

· 药学基础 ·

5 种大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮的吸附特性考察

杨茹^{1,2}, 刘聪燕^{1,2}, 许婷^{1,2}, 李瑞云^{1,2}, 陈彦^{1,2*}

(1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 南京 210028;

2. 江苏省中医药研究院 中药组分与微生态研究中心, 南京 210028)

[摘要] 目的: 比较不同大孔树脂对淫羊藿总黄酮的吸附性能, 阐明其吸附机制, 优选适合纯化淫羊藿总黄酮的大孔树脂。方法: 分别以淫羊藿总黄酮和 5 种代表性成分(朝藿定 A, 朝藿定 B, 朝藿定 C, 淫羊藿苷, 宝藿苷 I) 的吸附率、比吸附量、洗脱率、比洗脱量为指标, 采用静态吸附和动态吸附相结合的方法, 比较 HPD100, HPD600, AB-8, X-5, D101 共 5 种型号大孔树脂的吸附特性; 利用伪一阶、伪二阶动力学模型和颗粒内扩散模型对优选树脂的吸附动力学进行研究, 运用 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型对优选树脂的热力学过程进行分析, 从物理化学角度探究树脂的吸附机制。结果: HPD100 型大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮的吸附和洗脱性能均较好, 显著优于其他树脂; 其对淫羊藿总黄酮及 5 种代表性黄酮的吸附动力学过程均符合伪二阶动力学模型, 对淫羊藿总黄酮的吸附热力学过程符合 Freundlich 模型, 对 5 种黄酮类成分之和的吸附热力学过程符合 Langmuir 模型; HPD100 型大孔树脂对淫羊藿总黄酮的吸附过程为物理吸附占主导的放热过程, 最适吸附温度 25 ℃。结论: HPD100 型大孔树脂吸附容量大、洗脱顺畅, 吸附机制明确, 适用于淫羊藿总黄酮的分离与纯化。

[关键词] 淫羊藿; 总黄酮; 大孔吸附树脂; 静态吸附; 动态吸附; 吸附动力学; 吸附热力学

[中图分类号] R22; R28; O657. 7; R94; O643 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)06-0113-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200146

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190910.0900.001.html>

[网络出版时间] 2019-09-10 10:39

Investigation of Adsorption Properties of Five Macroporous Resins for Total Flavonoids in Epimedii Folium

YANG Ru^{1,2}, LIU Cong-yan^{1,2}, XU Ting^{1,2}, LI Rui-yun^{1,2}, CHEN Yan^{1,2*}

(1. *Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China;*

2. *Multi-component of Traditional Chinese Medicine (TCM) and Microecology Research Center, Jiangsu Province Academy of TCM, Nanjing 210028, China)*

[Abstract] **Objective:** To compare the adsorption characteristics of different macroporous adsorption resins for the total flavonoids in Epimedii Folium, clarify the adsorption mechanism, and screen the optimal resin for the purification of total flavonoids in Epimedii Folium. **Method:** Taking the adsorption and desorption capacities of the total flavonoids in Epimedii Folium and five representative flavonoids (epimedin A, epimedin B, epimedin C, icariin, baohuoside I) as indexes, static adsorption and dynamic adsorption experiments were conducted to compare the adsorption characteristics of five macroporous including HPD100, HPD600, AB-8, X-5 and D101. The adsorption kinetics of the selected resin was studied by using the pseudo-first-order, pseudo-second-order kinetic models and intraparticle diffusion model, and the thermodynamic process was analyzed by using the Langmuir and Freundlich isothermal adsorption models, which explored the adsorption mechanism of resin from the

[收稿日期] 20190716(009)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09301030-008); 江苏省科教强卫医学重点人才项目(ZDRCA2016036)

[第一作者] 杨茹, 在读硕士, 从事中药药剂研究, E-mail: 1176762751@qq.com

[通信作者] * 陈彦, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药新制剂、新剂型研究, E-mail: ychen202@hotmail.com

perspective of physical chemistry. **Result:** HPD100 macroporous resin had a better adsorption and desorption properties than the others. The adsorption process of HPD100 macroporous resin for total flavonoids in Epimedii Folium and five representative flavonoids conformed to the pseudo-second-order kinetic model. The adsorption thermodynamic process of HPD100 resin for total flavonoids of Epimedii Folium conformed to the Freundlich model, and for the sum of five representative flavonoids conformed to the Langmuir model. The adsorption process of HPD100 resin for total flavonoids in Epimedii Folium was the exothermic process dominated by physical adsorption, and the optimal adsorption temperature was 25 °C. **Conclusion:** HPD100 macroporous resin has large adsorption capacity, easy desorption and clear adsorption mechanism, it is suitable for isolation and purification of total flavonoids in Epimedii Folium.

[**Key words**] Epimedii Folium; total flavonoids; macroporous adsorption resin; static adsorption; dynamic adsorption; adsorption kinetics; adsorption thermodynamics

淫羊藿为我国传统补益中药,其性温,味辛、甘,归肝、肾经,具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效,适用于治疗肾虚阳衰、阳痿遗精、筋骨痿软等证^[1-2]。淫羊藿中的主要活性成分为黄酮类化合物,包括朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷以及宝藿苷 I 等。现代药理研究表明淫羊藿总黄酮具有显著的抗骨质疏松、抗肿瘤、抗衰老等药理活性^[3-4],因此,如何获取高纯度的淫羊藿总黄酮值得关注与研究。

