

2.7.2 洗脱流速对解吸性能的影响：分别采用0.5、1、2 BV/h的洗脱流速对已吸附达饱和的树脂进行洗脱，定量取样，测定流出液中阿魏酸的质量浓度，见图7。结果表明，流速越慢洗脱效果越好，这主要是因为流速越慢越有利于阿魏酸在树脂和洗脱液间进行相扩散和膜扩散，从而达到溶解平衡。在0.5 BV/h的流速下，洗脱峰比较集中，4.5 BV的洗脱液就可达到洗脱完全，而1、2 BV/h流速的则分别为5 BV和8 BV，因而选择0.5 BV/h作为最佳洗脱流速。

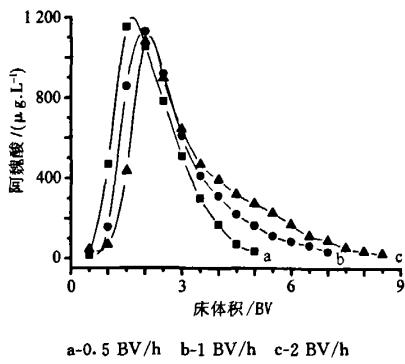


图7 洗脱液中阿魏酸质量浓度随床体积的变化

Fig. 7 Change of ferulic acid on contents in eluent with different bed volumes

2.8 产品的制备：在最佳的吸附和解吸条件下（含阿魏酸质量浓度为293.2 mg/L, pH 4.0, 吸附流速2 BV/h下，可处理样品溶液16 BV。在洗脱剂乙醇体积分数35%，洗脱流速0.5 BV/h的流速下，4.5 BV就可将阿魏酸充分洗脱下，过柱得率达到89.2%）对阿魏酸进行吸附和解吸，解吸液浓缩，真空低温干燥后取样测定阿魏酸的量。平行进行3次试验，结果产品中阿魏酸的平均质量分数为25.1%，而原料中仅为0.156%，见图8。可见所得产品与当归药材相比杂质峰明显减少，说明采用大孔树脂吸附法显著富集，纯化产品的效果良好。

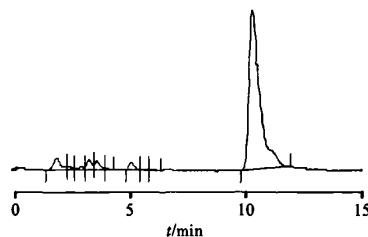


图8 纯化后产品的HPLC色谱图

Fig. 8 HPLC Chromatogram of purified product

3 讨论

虽然大孔树脂吸附作用的根本因素是吸附剂与树脂间的范德华力作用，但是具有酚羟基结构的阿魏酸易形成氢键，更有利于与极性树脂吸附^[4]。此外大孔树脂在实际应用中还有许多的问题需要解决，如大孔吸附树脂中残留物的去除、实际应用中树脂吸附能力下降或降解的问题、废弃树脂的处理等均需要更多的改进与研究。

实验中发现阿魏酸溶液在加入少量醋酸后能够抑制其分解，在乙醇或水溶液中不稳定，此外低温可使其稳定性增加，因此其提取液及纯化后产品要低温保存。

当归化学成分复杂，吸附阿魏酸后的流出液中还有许多药效成分，选择其他适宜型号的树脂对其他药效成分进行吸附纯化，以充分利用药材资源应该作为今后研究工作的重点。

参考文献：

- [1] 王芳, 李东. 当归的化学及药理研究进展[J]. 中国药房, 2003, 14(10): 630-631.
- [2] 李作平, 霍长虹. 大孔吸附树脂在水溶性天然药物化学成分提取分离中的应用[J]. 河北医科大学学报, 2002, 23(2): 121-123.
- [3] 于森, 于治国, 李昕昊, 等. 高效液相色谱法测定当归中阿魏酸的含量[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2004, 21(2): 96-97.
- [4] 李家政, 孙江晓, 史作清. 氢键吸附及其展望[J]. 离子交换与吸附, 2001, 17(6): 561-566.

