技术要求等^[4]。在实际应用中,只有综合考虑各种因素,才能确定树脂的型号及最佳吸附分离条件。本文报道的实验结果是在实验室条件下获得,可为肿节风总黄酮的提取分离提供实验方法,为大孔吸附树脂在大生产中的应用提供技术参数。

References:

- [1] Ma Z S. The study and application of macroporous adsorptive resins in pharmacy [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19 (12): 40-41.
- [2] Wang B Y. The urgent spreading high technology of Chinese tradition pharmacy in China [J]. *World Sci Tech; Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术:中医药现代化), 2000, 2(2): 18-23.
- [3] Wang D Q, Li X C. Studies on total flavonoids from root, stem, and leaf of *Glabrous Sarcandra* (*Sarcandra glabra*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (6): 337-338.
- [4] Hou C X, Tian H K. The application of macroporous adsorption resin in separation and purification of the compound Chinese tradition drug [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2000, 11 (3): 131-133.

制备色谱系统从岩黄连中分离岩黄连碱

蒋伟哲,莫长林,黄兴振,凌 玲

(广西医科大学第一附属医院 新药研究开发中心,广西 南宁 530021)

摘要:目的 采用制备色谱系统从岩黄连中分离纯化其活性单体岩黄连碱,建立其纯化工艺和技术。方法 用醇-酸水-氯仿的方法从岩黄连中提取出总生物碱,然后采用制备色谱系统 AKTA Explorer 100 从中分离出岩黄连碱。结果 产品经 HPLC 检测质量分数达 99%以上。结论 该方法先进,重复性好,可用于分离纯化岩黄连碱。

关键词:岩黄连;岩黄连碱;制备色谱;AKTA Explorer 100

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)07-1017-03

Separation of dehydrocavidine from *Corydalis saxicola* by preparative chromatography

JIANG Wei-zhe, MO Chang-lin, HUANG Xing-zhen, LING Ling

(Center of Drug Research and Development, The First Affiliated Hospital,
Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Key words: *Corydalis saxicola* Bunting; dehydrocavidine; preparative chromatography; AKTA Explorer 100

岩黄连是罂粟科紫堇属植物石生黄堇 *Corydalis saxicola* Bunting 的全草,产于广西、贵州、西藏、湖北、甘肃等地,具有清热、消肿、止痛等作

用。广西民间将其全草用于消肿、止痛、拔毒、治疗疥疮肿毒,也用于治疗肝炎,肝硬化等疾病^[1]。岩黄连的有效部位为总生物碱。用其总生物碱注射液对

收稿日期:2005-10-15

基金项目:广西科技厅科技攻关项目(桂科攻 032204-5G)

作者简介:蒋伟哲(1968—),男,广西宜州人,副主任药师,副教授,硕士生导师,1991年同济医科大学药学院毕业,从事天然药物、药物化学研究和新药开发。现承担和参加 15 项国家和广西省级科研课题,获得 2000 年度广西壮族自治区科技进步奖三等奖 1 项,2005 年广西医药卫生适宜技术推广奖一等奖 1 项,已发表研究论文 40 篇。

Tel: (0771) 5355725 E-mail: jiangweizhe6812@yahoo.com.cn