

· 工艺与制剂 ·

## 连翘子总酚的树脂纯化工艺优选

杨费莉<sup>1</sup>, 杨骏<sup>2</sup>, 黄孝春<sup>3</sup>, 玄振玉<sup>3\*</sup>

(1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032; 2. 上海卢湾区香山中医医院, 上海 200020;  
3. 上海玉森新药开发有限公司, 上海 201203)

[摘要] 目的:探索连翘子总酚的大孔吸附树脂纯化工艺。方法:以连翘子总酚的吸附量和解吸率为指标,从 AB-8, CAD-40, HPD-300, D-101 型大孔吸附树脂中筛选最佳型号;以连翘子总酚得量为指标,采用单因素试验考察树脂用量、水洗用量、洗脱溶剂的种类和用量对连翘子总酚纯化工艺的影响;以连翘子总酚得量为指标,选取吸附流速、洗脱流速及树脂径高比为考察因素,采用正交试验优选连翘子总酚大孔树脂纯化工艺。结果:AB-8 型树脂的纯化效果最佳,其优选的纯化工艺为树脂用量 2 倍生药量,树脂径高比 1:5,吸附流速  $0.25 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ ,加 5 BV 水洗除杂,用 2 BV 80% 乙醇洗脱,洗脱流速  $1.0 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 。在此工艺条件下连翘子总酚的纯度达 65.56%。结论:优选的总酚纯化工艺稳定可行,为连翘子中总酚类成分的工业化生产提供实验依据。

[关键词] 连翘子总酚; 大孔树脂; 纯化工艺; 正交试验

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)21-0009-04

## Optimization of Purification Technology for Total Phenol from Seed of *Forsythia suspensa* by Macroporous Resin

YANG Fei-li<sup>1</sup>, YANG Jun<sup>2</sup>, HUANG Xiao-chun<sup>3</sup>, XUAN Zhen-yu<sup>3\*</sup>

(1. Affiliated Longhua's Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Luwan District Xiangshan Chinese Medicine Hospital, Shanghai 200020, China; 3. Shanghai Youseen New Drug R&D Co. Ltd, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To explore purification technology of total phenol from seed of *Forsythia suspensa* by macroporous adsorption resin. **Method:** With adsorption capacity and desorption ratio of total phenol from seed of *F. suspensa* as indexes, optimum resin model was screened from AB-8, CAD-40, HPD-300 and D101 macroporous resin; With yield of total phenol from seed of *F. suspensa* as index, effect of four factors on purification technology for total phenol from seed of *F. suspensa* was investigated by single factor test, such as the amount of resin and water, kind and amount of elution solvent; With yield of total phenol from seed of *F. suspensa* as index, adsorption flow rate, elution flow rate and resin diameter-high ratio were selected as factors, purification technology of total phenol from seed of *F. suspensa* was optimized by orthogonal test. **Result:** Experiment result showed that AB-8 resin possessed optimal purification effect, its optimized purification technology was as follows: resin-crude drug 2: 1, diameter-high ratio 1: 5, adsorption flow rate  $0.25 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ , washed by 5 BV water to impurity, eluted with 2 BV 80% ethanol, elution flow rate  $0.25 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ . Under these technology conditions, purity of total phenol from seed of *F. suspensa* was up to 65.56%. **Conclusion:** Optimized purification technology of total phenol was stable and feasible, it provided evidence for industrial production of total phenol from seed of

[收稿日期] 20120626(004)

[基金项目] 国家重大新药创制科技重大专项(2009ZX09313-008);上海市优秀学科带头人计划(10XD1423100)

[第一作者] 杨费莉,在读硕士,主管药师,从事中药院内制剂研发,Tel:021-64385700,E-mail:lgwshutcm@163.com

[通讯作者] \*玄振玉,博士,高级工程师,从事中药新药研发,Tel:021-50801298,E-mail:xuanzhenyu@163.com

## F. *suspense*.

[**Key words**] total phenol from seed of *Forsythia suspensa*; macroporous resin; purification technology; orthogonal test

