文章编号:1000-5404(2007)05-0439-03

论著

AB-8型树脂对牛蒡苷吸附分离性能的研究

卢来春[1],张 蓉[1],周世文[2],蒋学文[1] (第三军医大学新桥医院:[1]药学部,[2]临床药理基地,重庆 400037)

提 要:目的 研究大孔吸附树脂分离纯化牛蒡子中牛蒡苷的性能。**方法** 采用HPLC法测定牛蒡苷的含量。考察大孔吸附树脂对牛蒡苷的吸附性能及洗脱参数。**结果** AB-8型大孔吸附树脂对提取液中的牛蒡苷的最佳分离条件为:上柱液浓度为5.5 mg/ml;流速为2 BV/h,牛蒡苷的比吸附量为52.08 mg/g,50%乙醇洗脱率为93.8%;牛蒡苷纯度可达55.2%。**结论** AB-8型大孔吸附树脂可用于牛蒡苷的分离富集。

关键词: 大孔吸附树脂;牛蒡子;牛蒡苷;吸附;分离
中图法分类号: R282.71;R284.2 **文献标识码:** A

Adsorption and separation properties of AB-8 resin for purifying arctinin

LU Lai-chun[1], ZHANG Rong[1], ZHOU Shi-wen[2], JIANG Xue-wen[1] ([1]Department of Pharmacy, [2]Base for Drug Clinical Trial, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To study the separation ability of AB-8 macroporous resin in the purification of arctinin in *Fructus arctii*. Methods HPLC was used to measure the content of arctinin, and the adsorption performance and the elution parameters were investigated. Results The optimal separation conditions were as follows: the concentration of Arctinin was 5.5 mg/ml with a flow rate of 2 BV/h, and 50% alcohol was used as eluant. The adsorption of Arctinin was 52.08 mg/g, and the elution ratio of arctinin was 93.8%, and the purity of arctinin reached 65.2%. Conclusion AB-8 resin can be used to refine the arctinin in the extraction of *Fructus arctii*.

Key words: macroporous resin; *Fructus arctii*; arctinin; adsorption; separation

牛蒡子为菊科植物Arctium lappa L.的果实,味辛、苦,性凉,其富含牛蒡苷(arctinin)、牛蒡苷元(l-arctigenin)等成分。现代医学研究表明:牛蒡子醇提物中有降血糖的作用,且治疗效果确切[1,2]。大孔吸附树脂为一种有机高分子共聚体,具有选择性好,吸附容量大,解吸容易,再生简便等优点,应用于苷类、黄酮类等成分的富集纯化有较好的效果[3,4]。本实验采用AB-8型大孔吸附树脂(弱极性)对牛蒡子中主要活性成分——牛蒡苷进行了纯化富集,并对吸附性能和洗脱参数进行了研究。

1 仪器与材料

岛津LC-10AT高效液相色谱仪(日本);牛蒡子药材为菊科植物Arctium lappa L.的果实(购自重庆桐君阁中药批发有限责任公司,产地四川,由重庆市药检所鉴定);牛蒡苷对照品(购自中国药品生物制品检定所,供含量测定用);AB-8型大孔吸附树脂(南开大学化工厂);重蒸水自制,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 含量测定

本品含量测定流动相的选择参照中国药典2005年版二部牛蒡子含量测定项下方法进行测定。

2.1 色谱条件

C_{18}色谱柱(Diamonsil™ ODS 5 μm, 4.6 mm × 250 mm);流动相为甲醇:水(1:1.1);测定波长280 nm;流速1 ml/min。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取在P_2O_5干燥器中减压干燥24 h的牛蒡苷对照品13.92 mg,精密称定,置25.0 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,制成浓度为556.8 μg/ml的牛蒡苷对照品贮备液;于冰箱4 ℃保存备用。

2.3 专属性实验

取不同批次的牛蒡苷醇提液,分别进样,记录色谱图,在杂质最多的色谱图中,牛蒡苷与其他杂质峰的分离度不小于1.2,经二极管阵列检测器检测,牛蒡苷峰为单一色谱峰,故本系统