大孔吸附树脂富集刺五加中紫丁香苷和刺五加总苷的研究

杨书良, 杨波, 田凤, 孙婷

(哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 富集刺五加中紫丁香苷和刺五加总苷。方法 以紫丁香苷和刺五加总苷为指标，考察D-101大孔吸附树脂分离纯化紫丁香苷和刺五加总苷的最佳吸附及洗脱条件。结果 富集紫丁香苷和刺五加总苷的工艺为样品溶液(0.2 g 药材/mL)以1 mL/min的上柱速度上柱，最大上样量为1 g 药材/g 树脂，弃去水洗脱液，收集5 BV 75%乙醇洗脱液，回收乙醇，浓缩干燥，即得。经D-101大孔吸附树脂处理后紫丁香苷和刺五加总苷提取率可达

89%以上,终产品中刺五加总苷质量分数可达14%以上。结论 本方法适合于刺五加中紫丁香苷和刺五加总苷的富集。

关键词: 刺五加;紫丁香苷;刺五加总苷;大孔吸附树脂

中图分类号:R286.1 文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)09-1327-04

刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* Harms 的干燥根及根茎,具有显著的扩张血管、降压和抗心肌缺血、脑缺血作用^[1,2]。刺五加主要含有刺五加总苷,包括紫丁香苷、刺五加苷 D、异秦皮啶等成分。因此本实验以紫丁香苷和刺五加总苷的量为指标,采用大孔吸附树脂法进行富集,从而确定刺五加中紫丁香苷和刺五加总苷的最佳富集工艺。

1 仪器与试药

UV-756型分光光度计(上海光谱仪器有限公司);美国戴安高效液相色谱仪,包括UVD340U二极管阵列检测器,ASI-100自动进样器,AL系列溶剂过滤器,PeakNet色谱工作站;超声波振荡提取器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);CP224S型分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

刺五加购自哈尔滨中药二厂,由哈尔滨商业大学张德连副教授鉴定为五加科植物刺五加 *A. senticosus* Harms 的干燥根及根茎或茎;紫丁香苷对照品(批号:111574-200201,供定量测定用),购自中国药品生物制品检定所;大孔树脂由南开大学提供;除高效液相用甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 大孔吸附树脂的预处理和再生:取大孔树脂湿法装柱保持液面高于大孔树脂,95%乙醇浸泡24 h。用2BV乙醇,以2BV/h的速度通过树脂层,并浸泡4~5 h。用乙醇以2BV/h的流速通过树脂层,洗至流出液加水不呈白色浑浊为止,并用水以同样流速洗净乙醇。用2BV的5%盐酸溶液,以4~6BV/h的流速通过树脂层,并浸泡2~4 h,而后用水以同样流速洗至出水pH值中性。用2BV的2%氢氧化钠溶液,以4~6BV/h的流速通过树脂层,并浸泡2~4 h,而后用水以同样流速洗至出水pH值中性,即得。

2.2 上柱样品液的制备:取刺五加粗粉适量,加20倍量蒸馏水,煎煮2次,每次3 h,合并煎液,滤过,滤液浓缩成原药材1/10的浸膏。临用时现溶解配制成0.2 g生药/mL的上柱样品溶液。

2.3 紫丁香苷 HPLC 测定方法的建立^[3]

2.3.1 色谱条件:美国迪马公司ODS C₁₈(200 mm ×

4.6 mm,5 μm);以甲醇-乙腈-水(10:10:80)为流动相;检测波长265 nm。理论板数按紫丁香苷峰计算应不低于2 000。

2.3.2 对照品溶液的制备:取紫丁香苷对照品1.2 mg,精密称定,置10 mL量瓶中,以甲醇超声溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,即得(含紫丁香苷0.12 mg/mL)。

2.3.3 供试品溶液的制备:取刺五加浸膏约0.2 g,精密称定,置10 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 标准曲线的绘制:精密吸取0.12 mg/mL紫丁香苷对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20 μL,分别进样,测定。以紫丁香苷进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,其回归方程为Y=33.083 X-0.1275,r=0.9999。结果表明紫丁香苷在0.024~2.400 μg与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.5 样品测定:分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液各10 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积积分值,按外标法计算紫丁香苷的质量浓度。

2.4 刺五加总苷测定方法的建立^[4]

