

大孔吸附树脂分离地_总酚的研究

翟小玲, 倪 健*, 谷雨龙

(北京中医药大学, 北京 100102)

摘 要: 目的 筛选大孔树脂分离纯化地_总酚类物质的最佳工艺。方法 采用静态与动态吸附-解吸方法, 以紫外分光光度法测定地_总酚的量对工艺进行评价。结果 HPD 100 大孔吸附树脂分离效果较好, 总酚可达 50% 以上。其最佳工艺为药液浓度 0.2 g(生药)/mL、pH 值为 2.7~4.5, 以 3 BV/h 进行吸附, 5 BV 的 60% 乙醇以 3 BV/h 进行洗脱效果最佳。结论 该方法简便可行, 分离效果好, 能满足大生产的要求。

关键词: 地_总酚; 总酚; 大孔吸附树脂

中图分类号: R 284.2; R 286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0196-04

Separation of phenols from *M elastom a dodecandrum* with macroporous resins

ZHA I X iao-ling, N I J ian, GU Y u-long

(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: **Objective** To explore the optimal techniques in separation of phenols from *M elastom a dodecandrum* with macroporous resins. **Methods** Static and dynamic adsorption-desorption methods were adopted, and the concentration of phenols was measured by UV spectrophotometer to evaluate the separating efficiency. **Results** The HPD 100 macroporous resin was found with the best separating efficiency, by which the content of phenols could reach more than 50 percent in the extraction. The optimum technique condition was 0.2 g/mL concentration of crude drug, pH value was 2.7—4.5, adsorption in 3 BV/h, delution by 5 BV, 60% alcohol in 3 BV/h. **Conclusion** This method is simple and feasible with good efficiency of separation, which could also meet the industrial requirements

Key words: *M elastom a dodecandrum* Lour.; phenols; macroporous resin

地_总为野牡丹科植物地_总*M elastom a dodecandrum* Lour. 的全草, 主要分布于长江以南的江西、福建、广西、广东等省区, 越南也有, 味甘微涩, 性稍凉, 具有活血止血、清热解毒之功效, 民间常用于治痛经、产后腹痛、血崩、带下、便血、痢疾、痛肿、疔疮^[1]。地_总用于治疗胃、十二指肠溃疡合并上消化道出血, 其止血功效显著^[2]。地_总的止血作用与其含有的总酚类物质有关^[3]。地_总注射液主要含有酚类和糖类, 采用将地_总水提醇沉和酸沉制成^[3]。本实验采用大孔吸附树脂分离纯化地_总中的总酚类物质, 并对其影响因素, 如树脂型号、药液 pH 值、上样质量浓度、上样量、洗脱速度、洗脱体积和大孔树脂使用次数进行了考察, 为地_总总酚类物质的分离提供参考, 同时为地_总制剂的开发提供数据。

1 仪器与材料

U-2000 紫外分光光度计。

HPD 100、HPD 450、HPD 600、HPD 700 大孔

吸附树脂由河北沧州宝恩化工有限公司提供, AB-8 大孔吸附树脂由南开大学化工厂提供, 试剂为分析纯, 地_总药材由北京中医药大学中药学院生药系提供并鉴定, 槲皮素(批号 081-9003)、木犀草素(批号 111520-200201)对照品均由中国药品生物制品检定所提供。

2 方法与结果

2.1 上样液的制备: 取地_总药材 500 g, 粉碎(三号筛), 加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 滤过, 合并滤液, 回收乙醇并浓缩至每毫升溶液相当于 0.5 g 生药。

2.2 总酚的测定^[4,5]

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取槲皮素对照品 1.6 mg 置 25 mL 量瓶中, 加 80% 乙醇溶解并稀释至刻度, 制成 64 μg/mL 的溶液。

精密称取木犀草素对照品 1.62 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加 80% 乙醇溶解并稀释至刻度, 制成 64.8

收稿日期: 2007-06-23

作者简介: 翟小玲(1981—), 女, 广西北海人, 硕士研究生, 2004 年毕业于成都中医药大学, 2007 年获北京中医药大学硕士学位, 现工作于广州星群(药业)股份有限公司, 研究方向为药物新技术与制剂研究。E-mail: zhaixiaoling@163.com

