

电导率法在线监测栀子提取物大孔树脂柱分离工艺

张鹏,高峻峰,孟硕,刘建勋*

(中国中医科学院西苑医院实验研究中心,北京 100091)

[摘要] 目的:利用电导法在线监测栀子提取液大孔树脂柱分离工艺。方法:利用电导计测定通过大孔树脂柱洗脱后流出成分的电导率变化,并考察其与去乙酰基车叶草苷酸甲酯、京尼平-1- β -D 龙胆双糖苷、栀子苷 3 个成分变化的相关性。结果:电导率先下降,之后随栀子等成分的被洗脱又明显升高,呈较好的相关性。结论:电导法可用于监测栀子提取物的大孔树脂分离工艺。

[关键词] 大孔树脂; 栀子; 电导率; 在线监测; 去乙酰基车叶草苷酸甲酯; 京尼平-1- β -D 龙胆双糖苷; 栀子苷

[中图分类号] R283.6,R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)15-0027-02

[doi] 10.11653/syfy2013150027

Online Monitoring of Separation Technology with Macroporous Resin Column for Extract of *Gardenia jasminoides* by Conductivity Method

ZHANG Peng, GAO Jun-feng, MENG Shuo, LIU Jian-xun*

(Experimental Research Center, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate online monitoring of separation technology with macroporous resin column for extract of *Gardenia jasminoides* by conductivity method. **Method:** Conductivity changes of eluted components after macroporous resin absorption were determined by conductivity apparatus, and its correlation with changes of geniposide, genipin-1- β -D-gentiobioside and deacetyl-asperulosidic acid methyl ester was determined respectively. **Result:** Conductivity decreased first, and then significantly increased with elution of geniposide and other components, showing a good correlation. **Conclusion:** Conductance method could be used to monitor separation technology with macroporous resin for extract of *G. jasminoides*.

[Key words] macroporous absorption resin; *Gardenia jasminoides*; conductivity; online monitoring; deacetyl-asperulosidic acid methyl ester; genipin-1- β -D-gentiobioside; geniposide

栀子具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒等作用,临床用于治疗高热黄疸、小便短赤等症。其果实中主要含有环烯醚萜类等有效成分,目前常采用大孔树脂吸附技术分离纯化^[1-3]。本实验选择去乙酰基车叶草苷酸甲酯、京尼平-1- β -D-龙胆双糖苷、栀

子苷为考察指标,采用电导法在线监测栀子提取物在大孔树脂吸附与洗脱过程中流出成分,为栀子的工业生产提供参考^[4]。

1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), AE-240 型电子天平(瑞士 METTLER), Puxicoo 型笔式电导仪(乐清市大仓电子有限公司), XX 8200230 型输液泵(美国密理博公司)。

栀子(购自安国市神农中药饮片有限公司,经内蒙古民族大学蒙医药学院图雅教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的果实), 栀子苷对照品(GS, 中国药品生物制品检定所, 批号 11079-200410), 去乙酰基车叶草苷酸甲酯(DA)、京尼平-

[收稿日期] 20121127(024)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30772755, 81073060); 国家科技重大专项(2009ZX09103-317)

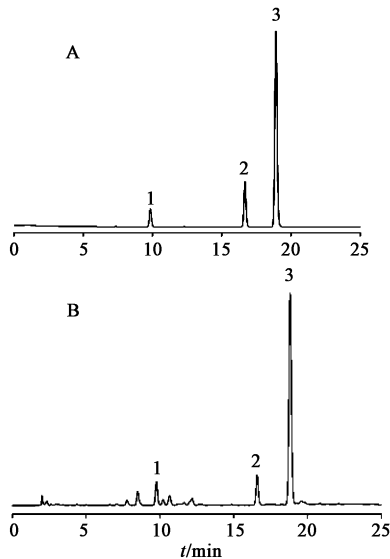
[第一作者] 张鹏, 博士, 副研究员, 从事药物化学研究, Tel: 010-62835640, E-mail: onflown@sina.com

