

膜分离与树脂法联用提取分离胡芦巴总苷的研究

李季文, 景 明*

(甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] 目的: 采用超滤与大孔树脂吸附技术联用提取分离胡芦巴药材中的胡芦巴总皂苷。方法: 用一定浓度的乙醇提取, 药液先进行大孔树脂吸附, 再经超滤器分离, 对提取物进行有效成分含量分析。结果: 膜技术与树脂法的联用是中药胡芦巴精制的有效方法。结论: 膜技术与树脂法的联用技术为进一步开发利用胡芦巴药用资源提供依据和参考。

[关键词] 膜分离; 大孔树脂吸附; 胡芦巴总皂苷; 提取分离

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0012-02

胡芦巴具有温肾、祛寒、止痛等功效, 用于肾脏虚冷、小腹冷痛、小肠疝气、寒湿脚气^[1]。胡芦巴种子的化学成分复杂, 含有甾体皂苷、三萜皂苷、黄酮、油脂、香豆素、生物碱等多种化学物质。其中胡芦巴皂苷为降糖的有效部位, 薯蓣皂苷是胡芦巴起降糖作用的主要有效成分之一^[2,3]。本文采用超滤技术与树脂吸附技术联用的方法, 对中药胡芦巴的提取分离、纯化进行研究, 旨在为进一步开发利用胡芦巴药用资源走出一条新路。

1 仪器与试剂

Agilent1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦); KT-350W 超声波清洗器(江苏昆山超声技术有限责任公司); BS110 电子天平(北京塞多利斯仪器有限公司); TP10-20 型中空纤维超滤器(南京凯米科技膜技术有限公司, 聚砜膜膜截留分子量 < 10000 道尔顿); D-101 型大孔吸附树脂(天津市海光化工有限公司); 薯蓣皂苷元对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110648-200708); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。实验中所用药材为胡芦巴(*Trigonella foenum-graecum* L) 的干燥成熟种子, 经甘肃中医学院药学系李成义教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (84: 16); 检测波长: 203 nm; 流量: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 25 °C。塔板数以薯蓣皂苷元计, 不低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取薯蓣皂苷元对照品 5.46 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得(每 1 mL 含薯蓣皂苷元 0.546 mg)。

2.3 线性关系考察 精密称取薯蓣皂苷元对照品, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 即为对照品储备液(4.21 mg·mL⁻¹)。精密吸取此储备液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液。精密吸取 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品进样量(μg) 为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线并进行线性回归, 得回归方程: $Y = 35.8X + 407.6$, $r = 0.9996$ 。结果薯蓣皂苷元在 (1.684 ~ 10.104) μg 范围内与其色谱峰面积呈良好线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取薯蓣皂苷元对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 连续进样 5 次, 测得薯蓣皂苷元峰面积积分值的 RSD = 1.09% ($n = 5$)。

2.5 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 注入液相色谱仪中, 测定薯蓣皂苷元的峰面积, RSD 1.47%。结果表明, 本品在 24 h 内稳定。

2.6 重复性试验 取同一批样品(甲) 5 份, 平行制备供试品溶液, 各取 10 μL 进样测定, 结果薯蓣皂苷元的平均含量为 2.65%, RSD = 1.93% ($n = 5$)。表明本方法的重复性较好。

2.7 加样回收率试验 取已知含量(甲, 含量 2.65%) 的样品, 研细, 精密称取 6 份, 分别精密加入薯蓣皂苷元对照品溶液(4.21 mg·mL⁻¹) 1 mL, 以本法测定含量并计算加样回收率, 结果见表 1。