* 通讯作者 倪 健

μg/mL 的溶液。

分别精密量取槲皮素和木犀草素对照品溶液 10 mL 置 25 mL 量瓶中,加 80% 乙醇稀释至刻度,取 3 mL 置 25 mL 量瓶中,加 80% 乙醇稀释至刻度,即得含槲皮素和木犀草素各 6.182 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.2 标准曲线的制备:精密量取混合对照品溶液 0.5、1、1.5、2、3、4 mL 置 10 mL 量瓶中,分别加入 0.1 mol/L 三氯化铁溶液和 8 mmol/L 铁氰化钾溶液临用前的混合液 0.8 mL,暗处放置 5 min,再加 0.1 mol/L HCl 至刻度,暗处放置 30 min。以 80% 乙醇为空白,用紫外分光光度计在 700 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程 $Y = 190.01 X + 0.0883$, $r = 0.999$ 。

2.3 树脂型号的筛选^[6]:选择 HPD 100、450、600、700 和 AB-8 树脂为研究对象,采用静态吸附法,通过测定吸附残液和洗脱液中总酚的量筛选合适的树脂。称取 1 g 处理好的干树脂,置锥形瓶中,加入 20 mL 样品溶液(相当于 0.2 g 生药/mL),浸渍 6 h(每隔 1 h 以超声波振动 1 次,每次 30 min),滤过,滤液定容至 20 mL。精密量取 1 mL 置 25 mL 量瓶中,60% 乙醇稀释至刻度。精密量取 0.4 mL 置 10 mL 量瓶中,按照“标准曲线的制备”项下方法处理,测定吸附残液中总酚的量。向树脂中加入 60% 乙醇溶液 20 mL,浸渍 6 h(每隔 1 h 以超声波振动 1 次,每次 30 min),滤过,滤液定容至 20 mL。精密量取 1 mL 置 25 mL 量瓶中,60% 乙醇稀释至刻度。精密量取 0.25 mL 置 10 mL 量瓶中,按照“标准曲线的制备”项下方法,测定洗脱液中总酚的量。计算各树脂的吸附容量、解吸附量和解吸附率,结果见表 1。可见 HPD 100 树脂有较好的吸附能力和洗脱能力,其洗脱率在 90% 以上,利于树脂的再生和再利用,适合分离纯化地茶中的总酚类物质。

吸附率= $[(C_0V_0 - C_1V_1)/C_0V_0] \times 100\%$
洗脱率= $[C_2V_2/(C_0V_0 - C_1V_1)] \times 100\%$
 C_0 : 上样溶液中总酚的质量浓度; V_0 : 上样溶液的总体积; C_1 : 吸附残液中总酚的质量浓度; V_1 : 吸附残液的总体积; C_2 : 洗脱液中总酚的质量浓度; V_2 : 洗脱液的总体积

2.4 pH 值对大孔树脂吸附能力的影响^[7]:取相当于 0.2 g 生药/mL 的样品溶液,测定其 pH 值为 3.3。取 7 份溶液,分别调 pH 值至 1.2、2.2、2.7、3.3、4.5、5.5、6.4,分别加入 HPD 100 树脂(每份 0.5 g)中,进行静态吸附和洗脱,测定吸附残液和解吸液中

总酚的量,结果见表 2。可见 pH 值越小,树脂的吸附量越大,pH 值越大,洗脱率越大。提示地茶中总酚类物质的酚羟基与树脂以氢键的形式结合,碱性增大,酚羟基上的氢解离而形成酸根离子,与树脂的结合减弱。为了使吸附量和洗脱率都有较合适的值,选择使上样液的 pH 值为 2.7~4.5。

表 1 树脂筛选结果

Table 1 Results of resins selection				
树脂型号	吸附量/(mg · g ⁻¹)	吸附率/%	洗脱量/(mg · g ⁻¹)	洗脱率/%
HPD 100	49.650	62.9	44.919	90.5
HPD 450	44.980	57.0	28.283	62.9
HPD 600	55.109	69.8	34.703	63.0
HPD 700	58.135	73.7	43.229	74.4
AB-8	55.964	70.9	44.492	79.5

