

甘肃马先蒿毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷制备工艺研究

曹馨元^{1,2}, 冯霞¹, 李茂星^{1,2*}, 陶锐³, 王先敏^{1,4}, 毛婷^{1,2}

1. 兰州军区兰州总医院药剂科, 全军高原环境损伤防治重点实验室, 甘肃 兰州 730050

2. 兰州大学药学院, 甘肃 兰州 730000

3. 银川市妇幼保健院 药剂科, 宁夏 银川 750001

4. 兰州理工大学石油化工学院, 甘肃 兰州 730050

摘要: 目的 建立制备甘肃马先蒿中毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷单体的方法。方法 以毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷质量分数为考察指标, 通过静态吸附和动态解吸附实验, 从01A1、D101、HPD100、AB-8、XAD-6、DM130、DM-301、DM-201、YWD06B及YWD06C中筛选出最佳树脂, 确定制备甘肃马先蒿总苯乙醇苷的最佳纯化工艺。并以中压柱色谱技术分离制备毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷单体, 根据波谱数据鉴定结构。结果 最佳纯化工艺为上样溶液含生药20 mg/mL, 上样体积流量为3 BV/h, 先用3 BV的水除杂, 再用5 BV 50%乙醇以2 BV/h的体积流量洗脱, 洗脱液减压浓缩, 冷冻干燥, 得甘肃马先蒿总苯乙醇苷纯化物, 该纯化物中毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的质量分数为42.29%和28.51%。经中压柱色谱精制后分离制备的毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷单体质量分数分别为98.33%和99.24%。结论 该方法高效快速、经济简单、易于实现, 可用于毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷单体的制备。

关键词: 甘肃马先蒿; 毛蕊花糖苷; 异毛蕊花糖苷; 大孔吸附树脂; 中压柱色谱

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)10-1696-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.10.012

Preparation technology of verbascoside and isoverbascoside from *Pedicularis kansuensis*

CAO Xin-yuan^{1,2}, FENG Xia¹, LI Mao-xing^{1,2}, TAO Rui³, WANG Xian-min^{1,4}, MAO Ting^{1,2}

1. Key Laboratory of the Prevention and Cure for the Plateau Environment Damage, PLA, Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China

2. Pharmacy College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

3. Department of Pharmacy, Yinchuan Maternity and Child-Care Hospital, Yinchuan 750001, China

4. College of Petrochemical Technology, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China

Abstract: Objective To establish a preparation method for verbascoside and isoverbascoside with high purity from *Pedicularis kansuensis*. **Methods** With the contents of verbascoside and isoverbascoside as indexes, static and dynamic adsorption-desorption were used to select the best macroporous resin from 01A1, D101, HPD100, AB-8, XAD-6, DM130, DM-301, DM-201, YWD06B, and YWD06C. The purification technology parameters of total phenylethanoid glycosides (PhGs) from *P. kansuensis* were optimized by selected macroporous resin. Medium pressure column chromatography was further used to purify verbascoside and isoverbascoside. The chemical structures were identified on the basis of the spectral data. **Results** D101 type resin showed the best purifying profile, its optimum technology conditions were as follows: Sample injection concentration was 20 mg/mL, sample flow rate was 3 BV/h, then washing off the impurity with 3 BV deionized water, and being eluted by 5 BV 50% ethanol with the desorption rate at 2 BV/h. The 50% ethanol fraction was evaporated and dried with cry desiccation to obtain the total PhGs. The contents of verbascoside and isoverbascoside in total PhGs were 42.29% and 28.51%, respectively. After purified by medium pressure column chromatography, the contents of prepared verbascoside and isoverbascoside reached 98.3% and 99.2%, respectively. **Conclusion** This method can be used

收稿日期: 2015-12-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81374019); 甘肃省中医药管理局科研立项课题(GZK-2015-59); 全军医药卫生科研项目(CLZ15JA05)

作者简介: 曹馨元, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为天然药物化学、中药新药研究与开发。Tel: (0931)8994676 E-mail: caoxy2014@aliyun.com

*通信作者 李茂星 Tel: (0931)8994676 E-mail: limaox2005@aliyun.com

for the large-scale preparation of verbascoside and isoverbascoside with high purity, which is rapid, simple, and practicable with high efficiency.

