

大孔树脂分离纯化白花前胡乙素的工艺优选

聂小忠*, 党建章, 王晓利
(深圳职业技术学院, 广东 深圳 518055)

[摘要] 目的: 优选信前胡的大孔树脂纯化工艺条件。方法: 以白花前胡乙素提取量为评价指标, 通过正交试验考察乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间对信前胡提取工艺的影响。通过单因素试验筛选大孔树脂型号并考察大孔树脂吸附与洗脱条件。采用 HPLC 测定白花前胡乙素含量, 流动相甲醇-水(75:25), 检测波长 321 nm。结果: 最佳提取工艺为加 8 倍量 60% 乙醇提取 3.5 h。选择 X-5 型大孔树脂, 吸附时间 60 min, 白花前胡乙素吸附率 92.36%, 洗脱率 71.24%, 提取率 98.71%, 纯度 8.88%。结论: X-5 型大孔树脂适合分离纯化白花前胡乙素, 为信前胡香豆素类成分的开发应用提供参考。

[关键词] 白花前胡乙素; 大孔吸附树脂; 前胡; 总香豆素

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0035-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130035

Optimization of Separation and Purification Process for Praeruptorin B from Peucedani Radix with Macroporous Resin

NIE Xiao-zhong*, DANG Jian-zhang, WANG Xiao-li
(Shenzhen Polytechnic, Shenzhen 518055, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize purification process of praeruptorin B from Peucedani Radix by macroporous resin. **Method:** With extracting amount of praeruptorin B as index, orthogonal test was adopted to investigate effects of ethanol concentration, the amount of solvent and extracting time on extraction process. Type of macroporous resin and its elution conditions were investigated by single factor tests. HPLC was employed to determine the content of praeruptorin B with mobile phase of methanol-water (75:25) and detection wavelength at 321 nm. **Result:** Optimum extraction technology was as following: extracted 3.5 h with 8 times the amount of 60% ethanol. X-5 macroporous resin was selected, its adsorption time was 60 min, adsorption rate, elution rate, recovery and purity were 92.36%, 71.24%, 98.71% and 8.88%, respectively. **Conclusion:** X-5 macroporous resin was suitable for separation and purification of praeruptorin B, this study could provide a reference for development and application of total coumarins from Peucedani Radix.

[Key words] praeruptorin B; macroporous resin; Peucedani Radix; total coumarins

前胡始载于《名医别录》,列为中品,包括信前胡^[1]、宁前胡和浙前胡等,具有散风清热、降气化痰等功效,有效成分为香豆素甲素、乙素、丙素、丁素、戊素及挥发油类。其香豆素类化合物具有抗心脑缺

血、抗心衰,扩张血管、降血压、抗肿瘤等药理作用^[2-5]。白花前胡乙素为白花前胡根中提取的一种角型吡喃香豆素,属于脂溶性成分,药理活性强。目前常采用溶剂法和超临界法分离纯化白花前胡乙素^[2],应用大孔吸附树脂法的报道较少。本实验以白花前胡乙素含量为评价指标,通过单因素实验优选信前胡中白花前胡乙素的大孔树脂法纯化工艺,为该药材的开发应用提供参考。

1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),

[收稿日期] 20140405(008)

[基金项目] 深圳职业技术学院校级科研基金重点项目(601422K27001)

[通讯作者] *聂小忠,硕士,主管中药师,讲师,从事中药鉴定、制剂与质量研究, Tel:0755-26019167, E-mail: nxz9898@vip.163.com

Diamondsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), PALL cascada IX 型超纯水制备仪(南京易普易达科技发展有限公司), MFS-11 型多功能三维旋混仪(深圳潘西诺生物科技有限公司)。

前胡药材购自深圳职业技术学院江西上饶种植基地,经江西中医药大学范崔生教授鉴定为伞形科植物白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* Dunn. 的干燥根;白花前胡乙素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111904-201203), HPD100A, HPD400A, HPD600A, X-5, XAD4, D201 型大孔吸附树脂(天津市光复精细化工研究所), 甲醇、乙腈均为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 白花前胡乙素的含量测定 采用 HPLC 测定,色谱条件参考文献[3]。对照品出峰时间 16.01 ~ 17.60 min, 回归方程 $Y = 124\ 857X - 6\ 567.5$ ($r = 0.999\ 8$), 线性范围 0.027 5 ~ 2.2 μg。

2.2 样品的提取和检测 精密称取经干燥恒重的信前胡粉末(过 60 目筛)约 1.0 g, 置于具塞锥形瓶中,加入 60% 乙醇 25 mL, 恒温 30 ℃, 置摇瓶中 120 r·min⁻¹ 振荡 2 h, 过滤, 滤液转移至 25 mL 量瓶中, 加 60% 乙醇定容至刻度, 按 2.1 项下方法测定, 结果白花前胡乙素质量分数 0.3%。

2.3 提取工艺优选^[2] 选择乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间为考察因素, 以白花前胡乙素提取量为评价指标, 精密称取前胡粗粉 1.0 g, 共 9 份, 按 L₉(3⁴) 正交表进行试验, 因素水平见表 1, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 1 信前胡中白花前胡乙素提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 溶剂用量/倍	C 提取时间/h
1	40	8	0.5
2	60	12	2.0
3	80	16	3.5

由直观分析可知, 各因素对白花前胡乙素提取量的影响顺序为 $C > B > A$ 。方差分析表明 C 因素具有显著性影响, 其他因素则无显著性影响, 确定最佳工艺组合为 A₂B₁C₃, 即乙醇体积分数 60%, 溶剂用量 8 倍, 提取时间 3.5 h。