连翘子主要含有挥发油、苯乙醇苷类、木脂素类、黄酮类、三萜及香豆素等化学成分<sup>[1]</sup>。研究表明连翘子水溶性部位主要为连翘酯苷等酚性成分,拟将此类成分统称为连翘子总酚<sup>[2]</sup>。目前富集纯化水溶性成分常用方法有大孔树脂法和有机溶剂萃取法,后者多采用正丁醇为萃取相,价格偏高且浓缩困难,因此工业上生产时由于成本太高,很难得到大规模应用。大孔吸附树脂是 1960 年代末发展起来的一类有机高聚物吸附剂,具有多孔网状结构和较好的吸附性能,目前已广泛应用于废水处理、医药工业、临床鉴定和食品等领域,该技术特别适用于水溶性成分的分离纯化。因此,本试验确定采用大孔树脂分离纯化连翘子水提液,以制备符合标准的有效部位中间体<sup>[3-5]</sup>。

### 1 材料

UV-2102C 型紫外可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司),Sartorius CP225D 型电子天平(北京塞多利斯仪器系统有限公司),连翘酯苷 A 对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111810-201001),连翘子水提物(自制),AB-8, D-101 型大孔吸附树脂(天津南开大学化工厂),CAD-40(天津农药树脂分公司),HPD-300(河北沧州宝恩化工有限公司),连翘子购自安徽亳州,经苏州大学刘春宇教授鉴定为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 干燥成熟的种子;试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 连翘子总酚含量测定

**2.1.1 对照品溶液的制备** 取连翘酯苷对照品适量,加 50% 甲醇制成  $0.111 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液,即得。

**2.1.2 标准曲线的制备** 精密量取对照品溶液 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,以 50% 甲醇为空白对照,于 290 nm 测定吸光度(A),以连翘酯苷质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程  $A = 0.0198C + 0.0253 (r = 0.9999)$ 。表明连翘酯苷在  $11.10 \sim 38.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  呈良好线性关系。

**2.1.3 样品测定** 取连翘子总酚纯化样品约 20 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取 1 mL 置 10 mL 量瓶,加

50% 甲醇稀释至刻度。按 2.1.2 项下方法测定 A, 计算样品中连翘子总酚含量。

**2.2 大孔树脂型号的确定** 连翘子水提物经醇沉后,含有的连翘子总酚类水溶性成分在非极性 & 弱极性大孔树脂上均具有良好的吸附性,但吸附性能会因大孔树脂的型号不同而表现出一定差异,故本试验对树脂型号进行筛选。以不同树脂对连翘总酚的吸附量和解吸率作为考察指标,对弱极性树脂 AB-8, CAD-40 和非极性树脂 HPD-300, D-101 等不同型号的树脂进行考察。

**2.2.1 树脂吸附量考察** 称取经预处理的上述树脂各 100 g 放入具塞锥形瓶中,加入经预处理的连翘子水提液 200 mL(生药质量浓度  $1.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 连翘子总酚质量浓度为  $52.73 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),振摇 24 h,充分吸附,滤过。取滤液,测定连翘子总酚质量浓度,按下式计算 4 种树脂室温下对连翘子总酚的吸附率。结果分别为 37.5, 36.9, 36.7, 35.3  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

$$Q = (C_0 - C_r) \times V / W$$

式中 Q 为比吸附量,  $C_0$  为起始质量浓度,  $C_r$  为剩余质量浓度, V 为溶液体积, W 为树脂质量。

**2.2.2 树脂解吸率考察** 取上述充分吸附后的树脂,滤过,大量水洗,分别加入 80% 乙醇各 200 mL,振摇浸泡 3 h,滤过,滤液减压浓缩至干,取适量溶解并稀释,测定连翘子总酚的含量,计算解吸率分别为 87.21%, 64.25%, 69.40%, 84.87%。

结果表明,AB-8 型树脂对连翘子总酚的比吸附量最大, CAD-40, HPD-300 型树脂的比吸附量也较高,而 D-101 树脂的比吸附量较低; AB-8, D-101 型树脂的解吸率较高,均 > 80%, 而 CAD-40, HPD-300 型树脂的解吸率较低,均 < 70%。综合考虑,确定选择 AB-8 型树脂进行连翘子总酚纯化工艺的优选。