Key words: *Pedicularis kansuensis* Maxim.; verbascoside; isoverbascoside; macroporous resin; medium pressure chromatography

玄参科 (Scrophulariaceae) 马先蒿属 *Pedicularis* L. 植物甘肃马先蒿 *Pedicularis kansuensis* Maxim. 多生长于海拔 1 825~4 000 m 的甘肃、青海、四川等地。相关研究表明, 苯乙醇苷、环烯醚萜苷、黄酮等成分广泛存在于该植物中^[1-4]。尤其是水溶性的苯乙醇苷类成分, 分布在多种植物中, 且具有抗氧化、抗炎、抗菌等多种生理活性^[5-8]。其中毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷是甘肃马先蒿中主要的苯乙醇苷类成分, 对很多慢性疾病有良好的疗效。因此, 为了进一步研究其活性, 急需建立一种快速分离、大量制备的方法。大孔吸附树脂因其表面积大、选择性高、高效低成本、可重复利用等优势, 在很多天然产物的分离制备中得到了广泛的应用^[9-11]。传统的硅胶柱色谱、高速逆流色谱^[12-13]、制备液相色谱等现代方法, 目前已经普遍地用于苯乙醇苷类成分的分离制备, 但过程较复杂, 效率较低且制备成本大。中压制备色谱技术具有分离速度快、制备量大、成本低的优点^[14]。本实验采用大孔吸附树脂初步分离富集甘肃马先蒿中的总苯乙醇苷^[15], 以中压制备色谱进一步纯化和制备毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷单体, 经 ESI-MS、¹³C-NMR、¹H-NMR 对其进行结构鉴定。该实验方法的建立, 实现了毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷的快速高效分离制备, 为甘肃马先蒿的进一步研究开发奠定了基础。

1 仪器与材料

Telster LyoQuest-55 plus 型冷冻干燥机, Azbil Telstar Technologies SLU; 高效液相色谱仪, 包括 Waters 1525 型四元梯度泵, Waters-TCM 型柱温箱, Waters-2998 型二极管阵列检测器, Waters-2707 型自动进样器, Millennium 32 色谱工作站, 美国 Waters 公司; 中压柱色谱, 包括 H&E、HEP-200F 型泵、UV-250 型紫外检测器, MILLIPORE 耐压柱, C₁₈ 键合硅胶填料 (100 cm×3.2 cm, 5 μm), 北京慧得易公司; BP210S 电子天平, 德国 Sartorius 公司; RE-52AA 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂。

甘肃马先蒿于 2014 年 6 月采自甘肃省武威市天祝县天堂乡 (经度 103°47', 纬度 37°23', 海拔 3 240 m), 经兰州大学药学院马志刚教授鉴定为玄参科马先蒿属 1 年或 2 年生植物甘肃马先蒿 *Pedicularis kansuensis* Maxim. 的干燥根茎。大孔吸附树脂:

AB-8、DM-301、DA-201、D-101, 天津市海光化工有限公司; HPD100、DM-130, 沧州宝恩吸附材料科技有限公司; 01A1、YWD06B、YWD06C, 沧州远威化工有限公司; XDA-6, 西安蓝晓科技有限公司; 75% 乙醇, 山东利尔康消毒科技股份有限公司, 批号 130619; 色谱纯甲醇, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取工艺

取甘肃马先蒿 1.7 kg, 10 倍量 50% 乙醇回流提取 2 h, 滤渣加 8 倍量 50% 乙醇回流提取 1 h, 合并提取液, 滤过, 滤液旋转蒸发浓缩, 喷雾干燥, 得 340.0 g 醇提物粉末。加 3.4 L 蒸馏水溶解, 静置过夜 (12 h), 滤过, 弃去不溶物, 即得澄清深棕色的甘肃马先蒿水提取液, 放置于 -20 °C 备用。毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷在药材 50% 乙醇提取物中的质量分数分别为 1.62% 和 1.09%。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Waters C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.27% 冰醋酸水溶液 (35:65); 体积流量 1 mL/min; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL; 检测波长 330 nm。

