

# 岩白菜中岩白菜素的纯化及提取工艺研究\*

刘海周, 孙海林, 李文军, 梁晓原<sup>△</sup>

(云南中医学院, 云南昆明 650500)

〔摘 要〕目的: 优选岩白菜中岩白菜素最佳提取工艺并考察其纯化方法。方法: 用紫外-可见分光光度计测定岩白菜素的含量为指标, 考察了影响大孔吸附树脂纯化及醇提工艺的主要因素。结果: 确定岩白菜的最佳提取工艺条件为 10 倍量 50% 的乙醇, 回流提取 3 次, 每次 0.5h, 最佳的纯化条件为每克 D-101 树脂(干重)最大上样量 2.5g 原生药材, 上样静置吸附 30min 后用 6 倍柱床体积 20% 的乙醇洗脱。结论: 在该提取及纯化的最佳参数组合下, 岩白菜素的含量达 14.023%, 结果可靠。

〔关键词〕岩白菜; 岩白菜素; 提取纯化工艺

中图分类号: R241 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2011)02-0022-04

岩白菜为虎耳草科岩白菜属植物岩白菜 *Bergama purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl. 的干燥根茎, 主要分布于滇西北、滇中、滇东北各地, 四川西部、西藏东南部也有分布, 最早载于清《分类草药性》, 具有滋补强壮、止血、止咳等功效<sup>[1-2]</sup>。岩白菜主要有效成分岩白菜素属于异香豆精类化合物, 具有良好的镇咳、祛痰、抗炎、护肝、抗病毒和神经保护等作用, 现已广泛应用于临床, 主要用于慢性支气管炎的治疗<sup>[3]</sup>。本文考察了岩白菜中岩白菜素用大孔吸附树脂纯化的条件及最佳提取工艺条件, 预期为岩白菜资源的充分利用提供理论及技术支持, 为岩白菜这一重要民族药开发实现经济效益的最大化。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

UV-2450 紫外-可见分光光度计(岛津); Percisa XS-125A 型电子分析天平(瑞士产); BU-CHI-R-200 旋转蒸发仪(瑞士产)等。

### 1.2 材料

甲醇、乙醇(均为分析纯), 水(去离子水), D-101 大孔吸附树脂(天津农药股份有限公司树脂分公司生产)。岩白菜样品(同一批次)由本院杨树德副教授鉴定为虎耳草科岩白菜属植物岩白菜

*Bergama purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl. 的干燥根茎, 粉碎过 40 目筛, 置于阴凉处备用。岩白菜素对照品(供含量测定用, 批号: 111532-200202)购于中国药品生物制品检定所。

## 2 试验方法与结果

### 2.1 岩白菜素的纯化方法考察

根据预实验采用萃取法纯化岩白菜素难以实现, 故用大孔吸附树脂进行纯化, 主要考察了洗脱剂的浓度、洗脱剂的用量、树脂的最大吸附量及最佳吸附时间等因素。

#### 2.1.1 岩白菜素粗提取物的制备

称取岩白菜粗粉 10.0g, 加 60% 乙醇 100mL, 回流提取两次, 第 1 次 1h, 第 2 次 0.5h, 合并所得滤液, 低温减压浓缩至干, 备用。

#### 2.1.2 洗脱剂浓度的选择

取 2.1.1 项下岩白菜提取物适量, 加水定容至 10mL 转移至大孔吸附树脂柱中, 静置吸附后用水洗脱至流出液无色, 弃去水洗部分, 分别用 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 95% 的乙醇液进行洗脱, 收集各洗脱液浓缩作为供试品溶液。另取岩白菜素对照品溶液, 照薄层色谱法实验, 吸取上述各溶液 5 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿:乙酸乙酯:甲酸(5:4:2)为

\* 收稿日期: 2010-04-30 修回日期: 2010-12-07

作者简介: 刘海周(1982~), 男, 云南曲靖人, 2008 级硕士研究生, 从事超临界二氧化碳流体萃取中药中有效成分及中药质量控制研究工作。 $\Delta$  通讯作者: 梁晓原, E-mail: liangxiaoyuan169@163.com

展开剂展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (254nm) 下检视。结果见表 1 所示, 结合紫外测定得最佳洗脱剂浓度为 20% 乙醇。

