

大孔吸附树脂提取太子参总皂苷工艺研究

高昌琨^{1*}, 高建¹, 徐先祥²

- (1. 安徽医科大学第一附属医院药剂科, 安徽 合肥 230022;
2. 安徽中医学院第一附属医院药剂科, 安徽 合肥 230038)

[摘要] 目的: 改进太子参总皂苷的提取方法。方法: 采用 D₁₀₁ 型大孔吸附树脂提纯分离太子参总皂苷, 以水和不同浓度乙醇依次洗脱, 考察太子参总皂苷的洗脱率和纯度。结果: 该方法能明显提高皂苷的收率和纯度。结论: 大孔吸附树脂提取太子参总皂苷是可行的。

[关键词] 大孔吸附树脂; 太子参总皂苷; 提取工艺

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)10-0015-03

Study on Extraction of Pseudostellariae Heterophylla Saponins with Macroreticular Resin

GAO Chang-kun^{1*}, GAO Jian¹, XU Xian-xiang²

- (1. Dept of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui, Hefei 230022, China;
2. Dept of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Anhui College of TCM, Anhui, Hefei 230038, China)

[Abstract] **Objective:** Improve the technological parameters of the extraction process of Pseudostellariae heterophylla saponins with macroreticular resin. **Methods:** Pseudostellariae heterophylla was extracted and purified with D₁₀₁ Macroreticular resin. **Results:** This process can obviously improve the gaining rate and purification of Pseudostellariae heterophylla saponins. **Conclusion:** The process of applying macroreticular resin to extract Pseudostellariae heterophylla saponins is feasible.

[Key words] Macroreticular resin; pseudostellariae heterophylla saponins; extraction

太子参是石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm 的干燥块根。具有益气生津、补肺健脾等功效。皂苷是太子参中重要的物质基础, 本文采用大孔吸附树脂对太子参总皂苷的提取工艺进行了研究。

1 仪器和材料

722 可见分光光度计, 上海仪器分析三厂; BP211D 电子天平, 德国赛多利斯公司。

太子参, 由安徽医大第一附院中药房提供, 经鉴

定为符合药典要求的正品药材; D₁₀₁ 型大孔吸附树脂, 天津市光复精细化工研究所; 人参皂苷 Rb₁ 对照品(供含量测定用), 中国药品生物制品检定所, 批号 704-200115。试剂均为 AR。

2 方法与结果

2.1 含量测定方法学实验^[1]

2.1.1 线性关系考察 取干燥保存的人参皂苷 Rb₁ 对照品, 加甲醇溶解配制 1.0 mg·mL⁻¹ 标准溶液。精密吸取人参皂苷 Rb₁ 对照品溶液 10, 20, 30, 40, 50 μL, 分别置于试管中, 热风挥干溶剂, 加入新制的 5% 香草醛冰醋酸溶液 0.2 mL, 高氯酸 0.8 mL, 于 60 °C 水浴加热 15 min 后立即用冰水浴冷却, 加入冰醋酸 5 mL, 摇匀。对试剂空白于 560 nm 处测定吸收值

[收稿日期] 2007-04-02

[通讯作者] * 高昌琨, Tel: (0551) 2922194; E-mail: gaock@sohu.com

(A)。根据样品量对吸光度计算回归方程为 $C = 0.1034 + 0.0338R$, $R = 0.9983$ 。人参皂苷 Rb_1 在 (0.01~0.05) mg 范围内线性关系良好。

2.1.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液 0.3 mL, 5 份, 依 2.1.1 项下的方法显色后测定吸收度, 结果 RSD 为 2.36%, 说明精密度良好。

2.1.3 稳定性考察 同一对照品溶液按 2.1.1 项下操作显色后每隔 10 min 测定 1 次含量。该样品经显色后在 60 min 内稳定, RSD 为 4.21%。

2.1.4 回收率试验 取太子参样品液(总皂苷含量为 $11.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 5 份, 每份 0.9 mL, 分别加入对照品溶液 0.1 mL, 依含量测定方法预处理操作制成供试品溶液, 测定总皂苷含量。结果计算得平均加样回收率为 98.4%, RSD 为 3.37%。

2.1.5 太子参样品液制备和太子参总皂苷含量测定 取太子参药材粗粉以 8 倍量 70% 乙醇热回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 合并提取液, 水浴浓缩得浸膏至无醇味, 加蒸馏水搅拌并定容至浓度为 0.2 g 生药/mL, 冰箱中放置 24 h 后抽滤得太子参样品液。按上述高氯酸-香草醛显色方法测得太子参样品液中总皂苷含量为 $11.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2 工艺条件与参数优化

2.2.1 大孔吸附树脂的预处理和装柱 分别称取大孔树脂 3 份 3 g(供吸附容量测定用)及 1 份 20 g(供洗脱溶媒的选择测定用)于 8 倍量 95% 乙醇中浸泡 24 h, 抽干, 倾去上浮物后湿法装柱, (流速 $5 \text{ mL} \cdot \text{h}^{-1}$) 继续用 95% 乙醇在柱上淋洗, 不时检察流出的乙醇至与 3 倍量水混合无白色浑浊为止, 最后以大量纯化水洗净柱中乙醇至无醇味, 浸泡备用。

2.2.2 吸附容量的确定 吸取太子参样品液 20 mL 上柱, 预吸附 1 h, 过柱流出液重吸附 1 次, 收集 20 mL 1 份, 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 平行 3 份。测定过柱液中总皂苷量, 计算每 g 干树脂吸附容量, 结果见表 1,

