

大孔吸附树脂对牛蒡子中牛蒡苷的纯化工艺研究

孙瑜, 何凡, 窦德强*, 康廷国

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的: 优选出牛蒡子药材醇提液经树脂纯化的最佳工艺条件。方法: 用高效液相色谱法测定牛蒡苷的含量, 用树脂吸附率、解析率为指标考查大孔吸附树脂对牛蒡苷的吸附行为。结果: D101 树脂对牛蒡苷提取液纯化最优, 上样液牛蒡苷浓度为 $28.69 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 洗脱流速 $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$, 用蒸馏水 5 BV 洗脱, 然后用 30% 乙醇 10 BV 洗脱, 收集洗脱液, 浓缩、干燥, 即得到牛蒡苷总苷。结论: 该方法简单、可行, 能够用来富集纯化牛蒡子中牛蒡苷。

[关键词] 大孔吸附树脂; 牛蒡苷; 吸附率; 解吸率

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0013-03

Study on Purification of Arctiin from *Arctium lappa* by Macroporous Resin

SUN Yu, HE Fan, DOU De-qiang*, KAN Ting-guo

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an appropriate and technical process for the purification of *Arctium lappa* by macroporous resins. **Method:** The HPLC was used to analyze the content of arctiin in *A. lappa*, and the adsorption behavior of macroporous resins to arctiin in *A. lappa* was examined for the adsorption rate and desorption rate. **Result:** The D101 resin was the suitable for enriching arctiin. The sample concentration of arctiin was $28.69 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ with the elution flow rate of $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$. 5 BV water and 10 BV 30% ethanol were used as eluant of arctiin, respectively. Portions of 30% ethanol were collected, concentrated, and dried. **Conclusion:** This method is simple and feasible with good effect of enrichment in arctiin.

[Key words] macroporous resins; orthogonal design; arctiin; adsorption rate; desorption rate

牛蒡子为菊科植物牛蒡 *Arctium lappa* L. 的干燥成熟果实, 具疏散风热, 宜肺透疹, 解毒利咽的功能。用于风热感冒, 咳嗽痰多, 麻疹, 风疹, 咽喉肿痛, 疮腮丹毒, 痈肿疮毒^[1]。本试验采用高效液相色谱法, 以牛蒡苷为指标, 优选出牛蒡子醇提液经树脂纯化的最佳工艺条件, 为牛蒡苷原料药制备提供实验依据。

1 仪器与试剂

[收稿日期] 20101201(004)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项课题(2009ZX09103-423); 辽宁省教育厅优秀人才项目(2008RC34)。

[通讯作者] * 窦德强, 博士, 教授, Tel: 0411-87586014, Fax: 0411-87586078, E-mail: doudeqiang2003@yahoo.com.cn

Agilent 1100 高效液相色谱仪, G1310A 四元泵, G1322A 在线工作站, G1314VWD 紫外检测器, 77251 手动进样阀。

牛蒡子药材购自甘肃, 经辽宁中医药大学王冰教授鉴定为菊科植物牛蒡 *Arctium lappa* L. 的干燥成熟果实, 其牛蒡苷质量分数 7.89% 。牛蒡苷对照品购于中国药品生物制品检定所(批号 200203, 供含量测定用)。HPD-826, ADS-17, AB-8, DM130, D101 型大孔吸附树脂均购置于沧州宝恩化工有限公司。乙腈、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 牛蒡苷提取工艺考察

2.1.1 色谱条件 AgilentTM C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-水(1:1.1), 柱温 30 °C, 进

样量 20 μL , 流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 280 nm ^[1]。

2.1.2 对照品溶液的配制 精密称取牛蒡苷对照品 5.17 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成每 1 mL 含牛蒡苷 0.517 mg 的溶液。