已有文献报道采用大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮进行分离与纯化研究,但不同文献筛选得到的最佳大孔吸附树脂并不完全一致^[5-6],且仅以淫羊藿总黄酮或者淫羊藿苷为考察指标,指标较为单一,不能全面反映大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮的吸附性能。此外,目前关于大孔吸附树脂吸附淫羊藿总黄酮的动力学和热力学过程研究也未见报道,吸附机制不明确,分离与纯化缺乏相关理论指导。因此,本实验选择以淫羊藿中的 5 种代表性黄酮苷(淫羊藿苷,朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,宝藿苷 I)和淫羊藿总黄酮为指标,采用静态和动态吸附相结合的方法,比较了已有文献中报道的对淫羊藿总黄酮有较好吸附效果的 HPD100,HPD600,AB-8,X-5,D101 共 5 种型号大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮的吸附与洗脱特性,旨在优选出分离纯化淫羊藿总黄酮的最佳大孔吸附树脂,并分别利用吸附动力学和吸附热力学模型对优选树脂的吸附过程进行研究,从物理化学的角度阐明其吸附机制,为淫羊藿总黄酮的分离纯化提供良好的理论基础和实验依据。

1 材料

ACQUITY Arc 型高效液相色谱仪(美国沃特世科技有限公司),UV1008PC 型紫外-可见分光光度计(上海凤凰光学仪器有限公司),JY5002 型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司),MT5 型 1/100 万

电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司),THZ-82AHS 型气浴恒温恒速振荡器(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂),ST16R 型高速冷冻离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]。

淫羊藿苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110737-201516,纯度 $\geq 94.2\%$);朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,宝藿苷 I 对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 20120401,20120131,20120118,20120222,纯度均 $\geq 98\%$);淫羊藿饮片购自宕昌县好梯乡春秋本草种植农民专业合作社,经南京中医药大学邹立思教授鉴定为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicomu* 的干燥叶;HPD100,HPD600,AB-8,X-5,D101 型大孔吸附树脂(西安蓝晓科技新材料股份有限公司);水为超纯水,乙腈为色谱纯,其余所有试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 淫羊藿总黄酮提取液的制备 称取淫羊藿饮片适量,加 15 倍量 60% 乙醇回流提取 3 次,每次 1.5 h,过滤,合并 3 次滤液,减压回收乙醇,得生药质量浓度为 $0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的提取液,备用。

2.2 淫羊藿黄酮类成分的含量测定

2.2.1 淫羊藿总黄酮的含量测定^[2] 精密称取淫羊藿苷对照品 1.22 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为淫羊藿苷储备液。分别精密吸取不同体积的淫羊藿苷储备液置于 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释,配制质量浓度依次为 3.59,7.19,14.38,28.75,57.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液。精密吸取一定体积的淫羊藿总黄酮提取液,置于量瓶中,用甲醇稀释并定容至刻度,得供试品溶液。分别取系列淫羊藿苷对照品溶液和淫羊藿总黄酮供试品溶液适量,以相应试剂为空白对照,于 270 nm 处测定吸光度 A。以淫羊藿苷质量浓度为

横坐标, A 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程 $A = 0.040 2X + 0.003 1 (R^2 = 0.999 3)$, 线性范围 $3.59 \sim 57.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 计算淫羊藿总黄酮提取液中淫羊藿总黄酮的质量分数 $47.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

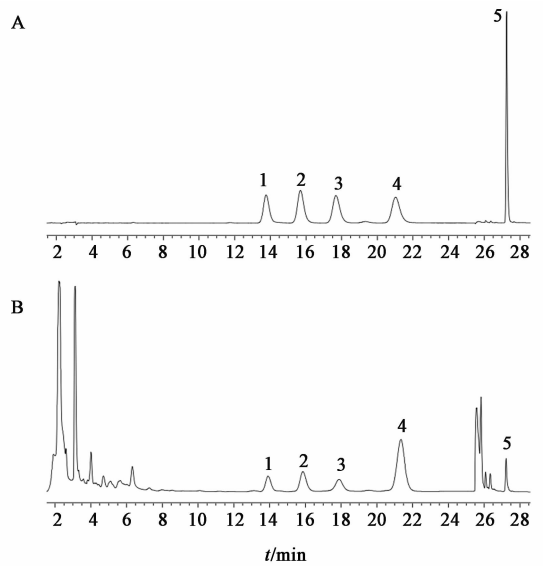
2.2.2 5 种代表性黄酮类成分的含量测定 色谱条件为 Zorbax SB C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈 (A)-水 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 22.0 min, 25% A; 22.0 ~ 22.1 min, 25% ~ 62% A; 22.1 ~ 30.0 min, 62% A; 30.0 ~ 30.1 min, 62% ~ 90% A; 30.1 ~ 40.0 min, 90% A), 检测波长 270 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

分别精密称取淫羊藿苷 1.99 mg, 朝藿定 A 2.13 mg, 朝藿定 B 2.34 mg, 朝藿定 C 2.42 mg, 宝藿苷 I 2.34 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 得混合对照品储备液。精密吸取该混合对照品储备液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释定容至刻度, 得淫羊藿苷, 朝藿定 A, 朝藿定 B, 朝藿定 C, 宝藿苷 I 质量浓度分别为 37.49, 42.60, 46.80, 48.40, 46.80 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。精密吸取一定体积的淫羊藿总黄酮提取液, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释并定容, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 得供试品溶液。精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 按上述色谱条件测定, 计算朝藿定 A, 朝藿定 B, 朝藿定 C, 淫羊藿苷和宝藿苷 I 的质量分数分别为 1.24, 1.78, 1.50, 5.22, 0.71 mg·g⁻¹。HPLC 图见图 1, 结果发现各色谱峰分离度良好, 符合含量测定要求。