表 1 洗脱溶剂极性的考察

| 洗脱溶剂 | 洗脱溶剂量<br>/BV | 与对照品相应<br>位置处有无斑点 |
|------|--------------|-------------------|
| 水    | 6            | 无                 |
| 10%  | 6            | 有, 明显             |
| 20%  | 6            | 有, 明显             |
| 30%  | 6            | 无                 |
| 40%  | 6            | 无                 |
| 50%  | 6            | 无                 |
| 60%  | 6            | 无                 |
| 70%  | 6            | 无                 |
| 80%  | 6            | 无                 |
| 95%  | 6            | 无                 |

注: BV 为柱床体积 =  $\pi r^2 \times h \approx 50\text{mL}$

2.1.3 洗脱溶剂用量的考察选择

取 2.1.1 项下岩白菜提取物适量, 加水定容至 10mL 转移至大孔吸附树脂柱中, 静置吸附后用水洗脱至流出液无色, 弃去水洗部分, 接着分别收集 0~3BV、3~4BV、4~5BV、5~6BV、6~7BV 的 20% 乙醇洗脱液。取各部分洗脱液 0.1mL 置 10mL 容量瓶中稀释摇匀, 并定容至刻度, 于波长 274nm 处测定吸收度, 计算出岩白菜素的含量。结果第 6~7BV 洗脱液经紫外和薄层色谱鉴别不含岩白菜素, 紫外结果见表 2 所示, 最佳洗脱溶剂用量为柱床体积的 6 倍。

表 2 最佳洗脱溶剂用量的考察

| 洗脱溶剂<br>用量/BV | 吸收值   | 浓度/ $\mu\text{g/mL}$ | 含量/g   |
|---------------|-------|----------------------|--------|
| 0~3           | 0.403 | 17.973               | 0.270  |
| 3~4           | 0.148 | 6.725                | 0.036  |
| 4~5           | 0.023 | 1.211                | 0.006  |
| 5~6           | 0.004 | 0.018                | 0.0001 |
| 6~7           | 0     | 0                    | 0      |

2.1.4 最大吸附量的考察

将浓度为  $C_0$  (0.2g/mL) 的岩白菜样品液适量通过树脂柱 (树脂干重  $M$  为 10g), 使其充分吸

附至饱和后, 结果测定残留液中岩白菜素的浓度  $C_1$  为 0.137g/mL, 所用样品液体积  $V$  为 400mL。根据吸附量 (g/g) =  $(C_0 - C_1) \times V/M$  计算得到最大吸附量为 2.5g 生药/g 干树脂。

2.1.5 最佳吸附时间的考察

取 2.1.1 项下岩白菜提取物适量, 加水定容至 10mL 转移至大孔吸附树脂柱中, 静止吸附后用水洗脱至流出液无色, 弃去水洗部分, 分别静止吸附 20min, 30min, 40min, 50min, 60min, 70min 后用水洗脱至流出液无色, 弃去水洗部分, 再用 20% 乙醇洗脱, 收集洗脱液 300mL, 取出 0.1mL 置 10mL 容量瓶中稀释摇匀, 并定容至刻度, 于波长 274nm 处测定吸收度, 计算出岩白菜素的含量。结果见表 3 所示, 最佳吸附时间为 30min。

表 3 最佳吸附时间的考察

| 编号       | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 吸附时间/min | 20    | 30    | 40    | 50    | 60    | 70    |
| 吸收值      | 0.475 | 0.539 | 0.511 | 0.467 | 0.433 | 0.538 |

2.2 岩白菜醇提工艺的考察

2.2.1 岩白菜素含量测定方法学考察

2.2.1.1 标准曲线的绘制

精密称量 3.0mg 岩白菜素对照品置于 50mL 容量瓶中, 加甲醇溶解, 并定容至刻度, 得到 60 $\mu\text{g/mL}$  的岩白菜素对照品溶液。精密量取 1.0mL 置 10mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀。以甲醇为空白, 在 200~500nm 波长段扫描, 结果岩白菜素在 274nm 处有较好吸收, 故选 274nm 作为岩白菜素的测定波长。如图 1 所示。

