

• 药剂 •

大孔吸附树脂法富集栀子中栀子苷的工艺研究

金日显¹, 郭春燕¹, 刘淑芝¹, 王翰斌², 张春光²

(1 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700;

2 北京琥珀光华医药科技开发有限公司, 北京 100086)

摘要: 目的: 研究 AB-8 型大孔树脂富集栀子中栀子苷的工艺条件及参数。方法: 以栀子苷含量为考察指标, 优选 AB-8 型大孔树脂富集栀子苷的最佳工艺条件。结果: 栀子以乙醇提取浓缩后, 以 3 倍量水洗脱, 再以 3~4 倍树脂量的 70% 乙醇洗脱为最佳工艺。结论: 此法可较好地富集栀子中的主要有效成分栀子苷。

关键词: 栀子; 栀子苷; 大孔吸附树脂; 工艺研究

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)03-0001-02

栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实。具有泻火除烦, 清热利尿, 凉血解毒的功效^[1]。主要含有栀子苷, 山楂苷等环烯醚萜苷类、藏红花素、藏红花酸^[2]。目前, 栀子中栀子苷的提取与纯化方法多为水提醇沉法。本实验采用大孔吸附树脂法对栀子提取液进行精制, 并以栀子苷含量为考察指标, 优选 AB-8 型大孔吸附树脂富集栀子苷的工艺条件与参数。

1 仪器和材料

HEWLETT PACKARD 1100 型高效液相色谱仪, G1322A on-Line Vacuum Degasser, G1311A Quat Pump, G1313A ALS, G1316A Colcomp, G1315A DAD, Agilent Chemstation。塞托利斯电子天平(BP201), 栀子苷对照品(购自中国药品生物制品检定所供含量测定用, 批号 0749-200007)。AB-8 型大孔吸附树脂(天津南开大学)。甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: C₁₈ 色谱柱 Zorbax (250 × 4.6) mm 5μ (Alltech); 流动相: 甲醇-水(35: 65); 检测波长 248nm, 流速: 1mL/min; 柱温: 室温。理论塔板数以栀子苷计算不低于 4000。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备 精密称定栀子苷对照品 10mg, 置 10mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀即得(每 1mL 中含栀子苷 1mg)。

3.2 供试品溶液的制备 取上柱流出液 5mL, 浓缩

近干, 残渣以甲醇溶解并转溶至 10mL 量瓶, 滤过。精密量取续滤液 1mL 置 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

3.3 线性关系的考察 精密量取 2.5、20、50、100、150μL 于 2mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 充分振摇。取 20μL 进样。以峰面积与样品浓度 C(μg/mL) 作图。结果, 在 1~75μg/mL 范围内时, 回归方程 $Y = 90.42 + 1376X$, $r = 0.9999$ 。表明栀子苷进样量与峰面积呈良好线性关系。

3.4 精密度实验 取上述栀子苷对照品溶液(50μg/mL) 20μL, 重复测定 5 次, 求得栀子苷峰面积的相对标准偏差为 0.71%。

3.5 稳定性试验 取上述栀子苷对照品溶液(50μg/mL) 20μL, 按上述色谱条件测定, 间隔时间为 0.2、4、6、24h, 结果 RSD 为 1.39%, 表明本品在 24h 内测定结果基本稳定。

3.6 回收率试验 精密吸取 1mL 供试品溶液 5 份, 分别精密加入栀子苷对照品溶液(浓度为 1.03mg/mL) 2.5mL, 过滤, 取续滤液, 按上述色谱条件测定。结果: 栀子苷平均回收率为 101.5%, 相对标准偏差为 1.31%。

4 大孔吸附树脂纯化条件考察

4.1 大孔吸附树脂的预处理与装柱 取 AB-8 型大孔吸附树脂, 以 95% 乙醇浸泡 24h 后, 装入树脂柱, 95% 乙醇洗脱至流出液与水 1:1 混合不产生白色浑浊时, 再用蒸馏水冲洗至无醇味即可。

4.2 吸附容量的确定 精密量取栀子水清膏 100mL(相当于生药 100g), 倾入已处理好的大孔树脂柱中(相当于干树脂 20g)。控制流速 1~2mL/min, 过