2.4 大孔树脂纯化工艺

2.4.1 预处理 称取 HPD100A, HPD400A, HPD600, X-5, XAD4, D201 型树脂各 10.0 g, 分别装入具塞锥形瓶中, 各加入 95% 乙醇 30 mL, 浸泡过

表 2 信前胡中白花前胡乙素提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	白花前胡乙素 /mg·g ⁻¹
1	1	1	1	0.80
2	1	2	2	1.06
3	1	3	3	1.65
4	2	1	2	1.94
5	2	2	3	1.61
6	2	3	1	0.07
7	3	1	3	2.28
8	3	2	1	0.07
9	3	3	2	0.25
K ₁	3.51	5.02	0.94	2.66
K ₂	3.62	2.74	3.25	3.41
K ₃	2.60	1.97	5.54	3.66
R	0.34	1.02	1.53	0.33

表 3 白花前胡乙素提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	3.00	2	1.50	16.62	>0.05
B	1.68	2	0.84	9.29	>0.05
C	3.53	2	1.76	19.53	<0.05
D(误差)	0.18	2	0.09		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

夜, 滤去乙醇, 反复操作 3 次, 水洗至无醇味, 备用。

2.4.2 大孔树脂型号筛选 称取已处理好的各型号树脂 10.0 g, 各加入按最佳提取工艺制备的 7.74 mg·L⁻¹ 提取液 50 mL, 恒温 30 ℃, 于 120 r·min⁻¹ 振荡, 摇瓶过夜, 抽滤, 滤液定容至 50 mL, 按 2.1 项下方法测定白花前胡乙素含量, 计算吸附率分别为 79.5%, 76.1%, 38.9%, 85.2%, 82.2%, 7.10%, 故选择 X-5 型大孔树脂。

2.4.3 吸附时间考察 称取预处理好的 X-5 型树脂 10.0 g, 加入提取液 50 mL, 恒温 30 ℃, 于 120 r·min⁻¹ 摇瓶振荡, 每隔 30 min 取样检测 ($n = 4$), 计算吸附率分别为 85.66%, 92.36%, 92.20%, 91.78%, 故选择吸附时间 60 min。

2.4.4 乙醇体积分数考察 取吸附饱和的 X-5 型树脂, 加水洗涤, 真空抽滤, 分别称取树脂 10 g 装具塞锥形瓶中, 共 4 份, 分别加入 20%, 40%, 60%, 80% 的乙醇 50 mL, 37 ℃ 震荡解析, 120 min 后取样检测, 按上述条件重复洗脱 3 次, 结果见表 4 ($n = 3$), 故选择加 80% 乙醇洗脱 3 次。

表4 不同体积分数乙醇对白花前胡乙素洗脱率的影响 %

乙醇体积分数	洗脱率	乙醇体积分数	洗脱率	乙醇体积分数	洗脱率	累积洗脱率
20	0.00	20	0.00	20	0.00	0.00
40	0.00	40	0.00	40	0.00	0.00
60	0.00	60	2.73	60	4.59	7.32
80	44.23	80	15.01	80	12.00	71.24

2.5 X-5型树脂的放大试验 称取预处理好的X-5型树脂50.0 g,置于500 mL具塞锥形瓶中,加入 $7.74 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提取液250 mL,恒温30 ℃,摇瓶于 $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡吸附60 min,水洗除杂,加80%乙醇100 mL洗脱,于37 ℃, $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 震荡洗脱120 min,按上述条件重复洗脱3次,合并洗脱液,将洗脱液置旋转蒸发仪中真空浓缩,真空干燥24 h,得前胡提取物干重21.51 mg,加60%乙醇溶解并反复洗涤,定容至100 mL,计算白花前胡乙素质量1.91 mg,纯度8.88%,回收率98.71%。

3 讨论

由于2010年版《中国药典》一部^[6]前胡项下供试品溶液的制备选择提取溶剂为三氯甲烷,属于二类有毒试剂,应尽量避免使用,故本文改用乙醇摇瓶

提取法,效果较好。选择80%乙醇作为洗脱溶剂,洗脱率仅71.24%,原因可能是树脂用量、洗脱液用量及体积分数、洗脱次数等原因造成。提取物干粉回收率高的原因可能是由于放大试验中X-5型树脂用量增大所致。

[参考文献]

- [1] 聂小忠. 信前胡的产地与道地性考证[J]. 江西中医学院学报,2012,24(2):42.
- [2] 侯柏玲,张子川,孟大利,等. 中药白花前胡提取工艺的优化[J]. 沈阳药科大学学报,2009,26(2):141.
- [3] 聂小忠,党建章,王晓利,等. 不同产地、不同采收期前胡野生品与栽培品的质量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(20):129.
- [4] 党建章,金元宝,毛友枚,等. 大孔树脂分离纯化羟基酪醇工艺研究[J]. 中成药,2012,34(9):1811.
- [5] 潘九英,吴飞华,金芝贵. 白花前胡有效成分药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志,2006,40(5):64.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:248.

[责任编辑 刘德文]

欢迎订阅 2014 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。1994年创刊,2002年,被中国科学技术信息研究所的"中国科技论文统计源期刊"收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已相继被《中国科学引文数据库》、波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等知名检索系统收录。

本刊是中医药行业一本独具特色的学术期刊,其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有:中医动态、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、流行病学调查、临床论著、实验研究、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学、综述等。

本刊为月刊,大16开国际开本,136页,国内外公开发行,每册定价10元,全年120元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街16号《中国中医药信息杂志》编辑部,邮编:100700,电话:010-64014411-3278, E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn。