

## 红景天苷大孔吸附树脂纯化工艺研究

闵建华, 章振鹏, 孟亚会, 曹旻旻, 朱锦章, 向飞军\*

康美药业股份有限公司, 广东 揭阳 515300

**摘要:** 目的 筛选红景天苷的大孔树脂纯化工艺。方法 以红景天苷质量浓度为指标, 考察多种型号大孔吸附树脂纯化红景天苷的吸附及洗脱条件。结果 SP-825 型大孔吸附树脂为分离纯化红景天苷的最佳大孔吸附树脂, 最佳工艺: 上样红景天苷质量浓度为 1.713~2.570 g/mL, 洗脱剂为 10%乙醇, 洗脱剂用量为 30 BV, 体积流量为 2 BV/h。结论 SP-825 型大孔吸附树脂能显著提高样品液红景天苷的纯度, 具有吸附量大、洗脱率高、经济环保等优点, 适合于规模化生产。

**关键词:** 红景天; 红景天苷; 大孔吸附树脂; 纯化工艺; 洗脱剂

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)11-1426-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.11.013

## Purification technology of salidroside by microporous adsorption resin

MIN Jian-hua, ZHANG Zhen-peng, MENG Ya-hui, CAO Min-min, ZHU Jin-zhang, XIANG Fei-jun

Kangmei Pharmaceutical Co., Ltd., Jieyang 515300, China

**Abstract: Objective** To optimize the purification technology of salidroside with macroporous adsorption resin. **Methods** The absorption and elution conditions of salidroside purification by various macroporous adsorption resins were investigated with the content of salidroside as index. **Results** SP-825 type macroporous adsorption resin was the best choice for the purification of salidroside. The optimized parameters were as follows: the content of salidroside at 1.713—2.570 g/mL, eluting solvent of 10% aqueous ethanol, volume flow at 2 BV/h, and eluant volume at 30 BV. **Conclusion** SP-825 type macroporous adsorption resin could significantly increase the purity of salidroside with the advantage of high absorption, high elution rate, low cost, environment friendly, and being applicable for the production in large scale.

**Key words:** *Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma*; salidroside; macroporous adsorption resin; purification technology; eluant

红景天 *Rhodiolae Crenulatae Radix et Rhizoma* 为景天科红景天属植物大花红景天的干燥根和根茎。该属植物资源丰富, 品种众多, 全世界有 96 种, 我国有 73 种<sup>[1]</sup>。红景天中特有的红景天苷是该植物所特有的有效成分, 具有扶正固本、调和阴阳、滋补强身等作用, 对人体内分泌系统及代谢系统具有较好的调理作用, 还具有抗衰老、抗疲劳、抗缺氧、抗辐射、抗癌、抗寒冷等药理作用<sup>[2-4]</sup>, 《中国药典》也将红景天苷作为评价其药材质量的指标成分<sup>[5]</sup>, 因而红景天苷的纯化工艺对控制红景天制剂的质量具有举足轻重的作用。目前大孔吸附树脂分离纯化技术在中草药有效成分的提取分离中得到了日益广泛的应用, 其优点在于吸附容量大、再生简

单、效果可靠, 尤其适合分离纯化苷类、黄酮类、皂苷类等成分<sup>[6-8]</sup>。由于大孔树脂品种繁多, 在结构、极性、孔径等性能指标上均有不同, 因此寻找具有良好选择性、吸附容量大、易解吸的树脂, 对于充分利用红景天资源, 改善重要制剂质量具有积极意义。本课题组曾对红景天苷的微波提取工艺进行了系统研究<sup>[9]</sup>, 在此基础上, 本实验对 8 种型号大孔树脂进行筛选, 确定了采用 SP-825 型大孔吸附树脂对红景天苷进行分离纯化的工艺。

### 1 仪器与材料

安捷伦 HPLC 1100 液相色谱仪 (G1354A 四元泵, 自动进样器, DAD 检测器, VWD 检测器, 安捷伦高效液相化学工作站), TC-15 套式恒温器 (海

收稿日期: 2013-01-16

作者简介: 闵建华 (1983—), 男, 硕士, 研究方向为中药及其制剂的物质基础研究。Tel: (020)39389796 E-mail: minjianhua\_008@163.com

\*通信作者 向飞军 Tel: (020)39389769 E-mail: kmyfzx@126.com

网络出版时间: 2013-04-22 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130422.0921.008.html>

