

## LSA-21 型大孔吸附树脂富集何首乌中二苯乙烯的工艺研究

曹骋, 贾薇\*, 王术玲, 陈丰连, 曾元儿  
(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 研究 LSA-21 型大孔树脂对何首乌二苯乙烯苷的吸附性能及分离纯化工艺参数。方法: 采用高效液相色谱法测定 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷含量, 计算 LSA-21 大孔树脂对二苯乙烯苷的吸附率和解析率。结果: 最佳吸附纯化工艺为: 最大上样量为 1.2 g·g<sup>-1</sup> (生药量/干树脂), 药液浓度为 0.2 g·mL<sup>-1</sup> (相当于生药量), 60% 乙醇洗脱, 洗脱剂用量为 6 倍树脂量, 吸附及洗脱流速均为 1.0 mL·min<sup>-1</sup> (10 g 树脂)。结论: LSA-21 大孔树脂对何首乌二苯乙烯苷的吸附纯化效果较好, 本研究结果可为实际生产提供理论依据。

**[关键词]** 何首乌; 二苯乙烯苷; LSA 大孔吸附树脂

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0050-04

### Study on Technology of Enrichment of Stilbene Glycoside in *Polygonum multiflorum* with LSA-21 Macroporous Resin

CAO Cheng, JIA Wei\*, WANG Shu-ling, CHEN Feng-lian, ZENG Yuan-er

(Traditional Chinese Pharmaceutical College of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the conditions and parameters of purifying stilbene glycoside from *Polygonum multiflorum*. **Method:** HPLC was applied to determine the content of 2,3,5,4'-tetrahydroxy-stilbene-2-O-β-D-glycoside, and calculate the adsorption rate and desorption rate. **Result:** The optimum process condition was as follows: 60% ethanol was used as eluting solvent; the solution concentration was 0.2 g·mL<sup>-1</sup>; the adsorption and elution velocity were 1.0 mL·min<sup>-1</sup> (10 g resin). **Conclusion:** The desorption purification effect of LSA-21 macroporous resin is good. So this Method; of purification is advisable. The results of this study can provide theoretical basis for practical production.

**[Key words]** *Polygonum multiflorum*; stilbene glycoside; LSA-21 macroporous resin

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 具有补肝、益肾、养血、祛风之功效, 能解毒, 消痈, 截虐, 润肠通便。用于疮痈, 瘰疬, 风疹瘙痒, 久虐体虚, 肠燥便秘<sup>[1]</sup>。何

首乌主要含有二苯乙烯苷类、蒽醌类、磷脂类、糖类成分。二苯乙烯苷具有抗衰老、降低胆固醇、提高免疫功能、防治动脉硬化及保肝等作用。大孔吸附树脂吸附分离技术是一种纯化新工艺, 可以达到分离、富集中药有效部位或有效成分的目的。为了更好地分离纯化何首乌中二苯乙烯苷, 发挥何首乌的药效, 本研究主要考察 LSA-21 树脂对何首乌二苯乙烯苷的吸附性能及工艺参数, 旨在找出最适宜的动态吸附工艺, 为实际生产提供理论依据。

#### 1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10Av 检测器, Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),

**[收稿日期]** 20110112(001)

**[第一作者]** 曹骋, 讲师, 硕士, 从事中药分析及配方颗粒关键技术相关研究, Tel: 020-39358081, E-mail: caosir@126.com

**[通讯作者]** \*贾薇, 讲师, 博士, 从事中药分析及质量标准研究, Tel: 020-39358081, E-mail: jiawei6636@yahoo.com.cn.

766-3型KETONG远红外辐射干燥箱。何首乌(购自广州致信中药饮片有限公司,经广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定为蓼科植物何首乌*P. multiflorum*的干燥块根),2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(中国药品生药制品检定所,批号110844-200606);LSA-21型大孔吸附树脂(西安蓝晓科技有限公司),乙腈为色谱纯(Merck),水为蒸馏水,其余试剂为分析纯。

## 2 方法

**2.1 何首乌上样液的制备** 称取何首乌药材粉末(过一号筛)适量,置圆底烧瓶中,加10倍体积50%乙醇,置恒温水浴锅中加热回流提取2次,每次1h,合并提取液,滤过,滤液经减压浓缩至无醇味,高速离心(3000 r·min<sup>-1</sup>),取上清液,调节浓度至0.2 g·mL<sup>-1</sup>(相当于生药量),即得。

