

肿节风总黄酮大孔吸附树脂纯化工艺

程丹¹, 郑鹏武¹, 周斌^{1*}, 刘可越², 陈婷¹, 王超然¹

(1. 江西科技师范学院药学院, 南昌 330013; 2. 九江学院医学院, 江西 九江 332000)

[摘要] 目的: 优化 HPD-600 型大孔吸附树脂分离纯化肿节风总黄酮的工艺条件和参数。方法: 以肿节风总黄酮含量及回收率等为指标, 考察肿节风总黄酮的大孔吸附树脂分离纯化工艺效果及影响因素。结果: 最佳纯化工艺为上样液 pH 5.0, 总黄酮质量浓度 15~20 g·L⁻¹, 上样液和树脂比 10:1, 3 BV 水洗, 3 BV70% 乙醇洗脱, 得总黄酮纯度大于 80% 的提取物, 总黄酮转移率大于 85%。结论: HPD-600 型大孔吸附树脂对肿节风总黄酮分离纯化效果较好, 适合工业化大生产。

[关键词] 肿节风; 总黄酮; 分离; 纯化

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0015-03

Purification Technology of Total Flavonoids from *Sarcandra glabra* by Macroporous Adsorption Resin

CHENG Dan¹, ZHENG Peng-wu¹, ZHOU Bin^{1*}, LIU Ke-yue², CHEN Ting¹, WANG Chao-ran¹

(1. School of Pharmacy, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China;

2. Medical College, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize conditions and parameters of purification and separation technology for total flavonoids from *Sarcandra glabra* with HPD-600 macroporous resin. **Method:** By using the content and recovery rate of total flavonoids from *S. glabra* as indexes, effect and factors of purification and separation technology were investigated. **Result:** Optimum purification technology was: pH of sample was 5.0, the concentration of total flavonoids was 15-20 g·L⁻¹, proportion of sample solution and resin was 10:1, eluted with deionized water of 3 BV, eluted with 70% ethanol of 3 BV, purity of total flavonoids from extract was more than 80% and transfer rate was more than 85%. **Conclusion:** HPD-600 resin had a better purifying effect on total flavonoids from *S. glabra*, which was suitable for industrial production.

[Key words] *Sarcandra glabra*; total flavonoid; separation; purification

肿节风具有清热凉血、活血消斑、祛风通络的功效^[1], 为《中国药典》记载的常用中药材。临床上主要用于治疗肺炎、呼吸道感染、肿瘤等^[2-5]。黄酮类化合物是其中重要的有效部位, 有明确的药理作用^[6]。芦丁是黄酮类化合物的一种, 通常作为测定指标用于总黄酮的含量测定^[7-9]。本文在前期研究

的基础上^[10]对影响肿节风总黄酮纯化的工艺参数进行优化, 为其进一步开发利用提供参考。

1 材料

肿节风药材购自江西安远县, 经江西省药物研究所朱才庆研究员鉴定为金粟兰科植物草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的干燥全株。芦丁对照品(中国药品生物制品鉴定所, 批号 100080-200707), HPD 600 型大孔吸附树脂(河北沧州宝恩化工有限公司), UV-1601 型紫外-可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 总黄酮含量测定^[11]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取 120 ℃ 干燥

[收稿日期] 20110728002

[基金项目] 江西省自然科学基金项目(2010GZY0058)

[第一作者] 程丹, 硕士, 讲师, 从事中药新药研究, Tel: 15979086021, E-mail: chengdan. 2007 @ yahoo.com.cn

[通讯作者] * 周斌, 博士, 副教授, 从事中药新药研究, Tel: 15870664871, E-mail: tju_zhoubin @ 163.com

至恒重的芦丁对照品 2.23 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 60% 乙醇适量, 置水浴中加热溶解, 放冷后用 60% 乙醇稀释, 定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.2 标准曲线的制备 精密量取上述对照品溶液 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL, 分置 25 mL 量瓶中, 加 60% 乙醇至 6 mL, 加 5% NaNO_2 溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加 4% NaOH 溶液 10 mL, 分别加蒸馏水至刻度, 摇匀, 静置 15 min, 在 500 nm 波长处测定吸光度。以吸光度 (A) 为纵坐标, 芦丁质量浓度 (C) 为横坐标, 得线性方程 $A = 0.117C - 0.002$ ($r = 0.9998$), 芦丁在 0 ~ 5.352 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.2 供试品溶液的制备 取 50 g 肿节风药材置于 500 mL 圆底烧瓶中, 加 70% 乙醇 400 mL 回流提取 3 次, 每次 2 h, 过滤, 合并药液, 浓缩至无醇味, 加蒸馏水适量至一定质量浓度备用。

