

# 岗松总黄酮的纯化工艺优选

邱宏聪<sup>1,2\*</sup>, 刘布鸣<sup>1,2</sup>, 孙翠<sup>1,2</sup>

(1. 广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022;  
2. 广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

**[摘要]** 目的: 优选岗松总黄酮的大孔吸附树脂纯化工艺。方法: 以总黄酮吸附率和洗脱率为指标, 采用 UV 测定总黄酮含量, 筛选最佳大孔吸附树脂, 并通过单因素试验考察岗松总黄酮的大孔树脂纯化工艺。结果: 采用 AB-8 型大孔吸附树脂对岗松总黄酮进行纯化, 其最佳工艺条件为上样液生药质量浓度  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 上样流速  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ , 上样体积 3 BV, 加 50% 乙醇 5 BV 以  $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速洗脱, 总黄酮纯度达 52.33%。结论: 优选的工艺合理可行, 适用于工业化生产。

**[关键词]** 岗松; 总黄酮; 大孔吸附树脂; 纯化

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0034-03

**[doi]** 10.11653/syfj2013130034

## Optimization of Purification Process for Total Flavonoids from *Baeckea frutescens* L.

QIU Hong-cong<sup>1,2\*</sup>, LIU Bu-ming<sup>1,2</sup>, SUN Cui<sup>1,2</sup>

(1. Guangxi Institute of Chinese Medical and Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China;  
2. Guangxi Key Laboratory of Quality Standards of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530022, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize purification process of total flavonoids from *Baeckea frutescens* L. by macroporous adsorption resin. **Method:** Different types of resin were selected with absorption and desorption ratio of total flavonoids as indexes, the content of total flavonoids was determined by UV, single factor test was adopted

**[收稿日期]** 20130115(005)

**[基金项目]** 广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项(GZPT1229); 广西中药质量标准研究重点实验室主任基金(桂中重科 201105)

**[通讯作者]** \* 邱宏聪, 硕士, 助理研究员, 从事新药开发研究, Tel: 0771-5883405, E-mail: qiu hongcong@163.com

用<sup>[3]</sup>, 故根据该合剂的临床疗效, 选取葛根素和芍药苷含量为考察指标。

研究表明, 提取时间对葛根素的水提取工艺具有显著影响<sup>[4]</sup>。而本实验发现, 提取时间对葛根素的影响较小, 同时随着时间的延长, 导致了芍药苷含量略有下降, 说明芍药苷受热不稳定, 不宜长时间加热。而提取次数的考察与文献报道相似<sup>[5]</sup>。康视明合剂作为医院制剂, 其批准的提取方法为分别加 6, 4 倍量水煎煮 2 次, 与优选的提取工艺存在差异, 本实验结果将为该合剂制备工艺的改进提供实验支持。

### [参考文献]

[1] 郭密, 韦倩, 张仲君, 等. 中药葛根素抗缺氧及抗氧化

的药效学研究[J]. 解放军保健医学杂志, 2007, 9(2): 104.

[2] 陈冰, 李毅, 商悦. 葛根素对缺氧损伤的大鼠脑微血管内皮细胞凋亡和功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 72.

[3] 胡南, 许惠玉, 陈志伟, 等. 芍药苷的药理学研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2007, 28(9): 1093.

[4] 王巧晗, 陆兔林, 马新飞, 等. 正交试验法优选颈通胶囊的水提工艺[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(2): 124.

[5] 张元元, 李进, 陈涛, 等. 暑热宁合剂提取工艺优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 49.

[责任编辑 仝燕]

to investigate purification technology of total flavonoids by macroporous adsorption resin. **Result:** AB-8 type resin was adopted, its optimum process conditions were as followings: the concentration of sample solution  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , absorption velocity  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ , sample volume 3 BV, eluted by 5 BV 50% ethanol at flow rate of  $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ . Under these conditions, purity of total flavonoids was up to 52.33%. **Conclusion:** Optimized process was rational, feasible and suitable for industrial production.