2.4.1 标准曲线的绘制:精密吸取0.2 mg/mL紫丁香苷对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL,加水稀释定容于10 mL量瓶中,得系列紫丁香苷对照品溶液。以水为空白,在265 nm波长下测定吸光度。以质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,得回归方程为Y=0.0279 X+0.0457,r=0.9993,结果表明紫丁香苷在4~20 μg/mL与吸光度具有较好的线性关系。

2.4.2 样品测定:取刺五加药液加入等体积的石油醚萃取3次,弃去石油醚层,取水层加等体积的水饱和正丁醇萃取3次,取水饱和正丁醇层,减压浓缩至干,加水稀释适当倍数,以水为空白在265 nm波长下测定吸光度。将吸光度带入回归方程,计算刺五加总苷的质量浓度。

2.5 大孔吸附树脂型号的选择:分别精密称取2 g不同型号的大孔吸附树脂,加无水乙醇充分膨胀,用蒸馏水洗净,置三角瓶中,加0.2 g药材/mL的刺五加样品溶液25 mL,20 ℃恒温振摇24 h,分别取吸附前后的药液,测定紫丁香苷和刺五加总苷,计算,即可得不同型号树脂对紫丁香苷和刺五加总苷的比

吸附量[比吸附量=(吸附前药液中的质量-吸附后药液中的质量)/大孔树脂的质量]。吸附后的树脂用水洗至糖的反应呈现阴性,再加入95%乙醇10mL,20℃恒温振摇4h,取解吸前后药液,测定醇洗脱液中紫丁香苷和刺五加总苷的量,计算不同型号

树脂的洗脱率[洗脱率=洗脱液中有效成分的质量浓度/(吸附前药液中有效成分的质量浓度-吸附后药液中有效成分的质量浓度)],结果见表1和2。可见以D-101型大孔吸附树脂为优,最后选用近年使用较多的D-101大孔吸附树脂^[5]。

表1 不同型号大孔吸附树脂对紫丁香苷的吸附和洗脱的影响(n=3)

Table 1 Effect of different kinds of macroporous adsorption resins on absorption and eluting of springin (n=3)

树脂型号	吸附前药液中紫 丁香苷/mg	吸附后残余中紫 丁香苷/mg	比吸附量/ (mg·g ⁻¹)	洗脱液中紫丁 香苷/mg	洗脱率/%
D-101	0.293 4	0.079 2	0.107 1	0.212 2	99.1
AB-8	0.293 4	0.115 1	0.089 2	0.168 1	94.3
X-5	0.293 4	0.153 7	0.069 9	0.123 7	88.5
NKA-9	0.293 4	0.260 3	0.016 6	0.030 3	91.5

表2 不同型号大孔吸附树脂对刺五加总苷的吸附和洗脱的影响(n=3)

Table 2 Effect of different kinds of resins on absorption and eluting of total eleutheroside (n=3)

树脂型号	吸附前药液中刺五 加总苷/mg	吸附后残余中刺五 加总苷/mg	比吸附量/ (mg·g ⁻¹)	洗脱液中刺五加 总苷/mg	洗脱率/%
D-101	1.352 1	0.369 7	0.491 2	0.848 8	86.4
AB-8	1.352 1	0.538 2	0.407 0	0.672 4	82.6
X-5	1.352 1	0.729 5	0.311 3	0.494 8	79.5
NKA-9	1.352 1	1.195 9	0.078 1	0.121 2	77.6

2.6 动态吸附曲线的考察:取已处理D-101型大孔树脂10g,湿法装入色谱柱(30cm×2cm)中,样品溶液(0.2g药材/mL)以1mL/min的上柱速度上柱^[6],用试管收集过柱流出液,每10mL一管,收集20管,测定其中紫丁香苷和刺五加总苷,结果见图1。结果表明,从第5管以后,紫丁香苷泄漏量开始显著增大,说明树脂柱此时不能完全吸附药液中的紫丁香苷和刺五加总苷。为了紫丁香苷和刺五加总苷保留完全,设定紫丁香苷未吸附率10%、刺五加总苷未吸附率20%为泄露点,据此确定50mL作为最大上样量,相当于最大上样量以紫丁香苷计为0.76mg/g树脂,以刺五加总苷计为7.84mg/g树脂,以刺五加药材计1g药材/g树脂。