2.3 不同大孔树脂对淫羊藿总黄酮的吸附性能考察

2.3.1 大孔树脂的预处理 取 HPD100, HPD600, AB-8, X-5, D101 型大孔树脂适量, 分别加入 95% 乙醇浸泡 24 h, 采用湿法装柱, 用 95% 乙醇以 2 BV·h⁻¹ 的流速冲洗树脂, 直至流出液与水按体积比 1:1 混合不再浑浊, 用水以同样流速冲洗树脂至无醇味, 收集洗净的树脂, 滤去水, 备用。

2.3.2 静态吸附特性比较 称取预处理好且抽滤至干的 5 种大孔吸附树脂各 10 g, 每种树脂平行 3 份, 置 100 mL 锥形瓶中, 分别加入生药质量浓度为 0.5 g·mL⁻¹ 的淫羊藿总黄酮提取液 50 mL, 置恒温振荡箱中 (25 °C, 100 r·min⁻¹, 下同) 振荡 24 h, 抽滤, 取上清液, 得泄漏液。取上述吸附饱和的树脂, 用适量水冲洗树脂, 滤干, 置于 100 mL 具塞锥形瓶中, 分别加入 60% 乙醇 50 mL, 置恒温振荡箱中振荡 24 h, 使其充分洗脱, 抽滤, 取上清液, 得淫羊藿总黄



A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 朝藿定 A; 2. 朝藿定 B; 3. 朝藿定 C; 4. 淫羊藿苷; 5. 宝藿苷 I

图 1 淫羊藿总黄酮提取物的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of total flavonoids in Epimedii Folium

酮的洗脱液。按 2.2 项下方法测定泄漏液和洗脱液中淫羊藿总黄酮和 5 种代表性黄酮的含量, 计算吸附率、比吸附量和洗脱率、比洗脱量, 见表 1。结果发现 HPD100 和 X-5 型大孔树脂对淫羊藿总黄酮和 5 种代表性黄酮均表现出了较好的吸附性能, AB-8 和 D101 型大孔树脂次之, HPD600 型大孔树脂最差; 从洗脱性能来看, HPD600, D101 型大孔树脂的洗脱性能较好, HPD100 和 X-5 型大孔树脂次之, AB-8 型大孔树脂最差。由于 HPD600 型树脂的吸附性能和 AB-8 型树脂的洗脱性能相对较差, 故这 2 种型号的大孔树脂后续实验均不予考虑。经综合比较发现, D101 和 HPD100 型树脂的静态吸附和洗脱性能优于 X-5 型, 但这 2 种大孔树脂的吸附性能相差不大, 故继续采用动态吸附法对这 2 种树脂进行比较。

2.3.3 HPD100 和 D101 型大孔树脂的动态吸附特性比较 取 HPD100 和 D101 型大孔树脂适量, 按 1:3 的径高比湿法装柱后, 每种树脂平行 3 份。以 2 BV·h⁻¹ 的流速上样淫羊藿总黄酮提取液 3 BV (1 BV = 10 mL), 收集流出液, 并用水 2 BV 洗涤, 合并流出液和水洗液, 即得泄漏液。再用 60% 乙醇 3 BV 以 2 BV·h⁻¹ 流速进行洗脱, 收集洗脱液。按 2.2 项下方法测定, 计算吸附率和洗脱率, 见表 2。结果发现 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿总黄酮和 5 种代表性黄酮的动态吸附率和洗脱率大多数高于 D101 型大孔树脂。

表 1 淫羊藿黄酮类成分在不同大孔树脂上的静态吸附与洗脱性能考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Static adsorption and desorption properties of five macroporous resins for flavonoids in Epimedii Folium ($\bar{x} \pm s, n=3$)