[**Key words**] *Baeckea frutescens* L.; total flavonoids; macroporous adsorption resin; purification

岗松现收载于《广西壮族自治区壮药材质量标准汇编》第1卷,具有清利湿热、杀虫止痒的功效,用于治疗泄泻、腹痛、急性胃肠炎;外治滴虫性阴道炎、皮肤湿疹。岗松富含黄酮类化合物<sup>[1-5]</sup>,岗松总黄酮具有较好的抗氧化和抗炎作用<sup>[6]</sup>,开发前景良好。前期试验已完成岗松提取工艺的优选及总黄酮含量测定方法的建立<sup>[7]</sup>,在此基础上,本试验采用大孔树脂吸附分离技术,通过单因素试验优选岗松总黄酮的纯化工艺,为其工业化生产提供参考。

## 1 材料

2550型紫外-可见分光光度仪(日本岛津公司),XS-205型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。AB-8和D101型树脂(天津市光复精细化工研究所),S-8和X-5型树脂(河北宝恩吸附材料科技有限公司),芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号100080-200707),岗松(采自广西北海,经广西中医药研究院姜平川研究员鉴定为桃金娘科岗松属植物岗松 *Baeckea frutescens* L. 的干燥茎叶),水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 提取液的制备** 称取岗松药材 100 g,加 16 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次,每次 1 h,合并滤液并减压回收乙醇,加水稀释至 200 mL,即得  $0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  岗松提取液。

**2.2 总黄酮的含量测定** 精密量取待测溶液 1 mL,置 20 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,作为供试品溶液。精密称取芦丁对照品适量,加甲醇制成  $10 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液。分别吸取供试品溶液和对照品溶液,以甲醇溶液为空白,于 360 nm 处测定吸光度(A),计算,即得。

**2.3 大孔树脂的筛选** 量取预处理好的 4 种树脂(AB-8, D101, S-8, X-5 型树脂)各 2 mL,分部置于 100 mL 具塞三角瓶中,精密加入岗松粗提液 10 mL,充分振摇后静置过夜,滤过,测定滤液中剩余总黄酮含量,按式(1)计算吸附率分别为 85.09%, 86.50%, 87.13%, 87.06%。向滤去吸附液并达到吸附平衡的树脂中,分别精密加入 70% 乙醇溶液 10

mL,充分振摇后静置过夜,滤过,测定滤液中剩余总黄酮含量,按式(2)计算洗脱率分别为 92.84%, 89.42%, 81.79%, 79.39%。说明 4 种大孔树脂的洗脱率相当,AB-8 型树脂的洗脱率最大,X-5 型树脂则最小,故选择 AB-8 型大孔树脂。

$$\text{吸附率} = (C_0 - C_e) / C_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{洗脱率} = C_d / (C_0 - C_e) \times 100\% \quad (2)$$

式中  $C_0$  为吸附前质量浓度,  $C_e$  为吸附后质量浓度,  $C_d$  为洗脱液质量浓度。

## 2.4 纯化工艺优选

**2.4.1 上样液质量浓度考察** 量取预处理好的 AB-8 型大孔树脂 10 mL,湿法装柱,配制生药质量浓度分别为  $0.1, 0.3, 0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的岗松提取液各 50 mL,以  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速上样,收集流出液,测定流出液中总黄酮含量,计算吸附率分别为 76.5%, 84.5%, 85.8%, 故采用  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**2.4.2 上样流速考察** 量取预处理好的 AB-8 型大孔树脂 10 mL,湿法装柱,量取  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  岗松提取液 50 mL,分别以  $0.5, 1, 2, 3 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速上样,收集流出液,测定流出液中总黄酮含量,计算吸附率分别为 94.9%, 92.4%, 83.1%, 75.9%, 故采用上样流速  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

**2.4.3 泄露曲线的绘制** 量取预处理好的 AB-8 型大孔树脂 10 mL,湿法装柱,吸取  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  岗松提取液以  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速上样,连续收集 10 份流出液,每 1 BV 为 1 个流份,测定各流出液中总黄酮含量。以流分体积为横坐标,总黄酮含量为纵坐标,绘制泄露曲线(图 1),故确定上样体积 3 BV。