表 1 大孔吸附树脂吸附容量的确定

上柱液中 总皂苷量 (mg)	过柱液中 总皂苷量 (mg)	平均过柱液 中总皂苷 量(mg)	RSD (%)	树脂吸附 总皂苷量(mg)	吸附容量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	16.6				
2	228	16.9	2.43	211.5	70.5
3	16.1				

注: 吸附容量= 树脂吸附总量(上柱液中总皂苷量- 平均过柱液中总皂苷量)/干树脂重量。

可见 D_{101} 型大孔树脂对太子参总皂苷有较好的富集作用。

2.2.3 洗脱溶媒的选择 太子参样品液 40 mL 上柱(20g), 先用蒸馏水 200 mL 洗脱水溶性杂质, 每 50 mL 收集 1 份, 用醋酸乙酯萃取后挥干, 甲醇定容进行含量测定; 再继以 200 mL 30% 乙醇, 200 mL 50% 乙醇, 200 mL 70% 乙醇进行洗脱。乙醇洗脱液每 50 mL 收集 1 份, 挥干后用甲醇定容进行含量测定。结果见表 2: 太子参总皂苷主要集中在 50% 乙醇洗脱液中, 70% 乙醇洗脱液中已很少。故确定洗脱条件为: 先用蒸馏水洗去水溶性杂质, 再用 50% 乙醇洗脱太子参总皂苷, 收集 50% 乙醇洗脱部分。

表 2 洗脱溶媒研究(太子参总皂苷, mg)

洗脱溶媒	1 份	2 份	3 份	4 份
蒸馏水	—	0.36	0.25	0.51
30% 乙醇	13.67	9.87	3.23	3.31
50% 乙醇	24.12	18.55	10.05	2.98
70% 乙醇	4.12	2.01	1.13	0.30

2.2.4 洗脱溶媒用量 根据上述结果确定的吸附容量和洗脱溶媒吸取太子参样品液 40 mL 3 份, 上 3 根 20 g 树脂柱, 分别用蒸馏水 200, 150, 100 mL 洗, 每柱分别用 50% 乙醇 200 mL 依次洗脱, 分 3 段收集 (100, 50, 50 mL), 测定总皂苷含量。结果见表 3: 3 种 50% 乙醇用量所得总固物中总皂苷含量均在 50% 以上; 前 100 mL 50% 乙醇洗脱液中总皂苷洗脱率接近 85%, 故确定先用 200 mL 蒸馏水洗脱杂质, 再用 100 mL 50% 乙醇解吸附。

表 3 洗脱溶媒用量研究(总皂含量, %)

样品	200 mL 水洗	150 mL 水洗	100 mL 水洗
蒸馏水洗脱率	9.91	9.83	9.02
50% 乙醇初 100 mL 洗脱率	82.11	83.29	84.74
50% 乙醇次 50 mL 洗脱率	3.23	3.61	3.65
50% 乙醇再 50 mL 洗脱率	1.92	2.23	2.71
总固物中总皂苷含量	61.1	60.8	60.0

2.2.5 重复验证试验 精密吸取太子参样品液 20 mL 上柱 10 g 树脂, 依次用 100 mL 蒸馏水洗去水溶性杂质, 100 mL 50% 乙醇洗脱太子参总皂苷, 分别收集蒸馏水洗脱液和 50% 乙醇洗脱液, 平行 3 份。结果见表 4, 提取物中总皂苷含量均在 60%, 说明采用本法提取太子参总皂苷是可行的。

表 4 大孔吸附树脂提取太子参总皂苷工艺参数考察实验数据

实验号	上柱样品 液总固物 (mg)	上柱液总固 物中总皂苷 含量(%)	醇洗脱液 总固物 (mg)	醇洗脱液 中总皂苷 含量(mg)	醇洗脱液总 固物中总皂 苷含量(%)
1	—	—	62.7	37.7	60.1
2	—	—	60.9	36.6	60.1
3	—	—	62.3	37.6	60.4
平均值	889.0	25.6	61.9	37.3	60.2

注: 50% 乙醇洗脱液总固物中总皂苷含量 = (50% 乙醇洗脱液中总皂苷含量 / 50% 乙醇洗脱液总固物) × 100%。

3 讨论

皂苷是一类分子量较大极性较大的苷类化合物, 药材中共存的鞣质、酚性成分及糖类成分影响使得皂苷类成分难以分离提纯, 传统用正丁醇萃取工

艺存在有机溶剂消耗多, 萃取易乳化, 杂质去除不完全等缺点^[2]。本实验采用树脂提取, 简化了工艺, 降低了成本, 产品的收率和质量都明显提高, 具有实用价值。由于目前国内尚无太子参皂苷类成分的法定对照品, 故本实验测定太子参总皂苷含量时, 选用结构类似的四环三萜皂苷人参皂苷 Rb₁ 为对照品, 采用比色法计算总皂苷含量。含量测定时因样品显色后稳定的时间较短, 故显色后应在 1 h 内进行测定。

[参考文献]

- [1] 许茜, 王红芳, 周小羽. 太子参提取工艺优选[J]. 中草药, 2001, 32(9): 799-800.
- [2] 徐先祥, 夏伦祝, 高家荣. 大孔吸附树脂在皂苷分离纯化中的应用[J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(1): 79-80.