### 2.2 二苯乙烯苷的含量测定

**2.2.1 色谱条件** 流动相乙腈-水(25:75),检测波长320 nm,柱温室温,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量10  $\mu$ L。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品适量,加50%乙醇制成每1 mL含0.2 mg的溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密移取何首乌上样液(或流出液)1 mL,置25 mL量瓶中,加50%乙醇稀释至刻度,过0.45  $\mu$ m微孔滤膜,即得。

**2.2.4 线性关系考察** 分别精密吸取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷对照品溶液0.50,1.00,2.00,3.00,4.00 mL置5 mL量瓶中,加50%乙醇稀释至刻度,摇匀。分别进样测定峰面积,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得线性方程为 $Y=115\ 759\ 394X+628\ 349$ ( $r=0.999\ 4$ )。结果表明2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷进样浓度在0.02~0.16 g·L<sup>-1</sup>线性关系良好。

**2.2.5 精密度试验** 取同一份供试品溶液,连续进样6次,按2.2.1项下色谱条件测定二苯乙烯苷峰面积,结果峰面积RSD 0.3%,表明测定方法精密度良好。

**2.2.6 测定** 按2.2.1及2.2.3项下方法,分别进样测定二苯乙烯苷峰面积,按标准曲线法计算含量。

## 3 动态吸附性能考察

**3.1 大孔树脂预处理**<sup>[2]</sup> 取LSA-21树脂适量,加入95%乙醇回流至洗脱液蒸干后无残留,洗净的树

脂挥去溶剂后保存备用。以乙醇湿法装柱,乙醇洗脱,至流出的乙醇液用水稀释不浑浊为止(取1 mL乙醇加5 mL水),用纯化水洗至无醇味,备用。

**3.2 静态吸附解吸性能考察** 笔者在优选大孔树脂型号前期研究中,曾通过静态吸附-解吸实验测出LSA-21树脂对二苯乙烯苷的静态吸附率,洗脱率最大可达86%及89%,分离效率为77%<sup>[3]</sup>。

**3.3 吸附流速的确定** 分别取已预处理的LSA-21大孔树脂5份,每份10 g,装柱。取上样液40 mL分别以0.5,1.0,1.5,2.0 mL·min<sup>-1</sup>的流速上样,收集各流速下的流出液,按2.2.6项下方法测定二苯乙烯苷含量,计算吸附率。结果二苯乙烯苷吸附率随吸附流速的增大而逐渐下降,流速大于1.0 mL·min<sup>-1</sup>,二苯乙烯苷吸附率显著下降,吸附流速0.5 mL·min<sup>-1</sup>时吸附率最大,但上样时间长,故选定最佳吸附流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>。见图1。

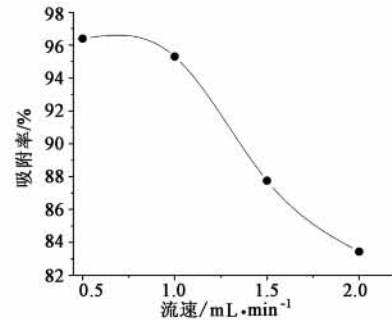


图1 吸附流速对二苯乙烯苷吸附率的影响

**3.4 上样液浓度影响** 称取已预处理LSA-21型树脂5 g,共4份,装柱,另取浓度为0.1,0.2,0.3,0.4 g·mL<sup>-1</sup>(相当于生药量)的上样液10 mL,以1.0 mL·min<sup>-1</sup>的吸附流速上样,待吸附完全后,按2.2.6项下方法测定二苯乙烯苷含量,计算吸附率。结果上样液浓度大于0.2 g·mL<sup>-1</sup>(相当于生药量)后,LSA-21树脂对二苯乙烯苷的吸附率逐渐下降。上样液浓度为0.1 g·mL<sup>-1</sup>(相当于生药量)时,二苯乙烯苷吸附率最高,但此浓度药液较稀,纯化所需时间长,故上样液浓度选择0.2 g·mL<sup>-1</sup>(相当于生药量)较为适宜。见图2。