2.3 纯化工艺

2.3.1 大孔吸附树脂静态吸附与解吸附 考察预处理好的 10 种大孔吸附树脂 (AB-8、DM-301、DA-201、D-101、HPD100、DM-130、01A1、YWD06B、YWD06C、XDA-6) 对样品中毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的吸附、解吸附效果。在装有 2.0 g 已处理好的 AB-8、DM-301、DA-201、D-101、HPD100、DM-130、01A1、YWD06B、YWD06C、XDA-6 大孔吸附树脂的锥形瓶中分别加入 100 mL 甘肃马先蒿水提取液。25 °C 振荡吸附 6 h, 每隔 10 分钟取上清液 1 mL, 加 10% 甲醇定容至 10 mL, 采用“2.2”项方法测定, 计算吸附率 [吸附率=(吸附前的质量浓度-吸附后的质量浓度)/吸附前的质量浓度]。取已吸附好的树脂, 经适量水洗后加入 40% 乙醇 50 mL, 恒温振荡解吸附, 取上清液 1 mL, 加 10% 甲醇定容至 10 mL。采用“2.2”项方法测定, 计算解吸率 [解吸率=解吸附后质量浓度/(吸附前的质量浓度-吸附后的质量浓度)]。结果见表 1。

结果表明, D-101、HPD100、XDA-6 和 YWD06C

型大孔树脂对毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷具有较好的吸附和解吸附效果。通过静态吸附曲线（图 1）的比较可知，D-101 型大孔吸附树脂能在最短的时间达到最高的吸附量，故为最佳树脂。

表 1 10 种大孔吸附树脂对毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的静态吸附与解吸附性能比较

Table 1 Comparison on static absorption-desorption capabilities of verbascoside and isoverbacoside by 10 different macroporous resins

树脂型号	吸附率/%		解吸率/%	
	毛蕊花糖苷	异毛蕊花苷	毛蕊花糖苷	异毛蕊花苷
01A1	62.58	59.50	54.68	50.86
D-101	74.44	71.52	67.48	65.36
HPD100	70.56	65.33	63.88	59.24
AB-8	68.29	64.26	59.12	57.45
XDA-6	70.84	57.70	62.49	58.09
DM130	64.11	58.32	51.48	49.24
DM-301	63.84	60.10	52.32	46.70
DM-201	59.32	52.39	49.24	48.36
YWD06B	60.77	59.30	60.78	57.48
YWD06C	69.05	60.53	61.24	59.50

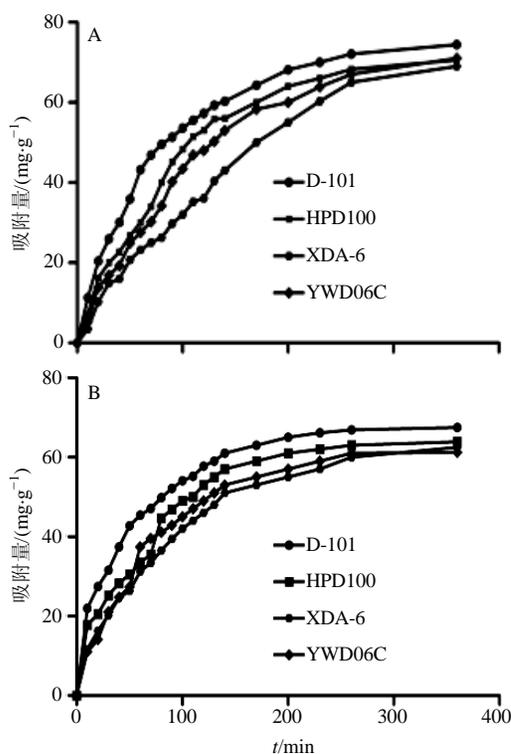


图 1 4 种大孔树脂对毛蕊花糖苷 (A) 和异毛蕊花糖苷 (B) 的静态吸附曲线

Fig. 1 Static adsorption curves of verbascoside (A) and isoverbacoside (B) by four kinds of resins

2.3.2 上样液质量浓度的考察 精密称取 3 份处理好的 D-101 型大孔吸附树脂（每份 40 g）分别湿法装柱。将生药质量浓度分别为 10、20、40 mg/mL 的样品溶液（经母液稀释可得）以相同的体积流量过大孔树脂柱。吸附完全后，按“2.2”项下方法测定，计算吸附率。结果吸附率分别为 73.98%、76.20%、71.39%。当质量浓度为 20 mg/mL 时，吸附率达到最大值。提高上样质量浓度有利于提高树脂的使用效率，然而，当上样质量浓度过高时，在一定体积流量下，样品与树脂的接触时间变短，同时上样液质量浓度过高，则溶液过于黏稠，会在树脂颗粒表面形成黏性吸附，严重影响吸附效果，因此，当质量浓度为 40 mg/mL 时的吸附率仅为 71.39%，反而低于质量浓度为 20 mg/mL 时的吸附率。

