

· 工艺与制剂 ·

中药水煎液前处理方法对大孔吸附树脂分离效果的影响

张旭^{1,2}, 王锦玉¹, 仝燕^{1*}, 刘秀屹^{1,3}, 马振山¹, 王琳¹

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 天津中医药大学, 天津 300073; 3. 陕西中医学院 712046)

[摘要] 目的: 考察中药水煎液不同前处理方法对大孔树脂吸附分离效果的影响, 确定其内在规律。方法: 以红景天水煎液为对象, 红景天苷含量为指标, 分别采用一次醇沉、二次醇沉、加入沉淀剂、沉淀剂加醇沉、离心 5 种精制处理方法, 考察对大孔树脂吸附效果的影响。结果: 二次醇沉法及沉淀剂合并醇沉的方法对水煎液的精制效果最佳, 同时对大孔树脂的分离效果也最佳。结论: 中药水煎液使用不同的前处理方法对大孔吸附树脂分离效果具有显著影响。

[关键词] 大孔吸附树脂; 红景天苷; 不同前处理方法; 吸附

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0001-03

Adsorption and Separation Effect of Chinese Medicine Decoction by Different Pre-treatment Methods with Macro-porous Resin

ZHANG Xu^{1,2}, WANG Jin-yu¹, TONG Yan^{1*}, LIU Xiu-yi^{1,3}, MA Zhen-shan¹, WANG Lin¹

(1. Institute of Chinese Material Medicine, China Academy of Chinese Material Science, Beijing 100700, China;

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300073, China;

3. Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi 712046, China)

[Abstract] **Objective:** Study on adsorption and separation effect of Chinese medicine decoction by different pre-treatment methods with macro-porous resin, and determined its inherent laws. **Method:** The content of Salidroside as an indicator to select decoction of Rhodiola herb with once-alcohol precipitation, twice-alcohol precipitation by adding precipitant, precipitant added with alcohol and centrifugation procedure. In order to observe different methods of decoction refined have an effect on macro-porous resin adsorption. **Result:** The effect of purity of the water extract of Rhodiola and macro-porous resin separation is the best by the way of using twice-alcohol precipitation and adding precipitant and alcohol precipitation. **Conclusion:** Chinese medicine decoction by different pre-treatment methods had significant impact on adsorption and separation of macro-porous resin.

[Key words] macroporous absorbent resin; salidroside; different pre-treatment methods; adsorption

近年来,大孔吸附树脂越来越多地应用于制药领域,尤其在天然药物有效成分的精制分离方面,得到

了越来越广泛的应用。大孔吸附树脂以其精制分离效果好、可反复多次使用等优势,在药品生产中具有显著的优越性。大孔树脂的吸附分离效果是众多研究关注的重点,但关于上柱液的前处理方法与大孔树脂吸附分离效果的关系尚未见报道,因此使用不同前处理方法得到的上柱液对树脂吸附分离效果的影响,为提高目标成分的纯度指出新的方向。

红景天为多年生草本植物,其有效成分红景天苷具有抗疲劳、抑制肿瘤、双向调节等作用,除药用外还可用于功能性食品的开发。本研究探讨了红景天水

[收稿日期] 20110930(003)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09301-005)

[第一作者] 张旭, 硕士, 从事中药药剂研究, Tel: 010-84027721, E-mail: 490205011@qq.com

[通讯作者] *仝燕, 研究员, 从事中药新剂型研究与开发, Tel: 010-84027721, E-mail: tongyan1012@sohu.com

提液不同前处理方法对 SP825 树脂分离效果的差异,为更有效地利用大孔树脂纯化红景天苷提供参考。

1 材料

Waters 2695 高效液相色谱仪(2996 型检测器, Empower 色谱工作站),大孔树脂(SP825 型,日本三菱化学公司)。红景天(产地青海),经中国中医科学院张早华研究员鉴定为大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms) H. Ohba 的干燥根和根茎。红景天苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 C38C-R32P),甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为国产优级纯。

2 方法与结果

2.1 提取液的制备 红景天 2 400 g,加 10 倍量水煎煮,煎煮 3 次,每次 2 h,滤过,合并药液,混匀,得样品溶液,备用。

2.2 红景天苷含量测定

2.2.1 色谱条件^[1] 月旭 XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(15:85),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 275 nm,柱温 30 ℃。

