

大孔吸附树脂纯化榧木总皂苷的工艺研究

刘 艳, 田 吉, 何 兵, 肖顺汉*

泸州医学院 药物及功能性食品研究中心, 四川 泸州 646000

摘要:目的 筛选分离榧木总皂苷的最佳树脂, 并对影响分离的各种因素进行系统研究, 使分离工艺达到最优化。方法 采用静态与动态的吸附-解吸两种方法, 以高效液相色谱法测定榧木皂苷 A 的量为评价指标, 进行工艺筛选。结果 AB-8 分离效果最好, 其最佳工艺为药液质量浓度 0.1 g/mL (相当于原生药)、上样量为 6 BV (树脂床体积), 以 2.5 BV/h 的吸附速率进行吸附, 50%乙醇 4 BV、2 BV/h 进行洗脱效果最佳。经 AB-8 处理后的榧木皂苷 A 收率达 30%, 榧木总皂苷可达 80%以上。结论 该方法简单可行, 分离效果好, 能满足于大生产的要求。

关键词: 榧木; 大孔树脂; 榧木皂苷 A; 高效液相色谱; 吸附率

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)04-0694-04

Optimization technique in purification of araloside A from *Aralia chinensis* with macroporous resin

LIU Yan, TIAN Ji, HE Bin, XIAO Shun-han

Research Center for Drug and Functional Food, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China

Abstract: Objective To explore the optimal separation of the araloside A from *Aralia chinensis* by selecting appropriate macroporous resins and to systematically study the factors which affect the separation. **Methods** Static and dynamic adsorption-desorption methods were adopted and evaluated for separating efficiency by measuring the concentration of araloside A in *A. chinensis* with HPLC. **Results** Macroporous resin AB-8 had the best separating efficiency when the content in *A. chinensis* liquid was 0.1 g/mL equivalent to raw material. The volume of drug is 6 BV (resin bed volume) with the adsorption-power 2.5 BV/h and the volume of 50% ethanol as eluant 4 BV with desorption-power 2 BV/h. After the treatment of AB-8 resin, the purity of araloside A could reach 30% and total araloside to 80%. **Conclusion** This method is simple and feasible with good effect of separation, which can meet the industrial requirements.

Key words: *Aralia chinensis* L; macroporous resin; araloside A; HPLC; adsorption rate

榧木又称榧木白皮, 为五加科榧木属植物榧木 *Aralia chinensis* L. 的根皮, 具有祛风湿、利小便、散瘀血、消肿毒的功效^[1]。榧木属植物的有效部位为榧木皂苷类^[2]。药理实验研究表明榧木总皂苷为抗肿瘤活性成分。大孔树脂为一种有机高聚吸附剂, 具有选择性吸附有机化合物的能力, 应用于皂苷类成分的富集纯化有较好的效果。因此本实验对大孔树脂富集、纯化榧木总皂苷工艺条件及有关参数进行研究, 旨在获得一种无有机溶剂残留, 成本低, 洗脱率、得率和精制度较高的榧木总皂苷精制方法。

1 仪器与材料

戴安高效液相色谱系统。辽东榧木, 产地黑龙江哈尔滨, 经泸州医学院生药教研室税丕先副教授鉴定为榧木 *Aralia chinensis* L. 的根皮。榧木皂苷 A 对照品由沈阳药科大学宋少江教授提供, 经 HPLC 峰面积归一化法计算质量分数在 98% 以上。DM-301、D-101、DA-201、AB-8、NKA-9 大孔吸附树脂(天津市海光化工有限公司)。乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

收稿日期: 2010-07-02

基金项目: 四川省教育厅重点项目(2005A76)

作者简介: 刘 艳(1981—), 女, 四川宜宾人, 硕士学位, 助理研究员, 主要从事中药制剂研究工作。

Tel: 15283007251 E-mail: liuyanlucky@126.com

*通讯作者 肖顺汉 E-mail: xiaoshunhan@126.com

2.1 上柱液的制备

取椴木药材粗粉 500 g, 加 6 倍量 75%乙醇渗滤提取, 放置过夜, 1.5 mL/min 的滴速收集渗滤液, 减压浓缩至 500 mL, 即得 1 g/mL 的供试品溶液。

2.2 椴木皂苷 A 的测定^[3-4]