指标	成分	大孔树脂				
		AB-8 型	D101 型	HPD100 型	HPD600 型	X-5 型
吸附率/%	朝藿定 A	73.72 ± 0.13	72.82 ± 1.04	76.44 ± 0.38	47.30 ± 0.38	74.56 ± 0.30
	朝藿定 B	76.08 ± 0.16	75.56 ± 0.73	79.43 ± 0.86	51.14 ± 1.16	77.62 ± 0.21
	朝藿定 C	79.39 ± 0.26	77.16 ± 1.36	81.43 ± 2.16	52.00 ± 2.40	79.26 ± 0.82
	淫羊藿苷	86.06 ± 0.09	86.04 ± 0.38	88.13 ± 0.46	67.30 ± 0.77	87.17 ± 0.20
	宝藿苷 I	99.07 ± 0.07	99.01 ± 0.08	99.29 ± 0.07	97.21 ± 0.05	99.08 ± 0.16
	总黄酮	64.09 ± 2.29	63.35 ± 2.19	66.50 ± 1.87	51.42 ± 0.93	66.74 ± 2.83
比吸附量/mg·g ⁻¹	朝藿定 A	2.27 ± 0	2.25 ± 0.03	2.35 ± 0.01	1.46 ± 0.01	2.30 ± 0.01
	朝藿定 B	3.37 ± 0	3.36 ± 0.03	3.51 ± 0.03	2.27 ± 0.05	3.44 ± 0.01
	朝藿定 C	3.37 ± 0	3.36 ± 0.03	3.51 ± 0.03	2.27 ± 0.05	3.44 ± 0.01
	淫羊藿苷	11.17 ± 0.01	11.19 ± 0.03	11.41 ± 0.03	8.75 ± 0.09	11.31 ± 0.06
	宝藿苷 I	1.74 ± 0	1.75 ± 0	1.74 ± 0	1.71 ± 0	1.74 ± 0.01
	总黄酮	75.24 ± 2.54	74.51 ± 2.61	77.82 ± 1.99	60.44 ± 1.00	78.34 ± 3.24
洗脱率/%	朝藿定 A	35.74 ± 1.32	81.48 ± 12.08	61.26 ± 1.64	86.99 ± 11.54	57.91 ± 3.73
	朝藿定 B	34.35 ± 1.03	68.81 ± 10.19	54.40 ± 0.19	78.51 ± 9.47	50.67 ± 3.15
	朝藿定 C	30.81 ± 2.21	66.66 ± 10.11	51.55 ± 0.17	77.33 ± 10.44	47.84 ± 3.39
	淫羊藿苷	30.69 ± 1.43	61.99 ± 7.62	50.42 ± 0.64	70.07 ± 6.90	44.37 ± 3.50
	宝藿苷 I	9.79 ± 0.77	25.78 ± 6.53	30.20 ± 0.38	42.09 ± 9.49	13.26 ± 3.00
	总黄酮	28.46 ± 1.13	50.55 ± 1.74	42.06 ± 0.37	60.00 ± 3.70	40.11 ± 7.49
比洗脱量/mg·g ⁻¹	朝藿定 A	0.81 ± 0.03	1.83 ± 0.29	1.44 ± 0.04	1.27 ± 0.16	1.33 ± 0.09
	朝藿定 B	1.16 ± 0.03	2.31 ± 0.35	1.91 ± 0.01	1.78 ± 0.19	1.74 ± 0.11
	朝藿定 C	0.91 ± 0.06	1.93 ± 0.30	1.57 ± 0.04	1.50 ± 0.14	1.42 ± 0.09
	淫羊藿苷	3.43 ± 0.16	6.94 ± 0.86	5.75 ± 0.09	6.13 ± 0.63	5.02 ± 0.41
	宝藿苷 I	0.17 ± 0.01	0.45 ± 0.11	0.53 ± 0.01	0.72 ± 0.16	0.23 ± 0.05
	总黄酮	21.43 ± 1.57	37.64 ± 0.27	32.70 ± 0.55	36.25 ± 2.04	31.42 ± 6.12

注: 吸附率 = $(C_0V_0 - C_1V_1)/C_0V_0$, 比吸附量 = $(C_0V_0 - C_1V_1)/M$, 洗脱率 = $C_2V_2/(C_0V_0 - C_1V_1)$, 比洗脱量 = C_2V_2/M , 式中 C_0 为吸附前药物质量浓度, C_1 为吸附后药物质量浓度, V_0 为吸附前溶液体积, V_1 为吸附后溶液体积, C_2 为洗脱后药物质量浓度, V_2 为洗脱后溶液体积。

2.3.4 HPD100 和 D101 型大孔吸附树脂的吸附动力学比较 称取预处理好且抽滤至干的 HPD100 和 D101 型大孔树脂各 10 g, 置于 100 mL 锥形瓶中, 分别加入淫羊藿总黄酮提取液 50 mL, 置恒温振荡箱中震荡, 分别于 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 360, 480, 600, 720 min 取样 2 mL, 同时补加水 2 mL。按 2.2 项下方法测定, 计算每个时间点淫羊藿总黄酮及 5 种黄酮类成分的吸附量 (Q_t), 绘制吸附动力学曲线, 见图 2。取上述吸附饱和的大孔树脂, 用适量水冲洗树脂, 滤干, 加入 60% 乙醇 50 mL, 于恒温振荡箱中震荡, 分别于 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 360, 480, 600, 720 min 取样 2 mL, 同时补加 60% 乙醇 2 mL。按 2.2 项下方法测定, 计

算每个时间点淫羊藿总黄酮及 5 种黄酮类成分的洗脱量 (W_t), 绘制洗脱动力学曲线, 见图 3。

由图 2, 3 可知, HPD100 和 D101 型大孔树脂在各个时间点对淫羊藿总黄酮和 5 种代表性黄酮成分的吸附量均相差不大, 并且在 3 h 内均能达到吸附平衡和洗脱平衡, 但 HPD100 型大孔树脂的洗脱速率明显大于 D101 型大孔树脂, 说明 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分有更好的吸附、洗脱性能。分别采用伪一阶、伪二阶动力学模型和颗粒内扩散模型对 HPD100 型大孔树脂的吸附动力学进行分析, 计算平衡吸附量 (Q_e) 和吸附平衡速率常数 (K), 见表 3。结果发现伪二阶动力学模型的拟合度最高, 能较好地反映淫羊藿总黄酮和 5 种黄酮类

表 2 HPD100 和 D101 型大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分的动态吸附和洗脱性能考察 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Dynamic adsorption and desorption properties of HPD100 and D101 macroporous resins for flavonoids in Epimedii Folium ($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

指标成分	树脂型号	吸附率	洗脱率
朝藿定 A	HPD100	89.62 ± 0.59 ¹⁾	90.29 ± 3.81 ¹⁾
	D101	77.70 ± 0.83	75.07 ± 0.52
朝藿定 B	HPD100	90.85 ± 0.58 ¹⁾	86.54 ± 4.63 ¹⁾
	D101	78.10 ± 0.77	67.35 ± 2.93
朝藿定 C	HPD100	91.19 ± 0.68 ¹⁾	87.55 ± 7.27 ¹⁾
	D101	79.40 ± 0.52	71.08 ± 3.93
淫羊藿苷	HPD100	95.87 ± 0.41 ¹⁾	84.99 ± 4.31 ¹⁾
	D101	84.47 ± 0.59	71.63 ± 2.21
宝藿苷 I	HPD100	99.89 ± 0.19 ¹⁾	31.82 ± 1.85 ¹⁾
	D101	96.71 ± 0.09	37.52 ± 2.01
总黄酮	HPD100	68.15 ± 1.53 ¹⁾	89.79 ± 2.35 ¹⁾
	D101	60.30 ± 1.53	80.49 ± 4.27