表 2 pH 值对大孔树脂吸附能力的影响
Table 2 Effect of pH value on adsorbability of macroporous resins

pH 值	吸附量/(mg · g ⁻¹)	洗脱率/%
1.2	52.543	47.9
2.0	58.201	53.8
2.7	64.845	75.6
3.3	61.490	87.3
4.5	55.241	90.1
5.5	37.366	89.1
6.4	29.867	84.5

2.5 上样质量浓度和上样量的确定:取 HPD 100 大孔吸附树脂装柱(径高比 1:8),取生药质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5 g/mL 样品液,以 3 BV/h 连续通过树脂柱,分段收集流出液,测定流出液中总酚的质量浓度,结果见表 3。以流出液中总酚的质量浓度为纵坐标,生药量与树脂体积比为横坐标,绘制吸收曲线,见图 1。结果显示,上样液的质量浓度对树脂的泄漏点和最大上样量有较大的影响。不同质量浓度的上样量为:生药质量浓度 0.5 g/mL > 0.2 g/mL > 0.1 g/mL。但当质量浓度为 0.5 g/mL 时,样品溶解不是很好,损失较大。综合考虑,确定上样质量浓度为 0.2 g 生药/mL。此时,总酚的泄漏点是每毫升树脂吸附生药量为 0.358 3 g,饱和点是每毫升树脂吸附生药量为 0.955 4 g。

2.6 洗脱溶剂体积分数和洗脱体积的确定:取

表 3 洗脱体积对总酚的影响

Table 3 Effect of eluent volume on phenols					
洗脱溶剂	质量浓度/(mg · g ⁻¹)				
	1 BV	2 BV	3 BV	4 BV	5 BV
水	0.835	0.636	0.716	0.545	0.290
30% 乙醇	0.216	7.080	5.983	5.657	2.209
60% 乙醇	1.810	2.427	0.805	0.211	0.074
80% 乙醇	0.134	0.075	0.054	0.039	0.050
95% 乙醇	0.053	0.048	0.062	0.058	0.062

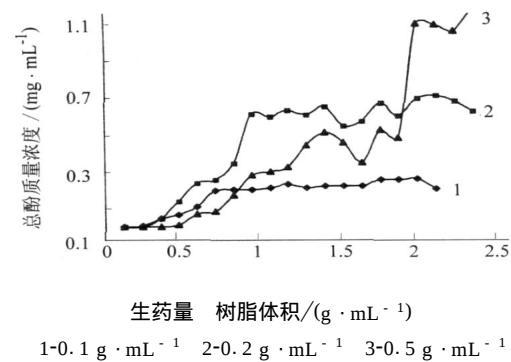


图 1 上样量对总酚的影响

Fig. 1 Effect of sampling content on phenols

HPD 100 大孔吸附树脂装柱(径高比 1 : 8), 取生药质量浓度为 0.2 g/mL 的样品液, 以 3 BV/h 连续通过树脂柱, 依次用 0(水)、30%、60%、80%、95% 乙醇 5 BV 洗脱, 分段收集洗脱液, 每个柱体积收集 1 份, 测定洗脱液中总酚的质量, 结果见表 3。可见地 苓 中的总酚主要集中在 30% ~ 60% 乙醇部分。将工艺调整为: 上样后用 5 BV 水洗脱后再用 5 BV 60% 乙醇洗脱, 收集 60% 乙醇洗脱部分, 回收乙醇, 蒸干, 测定总酚的量, 总酚的质量分数为 56.3%。

2.7 上样速度、洗脱速度和水洗体积的确定: 取 HPD 100 大孔吸附树脂装柱(径高比 1 : 8), 相当于 0.2 g 生药/mL 的样品液, 选择上样速度、洗脱速度和水洗体积为因素进行试验, 收集 5 BV 60% 乙醇洗脱液, 测定总酚的量, 结果见表 4。可以看出, 各因素对总酚的影响为: 水洗体积 > 洗脱速度 > 上样速度。最佳工艺为上样速度和洗脱速度 3 BV/h, 水洗体积为 5 BV。结果表明, 是否水洗对结果有较大的影响, 原因经过水洗后, 60% 乙醇洗脱部分水溶性杂质少, 浸膏质量减少, 使得总酚的量提高。