2.3.3 上样体积分数的考察 精密称取 3 份处理好的 D-101 型大孔吸附树脂（每份 40 g）分别湿法装柱，选取质量浓度为 20 mg/mL 的样品溶液，分别以 3、6、9 BV/h 体积流量上样，收集流出液，按“2.2”项下方法测定，计算吸附率。结果吸附率分别为 78.34%、76.54%、74.81%。上样体积分流量太大时，树脂对有效部位的吸附不充分，故选取 3 BV/h 为上样体积分流量。

2.3.4 洗脱剂乙醇体积分数的考察 D-101 型大孔吸附树脂柱(3.3 cm×13.8 cm)上样后，分别以 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70% 乙醇溶液进行洗脱，洗脱液每 20 毫升收集 1 份，按“2.2”项下方法测定，计算洗脱率，见表 2。结果表明 10%、20%、30%、40% 乙醇洗脱不完全，50% 乙醇可将毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖几乎完全洗脱下来，60%、70% 乙醇将毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷洗脱下来的同时，杂质增多，成本增大，综合考虑，确定采用

表 2 洗脱剂乙醇体积分数的考察

Table 2 Investigation of ethanol concentration

乙醇体积分数/%	毛蕊花糖苷/%		异毛蕊花糖苷/%	
	解吸率	质量分数	解吸率	质量分数
10	18.41	1.62	15.27	1.09
20	25.23	3.14	21.24	2.99
30	40.64	10.36	47.76	15.37
40	70.14	25.95	74.10	21.23
50	98.07	40.72	98.14	25.40
60	98.20	39.45	98.57	23.86
70	98.71	30.36	98.90	20.17

50%乙醇作为洗脱剂。

2.3.5 洗脱剂体流量的考察 称取已处理好的 D-101 型大孔吸附树脂 40 g 湿法装柱上样后, 先以 3 BV 蒸馏水洗脱除杂, 分别用 50%乙醇以 1、2、3、4、5、6 BV/h 体流量洗脱, 流出液每 0.5 BV (20 mL) 收集 1 次。按“2.2”项下方法测定, 计算洗脱率, 见表 3。结果表明, 洗脱体流量为 1、2 BV/h 时有较高的洗脱率, 综合考虑洗脱效果与时间成本, 最终选择 2 BV/h 为洗脱剂体流量。

表 3 50%乙醇洗脱体流量的考察

Table 3 Investigation of elution ratio with 50% ethanol

体流量/(BV·h ⁻¹)	洗脱率/%	
	毛蕊花糖苷	异毛蕊花糖苷
1	97.30	95.20
2	95.48	93.20
3	94.34	91.20
4	91.40	90.30
5	89.35	88.40
6	87.40	85.20

2.3.6 洗脱剂用量的考察 称取已处理好的 D-101 型大孔吸附树脂 40 g 湿法装柱上样, 用 3 BV 蒸馏水洗脱除杂后 (紫外分光光度计实时监测), 用 50%乙醇以 2 BV/h 的体流量洗脱, 流出液每 0.5 BV (20 mL) 收集 1 份。按“2.2”项下方法测定, 计算洗脱率, 见图 2。结果表明, 洗脱至 5.0 BV 时, 即可将 90%以上的毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷洗脱下来, 综合考虑成产成本, 将 50%乙醇的洗脱用量确定为 5.0 BV。