注:与 D101 型大孔树脂比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

成分在 HPD100 型大孔树脂上的吸附动力学过程,而且淫羊藿总黄酮和 5 种黄酮类成分的吸附动力学拟合结果基本一致,故认为淫羊藿黄酮类成分在 HPD100 型大孔树脂上的吸附过程符合伪二阶动力学模型。伪一阶和伪二阶动力学方程分别为 $\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_e - K_1 t$, $1/Q_t = [1/(Q_e^2 \times K_2)] \times 1/t + 1/Q_e$, 颗粒内扩散模型方程为 $Q_t = K_d t^{1/2} + C$ 。式中 K_1 , K_2 和 K_d 分别为相应模型的速率常数, C 为吸附剂的吸附边界层厚度。

2.3.5 HPD100 型大孔树脂的吸附热力学考察
称取预处理好且抽滤至干的 HPD100 型大孔树脂 6 份,每份 1 g,分别加入生药质量浓度为 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.1 g · mL⁻¹ 的淫羊藿总黄酮提取液 15 mL,于不同温度(25, 35, 45, 55 °C)条件下震荡(100 r · min⁻¹)3 h,按 2.2 项下方法测定,计算 Q_e 和平衡吸附质量浓度(C_e)。分别采用 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型解释固相和液相的吸附关系,见图 4,计算相关非线性拟合参数,见表 4。由于

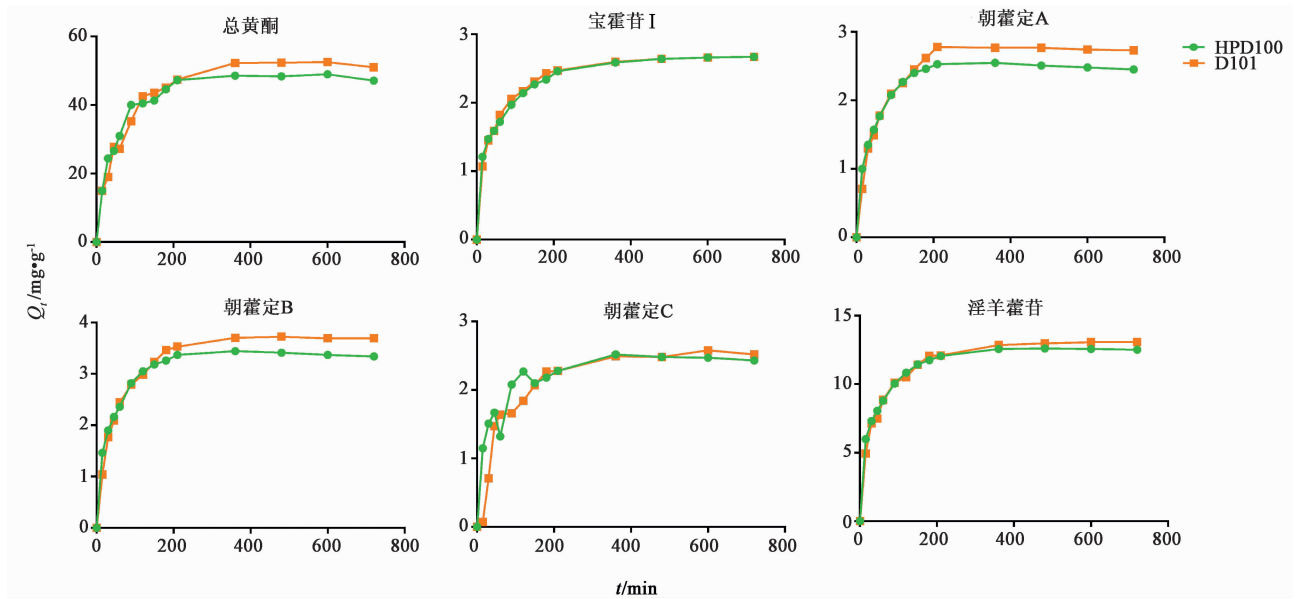


图 2 HPD100 和 D101 型大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分的吸附动力学曲线

Fig. 2 Adsorption kinetic curves of HPD100 and D101 macroporous resins for flavonoids in Epimedii Folium

Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型的拟合仅能考察大孔树脂吸附过程的模式,不能全面反映树脂的吸附热力学行为,故还计算了树脂吸附过程中的吸附焓变、吸附熵变、吉布斯自由能变等参数,见表 4。Langmuir 方程为 $Q_e = (Q_m K_L C_e) / (1 + K_L C_e)$, Freundlich 方程为 $Q_e = K_F C_e^{1/n}$, $\ln K_L = -\Delta H / (RT) + \Delta S / R$, $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ 。式中 K_L 和 K_F 分别为 Langmuir 常数和 Freundlich 常数, Q_m 为理论最大

吸附量, $1/n$ 是反映吸附驱动力大小的经验常数, R 为气体常数 $8.314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, T 是绝对温度 (K), ΔH 为吸附焓变, ΔG 为吉布斯自由能变, ΔS 为吸附熵变。

