

# 大孔吸附树脂纯化倒卵叶五加中紫丁香苷的工艺优选

曹爱兰\*, 史文静, 张俏, 杜文娟  
(陕西中药研究所, 陕西 咸阳 712000)

**[摘要]** 目的: 优选大孔吸附树脂纯化倒卵叶五加中紫丁香苷的工艺条件。方法: 采用 HPLC 测定紫丁香苷含量, 通过静态吸附-洗脱试验考察大孔树脂型号, 利用单因素试验考察上样量、吸附流速、洗脱机浓度及用量对纯化工艺的影响。结果: 选用 XDA-1 型大孔树脂, 其纯化工艺条件为上样量每 g 树脂吸附 3.5 mg 紫丁香苷, 吸附流速 1 BV·h<sup>-1</sup>, 用 9 BV 40% 乙醇于 2 BV·h<sup>-1</sup> 流速洗脱, 紫丁香苷纯度由 5.4% 提高到 23.1%。结论: XDA-1 型大孔树脂可用于纯化倒卵叶五加提取液, 紫丁香苷收率和纯度均达满意效果。

**[关键词]** 大孔吸附树脂; 倒卵叶五加; 紫丁香苷; 分离; 纯化

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0062-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013140062

## Optimization of Separation and Purification Technology of Syringin in *Acanthopanax obouatus* with Macroporous Absorption Resin

CAO Ai-lan\*, SHI Wen-jing, ZHANG Qiao, DU Wen-juan  
(Shaanxi Institute of Chinese Materia Medica, Xianyang 712000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize separation and purification technology of syringin in *Acanthopanax obouatus* with macroporous absorption resin. **Method:** With the content of syringin as index, which was determined by HPLC, model of macroporous absorption resin was screened by static adsorption-elution test, purification conditions were investigated by single factor tests. **Result:** XDA-1 macroporous adsorption resin model was adopted, its purification technology was as following: the amount of sample 3.5 mg syringin with 1 g XDA-1 macroporous absorption resin, adsorption velocity 1 BV·h<sup>-1</sup>, eluted with 9 BV 40% ethanol at 2 BV·h<sup>-1</sup>. Purity of syringin was up to 28.14% from 5.47%. **Conclusion:** XDA-1 macroporous resin could be used to purify extract of *A. obouatus*, yield and purity of syringin obtained satisfactory results.

**[Key words]** macroporous absorption resin; *Acanthopanax obouatus*; syringin; separation; purification

倒卵叶五加性辛、味苦, 主产于陕西、宁夏、甘肃等地, 具有很高的开发利用价值<sup>[1]</sup>, 主要含有总黄酮、丁香苷、五加苷、异秦皮啶和多糖等成分。现代药理研究表明, 倒卵叶五加具有增强免疫、抗缺氧、抗疲劳、耐高温、抗血栓等药理作用<sup>[2-3]</sup>。目前已有大孔树脂纯化刺五加紫丁香苷的报道<sup>[4]</sup>, 但未见关于倒卵叶五加紫丁香苷纯化的报道。本实验拟筛选

不同型号大孔吸附树脂对倒卵叶五加紫丁香苷的纯化工艺, 为紫丁香苷的开发应用提供实验参考。

### 1 材料

HP 1100 型高效液相色谱仪(美国惠普), METTLER AG-135 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。倒卵叶五加(产地陕西省宜君, 经陕西中药研究所朱爱华研究员鉴定为倒卵叶五加 *Acanthopanax obovatus* Hoo 的干燥全草), 紫丁香苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111574-200603), 市售 XDA-1, NKA-2, AB-8, D-101 型大孔吸附树脂(陕西蓝深特种树脂有限公司), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

**[收稿日期]** 20121222(004)

**[通讯作者]** \* 曹爱兰, 研究员, 从事新药开发、保健品研究及仪器分析研究, Tel: 029-88231207-805, E-mail: caoailan118@163.com

## 2 方法与结果

### 2.1 含量测定<sup>[5]</sup>

**2.1.1 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(10:90), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 265 nm, 进样量 10 μL, 理论塔板数按紫丁香苷峰计算应不低于 2 000。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取紫丁香苷对照品 3 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容, 即得。

**2.1.3 倒卵叶五加提取液的制备** 取倒卵叶五加粗粉 300 g, 加 12 倍量 50% 乙醇提取 2 次, 每次 1.5 h, 合并提取液, 减压浓缩, 于 4 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 得含紫丁香苷 0.625 g·L<sup>-1</sup> 的浓缩液(相对密度 1.02, 60 ℃), 作为样品溶液。