宁市新华医疗器械厂), FA2104 分析天平(上海精密科学仪器有限公司), RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), HWC-3 型微波提取设备(天水华圆制药设备科技有限公司), KQ300YDB 型超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司)。

红景天苷对照品(批号 110818-200404, 中国药品生物制品检定所), 流动相中的甲醇、乙腈为色谱纯, 其他乙醇、甲醇均为分析纯。红景天药材购于广东普宁药材市场, 经湖北中医药大学药学教研室陈科力教授鉴定为大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba 的干燥根和根茎。NK-2 (天津精细化工有限公司); SP-825、D-301、D-101、SP-700、HP-20 (日本三菱化工); AB-8 (南开大学化工厂); S-8 (安徽三星树脂科技有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 红景天苷的 HPLC 法测定

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1%磷酸缓冲溶液(pH 4)(15:85); 检测波长 278 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 25 °C。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取红景天苷对照品, 加甲醇制成质量浓度为 0.5 mg/mL 的对照品溶液, 即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取样品 20 g, 精密称定, 置微波提取器中, 加水 200 mL, 微波提取 3 次, 每次 90 s, 合并提取液, 减压浓缩至 25 mL, 加乙醇使含醇量达到 60%, 2~8 °C 下静置 24 h, 滤过, 滤液再加乙醇使含醇量达到 85%, 2~8 °C 下静置 24 h, 滤过, 滤液减压浓缩, 后过大孔树脂柱, 收集洗脱液, 洗脱液减压浓缩, 定容至 100 mL, 摇匀, 得不同精制工艺要求的供试品溶液。

**2.1.4 线性关系考察** 精密称取红景天苷对照品适量, 加入甲醇制成红景天苷质量浓度为 1.6 mg/mL 的溶液, 再采用逐级稀释法分别制取红景天苷质量浓度为 0.80、0.40、0.20、0.10、0.05 mg/mL 的对照品溶液。精密吸取各质量浓度对照品溶液 5 μL, 分别注入液相色谱仪, 测定, 即得。结果表明, 红景天苷的回归方程为  $Y=1\ 227.71 X-10.31$ ,  $r=0.999\ 8$ , 红景天苷在 1.60~0.05 mg/mL 线性关系良好。

**2.1.5 精密度试验** 分别精密吸取红景天苷对照品溶液 5 μL, 注入液相色谱仪, 连续重复 6 次, 测定峰面积。结果表明红景天苷峰面积的 RSD 为 0.4%。

**2.1.6 重复性试验** 取同一批样品, 制备 6 份供试液, 进样测定, 计算红景天苷质量分数, 其 RSD<2%, 符合要求。

**2.1.7 稳定性试验** 取供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、16、24 h 进样分析, 计算红景天苷峰面积的 RSD<3.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.1.8 回收率试验** 取供试品粉末过 3 号筛, 精密称定 0.25 g, 置 50 mL 锥形瓶中, 精密量取红景天苷浓度为 1.276 mg/mL 的对照品溶液 2 mL, 加入锥形瓶, 加入 10 mL 甲醇, 密塞, 摇匀, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 平行操作 6 次, 得供试品溶液 6 份。进样测定, 红景天苷的平均回收率为 96.8%, RSD 为 1.2%。

**2.1.9 样品测定** 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 5 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算供试品中红景天苷的质量浓度。

### 2.2 上样溶液的制备

取干燥的红景天药材 50 g, 粉碎, 过 50 目筛, 用 10 倍量水浸泡 1.5 h 后微波提取 3 次, 每次 90 s, 合并提取液, 减压浓缩至相对密度 1.10 (60 °C 测定), 加乙醇使含醇量达到 60%, 2~8 °C 下静置 48 h, 离心滤过, 滤液加乙醇使含醇量达到 85%, 2~8 °C 下静置 24 h, 离心滤过, 滤液浓缩至相对密度 1.10 (60 °C 测定), 过聚酰胺柱(生药材与 60~80 目聚酰胺粉质量比为 1:1, 径高比小于 1:10), 用 5 BV 水洗脱, 体积流量 2 BV/h, 收集洗脱液, 减压浓缩, 定容至 50 mL (含生药 1 g/mL, 红景天苷 170.9 mg)。