2.2.2 对照品溶液的配制 精密称取 80 ℃ 减压干燥至恒重的红景天苷对照品 10 mg 置于 10 mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,制成质量浓度 1.0 g · L⁻¹ 的对照品溶液,备用。

2.2.3 标准曲线的制备 精密吸取红景天苷贮备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10 mL, 置 10 mL 量瓶中并用流动相稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪,以进样量(μg)为纵坐标,峰面积为横坐标,绘制标准曲线。结果表明红景天苷在 1~20 μg 有良好的线性关系,线性回归方程为 $A = 2.9 \times 10^6 C - 4.0 \times 10^5$ ($r = 0.9996$)。

2.2.4 供试品溶液的制备 取样品溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜,即供试品溶液。

2.2.5 精密密度试验 取供试品溶液,按照 2.2.1 项下色谱条件测定,连续测定 6 次。结果红景天苷 RSD 1.07%,精密密度良好。

2.2.6 重复性试验 取 6 份同一样品溶液,按照 2.2.4 项下方法平行制备供试品溶液,按照 2.2.1 项下色谱条件测定,结果红景天苷的 RSD 0.85%,说明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 取已测定含量的供试品溶液,分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 进行测定,对主要色谱峰面积进行考察,红景天苷峰面积的 RSD 0.59%,表明

供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.2.8 加样回收率试验 精密吸取一定量的样品溶液 9 份,分别加入高、中、低 3 种不同质量浓度的红景天苷对照品溶液适量,同上述方法处理后测定其含量,并分别计算其回收率,结果平均回收率为 102.1%,RSD 2.06%。

2.3 红景天水煎液不同前处理方法考察 将红景天水提取液均分成 5 份,分别采用一次醇沉、二次醇沉、加入沉淀剂、加入沉淀剂再醇沉、离心除杂的方法对红景天水提取液进行精制处理。

2.3.1 一次醇沉 取红景天水提取液浓缩至相对密度 1.01 g · cm⁻³ (25 ℃),加乙醇至醇体积分数为 65%,静置,离心,取上清液,回收乙醇,加水至 5 000 mL(480 g 生药,下同),标记为 A。

2.3.2 二次醇沉 取药液同上述方法 65% 乙醇沉淀,取上清液,回收乙醇浓缩至相对密度 1.01 g · cm⁻³ (25 ℃),加乙醇至醇体积分数为 80%,静置,离心,取上清液,回收乙醇,加水至 5 000 mL,标记为 B。

2.3.3 明胶沉淀 取药液按照体积比加入 1.4% 的明胶^[1](明胶打粉,缓慢加入沸腾的药液中,并不断搅拌),静置至室温,离心(3 500 r · min⁻¹, 15 min),取上清液,加水定容至 5 000 mL,标记为 C。

2.3.4 明胶沉淀并醇沉 取药液按照 2.3.3 方法进行明胶沉淀后,加乙醇至醇体积分数为 65%,静置,离心(3 500 r · min⁻¹, 15 min),取上清液,加水定容至 5 000 mL,标记为 D。

2.3.5 离心 药液离心后不做任何处理,定容至 5 000 mL 即可,标记为 E。

2.3.6 红景天水煎液不同前处理方法对红景天苷含量及纯度的影响(表 1)。 按 2.2 项下方法测定上述样品液中红景天苷含量;精密移取上述样品液 50 mL,置恒重的蒸发皿中,水浴浓缩,105 ℃ 干燥至恒重,计算含固量及纯度。

结果表明水煎液采用醇沉、加入沉淀剂的方法精制后,红景天苷含量均有不同程度的降低,单加入沉淀剂虽然红景天苷含量较高,但纯化效果最差,二次醇沉的纯化效果明显高于一次醇沉,加入沉淀剂并醇沉与二次醇沉法相比,红景天苷含量相差不大,纯度稍逊于二次醇沉法,但精制后溶液澄清度高,颜色明显较浅,有利于大孔树脂的再精制。

2.4 红景天水煎液不同前处理方法对大孔树脂纯化红景天苷吸附量的考察 取 5 根同样规格的树脂

表1 红景天水煎液不同前处理方法对红景天苷含量和纯度的影响

水煎液前处理方法	红景天苷总量/g	总固体物中红景天苷纯度/%
A	1.38	8.54
B	1.31	10.96
C	1.82	6.25
D	1.29	9.85
E	1.95	7.41