2.3 树脂纯化工艺

2.3.1 pH 考察 精密称取已处理好的干树脂 1 g 共 6 份, 各置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入调 pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 的样品液 20 mL, 每隔 1 h 振摇 1 次, 持续 10 h, 然后静置 12 h, 使其达到饱和和吸附, 吸取上层液测定总黄酮质量浓度, 计算树脂的饱和吸附量分别为 105.26, 108.64, 110.21, 95.68, 88.92, 76.53 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结果表明, 样品溶液 pH 5.0 时吸附量最大。

2.3.2 树脂用量考察 精密称取已处理的 HPD 600 型树脂 1 g 共 4 份, 分别置 100 mL 锥形瓶中, 按样品体积与树脂质量比 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 分别精密加入样品溶液, 震荡吸附 12 h, 吸取上层液测定总黄酮质量浓度, 计算吸附率; 分离树脂, 吸干表面水分, 加入 70% 乙醇各 20 mL, 震荡 2 h, 滤过, 测定。总黄酮吸附率分别为 99.28%, 99.16%, 70.68%, 62.84%; 总黄酮解析率分别为 92.23%, 90.17%, 69.54%, 50.28%。结果表明上样液与树脂比为 5:1 ~ 10:1 时最佳, 经综合考虑, 选取 10:1 用量。

2.3.4 样品上样液质量浓度的考察 分别称取已经处理的 HPD 600 树脂若干, 共 3 份, 湿法上柱, 将样品溶液总黄酮调节不同质量浓度上柱, 流速 2 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 分别收集过柱液, 测总黄酮残留量并计算总黄酮回收率。结果见表 1。

结果表明, 上柱液中总黄酮含量相同, 而质量浓度与体积不同时, 对肿节风总黄酮吸附量和转移率有影响, 提高上样液质量浓度有利于节省吸附时间。

2.3.5 水洗体积考察 按照 2.3.4 试验条件下肿

表 1 上样液质量浓度对肿节风总黄酮回收率的影响

上柱液体积 /BV	样品总黄酮质量浓度 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	总黄酮转移率 /%
2	18.62	92.30
3	13.81	91.62
4	9.50	88.19

节风样品溶液 4 份, 分别 2 BV 体积上样, 流速 2 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 第 1 份不用水洗脱, 另 3 份分别用 1, 2, 3 BV 水洗脱, 测定每份洗脱液中总黄酮含量并计算损失量。结果见表 2。

表 2 水洗体积对肿节风总黄酮回收率的影响

水洗体积/BV	总黄酮纯度/%	总黄酮转移率/%
0	62.42	95.36
1	73.91	90.37
2	83.68	88.96
3	88.94	87.62

结果显示吸附后用水冲洗对总黄酮有一定量的损失, 水洗体积越大, 损失量越多, 总黄酮回收率降低, 同时水洗可以除杂, 提高总黄酮纯度。综合考虑选取 2 ~ 3 BV 水洗为宜。

2.3.6 洗脱剂用量考察 按照 2.3.4 试验条件下肿节风样品溶液作为上样液, 2 BV 水洗, 流速 2 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 70% 乙醇洗脱, 1 次 1 BV, 共 5 次, 收集洗脱液。总黄酮转移率分别为 68.78%, 21.12%, 5.05%, 1.12%, 0.28%。结果表明总黄酮洗脱量主要集中在前 3 BV 中, 黄酮转移率约 94%, 故选择 3 BV 为宜。