由表 4 可知,HPD100 型大孔树脂对淫羊藿总黄酮的吸附热力学过程更符合 Freundlich 等温吸附模型;HPD100 型大孔树脂对 5 种淫羊藿黄酮类成分之和的吸附热力学过程更符合 Langmuir 等温

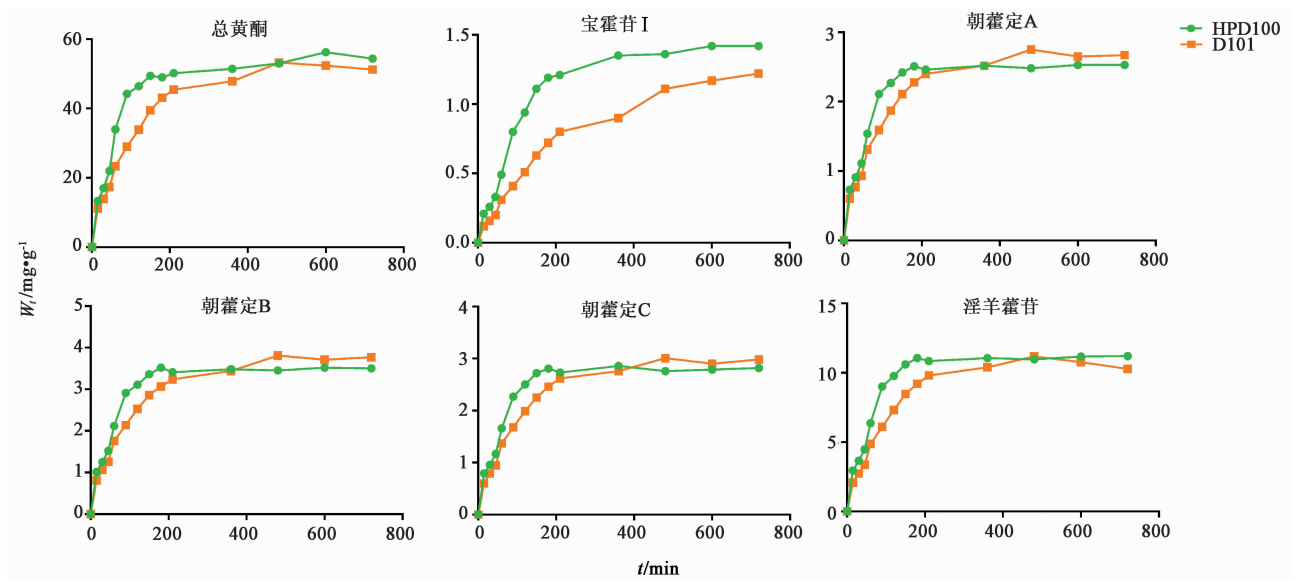


图 3 HPD100 和 D101 型大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分的洗脱动力学曲线

Fig. 3 Desorption kinetic curves of HPD100 and D101 macroporous resins for flavonoids in Epimedii Folium

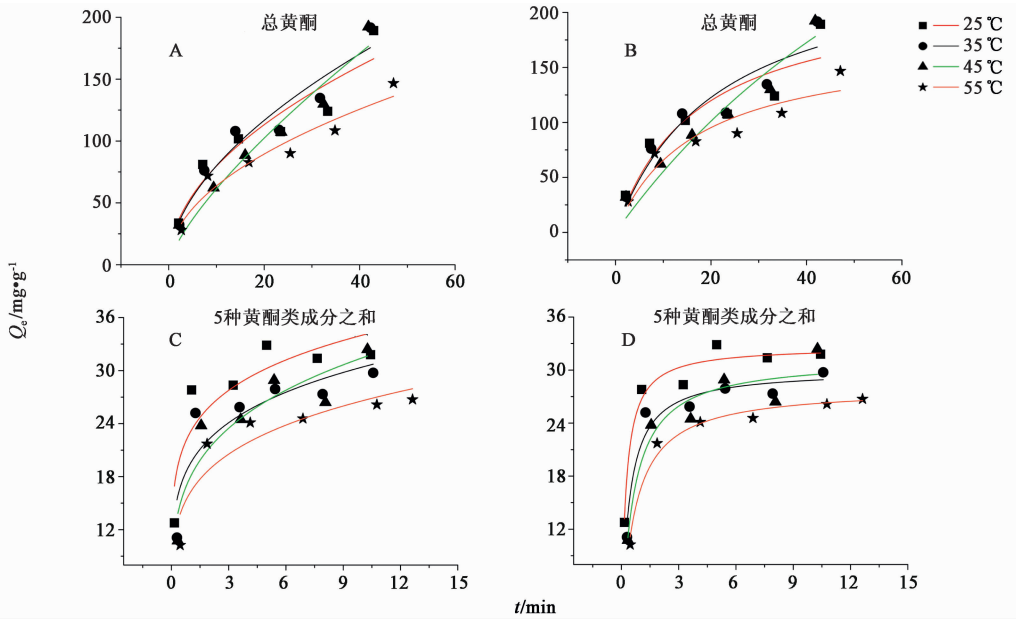
表 3 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分的吸附动力学考察

Table 3 Investigation of adsorption kinetics of HPD100 macroporous resin for flavonoids in Epimedii Folium