表 4 上样速度、洗脱速度和水洗体积对总酚的影响

Table 4 Effect of sampling speed, eluting speed, and water volume on phenols

试验号	上样速度/ (BV · h ⁻¹)	洗脱速度/ (BV · h ⁻¹)	水洗体积/ BV	空白	总酚/ %
1	1(2 BV/h)	1(2 BV/h)	1(0 BV)	1	11.427
2	1	2(3 BV/h)	2(3 BV)	2	47.753
3	1	3(4 BV/h)	3(5 BV)	3	40.695
4	2(3 BV/h)	1	2	3	37.361
5	2	2	3	1	57.154
6	2	3	1	2	13.996
7	3(4 BV/h)	1	3	2	28.627
8	3	2	1	3	15.764
9	3	3	2	1	16.695
I	72.745	77.415	41.187	85.277	
II	108.511	120.671	101.809	90.376	
III	61.086	71.387	126.476	93.820	
R	47.425	49.285	85.289	5.099	

2.8 大孔树脂使用次数的考察: 按照优选出来的最佳工艺, 每次上样量为饱和点的 80%。分别用 5 BV 水和 5 BV 60% 乙醇进行洗脱, 收集乙醇洗脱液。每次上样后用 95% 乙醇洗脱至流出液无色, 然后用蒸馏水洗至无醇味, 进行下一次上样, 结果见表 5。可见地 苓 水煎煮液的每次上样量为饱和点的 80% 时, 大孔树脂对地 苓 总酚的吸附量比较稳定, 进行了 10 次考察, 数值无明显变化, 说明树脂的吸附-解吸性能比较稳定。

表 5 大孔树脂使用次数的考察

Table 5 Using frequency of macroporous resin

次数	洗脱物质量/g	洗脱物得率/%	总酚量/mg	质量分数/%
1	0.105	2.30	53.12	50.59
2	0.107	2.36	57.83	53.84
3	0.104	2.28	56.35	54.19
4	0.112	2.46	61.41	54.73
5	0.112	2.46	62.18	55.32
6	0.114	2.50	58.08	50.90
7	0.100	2.20	65.65	65.39
8	0.113	2.48	62.46	55.32
9	0.110	2.41	58.25	53.10
10	0.101	2.21	55.18	54.69

3 讨论

地 苓 中含有酚羟基的成分主要有没食子酸、芦丁、槲皮素、木犀草素、山柰酚等。在选择总酚测定的对照品时, 实验分别比较了用没食子酸、槲皮素、木犀草素为对照品测得的总酚的量。结果以没食子酸为对照品时, 测得的总酚的量偏低, 其原因可能是样品为乙醇溶液, 水溶性成份偏少。在分别以槲皮素和木犀草素为对照时, 测得总酚的量分别为 44.2% 和 67.1%。原因可能是槲皮素比木犀草素多一个酚羟基, 而三氯化铁-铁氰化钾显色的结果与酚羟基的数量有关。因此, 相同质量浓度的槲皮素和木犀草素, 槲皮素的吸光度大于木犀草素。从而以槲皮素为参照时, 测得的结果小于以木犀草为参照测得的结果。综合考虑, 选择槲皮素和木犀草素 1 : 1 混合为对照品, 测得的结果合理、适中。

HPD 100 树脂对地 苓 总酚的吸附性和洗脱性能好, 用 60% 乙醇就能较容易地洗脱下来, 能达到较好的分离效果。上样质量浓度、上样量和 pH 值是影响树脂吸附效果的重要因素, 如果上样质量浓度过低, 处理量小; 如果上样质量浓度过高, 样品溶解量少, 损失较大。pH 值越小, 树脂的吸附量越大, pH 值越大, 洗脱率越大。在使用寿命考察的时候, 实验采用了上样量为饱和点的 80%, 结果发现比上样量

达到饱和效果要好,因这样在工业大生产时可以平行的控制每批产量。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [2] 广东省吴川县卫生局中草药研究小组, 广东省吴川县人民医院内儿科. 地稔止血水治疗消化道出血 70 例 [J]. 新医学, 1973(1): 20.
- [3] 周添浓. 地稔注射液对家兔血液的影响 [J]. 广州中医学院学报, 1995(12): 40-41.
- [4] 刘峰群, 曹红, 靳守东, 等. 比色法测定消癌平注射液中总酚酸的含量 [J]. 华西药学杂志, 2003, 18(3): 220-222.
- [5] 许腊英, 毛维伦, 黎莉. 酒制丹参水溶性总酚的含量测定 [J]. 湖北中医学院学报, 2004, 6(1), 34-35.
- [6] 刘永刚, 金向群, 叶瑾, 等. 大孔树脂纯化赤芍总苷的研究 [J]. 中药材, 2005, 28(3), 195-196.
- [7] 傅博强, 刘勃, 王小如, 等. XDA-1 大孔吸附树脂对甘草酸及甘草总黄酮的吸附分离 [J]. 现代中药研究与实践, 2004 (B12): 45-50.