2.2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.05%磷酸溶液 (35 : 65), 检测波长 205 nm, 柱温 30 °C, 体积流量 0.8 mL/min。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取椴木皂苷 A 对照品 12.65 mg, 加 35%乙腈 10 mL 制成 1.265 mg/mL 对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的配制 根据每次实验中椴木皂苷的质量浓度, 精密量取一定量的过柱液, 加水稀释至适当质量浓度, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的绘制 精密吸取椴木皂苷 A 对照品溶液稀释 5 倍, 进样 2.5 μL, 再吸取对照品溶液 5.0、7.5、10.0、15.0、20.0 μL 注入液相色谱仪, 测定。以峰面积对进样量进行线性回归, 得回归方程 $A=833.671 C-0.283$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.632 5~25.300 0 μg。

2.2.5 椴木皂苷 A 的测定 精密吸取椴木皂苷 A 对照品溶液和供试品溶液各 20 μL 进样, 计算得上柱液中椴木皂苷 A 的质量分数为 4.53%。

2.3 工艺参数考察与优化

2.3.1 树脂对椴木皂苷 A 的静态吸附性能测定 取已处理好的净品级大孔树脂各 1 g, 分别加入椴木提取溶液 0.1 g/mL (相当于原生药) 10 mL, 每 10 min 振摇 1 次, 2 h 后分别吸取树脂吸附后的溶液 1 mL, 测定椴木皂苷 A, 计算树脂对椴木皂苷 A 的吸附率。将静态吸附的树脂抽干, 加 20 mL 70%乙醇解吸, 每 10 min 振摇 1 次, 2 h 后分别各取解吸液 1 mL, 测定椴木皂苷 A, 计算树脂对椴木皂苷 A 的解吸率, 结果见表 1。可知 AB-8 树脂的吸附率和解吸率都最大, 因此选择 AB-8 树脂。

2.3.2 AB-8 树脂对椴木皂苷 A 的动态吸附性能测定 取 0.1 g/mL 椴木提取溶液适量, 缓慢加入装好的 AB-8 树脂柱中, 控制体积流量为 1 mL/min, 每 17 mL (即 1 倍柱体积, 以 1 BV 表示) 收集 1 个流份, 共 20 个流份。以流出液体积为横坐标, 椴木皂苷 A 质量浓度为纵坐标, 作动态吸附曲线, 确定 AB-8 树脂对椴木皂苷 A 的动态吸附性能。见图 1。可知开始时流份中的椴木皂苷 A 质量浓度较低, 说

明树脂的吸附量大, 随着流份数的增加, 椴木皂苷 A 质量浓度不断上升, 从第 6 流份开始, 椴木总皂苷出现较大量泄漏, 因此确定树脂上样量为 6 BV (即 102 mL)。

表 1 大孔树脂对椴木皂苷 A 的吸附率与解吸率
Table 1 Adsorption and desorption rate of araloside A on various macroporous resins

树脂种类	吸附率/%	解吸率/%
AB-8	55.92	54.88
D-101	54.14	43.88
DM-301	40.47	48.79
DA-201	53.83	42.01
NKA-9	36.18	47.77

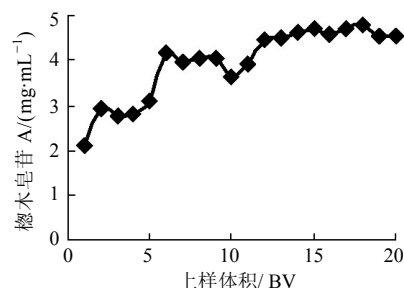


图 1 AB-8 树脂对椴木皂苷的吸附曲线

Fig. 1 Adsorption curve of araloside A on AB-8 resin

2.3.3 洗脱溶媒的选择 0.1 g/mL 椴木提取溶液 6 BV 上 AB-8 树脂柱后, 首先用蒸馏水 4 BV 洗去杂质, 然后依次用 30%、50%、70%乙醇各 3 BV 洗脱, 每 1 BV 收集 1 个流份, 分别测定各流份中椴木皂苷 A 的质量浓度, 绘制洗脱曲线。见图 2。洗脱曲线显示, 蒸馏水洗脱的皂苷量前 3 BV 的洗脱量稍大, 因为进行洗脱前有少量皂苷未被吸附, 至第 4 BV 时蒸馏水中几乎无皂苷, 因此确定用 4 BV 的蒸馏水洗脱杂质。洗脱皂苷的能力随着乙醇体积分数不同有差别, 50%乙醇溶液洗脱量明显大于其他体积分数的乙醇溶液。因此, 应先用 4 BV 的蒸馏水洗去杂质, 再以 50%乙醇溶液作为洗脱剂。