**2.1.4 供试品的含量测定** 精密吸取样品溶液适量, 置 10 mL 量瓶, 经 50% 甲醇溶液定容, 摇匀, 用 0.45 μm 膜滤过, 精密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 用外标法计算紫丁香苷含量。

### 2.2 大孔吸附树脂型号的筛选

**2.2.1 树脂的预处理** 分别取 XDA-1, NKA-2, AB-8, D-101 型大孔吸附树脂适量, 用 95% 乙醇浸泡 24 h, 装柱, 用 95% 乙醇反复冲洗, 洗至洗脱液与水(1:2)混合不产生混浊, 用纯水冲洗至无醇味, 水浸泡备用。

**2.2.2 静态吸附与洗脱试验** 分别精密称取 4 种已处理过吸干表面水分的树脂 10 g, 置具塞锥形瓶中, 分别加入样品溶液 100 mL, 每隔 20 min 振摇 1 次, 上样 2 h 后, 静置 24 h, 使其达饱和吸附, 滤过。分别将滤出的树脂另置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 100 mL, 每隔 20 min 振摇 1 次, 2 h 后, 静置 24 h, 滤过, 分别吸取滤液测定紫丁香苷含量, 计算树脂饱和吸附量依次为 6.02, 5.91, 5.62, 5.50 mg·g<sup>-1</sup>, 洗脱率分别为 95.02%, 92.22%, 80.14%, 72.54%, 故选用 XDA-1 型树脂为宜。

饱和吸附量 = (供试品溶液初始质量浓度 - 吸附后质量浓度) × 吸附液体积 / 树脂质量;

洗脱率 = 洗脱液质量浓度 × 洗脱液体积 / 饱和吸附量 / 树脂质量 × 100%

### 2.3 XDA-1 型大孔树脂纯化工艺条件考察<sup>[6]</sup>

**2.3.1 泄露曲线** 称取已处理好的 XDA-1 型树脂(除去水分)10 g, 湿法装柱。取样品溶液, 以 2 BV·h<sup>-1</sup> 流速上样, 以 10 mL 为 1 个流分, 连续接取, 共 10 管, 测定流分中紫丁香苷含量, 以流出液体积对紫丁香苷含量绘制泄露曲线, 见图 1。结果表明, 在上样

药液达 40 mL 时, 紫丁香苷开始泄露, 到第 100 mL 时尚未泄露完全, 最终确定上样量 1:5 (g:mL), 即每 g 树脂对紫丁香苷的吸附量为 3.5 mg。

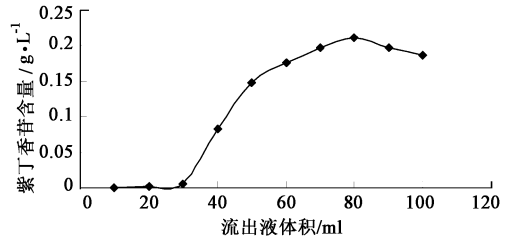


图1 XDA-1 型大孔树脂对紫丁香苷吸附的泄露曲线

**2.3.2 吸附流速** 称取已处理好的 XDA-1 树脂(除去水分)10 g, 湿法装柱。精密取样品溶液 60 mL, 分别以 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 BV·h<sup>-1</sup> 流速吸附, 用 6 BV 纯水洗脱至近无色, 用 70% 乙醇 8 BV 以 2.0 BV·h<sup>-1</sup> 流速洗脱, 收集各洗脱液, 定容至 100 mL, 测得洗脱液中紫丁香苷质量浓度分别为 0.563, 0.551, 0.540, 0.516 g·L<sup>-1</sup>, 综合考虑采用 2.0 BV·h<sup>-1</sup>。

**2.3.3 洗脱剂浓度** 按上述确定的吸附条件, 取 7 根已达到吸附饱和的 XDA-1 型树脂柱, 加 6 BV 纯水洗脱近无色, 依次用 8 BV 体积分数为 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% 的乙醇溶液洗脱, 收集各洗脱液, 测定紫丁香苷含量, 计算洗脱率分别为 31.59%, 71.53%, 86.77%, 96.34%, 95.37%, 80.77%, 69.61%, 因此选择 40% 乙醇。

**2.3.4 洗脱剂用量** 取样品溶液适量, 按上述所确定的工艺条件进行上柱、吸附和洗脱, 每 5 mL 为 1 流份, 连续接取, 测定各流分中紫丁香苷含量, 以流出体积对紫丁香苷含量绘制洗脱剂用量曲线, 见图 2。结果表明, 洗脱剂用量为 15 mL 时, 紫丁香苷洗脱达到最高峰, 用量 80 mL 即可将紫丁香苷基本洗脱下来。