作者简介:卢来春(1973-),男,山东省莱芜市人,博士研究生,主管药师,主要从事药物新剂型方面的研究,发表论文10余篇。电话:(023)68774770, E-mail:lulaicq@163.com
通讯作者:周世文,电话:(023)68755311
收稿日期:2006-10-30;修回日期:2006-11-20

对牛蒡苷的专属性较好，杂质无干扰。

2.4 线性范围考察

分别精密量取对照品贮备液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 ml，置 10 ml 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，制成各含牛蒡苷 55.7、111.4、222.8、334.2、445.6 μg/ml 的系列标准溶液，照上述色谱条件，进样 10 μl，记录色谱图，以样品量 C 为横坐标，峰面积 A 为纵坐标，绘制标准曲线，计算得回归方程为：

$A = 36\,369 + 211\,719.6C$，$r = 0.9993$，线性范围为 0.557～4.456 μg。

2.5 精密度实验

分别取 55.7、222.8、445.4 μg/ml 3 种系列浓度的对照品溶液，于 1 d 内分别进样 5 次及 5 d 内分别进样 5 次；由标准曲线回归方程分别计算日内、日间相对标准偏差，见表 1。

表 1 精密度实验结果（%，$n=5$）

浓度（μg/ml）	日内 RSD	日间 RSD
55.7	1.12	1.33
222.8	1.30	1.24
445.4	1.25	1.36

2.6 样品溶液的制备

称取牛蒡子粗粉 100 g，用石油醚脱脂后，以 70% 乙醇，8 倍量回流提取 3 次，每次 1 h，合并提取液，减压回收乙醇，得牛蒡子醇提物，加 20% 乙醇，充分搅拌，超声处理 20 min，使其充分溶解，过滤至 1 000 ml 量瓶中，加流动相定容至刻度，即得样品溶液，于冰箱 4 ℃保存备用。

精密量取本品 1.0 ml，用流动相稀释至 2.0 ml，吸取样品稀释溶液 10 μl，注入高效液相色谱仪，测定牛蒡苷含量，计算牛蒡苷浓度为 5.5 mg/ml。

2.7 样品溶液稳定性实验

取 2.6 项下样品溶液，在 12 h 内每隔 3 h 进样测定 1 次，测得供试品溶液中牛蒡苷的峰面积 RSD 为 1.12%，结果表明在 12 h 内样品溶液稳定性较好。

2.8 重复性实验

按 2.6 项下取同一批样品，平行制备 5 份样品溶液，分别进样，测得峰面积 RSD 为 1.26%，表明该法重复性较好。

3 工艺条件与参数优化

3.1 大孔吸附树脂的预处理

大孔吸附树脂用 95% 乙醇浸泡 24 h，装柱后用 95% 乙醇洗至流出液与水混合不产生混浊，再继续洗至流出液无异味，改用大量水洗至无醇味，备用。

3.2 大孔吸附树脂对牛蒡苷的静态吸附实验

精密称取已处理好的 AB-8 型大孔吸附树脂适量（相当于干树脂 1.0 g），置 100 ml 锥形瓶中，精密加入牛蒡苷样品液（浓度为 5.5 mg/ml）10 ml，每隔 5 min 振摇 10 s，持续 2 h，然后静置 24 h，使其达到饱和吸附后过滤，测定滤液中牛蒡苷浓度。按下式计算比吸附量：比吸附量 =［（吸附液初始浓度 − 吸附平衡后浓度）× 吸附液体积］/树脂质量（mg/g）。对达到吸附饱和的树脂用 10 ml 90% 乙醇解吸，于 25 ℃在恒温振荡器中振荡 5 h，过滤，取滤液定容，测定滤液中牛蒡苷浓度。计算解吸率，结果见表 2。

表 2 AB-8 型大孔树脂静态饱和吸附量测定结果（$n=3$）

编号	平均比吸附量（mg/g）	平均解吸率（%）
1	52.25	98.53
2	52.32	98.13
3	51.66	97.93
平均	52.08	98.20