2.3.4 洗脱体积的选择 0.1 g/mL 椴木提取溶液 6 BV 上 AB-8 树脂柱后, 首先用蒸馏水 4 BV 洗去杂质, 然后用 50%乙醇溶液 5 BV 洗脱, 每 1 BV 收集 1 个流份, 分别测定各流份中椴木皂苷 A 的质量浓度, 绘制洗脱曲线。见图 3。可知, 50%乙醇洗脱液中皂苷量随洗脱体积的增大逐渐减少, 至第 5 BV 时, 洗脱液中几乎已无皂苷, 因此选择 50%乙醇 4 BV 作为洗脱溶媒。

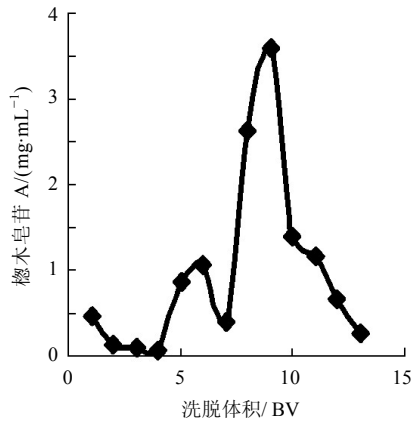


图 2 不同体积分数乙醇洗脱橐木皂苷 A 曲线
Fig. 2 Eluting curve of araloside A with alcohol at different concentration

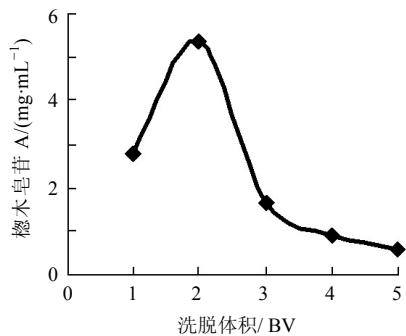


图 3 洗脱体积对洗脱效果的影响
Fig. 3 Effect of volume on eluting results

2.3.5 pH 值对吸附量的影响 取 3 份经预处理的 AB-8 树脂各 10 g, 分别装柱, 以 10% 盐酸溶液和 1% NaOH 溶液将各等分原料液 (0.1 g/mL) 的 pH 值分别调为 5.0、7.0、9.0, 再分别上柱, 体积流量为 2.5 BV/h。检测原料液的质量浓度及各柱流出液的量与质量浓度, 计算吸附量。结果表明 pH 值对吸附量无明显影响, 药材原料液的 pH 值为 4.9, 因此直接以药材原液上柱。

2.3.6 上样体积流量对吸附量的影响 取 0.1 g/mL 橐木提取溶液 6 BV 以不同体积 (1.5、2.5、3.5 BV) 通过树脂柱, 测定流出液中橐木皂苷 A 的量, 计算树脂吸附量。以上样体积流量为横坐标, 树脂吸附量为纵坐标, 考察上样体积流量对树脂吸附量的影响, 结果见图 4。可知, 较低体积流量时, 树脂具有较大的吸附量, 随着体积流量的增加, 树脂吸附量呈降低趋势, 考虑到缩短时间, 选择体积流量为 2.5 BV/h。

2.3.7 样品液质量浓度对吸附的影响 以含橐木药材计的质量浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.4 g/mL 供

试品溶液分别上树脂柱, 进行吸附试验, 体积流量为 2.5 BV/h, 测定流出液中橐木皂苷 A 的量, 计算各质量浓度条件下的吸附量, 结果见图 5。结果显示, 样品溶液越稀, 吸附量越大, 考虑生产过程中如样品质量浓度过稀, 上柱时间就需要延长, 故确定样品液质量浓度为 0.1 g/mL。