阴性后,依次以5倍柱体积35%、55%、75%、95%乙醇分次洗脱,收集各段洗脱液,每柱体积收集1份,经适当稀释后,测定其中紫丁香苷和刺五加总苷。以洗脱率为横坐标,以依次收集各段洗脱液的次序为横坐标作图,结果表明,75%乙醇可将99%以上的紫丁香苷和刺五加总苷洗脱下来,因此确定以75%乙醇为洗脱溶媒。

2.8 洗脱溶剂量的考察:以最大上样量刺五加药材提取液过已预处理的树脂柱,水洗至糖的反应为阴性后,以10倍柱体积75%乙醇洗脱树脂柱,收集洗脱液,每柱体积收集1份,经适当稀释后,测定其中紫丁香苷和刺五加总苷,见表3。结果表明,5倍柱体积75%乙醇可洗脱吸附的99%以上的紫丁香苷和刺五加总苷,因此确定以5倍柱体积75%乙醇为洗脱溶媒。

2.9 大孔树脂再生周期的考察:对同一树脂柱进行10次吸附、洗脱试验,测定树脂对紫丁香苷和刺五加总苷的重复吸附能力,筛选最佳的大孔吸附树脂再生周期^[7]。以吸附率为纵坐标,吸附洗脱次序为横坐标,结果见图2。可见树脂在多次使用后吸附分离效能降低,结合实际生产成本考虑,筛选D-101大孔吸附树脂的最佳再生周期为5次。然后,进行树脂的再生操作,使其可以循环使用。

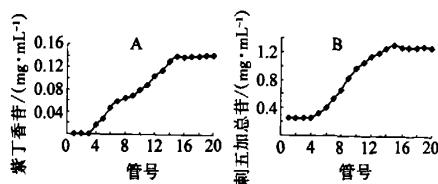


图1 紫丁香苷(A)和刺五加总苷(B)在树脂上的泄漏曲线

Fig. 1 Leaking curve of springin (A) and total eleutheroside (B) on resins

2.7 洗脱溶剂种类的考察:将最大上样量刺五加药材提取液通过已处理的树脂柱,水洗至糖的反应为

表3 洗脱溶媒用量对紫丁香苷和刺五加总苷洗脱率的影响

Table 3 Effect of eluent volume on eluting rate of springin

柱体积	紫丁香苷洗脱率/%	刺五加总苷洗脱率/%
1	45.17	50.71
2	42.12	36.42
3	9.11	6.85
4	2.15	3.89
5	1.45	2.03
6	0	0.02
7	0	0.01
8	0	0.01
9	0	0.01
10	0	0.01

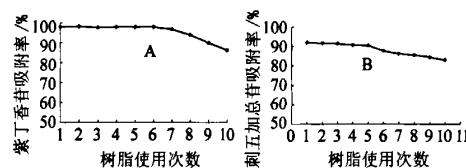


图2 以紫丁香苷(A)和刺五加总苷(B)为指标 D-101 树脂再生周期的考察

Fig. 2 Evaluation of regeneration period of D-101 resin taking absorptive rate of springin (A) and total eleutheroside (B) as indexes

2.10 验证试验: 取刺五加 200 g 粉碎成粗粉, 加水 4 L 煎煮两次, 每次 3 h, 合并煎液, 滤过, 滤液浓缩成浸膏 20 g, 加水溶解, 离心。沉淀再以适量水加热溶解, 离心; 合并两次上清液, 加水至 1 000 mL, 上 D-101 型大孔吸附树脂柱, 水洗至糖的反应为基本阴性后, 以 5 倍柱体积 75% 乙醇洗脱大孔树脂柱, 合并洗脱液回收乙醇, 干燥, 测定浸膏中紫丁香苷和刺五加总苷, 计算保留率, 结果见表4, 可见药材中

表4 工艺重复试验($n=3$)Table 4 Results of repetitive test ($n=3$)