柱流出液重吸附一次,收集过柱液,平行操作 3 次,计算吸附容量。结果梔子苷吸附容量为 30.21mg/g 树脂($n=3$)。

4.3 水洗脱条件的选择 精密量取 50mL 梔子水煎液(合生药 25g,梔子苷含量 17.1mg/mL)6 份,分别上预先处理好的大孔树脂柱(干树脂 20g),控制流速 1~2mL/min,过柱流出液重吸附一次,吸附 30min 后,以蒸馏水洗脱,分段收集。以苯酚-硫酸法检测洗脱终点,并以 TLC 检测各流出液中梔子苷是否泄漏。结果表明,以 3 倍量水洗脱即可将多糖类成分洗脱完全,同时未造成梔子苷泄漏。

4.4 乙醇洗脱条件的选择 取水洗脱后大孔树脂柱,分别以(30、50、70、95)%乙醇洗脱,每 100mL 分段收集,测定梔子苷含量,结果如下表:

表 1 不同溶媒洗脱梔子苷的考察结果

洗脱溶媒 (%乙醇)	每份中含量(mg/mL)					总量(g)
	1	2	3	4	5	Σ
30	0.191	0.795	1.056	1.195	1.336	0.457
50	0.664	1.061	1.669	2.620	0.876	0.689
70	1.195	2.263	2.648	1.316	0.136	0.756
95	1.424	2.395	2.677	1.060	0.093	0.765

4.5 洗脱物中梔子苷含量的测定:将不同洗脱溶媒洗脱物合并,干燥,测定洗脱物中梔子苷含量,结果如下表:

表 2 不同洗脱物中梔子苷含量

洗脱溶媒 (%乙醇)	洗脱物浸膏重 (g)	梔子苷含量 (%)	梔子苷转移率 (%)
30	1.53	29.9	52.9
50	1.59	43.5	79.8
70	1.65	45.9	87.5
95	1.89	40.5	88.5

结果表明,不同洗脱条件对梔子苷的转移率和洗脱物中梔子苷含量有影响。由表 1、表 2 可知,30%乙醇虽能洗下梔子苷,但洗脱能力较弱,梔子苷转移率低。50%乙醇洗脱能力稍强,但洗脱速度较慢,且有效成分不集中。70%乙醇与 95%乙醇比较,

洗脱能力相近。但 95%乙醇洗脱能力较强,使洗脱物增多,梔子苷含量较 50%、70%乙醇洗脱低。综合梔子苷转移率和提取物中梔子苷含量,以 70%乙醇洗脱为最佳工艺。

5 讨论

大孔吸附树脂是一类不带离子交换基团的多孔性交联聚合物,对化学物质的分离作用主要由其吸附性产生。大孔吸附树脂主要应用于在高效液相色谱法中对药材样品的预处理、对单味中药提取物的分离纯化和对中药复方提取物的分离纯化。其中对单味中药提取物中苷类成分、黄酮、生物碱的分离纯化效果良好,有的已经实现工业化生产^[3]。中草药有效成分的传统精制方法为水醇法,但有效成分损失多,乙醇消耗量大。大孔吸附树脂作为分离纯化中药有效单体成分或复方中药的有效手段,具有高效、快速、方便、选择性高的优点。

本文仅选用 AB-8 型大孔树脂,对梔子中有效成分梔子苷的分离纯化特性进行研究,证明利用 AB-8 型大孔树脂精制纯化梔子苷,工艺稳定,方法可行。以苯酚-硫酸法多糖的显色反应控制水洗脱终点,方法简单、易行,便于操作。

梔子的提取方法有水提、醇提。经比较,采用乙醇和水提取梔子苷含量无影响。但水提取杂质较多,直接上柱对树脂损伤较大。因此采用乙醇提取,并浓缩挥散乙醇至药液:药材=1:2 上柱。

大孔树脂吸附纯化的工艺参数较多,如树脂的种类、药液上柱前的净化方法、树脂径高比、洗脱流速等有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 201.
- [2] Tang W, Eisenbrand G. Chinese Drug of Plant Origin[M]. Springer-Verlag, Berlin, 1992. 539-543.
- [3] 吕茂平, 乔庆彬, 庞春燕, 等. 大孔树脂对梔子苷分离效果的研究[J]. 中草药, 2002, 33(9): 794.