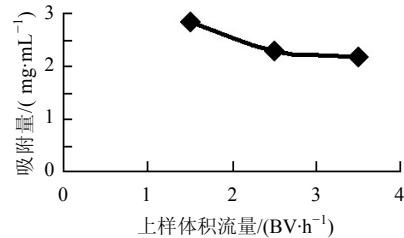


图 4 上样体积流量对吸附量的影响

Fig. 4 Effect of flow rate on absorption

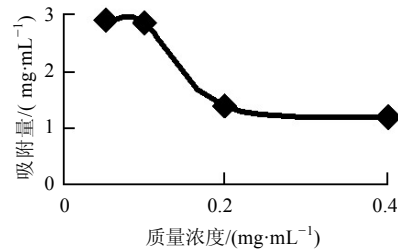


图 5 样品液浓度对吸附量的影响

Fig. 5 Effect of sample concentration on absorption

2.3.8 洗脱速度的影响 取 0.1 g/mL 橐木提取溶液 6 BV, 3 份, 以 2.5 BV/h 上样, 依次用蒸馏水 4 BV 洗脱, 再用 50% 乙醇 4 BV 以不同洗脱速度 (1、2、3 BV/h) 洗脱, 分别测定 50% 乙醇洗脱液中橐木皂苷 A 的量。以洗脱速度为横坐标, 橐木皂苷 A 的量为纵坐标, 考察洗脱速度的影响, 结果见图 6。结果显示, 2 BV/h 时洗脱液中皂苷 A 达到最大质量浓度, 因此选择 2 BV/h 作为 50% 乙醇洗脱速度。

2.4 验证试验

根据上述试验结果, 按最佳条件操作, 取 0.1

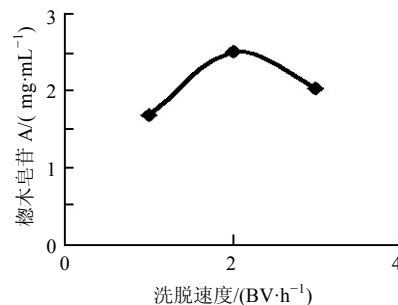


图 6 洗脱速度对橐木皂苷 A 的影响

Fig. 6 Effect of eluting velocity on araloside A

g/mL 椴木提取溶液 102 mL 以 2.5 BV/h 上样, 依次用蒸馏水 4 BV、50%乙醇 4 BV 洗脱, 收集水洗脱液和 50%乙醇洗脱液, 平行 3 份, 测定 50%乙醇洗脱液中皂苷 A 量, 椴木上柱样品液、蒸馏水洗脱液及 50%乙醇洗脱液水浴挥干, 烘箱恒重, 计算总固体。结果椴木皂苷 A 收率达 30%, 紫外分光光度法测定椴木总皂苷可达 80%, 表明 AB-8 对椴木总皂苷有较好的分离纯化效果。

3 讨论

在利用大孔树脂纯化时, 应尽量除去上样液中沉淀, 上样液澄清度较好时, 能提高总皂苷纯化率, 同时也能提高树脂使用寿命。

椴木所含化学成分复杂, 含有椴木皂苷、挥发

油等。经药理实验证明, 其主要成分皂苷类有显著的抗癌效果, 而目前还未见大孔树脂分离该皂苷的报道, 本实验采用大孔树脂纯化椴木总皂苷, 从精制度和皂苷量方面分析, 大孔树脂适宜于椴木总皂苷的分离、纯化。

参考文献

- [1] 湖南省卫生厅. 湖南中药材标准 [M]. 长沙: 湖南省科学技术出版社, 1993.
- [2] 王忠壮, 郑汉臣, 苏中式, 等. 8 种椴木属药用植物化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 1994, 19(1): 6-8.
- [3] 李 丽. 辽东椴木芽的化学成分及根皮的质量标准研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006.
- [4] 刘 艳, 田 吉, 何 兵. HPLC 测定不同产地椴木中的椴木皂苷 A [J]. 华西药理学杂志, 2010, 25(2): 217-218.

天津中草药杂志社 4 种期刊为允许刊载处方药广告的医药专业媒体

据国家药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知, 中草药杂志社编辑出版的《中草药》杂志、*Chinese Herbal Medicines* (CHM)、《现代药物与临床》、《药物评价研究》4 本期刊作为第一批医药专业媒体, 允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电话: (022)27474913 23006821 传真: 23006821 联系人: 陈常青

网址: www.中草药杂志社.中国; www.tiprpress.com E-mail: zcy@tiprpress.com