样品	干燥物/g	干燥物中 紫丁香苷/%	干燥物中 刺五加总苷/%
上样前样品	18.379 6	0.59	5.17
树脂富集后样品 1	6.075 2	1.67	14.0
树脂富集后样品 2	5.996 3	1.70	14.4

有效成分的量与纯化产物的对比, 富集比约为 3 : 1。

3 讨论

大孔树脂吸附容量考察时, 初采用预吸附 1 h, 过柱重吸附 1 次, 收集洗脱液, 计算上样液与流出液中紫丁香苷或者刺五加总苷之差, 确定大孔树脂的吸附容量, 后因与工业生产中动态洗脱相脱离, 故采用动态吸附曲线的考察确定吸附容量。

树脂的再生或被吸附溶质的解吸通常可以用溶剂来实现。乙醇是常用的再生剂。采用 80% 左右的含水醇、酮或含有酸、碱的含水醇、酮进行洗涤, 再生效果也很好, 某些低极性的有机杂质吸附过牢不能洗除时, 可采用低极性溶剂进行再生。

参考文献:

- [1] 封国峰, 王春华, 魏晶. 注射用刺五加对脑缺血的保护作用 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(1): 38.
- [2] 程嘉义, 李降薇, 柳倩. 刺五加提取物对实验性急性脑缺血的保护研究 [J]. 中草药, 2003, 34(4): 358.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [4] 曲中原, 金哲雄, 高文昊, 等. 刺五加总苷提取工艺研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报, 2005, 21(1): 14-16.
- [5] 周跃华, 吴笑如, 徐德生, 等. 大孔吸附树脂纯化麦冬总皂苷的工艺研究 [J]. 中草药, 2003, 34(12): 1089-1091.
- [6] 于红宇, 张军, 詹丽玲, 等. 赤芍药材提取液的大孔树脂精制工艺研究 [J]. 中药材, 2004, 27(11): 871-872.
- [7] 华红霞, 李建伟, 陈玮, 等. AB-8 吸附树脂对欧李红色素的吸附和精制 [J]. 郑州工程学院学报, 2004, 25(2): 40-42.

正交试验优选九节龙皂苷 I 的提取工艺研究

孙立炜^{1,2}, 王晓娟^{1*}, 孙文基², 顾宜¹, 宋娟娜², 王荣¹

(1. 第四军医大学口腔医院 药剂科, 陕西 西安 710032; 2. 西北大学 陕西省生物医药重点实验室, 陕西 西安 710069)

摘要: 目的 筛选九节龙中九节龙皂苷 I 的最佳提取工艺, 并建立 HPLC-ELSD 法对九节龙皂苷 I 的测定方法。方法 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 以九节龙皂苷 I 提取率和干浸膏得率为检测指标。HPLC-ELSD 色谱条件: Phenomenex C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (75:25); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测器漂移管温度: 73.8 °C; 载气体积流量: 2.0 L/min。结果 最佳提取工艺为 75% 乙醇, 第 1 次 8 倍量提取 4 h, 第 2 次 6 倍量提取 3 h。九节龙皂苷 I 在 0.88~4.42 μg 范围内线性关系良好 ($r = 0.9999$); 样品平均回收率为 100.37%, RSD 为 1.88% ($n=6$)。结论 建立的正交试验优选九节龙的提取方法可行, 采用的 HPLC-ELSD 法测定九节龙皂苷 I 的方

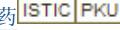
收稿日期: 2007-12-16

作者简介: 孙立炜 (1983—), 男, 北京人, 西北大学 2005 级中药学在读研究生, 研究方向为药用植物结构鉴定与提取分离。

E-mail: nodoubtkarajan@126.com

* 通讯作者 王晓娟 Tel(029)84776189 E-mail: WXJYH231@fmmu.edu.cn

大孔吸附树脂富集刺五加中紫丁香苷和刺五加总苷的研究

作者: 杨书良, 杨波, 田凤, 孙婷
作者单位: 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江哈尔滨, 150076
刊名: 中草药 
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年, 卷(期): 2008, 39(9)
被引用次数: 5次

参考文献(7条)