**3.5 最大上样量的确定** 称取已预处理的LSA-21树脂10 g,装柱,另取0.2 g·mL<sup>-1</sup>(相当于生药量)的上样液,上样,吸附流速为1.0 mL·min<sup>-1</sup>,用具塞试管收集流出液,每10 mL收集1份,按2.2.6项下方法测定二苯乙烯苷含量,计算泄漏率。以药液体

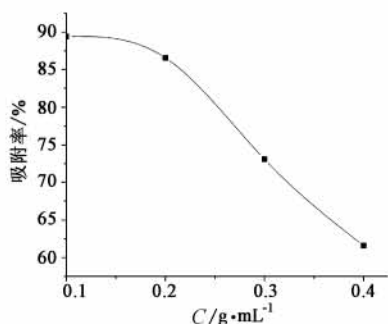


图 2 上样液浓度对二苯乙烯苷吸附率的影响

积为横坐标, 泄漏率为纵坐标绘制泄漏曲线。结果随着上样液体积增加, 未吸附率逐渐增加, 60 mL 以后未吸附率显著上升, 此时二苯乙烯苷大量泄漏, 树脂对二苯乙烯苷的吸附能力显著下降, 故确定 60 mL 为最大上样量, 此时未吸附率未超过 10%。见图 3。

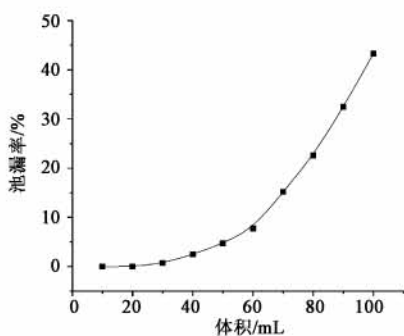


图 3 二苯乙烯苷泄漏曲线

**3.6 洗脱剂考察** 取 LSA-21 树脂 10 g, 装柱, 用上样液吸附饱和, 用水洗至流出液无色澄清后, 依次以 5 倍柱体积 20% 乙醇, 40% 乙醇, 60% 乙醇, 80% 乙醇, 95% 乙醇洗脱树脂柱, 收集各段洗脱液。按 2.2.6 项下方法测定各段洗脱液中二苯乙烯苷含量, 结果随着乙醇体积分数的增加, 洗脱液中二苯乙烯苷的含量逐渐增加; 当乙醇体积分数大于 60% 后, 洗脱液中二苯乙烯苷的量明显降低, 可认为树脂上的二苯乙烯苷已基本洗脱完全, 故选定洗脱液为 60%。见图 4。

**3.7 洗脱流速的影响** 取已经吸附饱和的树脂用水洗至流出液澄清并无色后, 以 4 BV 60% 乙醇洗脱, 分别调节流速为 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL·min<sup>-1</sup>, 收集洗脱液。按 2.2.6 项下方法测定洗脱液中二苯乙烯苷含量, 结果随着流速的增大, 二苯乙烯苷洗脱率逐渐下降, 当流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup> 时, 洗脱率较大, 且洗脱所需时间短, 故确定洗脱流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。见图 5。

**3.8 洗脱曲线** 取已用上样液吸附饱和的树脂 10

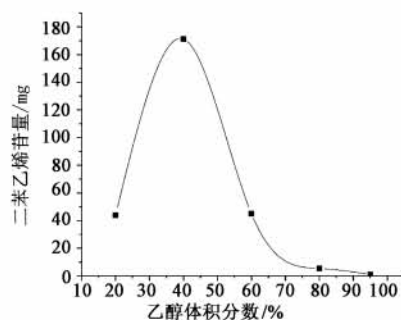


图 4 乙醇洗脱液浓度的影响

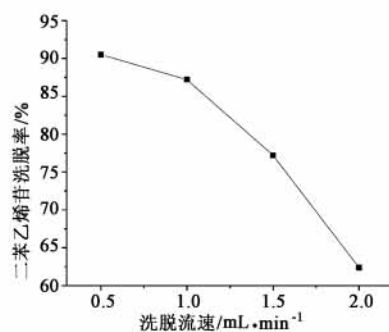


图 5 洗脱流速的影响

g, 用蒸馏水洗脱除去水溶性杂质, 以 60% 乙醇 100 mL 洗脱, 洗脱流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 每 10 mL 收集 1 次洗脱液。按 2.2.6 项下方法测定各段洗脱液中二苯乙烯苷含量。结果洗脱液中二苯乙烯苷的量随着洗脱体积的增大逐渐减少, 到第 60 mL 时, 二苯乙烯苷含量已经很少, 可认为二苯乙烯苷已基本洗脱完全, 故选择 60% 乙醇洗脱剂体积为 60 mL, 即 6 倍树脂量。见图 6。