3 讨论

肿节风药材的乙醇提取溶液浓缩至无醇味, 如有不溶性物质产生, 可加适量去离子水稀释超声溶解, 调配适合浓度过滤后才能上样, 否则容易堵塞树脂, 影响洗脱。

植物中的黄酮类化合物大多具有酚羟基, 有一定的弱酸性, 当上样液偏碱性, 可能由于离子化而不被吸附, 反之, 当 pH 过低, 黄酮类化合物由于转化为伴盐也影响吸附; 水洗体积过大, 虽然可以提高总黄酮纯度, 但也造成一定黄酮的损失; 本文采用 HPD600 型极性大孔吸附树脂重点考察了几个主要影响因素, 最后得出优化工艺为, 上样液 pH 一般为 5, 总黄酮质量浓度 15 ~ 20 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 上样液和树脂的比例以 10:1 (mL:g) 时为最佳; 用水洗 3 BV, 再用

复方玉屏风超声提取工艺

杨鼎隆, 李育民, 黄晓君, 黄敏霞, 贲永光*

(广东药学院药科学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 探讨超声强化提取玉屏风总糖的最佳工艺条件, 比较玉屏风总糖的复方和单方提取的优劣。方法: 利用正交设计试验确定玉屏风总糖最佳提取工艺, 与常规提取方法进行比较, 并比较玉屏风总糖的复方整体和单方提取率。结果: 结果表明最佳工艺条件为固液比 1:20, 超声温度 55 ℃, 超声时间 20 min, 此优化条件下, 复方玉屏风总糖的提取率为 14.25%, 浸渍 180 min 的提取率为 5.44%, 常规搅拌 180 min 的提取率为 7.35%。结论: 与传统提取方法(浸渍法和搅拌法)比较, 超声提取具有省时、节能、高效等优点, 为现代药企进行大规模、高效率的生产提供了充分条件。

[关键词] 玉屏风总糖; 超声提取; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0017-03

Ultrasonic-assisted Extraction Process of Compound Yupingfeng

YANG Ding-long, LI Yu-min, HUANG XIAO-jun, HUANG Min-xia, BI Yong-guang*

(College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate optimum extraction technology conditions of polysaccharides from

[收稿日期] 20110922(001)

[基金项目] 广东省高等学校大学生创新实验项目(1057310018); 广东省科技计划项目(2009A030100007); 企业科技特派员工作站建设项目(2010B090500033); 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室、广东省海洋药物重点实验室、广东省应用海洋生物学重点实验室联合开放基金项目(LMB081003)

[第一作者] 杨鼎隆, 在读本科, 从事制药工程技术研究, E-mail: 1019728347@qq.com

[通讯作者] * 贲永光, 讲师, 博士, 从事天然产物声化学与制药工程技术研究, E-mail: biyongguang2002@163.com

70% 乙醇 3 BV 洗脱, 可获得纯度大于 80% 的总黄酮提取物。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005:154.
- [2] 姚圣祥, 陆英, 董艳. 肿节风注射液治疗小儿病毒性肺炎 60 例[J]. 中国药业, 2006, 15(16):59.
- [3] 蔡芳丛, 梁丽娜, 张海朋, 等. 肿节风注射液佐治上呼吸道感染 176 例[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(1):93.
- [4] 赵益, 陈奇, 孙有智. 肿节风与氟尿嘧啶联合应用的抗肿瘤作用[J]. 河南中医学院学报, 2008, 23(2):30.
- [5] 马姗姗, 王仁生, 韦波, 等. 肿节风防治鼻咽癌诱导化疗毒副反应[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16):185.
- [6] 周斌, 刘可越, 常军, 等. 中药肿节风的化学成分和药

理作用研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2009, 26(12):982.

- [7] 王敦清, 李先春. 草珊瑚根茎叶中总黄酮成分的研究[J]. 中草药, 1996, 27(6):337.
- [8] 任刚, 刘荣华, 邵峰, 等. 二色波罗蜜根皮总黄酮提取纯化工艺研究[J]. 中药材, 2010, 33(8):1320.
- [9] 魏惠珍, 李新南, 龚建平, 等. 紫外分光光度法测定罗银胶囊中总黄酮含量的不确定度评定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4):39.
- [10] 周斌, 李雁霞, 李忠贵, 等. 基于大孔吸附树脂富集法的肿节风粗黄酮纯化研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(17):9000.
- [11] 邵佳, 蔡立, 郁建平. 大孔吸附树脂纯化草珊瑚总黄酮的工艺条件[J]. 山地农业生物学报, 2008, 27(1):47.

[责任编辑 仝燕]