指标成分	模型	方程	R^2	Q_e	K
总黄酮	伪一阶动力学	$Y = -0.0009X + 3.8340$	0.5769	52.63	0.0005
	伪二阶动力学	$Y = 0.7147X + 0.0190$	0.9903		
	颗粒内扩散	$Y = 1.2487X + 21.7820$	0.7060		
朝藿定 A	伪一阶动力学	$Y = -0.0038X - 0.5585$	0.4494	2.66	0.0140
	伪二阶动力学	$Y = 9.8651X + 0.3753$	0.9809		
	颗粒内扩散	$Y = 0.0554X + 1.3566$	0.6240		
朝藿定 B	伪一阶动力学	$Y = -0.0038X - 0.0813$	0.5948	3.51	0.0126
	伪二阶动力学	$Y = 6.4330X + 0.2848$	0.9718		
	颗粒内扩散	$Y = 0.0734X + 1.8581$	0.6678		
朝藿定 C	伪一阶动力学	$Y = -0.0042X - 0.2000$	0.6535	2.39	0.0233
	伪二阶动力学	$Y = 7.4847X + 0.4178$	0.8044		
	颗粒内扩散	$Y = 0.0534X + 1.3098$	0.7126		
淫羊藿苷	伪一阶动力学	$Y = -0.0074X + 1.4479$	0.8149	12.48	0.0044
	伪二阶动力学	$Y = 1.4484X + 0.0801$	0.9453		
	颗粒内扩散	$Y = 0.2655X + 6.8963$	0.7550		
宝霍苷 I	伪一阶动力学	$Y = -0.0057X + 0.1665$	0.9615	2.53	0.0211
	伪二阶动力学	$Y = 7.3597X + 0.3945$	0.9179		
	颗粒内扩散	$Y = 0.0616X + 1.2978$	0.8406		

吸附模型。对于 Langmuir 模型来说, K_L 越大越好; 对于 Freundlich 模型来说, $1/n$ 处于 $0 \sim 1$ 表明吸附过程较容易, $1/n > 2$ 表明吸附过程比较困难, 但 K_F 越大越好。综合上述参数考虑, 发现不管是总黄酮还是以 5 种代表性黄酮类成分之和为指标, 均以 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 更适合 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿中黄酮类成分的吸附。HPD100 型大孔树脂吸附淫羊藿总

黄酮和 5 种黄酮类成分之和的 ΔH 均为负值且绝对值均 $< 40\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 说明该吸附过程是物理吸附占主导的放热过程, 低温可能有利于 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿中黄酮类成分的吸附; $\Delta S < 0$ 表明淫羊藿黄酮类成分在大孔树脂上为有序排列; HPD100 型大孔树脂吸附 5 种黄酮类成分之和的 ΔG 在不同温度下均为负值, 说明其吸附过程是自发的; 而



A, C. Freundlich 模型; B, D. Langmuir 模型

图 4 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分的等温吸附曲线

Fig. 4 Isothermal adsorption curves of HPD100 macroporous resin for flavonoids in Epimedii Folium

表 4 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分吸附的非线性拟合参数和热力学参数

Table 4 Nonlinear fitting parameters and thermodynamic parameters of HPD100 macroporous resin for flavonoids in Epimedii Folium

指标	T / °C	Langmuir 模型			Freundlich 模型			ΔS / J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹	ΔH / kJ·mol ⁻¹	ΔG / kJ·mol ⁻¹
		Q_m / mg·g ⁻¹	K_L	R^2	K_F	1/n	R^2			
总黄酮	25	221.13	0.06	0.789 1	24.93	0.51	0.859 9	-67.57	-12.39	7.75
	35	253.71	0.04	0.862 1	22.77	0.55	0.911 9			
	45	585.77	0.01	0.912 9	11.18	0.74	0.940 0			
	55	174.27	0.06	0.856 4	20.61	0.49	0.914 7			
5 种黄酮类成分之和	25	32.66	4.22	0.961 2	23.07	0.17	0.768 5	-89.69	-30.11	-3.37
	35	30.02	2.46	0.936 6	19.51	0.19	0.743 7			
	45	31.32	1.60	0.894 9	17.99	0.24	0.820 7			
	55	30.15	1.43	0.951 2	15.18	0.25	0.783 2			

HPD100 型大孔树脂吸附淫羊藿总黄酮的 ΔG 在不同温度下均为正值,说明其吸附过程不是自发的。

3 讨论

大孔吸附树脂型号种类繁多,一般分为非极性、中等极性、极性三类树脂。经查阅文献发现,HPD100,HPD600,AB-8,X-5,D101 等中、低极性的大孔树脂对淫羊藿黄酮类成分的分离纯化效果较好^[7-10],然而现有文献往往仅以淫羊藿总黄酮或者淫羊藿苷为考察指标,不能全面、科学地反映大孔吸附树脂对淫羊藿总黄酮的吸附性能。为了筛选出更适宜淫羊藿总黄酮分离与纯化的大孔吸附树脂,本研究选择以淫羊藿总黄酮及其 5 种代表性黄酮(朝藿定 A,朝藿定 B,朝藿定 C,淫羊藿苷,宝藿苷 I)为考察指标,综合比较上述 5 种大孔树脂对淫羊藿

总黄酮的吸附与洗脱特性。

静态吸附实验具有树脂用量少、操作方法简单等优势,常用于大孔吸附树脂吸附性能的测定,但吸附时间较长,而动态吸附实验树脂用量较多,但吸附时间短,且更能真实反应药液的动态吸附过程^[11-13]。然而仅用吸附率和洗脱率来评价一种树脂的吸附特性是不够的,一些树脂可能具有较大的吸附量,但其吸附慢,达到吸附平衡的时间很长,在工业上也是不适用的。吸附动力学试验是通过测定不同时间点大孔树脂对药物的 Q_e ,动态监测其吸附过程,吸附速率、吸附达到平衡所用时间均可反映树脂的吸附性能。因此,本研究综合采用了静态吸附、动态吸附、吸附动力学相结合的方法筛选大孔树脂,发现 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿总黄酮具有更好