均匀设计法优选金匱肾气丸中苷类成分的提取工艺

李文兰, 任晓蕾, 赵 稷, 季宇彬*, 徐 栋

(哈尔滨商业大学 生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要: 目的 优选金匱肾气丸中苷类成分的提取工艺。方法 采用 HPLC 法测定马钱苷、芍药苷的量, 紫外分光光度法测定总苷和总皂苷的量。以浸膏率、马钱苷、芍药苷、总苷和总皂苷的量为指标, 按 $U_9(9^5)$ 均匀设计表设计试验, 分别考察乙醇体积分数、液固比、煎煮时间和煎煮次数 4 个因素的影响。结果 通过 DPS 软件分析, 得出苷类成分的最佳提取工艺为用 14 倍量 58% 乙醇煎煮 3 次, 每次 3 h, 在此工艺提取得马钱苷和芍药苷的量分别为 2.477 0、0.768 4 mg/g, 以马钱苷计总苷的量为 34.178 2 mg/g, 以人参皂苷 Re 计总皂苷的量为 4.910 8 mg/g。结论 均匀设计法优选出的金匱肾气丸中苷类成分的提取工艺合理可行, 为金匱肾气丸的进一步研究提供参考。

关键词: 金匱肾气丸; 苷类; 均匀设计; 提取工艺

中图分类号: R 284.2; R 286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0199-04

Optimization of extracting technique for glycosides in Jinkui Shenqi Pills by uniform design

L I Wen-lan, REN Xiao-lei, ZHAO Ji, JI Yu-bin, XU Dong

(Center of Research on Life Sciences and Environmental Sciences, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: **Objective** To optimize the extracting process of glycosides in Jinkui Shenqi Pills. **Methods**

The extracting process of Jinkui Shenqi Pills was optimized by $U_9(9^5)$ uniform design with extract rate, loganin, paecniflorin, total glycosides, and total saponins, as indexes to observe the effect of ethanol concentration, amount of extraction solvent added, duration of decoctions, and times of decoction. HPLC and UV-spectrophotometer were used to determine the loganin, paecniflorin as well as the total glycosides and total saponins. **Results** Through the DPS software analysis, the most favorable conditions are: glycosides in Jinkui Shenqi Pills were extracted in 58% ethanol 14 times as much as it for 3 times, 3 h once. Using this extracting process, the obtained contents of loganin, paecniflorin, total glycosides, and total saponins were 2.477 0 mg/g, 0.768 4 mg/g, 34.178 2 mg/g, and 4.910 8 mg/g, respectively. **Conclusion** The extracting technique for glycosides in Jinkui Shenqi Pills by uniform design is suitable and feasible. The study could provide the references for determination and extraction of saponins in Jinkui Shenqi Pills and groundwork for its further investigation.

Key words: Jinkui Shenqi Pills; glycosides; uniform design; extracting technique

金匱肾气丸出自张仲景《金匱要略》, 为温补肾阳的代表方, 也是最早的补肾方剂, 能有效改善性激素分泌状况和精子质量, 预防骨质疏松, 具有显著的

抗突变、抗衰老和抗自由基等作用^[1~4], 临床主要用于治疗男性不育症、慢性功能性腹泻、糖尿病肾病、慢性肾炎水肿、前列腺肥大、心肾阳虚型高血压

收稿日期: 2007-05-19

基金项目: 黑龙江省科技攻关项目(GC05C31601); 黑龙江省教育厅振兴老工业基地项目(1151gzd25)

作者简介: 李文兰(1967—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药化学及药理学。

Tel: (0451) 84800297 E-mail: lwldzd@163.com

* 通讯作者 季宇彬