3.3 大孔吸附树脂对牛蒡苷的动态吸附实验

将 3 份浓度为 5.5 g/ml 的样品水溶液分别缓缓加入装有适量 AB-8 型树脂的层析柱（相当于干树脂 20 g）中，进行动态吸附，控制流速分别为 1、2、3 BV/h（BV 为柱体积），每 10 ml 收集 1 次流份，测定每个流份的牛蒡苷含量，绘制 3 种流速的动态吸附曲线，结果见图 1。并计算 AB-8 树脂对牛蒡苷的动态比吸附量，结果见表 3。

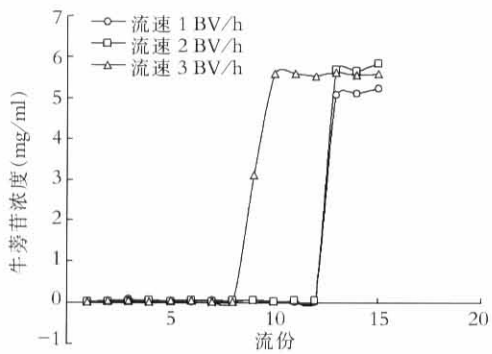


图 1 3 种流速下 AB-8 型大孔吸附树脂对牛蒡苷的动态吸附曲线

图 1 示：当流速为 1 BV/h 时，树脂从第 13 份开始有泄露。当流速为 2 BV/h 时，树脂亦从第 13 份开始有泄露。当流速为 3 BV/h 时，树脂从第 9 份开始有泄露。结果显示：流速为 2 BV/h 时大孔树脂对牛蒡苷的吸附量与流速为 1 BV/h 流速时大孔树脂对牛蒡苷的吸附量相当，具有较高的实用价值。流速为 3 BV/h 时，大孔树脂对牛蒡苷的吸附量较小，未能发挥出树脂的吸附性能。

表 3 不同流速下 AB-8 型大孔吸附树脂对牛蒡苷比吸附量的影响

编号	流速（BV/h）	泄露份数	泄露时浓度（mg/ml）	比吸附量（mg/g）
1	1	13	5.10	33.52
2	2	13	5.68	32.67
3	3	9	3.10	24.35

由表 3 可知，AB-8 型树脂对牛蒡苷的吸附以 2 BV/h 的流速为较好，与图 1 的结果一致，此时吸附流速较为适中，比吸附量较大，能满足大生产的需要。

3.4　上样液浓度的确定

用不同浓度的牛蒡苷提取物水溶液进行吸附实验，结果见图 2。由图 2 可知牛蒡苷浓度是影响树脂吸附性能的重要因素之一，浓度高于 5.5 g/ml 时，比吸附量显著下降；但是浓度过低，不便于上样，为便于工业化生产，以 5.5 g/ml 为宜。样品溶液中牛蒡苷浓度为 5.5 mg/ml 为宜。

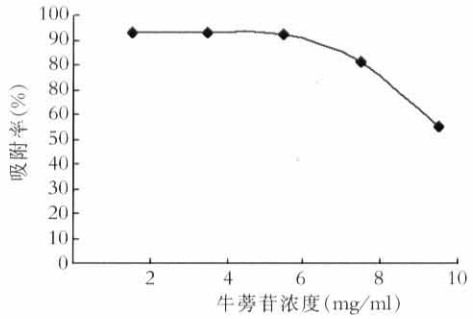


图 2　不同的上样浓度对吸附率的影响

3.5　脱溶剂的确定

按上述条件将已吸附好样品的树脂依次用水、30%、50%、70%、90% 乙醇洗脱，测定洗脱液中牛蒡苷浓度，计算洗脱率。结果水中几乎检不出牛蒡苷，30% 乙醇洗脱液中牛蒡苷含量也很低，50% 乙醇洗脱液中牛蒡苷含量最高，4 倍柱体积的 50% 乙醇可以洗出 93.8% 的牛蒡苷。故确定 50% 乙醇为最佳洗脱剂。