#### 2.3 单因素试验考察

**2.3.1 树脂用量考察** 将经预处理的连翘子提取物溶液,以  $0.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  流速缓缓加至 AB-8 型大孔树脂柱(100 g)上,使其达到饱和(流出液有  $\text{FeCl}_3$  反应),加 1 L 水洗脱,用 80% 乙醇 0.5 L 解吸附,结果连翘子总酚纯度为 65.82%,折合生药量 55 g。说明 AB-8 型大孔树脂对连翘子总酚的最大吸附量为每 1 g 树脂可吸附 40.3 mg 连翘子总酚,约相当于 0.5 g 生药,即药材与树脂的最小比例 1:2。

折合生药量 = 连翘子总酚得量 / 生药中连翘子总酚含量

**2.3.2 洗脱溶剂的考察** 将经预处理的连翘子提取物溶液 50 mL,加至已处理好的 AB-8 大孔树脂柱上(100 g),分别以水及体积分数为 10%,30%,50%,80%,95% 的乙醇梯度洗脱,每一梯度收集 100 mL,测定各流份中连翘子总酚的含量,结果连翘子总酚得量分别为 0,0.014,0.019,1.42,1.07,0 g;连翘子总酚质量分数依次为 0,5.31%,3.34%,78.28%,72.71%,0。说明从 10% 乙醇开始出现连翘子总酚,为确保连翘子总酚洗脱完全,同时尽可能快地将连翘子总酚洗脱下来,宜选择 80% 乙醇作为洗脱溶剂。

**2.3.3 水洗用量考察** 连翘子经水提后,提取物中除含有效成分连翘子总酚类以外,还含有其他单糖、双糖、氨基酸、鞣质等强极性小分子和多糖、多肽、蛋白质等极性大分子成分,这些成分不被树脂吸附,可用水洗脱除去。将预处理后的连翘子水提液 50 mL 缓缓通过 AB-8 型大孔树脂柱(100 g),以去离子水洗脱,每 100 mL 收集 1 份流出液,蒸干后称定质量,结果杂质洗出量分别为 0.62,0.54,0.20,0.01,0.007 g。说明当洗脱用水收集到第 5 份时,柱内的杂质已基本洗净。故水洗用量应为 500 mL,即 5 BV。

**2.3.4 洗脱溶剂用量的确定** 量取经预处理后的连翘子水提液 50 mL,通过 100 g AB-8 型树脂柱,加 500 mL 水洗除杂,用 80% 乙醇解吸附,每 50 mL 收集 1 份,各流份浓缩至干,结果连翘子总酚得量分别为 3.035,0.491,0.033,0.011,0.004 g。试验结果表明,以 80% 乙醇解吸附,当解吸液收集到 200 mL 时可将连翘子总酚基本洗脱下来。故确定乙醇用量 2 BV。

**2.4 正交试验优选纯化工艺** 在 AB-8 型大孔树脂纯化连翘子总酚的过程中,吸附流速、洗脱流速、柱床径高比等因素均会对纯化效果产生影响,本试验采用正交设计考察上述 3 个因素对纯化效果的影响,量取预处理后的连翘子水提液 9 份,每份 50 mL,按  $L_9(3^4)$  正交表进行试验,以连翘子总酚得量为评价指标优选纯化工艺。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

由直观分析表明,影响试验结果的因素排序为  $C > A > B$ 。方差分析表明  $C$  因素对试验结果有显著影响; $A, B$  因素对试验结果无显著影响,为保证吸附和洗脱效果,本试验确定最佳纯化工艺为  $A_1 B_1 C_2$ 。

**2.5 验证试验** 取 200 g 连翘子,加 8 倍量水回流

表 1 连翘子总酚大孔树脂纯化工艺优选正交试验因素水平

水平	A 吸附流速 /BV · h <sup>-1</sup>	B 洗脱流速 /BV · h <sup>-1</sup>	C 柱床 径高比
1	0.25	1.0	1:3
2	0.5	2.0	1:5
3	1.0	3.0	1:10

表 2 连翘子总酚大孔树脂纯化工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	连翘子总酚得量/g
1	1	1	1	1	1.3
2	1	2	2	2	1.8
3	1	3	3	3	1.6
4	2	1	2	3	1.8
5	2	2	3	1	1.5
6	2	3	1	2	1.4
7	3	1	3	2	1.6
8	3	2	1	3	1.4
$K_1$	1.57	1.57	1.37	1.53	
$K_2$	1.57	1.57	1.80	1.60	
$K_3$	1.60	1.60	1.57	1.60	
R	0.03	0.03	0.43	0.07	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.002	2	0.001	0.222	
B	0.002	2	0.001	0.222	
C	0.282	2	0.141	31.333	<0.05
D(误差)	0.009	2	0.005		