1. 封国峰;王春华;魏晶 注射用刺五加对脑缺血的保护作用[期刊论文]-沈阳药科大学学报 2003(01)
2. 程嘉艺;李降薇;柳倩 刺五加提取物对实验性急性脑缺血的保护研究[期刊论文]-中草药 2003(04)
3. 中华人民共和国药典(一部) 2005
4. 曲中原;金哲雄;高文吴 刺五加总苷提取工艺研究[期刊论文]-哈尔滨商业大学学报 2005(01)
5. 周跃华;吴笑如;徐德生 大孔吸附树脂纯化麦冬总皂苷的工艺研究[期刊论文]-中草药 2003(12)
6. 于红宇;张军;詹丽玲 赤芍药材提取液的大孔树脂精制工艺研究[期刊论文]-中药材 2004(11)
7. 毕红霞;李建伟;陈玮 AB-8吸附树脂对欧李红色素的吸附和精制[期刊论文]-郑州工程学院学报 2004(02)

本文读者也读过(10条)

1. 邵佳锋. 刘树民. 牟洪. 范振群. 安丽凤. 董杨. SHAO Jia-feng. LIU Shu-min. MOU Hong. FAN Zhen-qun. AN Li-feng. DONG Yang 刺五加中紫丁香苷、刺五加苷E的大孔树脂分离纯化工艺[期刊论文]-中国实验方剂学杂志2011, 17(2)
2. 袁晔蓉. 李强. YUAN Ye-rong. LI Qiang 刺五加中紫丁香苷的制备及其含量测定[期刊论文]-辽宁中医杂志 2007, 34(6)
3. 库尔班江. 张焱. Korbanjhon. ZHANG Yan 刺五加丁香苷提取工艺的研究[期刊论文]-伊犁师范学院学报(自然科学版) 2009(1)
4. 彭新生. 赵英日. 崔红花. Peng Xin-sheng. Zhao Ying-ri. Cui Hong-hua HPLC法测定刺五加中刺五加苷B的含量 [期刊论文]-实用中西医结合临床2006, 6(3)
5. 刘莹. 惠玉虎 刺五加提取物中紫丁香苷、紫丁香树脂苷的HPLC测定法[期刊论文]-中草药2000, 31(8)
6. 郑勇强. 刘湘杰. 张之奎 反相高效液相色谱法测定刺五加胶囊紫丁香苷含量[期刊论文]-中药材2008, 31(5)
7. 杜爱琴. 邹华彬. 袁久荣. DU Ai-qin. ZOU Hua-bin. YUAN Jiu-rong 刺五加总苷的快速测定及最佳提取条件考察 [期刊论文]-沈阳药科大学学报2007, 24(6)
8. 刘臣. 张钩寿 大孔吸附树脂分离纯化刺五加苷D的研究[期刊论文]-中成药2004, 26(9)
9. 袁昕蓉. 毕开顺. 李强 正交设计优化刺五加中游离异嗪皮啶提取工艺及结合型异嗪皮啶的水解工艺[期刊论文]-中药材2004, 27(3)
10. 胡广东. 胡新海. 宋铁兵 刺五加中刺五加苷E的含量测定[期刊论文]-黑龙江医药科学2009, 32(5)

引证文献(5条)

1. 姬铁强 HPLC梯度洗脱法同时测定刺五加注射液中紫丁香苷与刺五加苷E含量[期刊论文]-中国中医药资讯 2012(6)
2. 吴少杰. 邢朝斌. 劳凤云. 赵宝瑞 不同产地刺五加中刺五加苷E含量的高效液相色谱测定[期刊论文]-时珍国医国药 2010(8)
3. 王梓. 李伟. 李月茹. 刘文从. 郑毅男. 张晶 大孔吸附树脂纯化桔梗皂苷的研究[期刊论文]-中草药 2011(9)
4. 刘春涛. 侯海鸽. 范乃英. 李寒辉 原子荧光法测定刺五加不同部位中的砷、锑、汞、硒[期刊论文]-光谱学与光谱

分析 2010(4)

5. 杨书良. 赵威. 杨波. 徐林 HPLC法测定心脑泰滴丸中紫丁香昔[期刊论文]-现代药物与临床 2011(3)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200809016.aspx