[收稿日期] 2008-04-14

[通讯作者] * 景 明, Tel: (0931) 8765459

表 1 回收率试验结果

样品	取样量 (g)	样品中含 量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.151 9	4.025 3	4.21	8.176 8	98.21		
2	0.152 1	4.030 6	4.21	8.137 0	97.54		
3	0.149 3	3.956 4	4.21	8.204 3	100.9		
4	0.149 1	3.951 1	4.21	8.082 4	98.13	98.53	1.11
5	0.151 7	4.020 1	4.21	8.131 6	97.66		
6	0.150 9	3.998 9	4.21	8.155 0	98.72		

3 胡芦巴总皂苷的制备

3.1 吸附-超滤前药液的制备 称取胡芦巴药材粉末(过 2 号筛) 100 g, 每次以 8 倍量 70% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 1 h, 合并乙醇提取液, 减压回收至无乙醇味加入一定量的蒸馏水, 使浓度为 30% (生药量 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 滤过, 将滤液平均分成甲、乙、丙 3 等份。

3.2 树脂吸附法制备胡芦巴总皂苷 甲份滤液 100 mL 加至 7.5 g(相当于干树脂) D-101 型大孔树脂柱上, 先以水洗, 至洗出液无色, 再以 4 倍树脂体积的 70% 乙醇洗脱, 至薯蓣皂苷基本洗脱完全, 收集洗脱液, 回收乙醇, 减压浓缩, 减压干燥, 得胡芦巴总皂苷甲。

3.3 超滤法制备胡芦巴总皂苷 乙份滤液过超滤器超滤, 得超滤液, 将超滤液减压浓缩, 减压干燥, 得胡芦巴总皂苷乙。

3.4 树脂吸附与超滤联用制备胡芦巴总皂苷 丙份滤液同“3.2”项下方法处理, 收集洗脱液, 洗脱液经超滤器超滤, 得超滤液, 将超滤液减压浓缩, 减压干燥, 得胡芦巴总皂苷丙。

3.5 样品含量测定 分别精密称取胡芦巴总皂苷甲、乙、丙粉末(过五号筛)约 0.3 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加入 $3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 20 mL 使溶解, 水浴中加热水解 3 h。取出, 放冷, 加入三氯甲烷 30 mL, 加热回流 15 min, 再用三氯甲烷 30 mL, 同法处理 1 次, 滤过, 收集滤液, 用三氯甲烷 30 mL 洗涤容器及

残渣, 合并三氯甲烷液, 回收三氯甲烷至干, 残渣加甲醇溶解并转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取 1 mL 至 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 精密吸取滤液依法测定, 结果见表 2。

表 2 不同工艺总皂苷中薯蓣皂苷元的含量

总皂苷	纯化物得率 (%)	薯蓣皂苷元含量 (%)	薯蓣皂苷元得量 (mg)
甲	9.87	2.65	87.18
乙	5.53	4.57	84.23
丙	3.15	7.72	81.05

4 讨论

胡芦巴提取液经大孔树脂吸附精制后, 使污染超滤膜的成分大大降低, 是超滤应用很有效的预处理方法, 而且超滤能起到进一步精制的作用, 提高有效成分的含量, 清除树脂的脱落微粒。两者结合, 能制备得到常规方法难以制备的有效成分高含量的提取物。

超滤技术对中药水溶性(大极性)大分子的分离有极大的优势。它不需要加热, 不需要添加化学试剂, 无二次污染^[4], 又具有一定脱色作用。超滤膜可以有效去除微粒、热原、微生物, 提高制剂的质量及其稳定性、安全性。

[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, 2005. 167.
- [2] 何汉德, 唐道生. 中药胡芦巴的研究(I)[J]. 基层中药杂志, 2000, 14(1): 35.
- [3] 李宗友. 胡芦巴的抗糖尿病和降胆固醇作用[J]. 国外医学·中医中药分册, 1999, 21(4): 9015.
- [4] 严希康. 膜分离技术及其在生物工程中的应用[J]. 中国医药工业杂志, 1995, 26(10): 427.
- [5] 冯年平. 膜分离技术及其在中药研究中的应用[J]. 中草药, 1996, 18(2): 47.