2.3.7 验证试验 取预处理好的 D-101 型大孔吸附树脂装柱 (17.2 cm×4.2 cm), 将质量浓度为 20

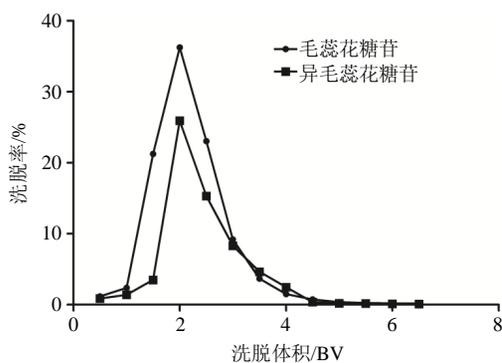


图 2 毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷 50%乙醇动态洗脱曲线
Fig. 2 Dynamic desorption curves of verbascoside and isoverbascoside with 50% ethanol

mg/mL 的样品溶液以 3 BV/h 的体流量上柱, 吸附完全后 3 BV 水洗除去大极性成分, 5.0 BV 50%乙醇以 2 BV/h 的体流量洗脱, 洗脱液减压浓缩, 冷冻干燥, 得总苯乙醇苷纯化物 (粉末)。按“2.2”项下方法测定, 毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的质量分数分别提高到 42.29%和 28.51%。

2.4 毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的制备

准确称取以上总苯乙醇苷纯化物 0.1 g, 以 10%甲醇 10 mL 为溶剂, 超声 (功率 240 W, 频率 25 kHz)、溶解并匀速注入中压柱色谱耐压柱 (压力为 2.5 MPa) 中, 以甲醇-水梯度洗脱: 0~5 min, 10%甲醇; 5~6 min, 10%~30%甲醇; 6~35 min, 30%甲醇; 35~36 min, 30%~50%甲醇; 36~150 min, 50%甲醇; 整个洗脱过程体流量为 0.52 BV/h, 检测波长为 330 nm。分离过程按照色谱图中各色谱峰的保留时间、峰宽、顺序, 分别将对应流出液收集后冷冻干燥。按“2.2”项下方法测定, 毛蕊花糖苷 (38.21 mg) 和异毛蕊花糖苷 (20.52 mg) 质量分数分别提高到 98.33%和 99.24%, 见表 4。经 MS 及 NMR 定性鉴定化合物。色谱图见图 3。

表 4 大孔树脂及中压柱色谱纯化后毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷质量分数的比较

Table 4 Comparison on contents of verbascoside and isoverbascoside after purification by macroporous resin and medium pressure chromatography

样品	毛蕊花糖苷/%		异毛蕊花糖苷/%	
	质量分数	转移率	质量分数	转移率
精制前	42.29	82.54	28.51	78.16
精制后	98.33	88.84	99.24	71.43

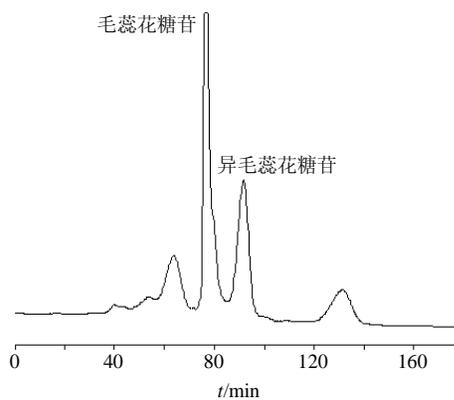


图 3 毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的中压柱色谱图
Fig. 3 Medium pressure chromatogram of verbascoside and isoverbascoside

2.5 毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷的结构鉴定

2.5.1 毛蕊花糖苷 白色粉末, $C_{29}H_{36}O_{15}$; ESI-MS m/z : 647.4 $[M+Na]^+$, 663.2 $[M+K]^+$, 623.4 $[M-H]^-$. 1H -NMR (400 MHz, D_2O) δ : 7.65 (1H, dd, $J = 16.2, 8.0$ Hz, H- β'), 7.18 (1H, dd, $J = 3.4, 2.2$ Hz, H-2'), 7.13 (1H, dd, $J = 8.3, 2.4$ Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.87 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-2), 6.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.73 (1H, dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, H-6), 6.34 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H- α'), 5.15 (1H, s, Rha-H-1), 4.47 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, Glu-H-1), 4.02 (1H, m, H- α_1), 3.81 (1H, m, H- α_2), 2.81 (2H, m, H- β); ^{13}C -NMR (100 MHz, D_2O) δ : 168.1 (CO), 147.5 (C- β'), 147.5 (C-4'), 144.4 (C-3), 143.9 (C-3'), 142.3 (C-4), 131.3 (C-1), 126.7 (C-1'), 122.7 (C-6'), 121.2 (C-6), 116.8 (C-5), 116.3 (C-2'), 116.2 (C-5'), 115.3 (C-2), 113.7 (C- α'), 102.1 (Glu-C-1), 101.6 (Rha-C-1), 80.8 (Glu-C-3), 73.9 (Glu-C-2), 73.6 (Glu-C-5), 71.8 (Rha-C-4), 71.1 (Rha-C-3), 71.1 (C- α), 70.3 (Rha-C-2), 69.9 (Glu-C-4), 68.8 (Rha-C-5), 60.2 (Glu-C-6), 34.4 (C- β), 17.2 (Rha-C-6)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物为毛蕊花糖苷。