提取 3 次,每次 3 h,提取液浓缩至  $1.0 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,加乙醇醇沉至浓度为 80%,放置过夜,过滤,滤液浓缩干燥后,按本试验优选的大孔树脂纯化工艺进行 3 次验证试验。按本试验优选的大孔树脂纯化工艺进行 3 次验证试验,结果连翘子总酚得量分别为 8.4,8.5,8.1 g,说明该优选工艺稳定可行。

### 3 讨论

连翘子总酚类化合物大部分为苷类,水溶性较强,因此,确定药材的提取以水为提取溶媒。

连翘子水提物颜色较深重,若不经处理直接过大孔树脂柱,树脂柱床的颜色易变为黑褐色,并且在用醇解吸附后,树脂颜色仍较深,表明树脂柱对连翘子水提物中部分色素类成分不可逆吸附较严重,经 80% 醇沉处理以后能延长大孔树脂柱的使用寿命。

# 正交试验法优选熟地炭的炮制工艺

王娜,卫向龙,张振凌,李娴\*  
(河南中医学院,郑州 450008)

**[摘要]** 目的:优选熟地炭的炮制工艺。方法:通过正交试验法对炮制温度、时间和炮制方法 3 个因素进行考察,以吸附力和水溶性浸出物的含量为指标,采用综合评分法优选熟地炭的炮制工艺。结果:炮制温度对试验结果有显著性影响,熟地炭的最佳工艺条件为炮制温度 200 ℃,烘 15 min。结论:优选的熟地炭炮制工艺合理可行,可为其饮片质量标准的制定提供实验依据。

**[关键词]** 熟地炭; 炮制; 吸附力; 水浸出物; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0012-03

## Optimization of Processing Technology for *Rehmannia glutinosa* Carbon by Orthogonal Test

WANG Na, WEI Xiang-long, ZHANG Zhen-ling, LI Xian\*  
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize processing technology of *Rehmannia glutinosa* carbon. **Method:** Orthogonal test was used to investigate effect of processing factors, such as processing time, processing temperature and processing method, with adsorption force and the content of water-soluble extract as indexes, comprehensive scoring method was adopted for optimizing processing technology of *R. glutinosa* carbon. **Result:** Processing temperature had significant influence on experimental result. Optimum processing technology of *R. glutinosa* carbon was: processing temperature of 200 ℃, baked 15 min. **Conclusion:** Optimized processing technology of *R. glutinosa* carbon was reasonable and feasible, it could provide experimental basis for establishing quality standard of its pieces.

**[Key words]** *Rehmannia glutinosa* carbon; processing; absorption force; water extract; orthogonal test

**[收稿日期]** 20120504(011)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81102808)

**[第一作者]** 王娜,硕士,从事中药炮制研究,Tel:15803814755,E-mail:wangna0372@126.com

**[通讯作者]** \*李娴,博士,讲师,从事中药炮制与复方研究,Tel:15981979813,E-mail:lixian0813@126.com

AB-8 型大孔吸附树脂是工业化生产中常用的一种分离材料,具有吸附性能好、吸附效率高、再生简单和解吸附方便等优点,是有效成分在工业制备中的首选材料,将其用于连翘子总酚的制备相关报道较少。本试验用 AB-8 纯化连翘子总酚最佳工艺:树脂用量 2 B 药材,水洗除杂 5 BV,洗脱溶剂 80% 乙醇,洗脱体积 2 BV,该工艺合理,适合工业生产。

### [参考文献]

[1] 才谦,刘玉强,冯雪. 连翘籽化学成分研究[J]. 中药

材,2009,32(11):1691.

[2] 栾兰,王钢力,林瑞超. 连翘水提物化学成分研究[J]. 中草药,2010,41(6):883.

[3] 励娜,杨荣平,张小梅,等. 大孔树脂分离山楂总黄酮工艺优化[J]. 中国中药杂志,2007,32(13):1352.

[4] 史秀峰,杨骏,黄孝春,等. 连翘中连翘酯苷的大孔树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):14.

[5] 赵燕,玄振玉. 正交法优选连翘酯苷提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(11):13.

[责任编辑 仝燕]