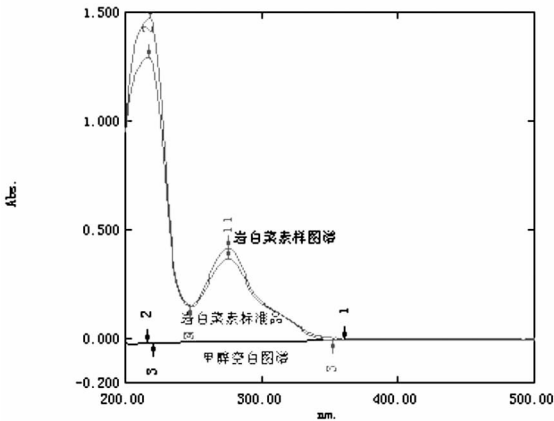


图 1 岩白菜素紫外扫描图

精密量取上述对照品溶液 1.5mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL、5.5mL 分别置 10mL 容量瓶中，用甲醇摇匀，定容至刻度。分别以甲醇为空白对照（如图 1 所示），在 274nm 波长处测定吸收度。以纵坐标作为吸收度，以横坐标作为浓度，制定标准曲线，得到标准曲线为  $y = 0.02267c - 0.00445$  ( $r = 0.99986$ )。结果表明岩白菜素对照品在 9.0μg/mL ~ 33.0μg/mL 范围内线性关系良好。

2.2.1.2 供试样品溶液的制备

取岩白菜粉末（40 目）9 份，每份 5.0g，分别按照正交试验设计项下条件进行提取，合并提取液，回收溶剂，用蒸馏水定容到 10mL，转移至大孔吸附树脂柱中，使其静止 30min 后用 300mL 去离子水洗脱至流出液无色，弃去水洗部分，再用 20% 乙醇洗脱，收集洗脱液 300mL，取洗脱液 0.1mL 置 10mL 容量瓶中稀释摇匀，并定容至刻度，于波长 274nm 处测定吸收度，计算出岩白菜素的含量。

2.2.1.3 正交设计

采用  $L_9(3^4)$  进行正交设计，以岩白菜素含量作为指标，对乙醇浓度、乙醇用量、提取时间、提取次数等四个因素进行实验（每组平行 3 次），优选较佳工艺，因素水平表见表 4， $L_9(3^4)$  正交试验结果见表 5，方差分析见表 6。

表 4 正交实验因素水平表

| 水平 | 因 素          |             |              |            |
|----|--------------|-------------|--------------|------------|
|    | A 乙醇<br>浓度/% | B 乙醇<br>量/倍 | C 提取<br>时间/h | D 提取<br>次数 |
| 1  | 40           | 6           | 0.5          | 1          |
| 2  | 50           | 8           | 1.0          | 2          |
| 3  | 60           | 10          | 1.5          | 3          |

由岩白菜素提取率的正交试验直观分析及方差分析可以得知，提取次数有较显著性影响，而乙醇浓度、乙醇用量及提取时间影响不显著，因素的影响顺序为：提取次数 > 乙醇浓度 > 溶媒量 > 提取时间。结合直观分析结果，岩白菜较佳提取工艺为： $A_2B_3C_1D_3$ ，即 10 倍量 50% 的乙醇，回流提取 3 次，每次 0.5h。

2.2.2 优选工艺的验证实验

为进一步考察上述优选工艺的可行性，按上述

最佳工艺条件进行验证实验，岩白菜素的含量分别为：13.82%，13.79%，14.25%，14.31%，13.97%，RSD 为 1.35%，证明该工艺可行。

表 5 岩白菜正交试验结果

| 试验<br>编号 | 因 素    |        |        |        | 岩白菜<br>素平均<br>得率/% |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------------------|
|          | A      | B      | C      | D      |                    |
| 1        | 1      | 1      | 1      | 1      | 9.10               |
| 2        | 1      | 2      | 2      | 2      | 12.83              |
| 3        | 1      | 3      | 3      | 3      | 12.86              |
| 4        | 2      | 1      | 2      | 3      | 13.20              |
| 5        | 2      | 2      | 3      | 1      | 10.50              |
| 6        | 2      | 3      | 1      | 2      | 13.80              |
| 7        | 3      | 1      | 3      | 2      | 11.60              |
| 8        | 3      | 2      | 1      | 3      | 12.90              |
| 9        | 3      | 3      | 2      | 1      | 9.70               |
| k1       | 11.597 | 11.300 | 11.933 | 9.767  |                    |
| k2       | 12.500 | 12.077 | 11.910 | 12.743 |                    |
| k3       | 11.400 | 12.120 | 11.653 | 12.987 |                    |
| R        | 1.100  | 0.820  | 0.280  | 3.220  |                    |