2.5.2 异毛蕊花糖苷 白色粉末, $C_{29}H_{36}O_{15}$; ESI-MS m/z : 647.4 $[M+Na]^+$, 663.2 $[M+K]^+$, 623.4 $[M-H]^-$. 1H -NMR (400 MHz, D_2O) δ : 7.71 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H- β'), 7.31 (1H, s, H-2'), 7.21 (1H, s, H-6'), 6.88 (1H, s, H-2), 6.87 (1H, s, H-5'), 6.83 (1H, s, H-2), 6.75 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6), 6.42 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H- α'), 5.15 (H, s, H-Rha1), 4.42 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, Glu-H-1), 4.04 (1H, m, H- α_1), 3.83 (1H, m, H- α_2), 2.50 (2H, m, H- β), 1.19 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, D_2O) δ : 168.8 (CO), 147.0 (C- β'), 146.1 (C-4'), 144.1 (C-3), 142.2 (C-3'), 140.6 (C-4), 131.2 (C-1), 126.6 (C-1'), 122.6 (C-6'), 121.0 (C-6), 116.6 (C-5), 116.0 (C-2'), 115.9 (C-5'), 115.0 (C-2), 113.7 (C- α'), 102.2 (Glu-C-1), 101.2 (Rha-C-1), 82.6 (Glu-C-3), 73.6 (Glu-C-2), 73.4 (Glu-C-5), 72.1 (Rha-C-4), 71.3 (Rha-C-3), 70.4 (C- α), 70.3 (Rha-C-2), 68.9 (Glu-C-4), 63.7 (Rha-C-5), 60.4 (Glu-C-6), 34.8 (C- β), 16.6 (Rha-C-6)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物为异毛蕊花糖苷。

3 讨论

苯乙醇苷类成分广泛的分布于多种植物中, 同时具有多种药理活性, 具有很好的应用前景。本实

验通过比较 10 种大孔树脂对苯乙醇苷的吸附和解吸附效果, 结果显示 D-101 型大孔树脂对甘肃马先蒿苯乙醇苷具有良好的吸附和分离效果, 可用于其总苯乙醇苷类化合物的分离富集。通过考察样品上样质量浓度、上样体积流量及洗脱剂的体积分数、体积流量、用量等因素, 筛选出了相对理想的制备工艺, 实现了甘肃马先蒿中苯乙醇苷类成分高效率、低成本的富集纯化。

实验利用中压柱色谱技术进行了毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷单体的分离制备, 实现了其单体成分的精制, 为其生物活性的进一步研究奠定了物质基础。苯乙醇苷类化合物水溶性良好, 并且本研究中起始流动相为 10% 甲醇溶液, 因此实验为避免溶媒与流动相间差异所造成的化合物二次分布, 故选用 10% 甲醇为溶媒。且高质量浓度的苷类化合物易产生泡沫, 因此在注入中压柱过程中需缓慢、匀速, 避免带入气泡影响分离效果。待分离样品为总苯乙醇苷粗制品, 属复杂成分, 因此中压柱色谱分离采取恒速梯度洗脱方式, 并为最大程度地实现各类化合物的分离, 实验起始选用低比例 (10%) 甲醇为流动相进行洗脱, 但为节省成本、缩短分离过程, 流动相甲醇比例逐渐升高, 最大程度地分离各化合物, 并确保其峰型完整能够被准确收集。同时考察了 0.31、0.52、0.73 BV/h 的洗脱剂体积流量对分离效果的影响, 结果显示以 0.31 BV/h 体积流量洗脱时样品保留时间较长, 以 0.52、0.73 BV/h 体积流量洗脱的保留时间差别不大, 综合试剂成本和分离效率考虑, 选择以 0.52 BV/h 进行洗脱。实验共收集并干燥得 4 种产物, 但鉴于总苯乙醇苷组成较为复杂, 经多次实验, 在本实验的分离条件下可实现毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷单体的分离制备, 且质量分数均高于 98%, 达到了预期目标。毛蕊花糖苷和异毛蕊花糖苷在色谱过程中较为接近, 实验为确保其质量分数, 仅收集了部分纯度相对较高的色谱流出液, 因此对转移率造成了一定的影响。