### 2.3 大孔吸附树脂预处理

新大孔吸附树脂用 95%乙醇浸泡 24 h, 再用 95%乙醇洗至流出液加蒸馏水无白色混浊, 且无异味, 再用蒸馏水洗至无醇味, 备用。

### 2.4 静态吸附试验

准确称取经预处理的 8 种干树脂 5.0 g, 分别放于 250 mL 具塞磨口三角瓶中, 分别精密加入红景天提取液 50 mL, 置振荡器中振摇 3 h, 静置 1 h, 滤过, 测定滤液中红景天苷的量, 计算静态吸附量和吸附率。将以上 8 种树脂水洗, 抽滤, 用滤纸吸干, 精密加入 25 mL 70%乙醇溶液, 至振荡器中振摇 3 h, 静置 1 h, 滤过, 测定滤液中红景天苷的量, 计算解吸附量和解吸附率, 结果见表 1。可以看出, SP-825 的吸附率与 SP-700 无明显区别, 但解吸附

率明显高于 SP-700, 说明 SP-825 对红景天苷的死吸附较少, 即选用 SP-825 树脂, 红景天苷的损失量较少, 因此选择 SP-825 型大孔吸附树脂来纯化红景天苷。

吸附量 = (上样液中红景天苷的质量浓度 × 上样液的体积 - 水洗液中红景天苷的质量浓度 × 水洗液的体积) / 树脂的质量

吸附率 = (上样液中红景天苷的质量浓度 × 上样液的体积 - 水洗液中红景天苷的质量浓度 × 水洗液的体积) / (上样液中红景天苷的质量浓度 × 样液的体积)

解吸量 = 醇洗液中红景天苷的质量浓度 × 醇洗液的体积 / 树脂的质量

解吸率 = 醇洗液中红景天苷的质量浓度 × 醇洗液的体积 / (上样液中红景天苷的质量浓度 × 上样液的体积 - 水洗液中红景天苷的质量浓度 × 水洗液的体积)

表 1 8 种型号树脂对红景天苷的静态吸附行为  
Table 1 Static adsorption of salidroside in *R. crenulata* by eight types of macroporous resins

树脂型号	吸附量 / (mg·g <sup>-1</sup> )	吸附率 / %	解吸量 / (mg·g <sup>-1</sup> )	解吸率 / %
NK-2	20.16	54.21	15.71	77.80
SP-825	25.58	69.79	24.86	97.19
D-101	19.78	53.18	15.51	78.40
D-301	15.26	41.03	14.74	96.63
AB-8	19.48	52.37	18.01	92.46
HP-20	22.07	59.34	18.00	81.51
SP-700	26.47	71.17	25.23	93.32
S-8	20.04	53.87	16.76	83.65

## 2.5 动态吸附条件的考察

**2.5.1 原液质量浓度对吸附效果的影响** 取 5 份预处理好的 SP-825 型大孔树脂各 10 g, 分别装柱。精密量取 5 份红景天苷质量浓度为 5.129 mg/mL 的红景天水溶液 10 mL, 分别加入蒸馏水 0、5、10、15、20 mL, 混匀后上柱, 体积流量为 1 mL/min, 分别收集过柱液, 测定质量浓度, 计算吸附量, 结果上柱液质量浓度分别为 5.129、3.419、2.570、2.056、1.713 mg/mL 时, 吸附量分别为 3.607、3.962、4.072、4.198、4.080 mg/g。结果表明, 质量浓度是影响吸附纯化的重要因素, 红景天苷与大孔树脂间发生了以吸附为主的作用。试验中上样液质量浓度越小, 红景天苷被吸附量越大。因此, 确定选择最佳吸附质量浓度为 1.713~3.419 mg/mL。

**2.5.2 吸附流量对吸附效果的影响** 取 5 根已处理好的 SP-825 型大孔吸附树脂 (相当于 10 g 树脂, 径高比 1 : 30), 用红景天苷质量浓度为 3.419 mg/mL 的红景天水溶液 20 mL 上样。吸附流量分别为 1、2、3 mL/min。过柱液定容, 测定红景天苷的量, 计算树脂动态吸附量分别为 4.239、3.843、3.325 mg/g。结果表明, 随着流量的增加吸附量减少, 确定最佳流量为 1 mL/min。

**2.5.3 SP-825 型大孔树脂动态吸附曲线的绘制及上样量的确定** 取含红景天苷 3.419 mg/mL 的红景天水溶液, 以体积流量为 1 mL/min 上样于已处理好的 SP-825 型大孔树脂 (相当于 10 g 树脂, 径高比为 1 : 30), 分段收集洗脱液, 每个柱体积 (柱体积 15 mL) 收集 1 份, 共收集 15 份, 分别测定红景天苷的量, 计算红景天苷质量浓度, 结果见图 1。可知当上样量达 5 BV 时, 树脂开始泄漏, 说明此时上样量已经达到饱和, 从而确定上样量为 25.64 mg/g 树脂。