3.6　洗脱曲线的考察

按上述所确定的吸附和洗脱条件，取样品溶液进行上柱、吸附，先用水洗脱除去水溶性的杂质，洗至洗脱液无色时，用去 3 BV 的水，经 TLC 检查，牛蒡苷未泄漏；再用 50% 乙醇洗脱，洗脱速度 2 BV/h，分段收集 50% 乙醇洗脱液。每个树脂体积（湿体积）收集 1 份，共收集 8 份。分别测定牛蒡苷含量，绘制洗脱曲线见图 3。图 3 示：第 4 份洗脱液中牛蒡苷含量明显降低，可认为树脂柱上吸附的牛蒡苷已洗脱完全，故确定洗脱剂用量为 4 倍树脂体积。

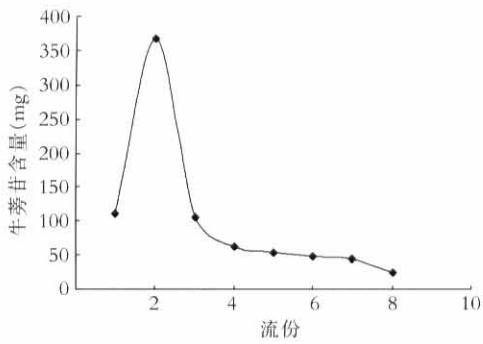


图 3　牛蒡苷的 50% 乙醇洗脱曲线

3.7　树脂重复使用次数的考察

按上述确定吸附、洗脱条件，取 5.5 mg/ml 样品溶液在同一根柱子上重复上柱、吸附和洗脱，共计 3 次，分别计算牛蒡苷吸附量，3 次牛蒡苷比吸附量分别为 33.4、31.2、21.5 mg/g。由此可知，树脂重复使用 2 次后，对牛蒡苷的吸附量明显下降，需要再生才可继续使用。

3.8　验证实验

精密吸取 5.5 mg/ml 样品溶液 100 ml 上柱，平行 3 份，分别用 3 BV 水、4 BV 50% 乙醇洗脱，洗脱速度 2 BV/h，收集 50% 乙醇洗脱液，测定牛蒡苷含量和固形物重量，结果见表 4。

表 4　验证实验结果

编号	牛蒡苷量(mg)	固形物量(mg)	牛蒡苷纯度(%)
1	535.6	963.3	55.6
2	527.3	991.2	53.2
3	529.1	933.2	56.7
平均	530.7	961.4	55.2

4　讨论

实验表明，AB-8 型大孔吸附树脂对牛蒡苷有较大静态吸附量，也容易解吸附，表现出较好的综合分离纯化能力；同时，其动态吸附-脱附性能也较好，满足工业大生产的需要，可以用于牛蒡子中牛蒡苷的分离纯化。

随着吸附-洗脱次数的增加，残留在树脂上而不能被洗脱下来杂质会增加，使吸附力减弱或丧失，因此使用一段时间后，必须对树脂进行再生处理。在吸附-洗脱稳定性实验中，随着周期的增加，牛蒡苷纯度和收率均呈下降趋势，当使用 2 个周期后，对牛蒡苷的吸附量明显下降，提示重复使用 2 次以后应对树脂进行再生。

动态吸附的比吸附量低于静态吸附，这可能与动态吸附过程中药液在树脂上的停留时间大大缩短有关，从而影响了树脂的吸附率，其具体机制有待进一步研究。

参考文献：

[1] 徐朝晖，李　婷，邓　毅，等. 牛蒡子提取物的降血糖作用[J]. 中草药，2005，36(7)：1043－1045.

[2] 王海颖，陈以平. 牛蒡子及其提取物对大鼠肾皮质糖基化终产物的影响[J]. 上海中医药大学学报，2004，18(3)：48－51.

[3] 江涛涛，欧阳臻，缪亚东，等. 大孔树脂吸附纯化何首乌中二苯乙烯苷的研究[J]. 中国中药杂志，2006，31(8)：646－649.

[4] 李剑君，李稳宏，高　新，等. AB-8 型大孔吸附树脂吸附葛根素过程的研究[J]. 西安交通大学学报，2000，34(4)：78－81.

（编辑　汪勤俭）