注:总固体物中红景天苷纯度 = 红景天苷总量/水煎液干膏总量 × 100%。

柱(直径2 cm,高49 cm),每根树脂柱装入SP825大孔吸附树脂105 g,柱体积约150 mL,分别加入A,B,C,D,E 5种水提取液,流速 $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$,分段收集泄漏液。将上柱液的泄漏液以100 mL为一组进行收集,制备成供试品溶液。按2.2项下方法,测定流出液中红景天苷的含量。结果各样品过树脂流出液出现红景天苷泄漏的顺序为E 3 300 mL,C 3 500 mL,A和B 3 600 mL,D 4 100 mL。泄漏曲线见图1。

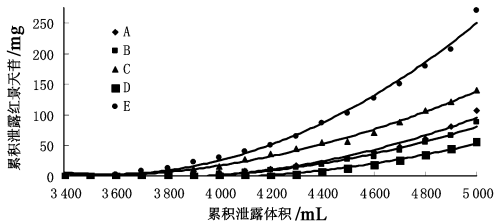


图1 不同前处理方法红景天提取液的大孔树脂泄露曲线

由试验结果得知SP-825树脂对红景天苷吸附总量的排列顺序为D > B > A > C > E,吸附量与上柱液的精制程度呈一定的正相关趋势。

2.5 红景天水煎液不同前处理方法对大孔吸附树脂洗脱液中红景天苷纯度的影响 取上述5组树脂柱,选用6 BV,15%的乙醇作为洗脱液洗脱,收集洗脱液并定容至900 mL,取样稀释10倍后制成供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与各供试品溶液20 μL 进样,测定洗脱液中红景天苷的含量。测定含固量并计算纯度。纯度计算方法同2.3.6。结果表明,上样液精制程度越高,洗脱液中红景天苷的纯度越高(表2)。经大孔树脂吸附洗脱前后的5组溶液中所含红景天苷纯度的差异表示为图2。

研究结果显示,药液的前处理精制程度越高,其上柱后有效成分的得率也越高,A,B,C,D,E 5种前处理方法的上柱液红景天苷的转移率分别为50.86%,54.43%,19.78%,70.24%,14.64%,同时转移率高的样品总固体物中红景天苷的纯度也相对

表2 大孔树脂洗脱液中红景天苷的含量和纯度

洗脱液	红景天苷总量/g	总固体物中红景天苷纯度/%
A	0.70	20.92
B	0.71	22.49
C	0.36	12.69
D	0.91	28.39
E	0.28	8.39

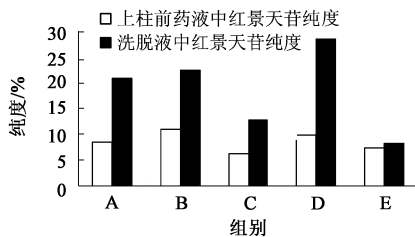


图2 上柱液与洗脱液中红景天苷的纯度差异

较高,见图3。

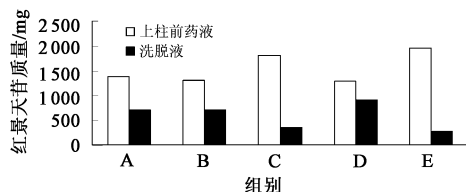


图3 上柱液和洗脱液中红景天苷的比较

3 讨论

红景天水煎液采用不同的前处理方法的精制效果有较大差异,明胶对红景天水提液具有很好的脱色效果,但明胶处理后的水提液呈乳浊液状态,再经过醇沉处理,药液的精制效果明显,呈透明的溶液状态,可使大孔树脂对红果天苷的纯化效果最好地发挥出来,纯度及转移率均最高。

水提液前处理方法对大孔树脂吸附洗脱效果的影响未见报道,本实验立足这个研究方向,探索中药水提液使用不同前处理方法对大孔树脂的吸附分离效果的影响,并给出了确切的结论,即精制程度越高的上柱液,树脂对该液的吸附分离效率越高,有效成分的纯度也越高。但本文只进行了5种精制方法的比较,是否还存在更科学有效的精制除杂方法,还需进一步实验研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:144.
- [2] 吴琼,李三鸣,姜爱萍,等.红景天提取液精制工艺的考察[J].时珍国医药,2005,16(5):395.

[责任编辑 全燕]