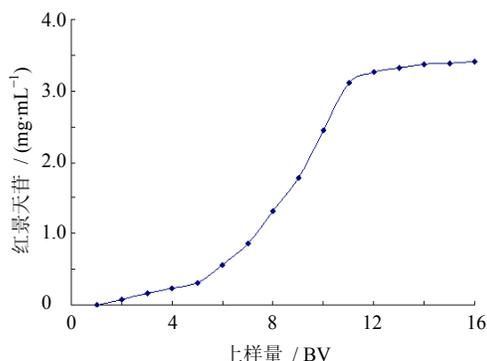


图 1 SP-825 型大孔树脂的动态吸附曲线  
Fig. 1 Dynamic adsorption curve of SP-825 type macroporous resin

## 2.6 SP-825 动态解吸性能条件的考察

**2.6.1 洗脱剂的考察** 取 5 根达到吸附饱和的 SP-825 型树脂柱, 先分别用水洗脱至流出液无色, 再用配置好的 5%、10%、15%、20%、25%乙醇洗脱液, 以相同体积流量依次进行动态洗脱, 体积流量为 1 mL/min, 收集洗脱液, 测定洗脱液中红景天苷的量, 计算洗脱率 [洗脱率 = (洗脱液中红景天苷的量) / 样品中红景天苷的量], 结果见表 2。可以看出在乙醇体积接近 10% 时洗脱率已接近最大值, 乙醇的体积分数过高会把较多色素等杂质一并冲洗下来从而影响产品质量, 过低则有效成分未能充分解吸, 故确定最佳乙醇解吸体积分数为 10%。

**2.6.2 洗脱剂流量的考察** 取 3 根达到吸附饱和的

SP-825 型树脂柱(相当于树脂 10 g, 径高比 1 : 30), 分别用蒸馏水洗脱至洗脱液近乎无色, 再用 10%乙醇分别以 2、3、4 BV/h (1 BV 为 15 mL) 的体积流量进行洗脱, 用 TLC 进行监控, 洗脱至薄层板上无红景天苷的斑点。收集乙醇洗脱液, 测定其中红景天苷的量, 剩余洗脱液回收乙醇, 干燥称定质量, 计算浸膏中红景天苷的质量分数, 并计算红景天苷回收率, 结果见表 3。结果表明, 流量为 2 BV/h 时, 红景天苷的质量分数和回收率均最高。

表 2 洗脱剂不同浓度的比较

Table 2 Comparison on eluting agent at different concentration

乙醇 / %	红景天苷	
	质量 / mg	洗脱率 / %
5	71.36	27.91
10	228.50	89.12
15	238.04	92.84
20	242.50	94.58
25	249.14	97.17

表 3 不同洗脱流量的比较

Table 3 Comparison on various elution flow

洗脱流量 / (BV·h <sup>-1</sup> )	洗脱量 / BV	红景天苷	
		质量分数 / %	回收率 / %
2	28	71.81	79.64
3	35	62.32	68.73
4	36	50.65	42.15

2.6.3 最佳吸附时间的考察 精密吸取红景天苷质量浓度为 3.419 mg/mL 的红景天水溶液 75 mL, 分别通过 5 根已处理好的 SP-825 型大孔吸附树脂(相当于 10 g 树脂)后, 分别静置 0、30、60、90、120 min, 5 根树脂柱分别用等量蒸馏水洗脱至洗脱液无色, 再用 10%乙醇洗脱, 以 TLC 监控, 洗脱至薄层板上无红景天苷的斑点。收集乙醇洗脱液, 测定其红景天苷的量, 剩余洗脱液回收乙醇, 干燥称定质量, 计算浸膏中红景天苷质量分数, 并计算红景天苷回收率, 见表 4。结果表明, 静置 60 min 后红景天苷回收率较高, 仅次于不静置时的回收率, 与静置 30 min 时无明显差别, 此时红景天苷质量分数最高, 时间过长或过短均偏低, 这可能与时间过长解吸附困难, 时间过短则吸附不完全有关。综合考虑红景天苷回收率, 确定最佳吸附时间为 60 min。

表 4 不同吸附时间的比较

Table 4 Comparison on various adsorption time

吸附时间 / min	红景天苷	
	质量分数 / %	回收率 / %
0	49.63	96.15
30	62.54	80.12
60	71.07	79.35
90	66.47	75.42
120	60.22	70.68