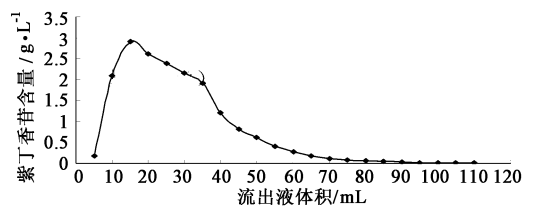


图2 XDA-1 型大孔吸附树脂对紫丁香苷的洗脱曲线考察

**2.4 验证试验** 取倒卵叶五加提取液(紫丁香苷含量 0.613 g·L<sup>-1</sup>)3 份, 每份 600 mL, 以 2 BV·h<sup>-1</sup> 流速上 XDA-1 型树脂柱, 加纯水 6 BV 洗脱, 用 40% 乙醇 800 mL 洗脱, 收集洗脱液, 测定紫丁香苷含量, 计算树脂饱和吸附量分别为 5.93, 5.86, 5.90 mg·g<sup>-1</sup>,

# 猪苓多糖硫酸酯的制备及活性测定

刘军, 白云凤\*, 宫凯敏  
(银川市中医医院, 银川 750001)

**[摘要]** 目的: 制备猪苓多糖硫酸酯, 同时测定其活性。方法: 采用醇沉分级、大孔吸附树脂、聚酰胺树脂和脱蛋白法从中药猪苓中提取分离得到猪苓多糖, 硫酸-吡啶法进行硫酸酯化, 经 Sephadex G-75、透析得到硫酸化猪苓多糖, 并体外观察硫酸酯化多糖对羟基自由基清除作用。结果: 猪苓多糖硫酸酯化前后均有清除 Fenton 反应由  $Fe^{2+}$ - $H_2O_2$  体系产生的羟自由基, 硫酸酯化猪苓多糖对羟自由基的清除能力增强, 并呈明显量效关系。结论: 制备猪苓多糖硫酸酯的方法准确可靠, 为猪苓多糖的进一步开发利用提供实验依据。

**[关键词]** 猪苓多糖硫酸酯; 制备; 活性测定

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0064-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013140064

## Preparation and Activity Assay of Sulfated Polysaccharides from *Polyporus umbellatus*

LIU Jun, BAI Yun-feng\*, GONG Kai-min  
(Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare sulfated polysaccharides from *Polyporus umbellatus* and investigate its anti-oxidation activity. **Method:** Polysaccharides was extracted and isolated by alcohol precipitation, macroporous resin, polyamide resin, deproteinization from *P. umbellatus*. Polysaccharides was sulfated by sulfuric acid-pyridine method, sulfated polysaccharides was deperated by Sephadex G-75 and dialysis, and *in vitro* scavenging

**[收稿日期]** 20121217(016)

**[第一作者]** 刘军, 副主任药师, 从事医院制剂开发研究, Tel: 0951-5052643, E-mail: nxlj@163.com

**[通讯作者]** \*白云凤, 硕士, 从事医院制剂开发的研究, Tel: 18795106052, E-mail: gkm107@163.com

洗脱率分别为 94.66%, 92.38%, 92.43%, 表明采用本方法纯化倒卵叶五加中紫丁香苷的工艺稳定可行。

### 3 讨论

XDA-1 型大孔吸附树脂呈弱极性, 对倒卵叶五加中紫丁香苷具有较好的吸附性能, 吸附速度快, 解析率高, 工艺稳定, 可行性强。树脂经反复使用, 残留的杂质会不断增加, 从而降低树脂的吸附性能, 通过对树脂吸附性能的考察, 该树脂使用 10 个周期后, 洗脱液中紫丁香苷质量浓度从  $0.982 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  下降到  $0.581 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 下降了 30%, 因此必须对树脂进行再生处理后才能使用。

### [参考文献]

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志, 第

54 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1978: 103.

[2] 卫平, 于高麦. 短柄五加化学成分研究[J]. 中草药, 1989, 20(4): 8.

[3] 斯建勇, 陈迪华, 常琪. 倒卵叶五加根茎的化学成分[J]. 植物学报, 1993, 35(6): 483.

[4] 邵佳峰, 刘树民, 牟洪, 等. 刺五加中紫丁香苷、刺五加苷 E 的大孔树脂分离纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 10.

[5] 毕福均, 钟顺好, 陈霭, 等. HPLC 法同时测定救必应药材中紫丁香苷和长梗冬青苷[J]. 中草药, 2010, 41(8): 1386.

[6] 李莹, 李艳丹, 刘园, 等. 大孔树脂富集纯化红毛五加中总苷类成分的工艺优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 24.

[责任编辑 仝燕]