表 6 方差分析表

| 方差<br>来源 | 离均差<br>平方和 | 自由度 | 方差     | F 值     | P     | 显著性 |
|----------|------------|-----|--------|---------|-------|-----|
| A        | 2.065      | 2   | 1.0325 | 14.241  | >0.05 |     |
| B        | 1.277      | 2   | 0.6385 | 8.807   | >0.05 |     |
| C        | 0.145      | 2   | 0.0725 | 1       | >0.05 |     |
| D        | 19.288     | 2   | 9.644  | 133.021 | <0.01 | *** |
| 误差 SS    | 0.14       | 2   | 0.0725 | 1       |       |     |

F0.05(2,2) = 19 F0.025(2,2) = 39.00 F0.01(2,2) = 99

3 结果与讨论

本实验考察出了大孔吸附树脂纯化岩白菜中岩白菜素的条件，并在该条件下对正交试验中所得提取物进行纯化，采用紫外可见分光光度计法进行含量粗控，优选出最佳的乙醇提取岩白菜中岩白菜素工艺条件为 10 倍量 50% 的乙醇，回流提取 3 次，每次 0.5h。

2010 版中华人民共和国药典<sup>[3]</sup> 仍采用紫外可见分光光度计法测定岩白菜素的含量，该方法具有操作简单、使用方便、价格便宜、重现性好等特

点,能够较好的初步控制岩白菜及其提取物的质量。

未见采用大孔吸附树脂纯化岩白菜中岩白菜素的报道,相关文献<sup>[4]</sup>也未对纯化用洗脱剂浓度及用量、吸附时间等主要因素进行考察。笔者通过用大孔吸附树脂纯化岩白菜素,发现该方法效果较好,用紫外测定岩白菜素的相关文献<sup>[5]</sup>岩白菜素的提取率仅为 4.38%,而本实验提取率达 14.023%,是其 3 倍多,这可能是与大孔吸附树脂纯化后得到的是一类以岩白菜素为主的有效部位及采用大孔吸附树脂纯化岩白菜素损失较少等因素有关。该方法值得进一步研究,有望实现工业化

生产。

[参考文献]

[1] 云南药物研究所. 云南重要天然药物 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2006: 276-283.

[2] 吕修梅, 王军宪. 岩白菜属植物的研究进展 [J]. 中药材, 2003, 26 (1): 58-60.

[3] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典 [S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 384.

[4] 胡文杰. 朱砂根岩白菜素纯化条件优化 [J]. 林业科技开发, 2008, 22 (4): 76-78.

[5] 彭永芳, 熊杰. 岩白菜素提取工艺的改进 [J]. 昆明师专学报, 1996, 11 (1): 46-49.

(编辑: 迟 越)

**Study on the Purification and Extraction Technology of Bergenin  
from the *Bergama purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl**  
LIU Hai - zhou, SUN Hai - lin, LI Wen - jun, LIANG Xiao - yuan<sup>△</sup>  
(Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500, China)

[ABSTRACT] Objective: To optimize the best Extraction process and to investigate its Purification Technology of Bergenin from the *Bergama purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl. Methods: To determine Bergenin content with UV - visible spectrophotometer as an indicator to study the main effect factors of influencing macro - reticular resin purification and ethanol extract technology. Results: Having determined the optimal extraction process of *Bergama purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl., which include extraction *Bergama purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl. with tenfold 50% ethanol three times, 0.5 hour per time, and best purification condition is that loading 2.5 grams net raw medicinal materials at most into D - 101 resin each gram and absorb 30mins and the procedure of elution is 6 times 20% ethanol the volume of columne. Conclusion: the content of Bergenin reached 14.023%, which based on The best parameters of purification and extraction, the results are reliable.

[KEY WORDS] *Bergenia purpurascens* (Hook. f. et Thoms.) Engl.; Bergenin; extraction and purification technology

云南中医学院学报欢迎网上投稿  
网址: [www.ynzyxyxb.cn](http://www.ynzyxyxb.cn)