的吸附性能。

关于大孔树脂吸附的理论研究主要是围绕吸附动力学、吸附热力学、吸附构效关系和吸附选择性 4 个方面展开研究的^[14]。其中,吸附动力学模型不仅可用来描述整个吸附过程中吸附速率和吸附时间的相互关系,研究底物在大孔树脂表面的扩散行为模式,还可对吸附进程及吸附结果进行预测。目前普遍应用的有伪一阶动力学模型、伪二阶动力学模型和颗粒内扩散模型。本文研究结果发现 5 种树脂对淫羊藿黄酮类成分的吸附均符合伪二阶动力学模型,表明其吸附速率由吸附剂表面未被占有的吸附位点数目的平方值决定,吸附过程受化学吸附机制的控制,涉及到吸附剂与吸附质之间的电子共用或电子转移^[15-17]。

吸附热力学研究是通过考察不同温度条件下大孔树脂对靶标分子的吸附等温线,获得该吸附过程中的吸附焓变、吸附熵变、吉布斯自由能变以及吸附平衡常数等参数,并结合吸附类型判断靶标分子在大孔树脂表面的吸附方式。目前,普遍将大孔树脂的吸附作用机制归结为 Langmuir 或 Freundlich 模式^[18]。本文研究发现 HPD100 型大孔树脂对淫羊藿总黄酮的吸附过程符合 Freundlich 模型,表明其吸附行为是一个多分子层的物理吸附过程,且该过程为非自发的放热过程;对淫羊藿 5 种黄酮类成分之和的吸附过程符合 Langmuir 模型,表明其吸附行为是一个单分子层的物理吸附过程,且该过程为自发的放热过程。HPD100 型大孔树脂对淫羊藿总黄酮和 5 种黄酮类成分之和的吸附热力学过程拟合结果不一致的原因可能是由于本文选择的 5 种代表性黄酮苷均为母核相同、极性相似的异戊烯基黄酮类成分,而淫羊藿总黄酮中除了含有该类成分外,还含有其他极性差异较大的成分,但具体的原因还有待进一步的分析。

综上所述,本研究在比较 5 种型号大孔树脂对淫羊藿总黄酮吸附与洗脱特性的基础上,还对优选树脂的吸附动力学和吸附热力学过程进行了研究,不但优选出了适用于分离纯化淫羊藿总黄酮的大孔吸附树脂,还从物理化学角度阐明了其吸附机制,为后续淫羊藿总黄酮的大孔树脂分离纯化工艺研究提供了较好的理论依据和实验基础,并为大孔树脂在其他中药活性成分分离纯化中的应用研究提供了研究思路和方法。

[参考文献]

[1] 李作洲,徐艳琴,王瑛,等.淫羊藿药用植物的研究现

状与展望[J].中草药,2005,36(2):289-295.

- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:327-328.
- [3] PEI L K, SUN S Q, GUO B L, et al. Fast quality control of *Herba Epimedii* by using Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2008, 70(2):258-264.
- [4] 路宇仁,陈映冰,崔元璐,等.淫羊藿苷药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(17):209-220.
- [5] 赵丽恋,刘韶,罗杰英.大孔吸附树脂-超声波辅助解吸附法纯化淫羊藿中的总黄酮[J].中国中药杂志,2009,34(6):702-704.
- [6] 任桂友,刘海洋,王爽,等.大孔树脂同时分离纯化淫羊藿中淫羊藿苷和淫羊藿次苷 II 的工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(2):5-7.
- [7] 王协和,夏林丽,贺宝莹,等.克敏芪丹方总黄酮苷的大孔树脂纯化工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(14):35-38.
- [8] 李红丹,姚华,高冬梅,等.新疆 4 种山楂果实中总黄酮的纯化与抗氧化活性考察[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(19):1-5.
- [9] 冯宇,刘雪梅,罗伟生,等.大孔树脂纯化荔枝核总黄酮工艺研究[J].中草药,2019,50(9):2087-2093.
- [10] 蒲凌云.红三叶草总异黄酮提取、纯化工艺研究及初步工业设计[D].兰州:兰州理工大学,2012.
- [11] 易剑平,杜菁,孟毅,等.制川乌炮制废水中生物碱类成分的回收利用[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(8):108-113.
- [12] 冯慧,赵娅,王小艳,等.小檗皮总生物碱提取物的大孔树脂纯化工艺与质量标准考察[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(16):97-103.
- [13] 董媛媛,邓翀,柴思佳.大孔树脂吸附南五味子总三萜的动力学和热力学分析[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(17):5-9.
- [14] LYU C, YANG J, LIU R, et al. A comparative study on the adsorption and desorption characteristics of flavonoids from honey by six resins [J]. *Food Chem*, 2018, 268:424-430.
- [15] DONG Y, ZHAO M M, SUN-WATERHOUSE D, et al. Absorption and desorption behaviour of the flavonoids from *Glycyrrhiza glabra* L. leaf on macroporous adsorption resins [J]. *Food Chem*, 2015, 168:538-545.
- [16] 管立峰,李丹花,殷春燕,等.大孔吸附树脂分离纯化紫甘薯色素的动力学分析[J].江苏农业科学,2018,46(10):199-202.
- [17] 李园园,邹少华,李洪娟,等.梨多酚在大孔树脂上的吸附性能研究[J].山东化工,2018,47(2):30-32,34.
- [18] 娄嵩,刘永峰,白清清,等.大孔吸附树脂的吸附机理[J].化学进展,2012,24(8):1427-1436.

[责任编辑 刘德文]