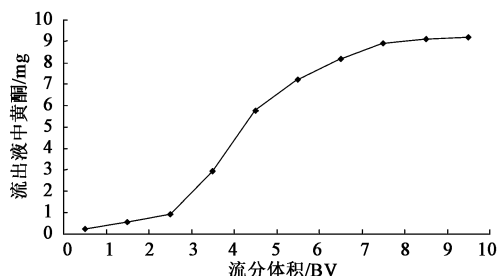


图1 岗松总黄酮在 AB-8 型大孔树脂中泄露曲线

**2.4.4 乙醇体积分数考察** 量取预处理好的 AB-8

型大孔树脂 10 mL,湿法装柱,量取  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  岗松提取液 3 BV 以  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速上样,用 2 BV 水洗至洗脱液基本澄清,分别用体积分数为 30%,50%,70% 的乙醇溶液各 5 BV 以  $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  流速洗脱,测定洗脱液中总黄酮含量,计算洗脱率分别为 80.0%,90.7%,92.1%,故选择 50% 乙醇为洗脱剂。

**2.4.5 洗脱流速、洗脱剂用量考察** 量取预处理好的 AB-8 型大孔树脂 10 mL,湿法装柱,量取  $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  岗松提取液 3 BV 以  $1 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速上样,用 2 BV 水洗至洗脱液基本澄清,分别用 50% 乙醇 10 BV 以不同流速洗脱,每 1 BV 为 1 个流分,连续收集 10 份流出液,测定流出液中总黄酮含量,计算累积洗脱率(图 2)。结果发现,选择  $3 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  洗脱时过快,不能充分洗脱;而在  $1, 2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  流速洗脱下,洗脱剂用量 5~6 BV 时,已基本洗脱完毕;综合生产成本考虑,选择洗脱流速  $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ ,洗脱剂用量 5 BV。

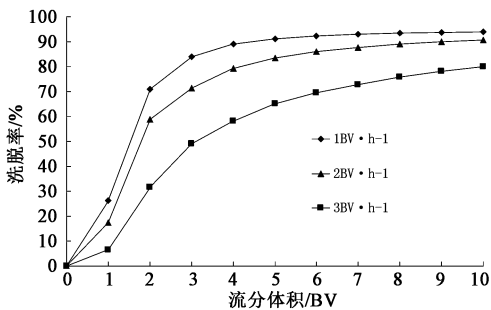


图 2 岗松总黄酮在 AB-8 型大孔树脂中洗脱流速、洗脱剂用量的考察

**2.5 验证试验** 取预处理好的 AB-8 型大孔树脂 100 mL,按优选的纯化工艺平行制备 3 批样品,测得总黄酮纯度分别为 52%,51%,54%,表明该优化工艺条件稳定可行。

### 3 讨论

本实验选择 4 种极性不同的树脂进行筛选,由于岗松黄酮类物质含有酚羟基<sup>[1]</sup>,呈现弱极性,易与具有一定极性的 AB-8, D101, S-8 型树脂形成氢键而牢固结合,而 X-5 型大孔树脂由于比表面较大,虽为非极性树脂,但仍有一定吸附量,因此考察的 4 种树脂均具有较好的吸附能力。由于 S-8 型树脂吸附作用力强使得洗脱较困难,洗脱率较低;AB-8 和 D101 型树脂均易被洗脱,由洗脱率及文献<sup>[8-10]</sup>,因此最终选择 AB-8 型大孔吸附树脂。

### [参考文献]

- [1] 牙启康,卢文杰,刘布鸣,等. 岗松化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2008,20(4):641.
- [2] 卢文杰,牙启康,陈家源,等. 岗松中的一个新黄酮醇苷类化合物[J]. 药学学报,2008,40(10):1032.
- [3] 陈家源,牙启康,卢文杰,等. 岗松化学成分的研究(英文)[J]. 天然产物研究与开发,2008,20(5):827.
- [4] 陈明生,刘布鸣,林霄,等. 岗松中杨梅素的含量测定[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2771.
- [5] 林霄,刘布鸣,陈明生. 高效液相色谱法测定岗松中槲皮素的含量[J]. 时珍国医国药,2009,20(1):102.
- [6] 潘照斌,李斐朝,廖月娥,等. 岗松总黄酮抗氧化及抗炎作用研究[J]. 中国药师,2012,15(4):477.
- [7] 邱宏聪,刘布鸣. 星点设计-效应面法优选岗松提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(12):57.
- [8] 于国峰,丁嘉信,王超,等. 红花总黄酮大孔树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(3):39.
- [9] 裴丹,赵明,欧阳臻,等. 龙柴方中黄芩、垂盆草总黄酮的提取纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):59.
- [10] 吕子明,陈凯,于向红,等. 甘草总黄酮的大孔吸附树脂纯化工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):24.

[责任编辑 仝燕]