2.2 上样溶液的制备 取牛蒡子药材 500 g, 加入 8 倍量的 80% 乙醇, 提取 2 次, 每次提取 1 h, 合并提取液浓缩至含生药 0.5 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水溶液, 经 HPLC 测定后含溶液中牛蒡苷的质量浓度为 28.69 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 树脂型号的筛选 取 5 种处理好的大孔吸附树脂 (D101, AB-8, ADS-17, HPD826, DM130) 各 1 g, 分别置 50 mL 锥形瓶中, 精密加入样液, 每份 20 mL (含牛蒡苷 573.8 mg), 静置 24 h, 时时振摇, 使其吸附达到平衡后滤过。HPLC 法测定滤液中牛蒡苷含量, 按下式计算比吸附量和吸附率:

比吸附量 = (原液质量浓度 - 吸附液质量浓度) \times 溶液体积 / 干树脂质量;

吸附率 = (上样液质量浓度 - 吸附 - 溶液质量浓度) / 上样液质量浓度 $\times 100\%$ 。

对达到吸附饱和的树脂用 95% 乙醇 20 mL 解吸附, 静置 24h, 时时振摇, 滤去树脂, 样品溶液, 转移置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度用, HPLC 法测定牛蒡苷含量, 计算解吸率,

解吸率 = 解吸液质量浓度 / (上样液质量浓度 - 吸附后溶液质量浓度) $\times 100\%$ 。

由吸附率与解吸率试验结果见表 1, D101 树脂对牛蒡苷的吸附与解吸附效果较好。故选择 D101 型号树脂, 进行实验。

表 1 树脂型号筛选试验

树脂型号	比吸附量 /mg	吸附率 /%	解吸质量 /mg	解吸率 /%
HPD-826	419.09	73.03	114.74	27.38
ADS-17	447.89	78.06	131.04	29.26
AB-8	412.40	71.87	133.25	32.31
DM130	361.52	63.01	121.03	33.78
D101	453.85	79.10	152.16	33.53

2.4 上样浓度考察 将 2.1 项下样品溶液, 分别稀释或浓缩为含药材量 0.25, 0.5, 1.0 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的水溶液进行吸附试验, 吸附量分别为 55.72, 138.88, 130.98 mg, 0.5 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样液效果较好。

2.5 动态吸附考察 将 0.5 g (生药) $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的提取液加入预处理好的 D101 树脂 10 mL (装柱直径 1.5

cm), 流速控制为 3 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 。每 2 mL 收集 1 份, 第 7 份以后每 5 mL 收集 1 份。按上述方法测定每份洗脱液牛蒡苷的浓度, 计算无泄漏流过的体积并观察从泄漏开始到饱和吸附之间流出液浓度的变化。记录流出液体积, 并计算每管牛蒡苷泄漏率。结果表明 (图 1): 上样药液前 10 管 30 mL (相当于 15 g 生药), 牛蒡苷基本无泄漏, 有效成分吸附较好, 初步确定上样药材用量和树脂用量比为 7.5:1。

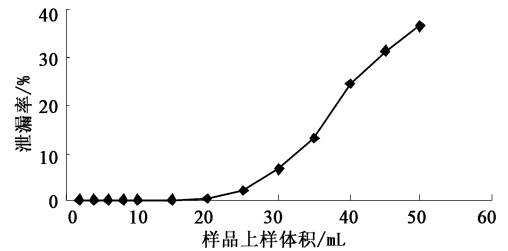


图 1 大孔吸附树脂对牛蒡苷的动态吸附曲线

2.6 药液上柱的流速考察 取 3 份 0.5 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的提取液, 分别通过装有已处理好的 D101 树脂柱, 流速分别控制为 2, 3, 4 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$, 分别收集流出液, 按上文方法测定牛蒡苷含量。理论上流速越小, 树脂的相对吸附量越大。试验数据 (表 2) 也显示了这种趋势, 但同时也表明在 3 种不同流速下, 指标成分损失 2, 3 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 并无显著的差异。从缩短生产周期考虑, 以流速 3 $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 为宜。

表 2 药液上柱的流速考察

流速/ $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$	流出液中牛蒡苷量/mg	牛蒡苷保留率/%
2	27.01	99.82
3	12.86	99.91
4	67.83	99.54