2.6.4 洗脱剂用量的考察 精密量取红景天苷质量浓度为 3.419 mg/mL 的红景天水溶液 75 mL, 通过已处理好的 SP-825 型树脂柱(相当于 10 g, 径高比为 1 : 30), 以 1 mL/min 过柱, 吸附 60 min 后, 先用蒸馏水洗脱至无色, 再用 70%乙醇以 2 BV/h 洗脱, 每 1 BV (柱体积 15 mL) 收集 1 份, 共收集 35 份, 测定其红景天苷的量, 结果见图 2。结果表明, 第 28 份洗脱液中红景天苷已经洗脱完全, 故确定洗脱剂的用量为 28 BV。

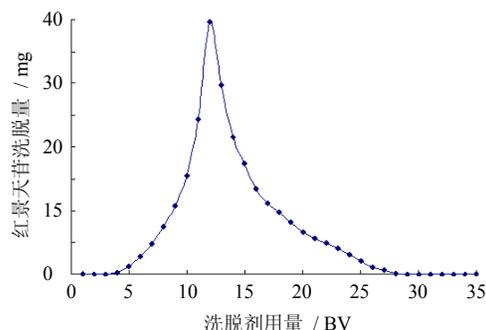


图 2 洗脱剂用量的选择曲线

Fig. 2 Selection curve of eluant volume

2.7 验证试验

量取 200 mL 质量浓度为 3.419 mg/mL 的红景天水溶液, 通过已处理好的 SP-825 型树脂柱(相当于 80 g 树脂), 以 1 mL/min 过柱, 吸附 60 min 后, 先用蒸馏水洗脱至无色, 再用 10%乙醇, 以 2 BV/h (1 BV 为 120 mL) 洗脱, 洗脱剂用量为 28 BV, 收集乙醇洗脱液, 测定其红景天苷的量。剩余洗脱液回收乙醇, 干燥, 称定质量, 计算浸膏中红景天苷质量分数, 并计算红景天苷回收率。相同条件的实验重复做 3 次, 结果见表 5。可见, SP-825 型大孔树脂纯化红景天苷后, 红景天水溶液中红景天苷的质量分数从 31.92% 提高到 71.69%, 洗脱率达到 80.49%, 回收率为 78.24%。

表5 SP-825型大孔树脂纯化红景天苷的验证试验

Table 5 Verification of salidroside purified by SP-825 type macroporous resin

试验号	红景天苷质量分数 / %		洗脱率 / %	回收率 / %
	原液中	纯化后		
1	31.92	71.02	81.26	78.25
2	31.92	70.43	80.34	78.12
3	31.92	71.61	79.87	78.36
平均值	31.92	71.69±1.29	80.49±0.71	78.24±0.12

### 3 讨论

SP-825型大孔吸附树脂对红景天苷具有较大的静态吸附量(25.64 mg/g),也有较好的解吸附率(97.19%),表现出了良好的分离纯化能力。用10%乙醇洗脱后,能将80%以上大孔树脂所吸附的红景天苷洗脱下来,且红景天苷的纯度为70%以上,因此,此工艺可用于纯化红景天苷,而且树脂可以再生,成本较低,无污染,适合大规模生产。

### 参考文献

- [1] 李伟,黄勤妮.红景天属植物的研究及应用[J].首都师范大学学报:自然科学版,2003,24(1):55-58.
- [2] 马根顺,罗丁.红景天的药理作用研究进展[J].中国实用医药,2009,4(28):227-228.
- [3] 李丹红,孟玉彩,赵文.红景天植物生物活性研究进展[J].毒理学杂志,2008,22(4):320-323.
- [4] Ma C J, Kim Y C, Sung S H. Compounds with neuroprotective activity from the medicinal plant *Machilus thunbergii* [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2009, 24(5): 1117-1121.
- [5] 中国药典[S].一部.2010.
- [6] 李伯庭,王湘.大孔吸附树脂在天然产物分离中的应用[J].中草药,1990,21(8):42-44.
- [7] 邹节明,陆浩,何斌,等.苦玄参、黄芩与黄柏的大孔树脂提取研究[J].中草药,2003,34(3):222-226.
- [8] 马振山.大孔吸附树脂在药学领域中的应用[J].中成药,1997,19(12):40-41.
- [9] 闵建华,曹旻旻,韦冬菊,等.微波辅助提取红景天苷的工艺研究[J].中草药,2012,43(8):1536-1539.