[通讯作者] * 刘建勋, 博士, 研究员, 从事中药药理学研究, Tel: 010-62835601, E-mail: liujx0324@sina

1-β-D-龙胆双糖苷(GG)对照品(实验室自制,纯度均>99.0%),D101型大孔吸附树脂(山东鲁抗立科药业有限公司),乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 ZORBAX SB-Aq 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)梯度洗脱(0~20 min,3%~20% A),柱温 25℃,检测波长 238 nm,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 去乙酰基车叶草苷甲酯;
2. 京尼平-1-β-D-龙胆双糖苷; 3. 栀子苷

图 1 栀子提取物 HPLC

2.2 标准曲线绘制 分别精密称取 DA, GG, GS 对照品 1.00, 4.96, 15.86 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 混匀, 得混合对照品贮备液。分别精密量取贮备液 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 进样 10 μL, 按 2.1 项下方法测定, 以峰面积为纵坐标, 对照品质量浓度为横坐标, 得回归方程 $Y_{DA} = 12.91X - 1.40$ ($r = 0.9994$), $Y_{GG} = 10.44X - 0.14$ ($r = 0.9999$), $Y_{GS} = 14.34X + 25.25$ ($r = 0.9999$), 线性范围分别为 4.00~24.00, 19.84~119.04, 63.44~380.64 mg·L⁻¹。

2.3 供试品溶液的制备 称取栀子 1 kg, 加 8 倍量水煎煮 2 次, 每次 1 h, 合并提取液, 浓缩至生药质量浓度 1 kg·L⁻¹, 通过 D101 型大孔吸附树脂柱, 分别用水和 20% 乙醇洗脱, 分别收集洗脱液, 每份 100 mL, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液 10 μL, 按 2.1 项下方法连续测定 6 次, 记录峰面积, 结果 DA, GG, GS 峰面积的 RSD 分别为 0.88%,

0.23%, 0.03%。

2.5 重复性试验 取同一栀子提取液, 平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.1 项下方法测定, 结果 DA, GG, GS 峰面积的 RSD 分别为 0.56%, 1.09%, 0.22%。

2.6 加样回收率试验^[5] 取已知含量的提取液 6 份, 分别加入对照品适量, 制成供试品溶液, 测定, 计算 DA, GG, GS 的平均回收率分别为 99.54%, 102.31%, 101.53%, RSD 分别为 2.19%, 0.20%, 0.28%。

2.7 样品测定 取各洗脱液 10 μL, 按上述色谱条件测定, 记录电导率, 结果见图 2。

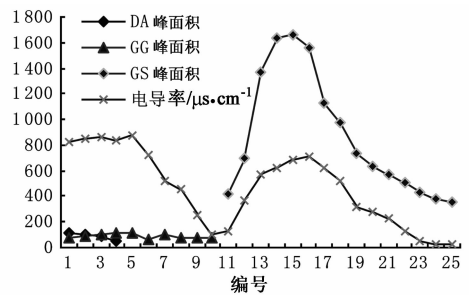


图 2 栀子提取物洗脱成分的电导率变化

3 讨论

在吸附过程中电导一直处于高水平, 在 1~9 号水洗脱液中, 电导逐渐下降; 之后改换洗脱剂, 栀子苷等主要成分被洗脱, 电导明显升高, 并与成分呈现较好的相关性, 表明可利用电导性变化监测主成分的变化, 使检测方法简化。栀子苷本身无导电性, 在水溶液中和纯水中电导率接近, 但洗脱过程伴有栀子中化学成分, 这些成分具有导电性。目前, 对生产中过程控制越来越重视, 但鲜见成功案例, 多使用近红外、红外法检测, 存在造价昂贵、可操作性弱等缺点, 本方法可为过程控制提供一种选择。

[参考文献]

- [1] 丁越, 杨骏, 张彤, 等. 大孔树脂对栀子中栀子苷的精制工艺研究[J]. 中药材, 2011, 34(4): 623.
- [2] 秦学功, 陈景超. 以 X-5 型大孔树脂吸附分离苦参生物碱的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 30.
- [3] 张文娟, 李茂星, 张泉龙, 等. 栀子苷的快速提取分离及其镇痛抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21): 170.
- [4] 李鑫, 刘茹, 李保华, 等. 电导率法测定水溶液中硼酸和多羟基化合物的配位比[J]. 河南大学学报: 医学版, 2011, 30(4): 264.
- [5] 张鹏, 孟硕, 刘建勋. 膜过滤对栀子提取液中环烯醚萜类成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 1.

[责任编辑 仝燕]