2.7 洗脱剂的筛选 按上述条件已吸附好样品的树脂依次用水, 30% 乙醇, 40% 乙醇, 50% 乙醇, 60% 乙醇, 70% 乙醇, 80% 乙醇, 90% 乙醇洗脱, 分别收集洗脱液, 按上文方法测定牛蒡苷含量。水洗脱液中几乎检不出牛蒡苷, 30%, 40% 乙醇洗脱液中牛蒡苷含量最高, 50% ~ 70% 乙醇可检出微量牛蒡苷, 80% 乙醇, 90% 乙醇几乎检不出牛蒡苷, 故选择 30% 乙醇溶液作为洗脱溶剂, 结果见图 2。

2.8 大孔树脂纯化工艺验证试验 称取 3 批牛蒡子药材 100 g, 按最佳提取工艺提取, D101 大孔树脂分离纯化条件进行验证实验, 结果见表 3。本方法简便可行, 可以用于牛蒡苷的纯化。

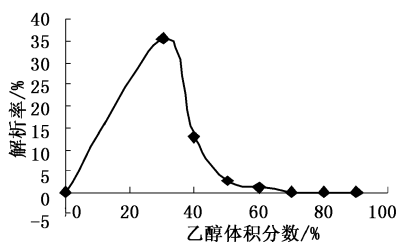


图2 牛蒡苷洗脱曲线

表3 大孔树脂纯化工艺验证

No	上样牛蒡苷量/mg	吸附率/%	洗脱率/%	纯度/%
1		99.63	71.40	60.53
2	5 272	99.65	55.77	46.95
		99.67	69.69	59.21

2.9 大孔树脂再生考察 为保证生产经济性,大孔吸附树脂往往可以再生使用。树脂的再生工艺应能保证再生后树脂性能的相对稳定。取牛蒡子药材提取的药液,通过取预处理好的 D101 树脂,按照大孔树脂纯化工艺进行纯化。每次用完树脂进行再生使用,计算每次再生后树脂的比吸附量、比解吸量、保留率、纯度为指标确定树脂再生次数。本工艺试验了使用 10 个周期的树脂,在使用到第 6 个周期时,吸附性能明显下降,暂定使用周期为 5 个,试验结果见表 4。

3 讨论

在以往关于牛蒡苷的提取工艺研究文献中,大多采用 70%~80% 乙醇进行提取^[2-4]。本研究进一步验证了以往实验结果,但研究中发现尽管乙醇提取牛蒡苷方法简便,回收率高,但提取物中牛蒡苷

纯度不高,采用该方法主要是为下一步纯化做准备。

表4 大孔树脂纯化工艺再生次数考察

No	比吸附量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	保留率/%	泄漏率/%
1	384.11	97.14	2.86
2	382.51	96.74	3.26
3	380.93	96.34	3.66
4	380.16	96.15	3.85
5	368.17	93.11	6.89
6	355.2	89.83	10.2
7	343.6	86.9	13.1
8	277.95	70.29	29.7
9	74.54	18.85	81.1
10	384.11	97.14	2.86

本研究表明 D101 树脂较其他型号树脂更能够有效的对牛蒡子药材中牛蒡苷进行富集。大孔吸附树脂法较之传统的提取纯化方法,具有操作简便、技术成熟、制备成本低、无污染、有效成分损失少等诸多优点,具有良好的应用前景。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部 [S]. 2010:66.
- [2] 王小琳,张玉杰,石任兵. 正交实验设计优选牛蒡子的提取工艺 [J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26 (4): 64.
- [3] 王劲,史辑,康廷国,等. 均匀设计法优化牛蒡子中牛蒡苷的提取工艺 [J]. 中药材, 2004, 27(2): 127.
- [4] 王劲,侯凤飞,康廷国,等. 牛蒡苷的制备与纯化 [J]. 中草药, 2002, 33(9): 783.

[责任编辑 全燕]