本研究以甘肃马先蒿药材为原料, 以工艺研究及制备单体为目标, 对其进行了系统研究。经工艺考察制得总苯乙醇苷的有效部位, 为其工业化生产提供了技术参考, 并为后期单体制备奠定了物质基础。采用中压柱色谱法实现了毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷单体的分离制备, 所得单体质量分数高, 分离制备方法经济简单、高效快捷, 可用于其单体化合物的批量生产制备。

参考文献

- [1] Li M X, He X R, Tao R, *et al.* Phytochemistry and pharmacology of the genus *Pedicularis* used in traditional Chinese medicine [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(5): 1071-1098.
- [2] 曹馨元, 曹文龙, 陶 锐, 等. HPLC 法测定不同产地马先蒿属植物中的毛蕊花苷 [J]. *中成药*, 2016, 38(1): 126-129.
- [3] Zhang B B, Shi K L, Liao Z X, *et al.* Phenylpropanoid glycosides and triterpenoid of *Pedicularis kansuensis* Maxim. [J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(6): 854-860.
- [4] 李茂星, 曹馨元, 陶 锐, 等. HPLC 测定马先蒿属植物中的桃叶珊瑚苷 [J]. *华西药学*, 2015, 30(6): 718-719.
- [5] Zhou B Z, Li M X, Cao X Y, *et al.* Phenylethanoid glycosides of *Pedicularis muscicola* Maxim ameliorate high altitude-induced memory impairment [J]. *Physiol Behav*, 2016, 157: 39-46.
- [6] Mosca M, Ambrosone L, Semeraro F, *et al.* Ocular tissues and fluids oxidative stress in hares fed on verbascoside supplement [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2014, 65(2): 235-240.
- [7] Lorena F, Olga L, Manuela C C, *et al.* Effects of verbascoside, a phenylpropanoid glycoside from lemon verbena, on phospholipid model membranes [J]. *Chem Phys Lipids*, 2010, 163(2): 190-199.
- [8] Hanson A, Elizabeth J, Dalene D B, *et al.* Phenylethanoid glycosides as major antioxidants in *Lippia multiflora* herbal infusion and their stability during steam pasteurisation of plant material [J]. *Food Chem*, 2011, 127(2): 581-588.
- [9] Xi L S, Mu T H, Sun H N, *et al.* Preparative purification of polyphenols from sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves by AB-8 macroporous resins [J]. *Food Chem*, 2015, 172: 166-174.
- [10] Sun P C, Liu Y, Yi Y T. Preliminary enrichment and separation of chlorogenic acid from *Helianthus tuberosus* L. leaves extract by macroporous resins [J]. *Food Chem*, 2015, 168(9): 55-62.
- [11] 吴 博, 刘春梅, 刘 冰, 等. 益智总黄酮大孔吸附树脂纯化工艺研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(9): 1321-1325.
- [12] Chen C, Zhao X H, Yue H L, *et al.* Separation of phenylpropanoid glycosides from a Chinese herb by HSCCC [J]. *J Chromatogr Sci*, 2014, 52(5): 395-399.
- [13] Yue H L, Zhao X H, Mei L J, *et al.* Separation and purification of five phenylpropanoid glycosides from *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo by a macroporous resin column combined with high-speed counter-current chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(18): 3123-3129.
- [14] 倪付勇, 宋亚玲, 刘 露, 等. 异绿原酸 A、B 和 C 的制备工艺研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(3): 369-373.
- [15] 王毓杰. 管花肉苁蓉中苯乙醇苷的提取和大孔树脂纯化工艺研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(16): 2344-2348.
- [16] 吴 娟, 周先礼, 周小力, 等. 藏角蒿花的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(1): 55-59.
- [17] 赵 军, 闫 明, 黄 毅, 等. 紫花列当水溶性成分的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(4): 619-621.