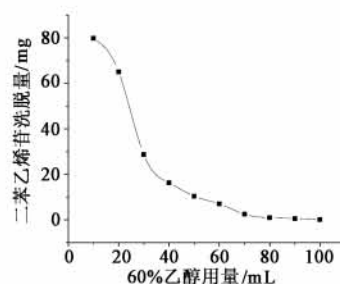


图 6 洗脱剂用量考察

**3.9 验证试验** 取 LSA-21 树脂 10 g, 上柱, 分别加入 0.2 g·L<sup>-1</sup> (相当于生药量) 何首乌的上样液 60 mL 进行动态交换吸附, 吸附流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 收集流出液, 待吸附完全后加水洗至流出液接近无色后, 加 60% 乙醇 60 mL 洗脱, 调节流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 收集洗脱液, 按 2.2.6 项下方法测定二苯乙烯苷含量。计算洗脱率。结果见表 1。

表1 二苯乙烯苷大孔树脂吸附验证试验

No.	吸附量 /mg	吸附率 /%	洗脱量 /mg	洗脱率 /%
1	153.3	88.10	131.9	86.04
2	149.1	85.69	132.8	89.07
3	146.7	84.31	129.3	88.14

#### 4 结果与讨论

大孔吸附树脂的吸附性能主要取决于吸附剂的表面性质,即树脂的极性(功能基)和空间结构(孔径、比表面积、孔容),一般非极性物质易被非极性树脂吸附,极性物质易被极性树脂吸附。强极性的大孔吸附树脂虽然对极性强的化合物吸附能力强,但较难被洗脱,弱极性树脂吸附能力弱<sup>[4]</sup>。大孔吸附树脂解吸时受到洗脱剂的种类、浓度、体积、程序、流速的影响。

LSA-21树脂是一种中等极性树脂,适合分离纯化弱极性和中等极性有机化合物。二苯乙烯苷类化合物多含有酚羟基,可作为良好的氢键供体,有利于被极性树脂吸附。本研究考察了LSA-21型大孔树脂对何首乌二苯乙烯苷的动态吸附纯化工艺,主要从上样液的浓度、最大上样量、吸附流速、洗脱剂的含醇量、洗脱流速、洗脱液的用量等方面进行考察,

从而得到最佳的纯化工艺参数。实验表明LSA-21型树脂对二苯乙烯苷类化合物具有较强的富集能力。本实验研究初步确定LSA-21树脂对何首乌二苯乙烯苷纯化条件为:最大上样量为 $1.2\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ (生药量/干树脂),药液质量浓度为 $0.2\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (相当于生药量),吸附流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (10 g树脂),60%乙醇洗脱,洗脱剂用量为6倍树脂量。验证实验证明,LSA-21树脂对何首乌二苯乙烯苷的动态吸附率、解吸率均在80%以上,纯化效果良好。纯化后二苯乙烯苷在干膏中的含量由7.3%提高至43.5%,LSA-21树脂纯化何首乌二苯乙烯苷的工艺稳定,方法可取,具有良好的应用。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:164.
- [2] 胡军,周跃华.大孔吸附树脂在中药成分精制纯化中的应用[J].中成药,2002,24(2):127.
- [3] 曹骋,王术玲,陈丰连,曾元儿,等.不同型号大孔吸附树脂对何首乌二苯乙烯的吸附性[J].医药导报,2011,30(2):202.
- [4] 何伟,李伟.大孔树脂在中药成分分离中的应用[J].南京中医药大学学报,2005,21(2):134.

[责任编辑 全燕]

## 《中国中药杂志》2011年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于1955年7月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、科研院所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128页,2011年定价每期30元,全年24期定价为720元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www.cjcm.com.cn](http://www.cjcm.com.cn) 或 [www.中国中药杂志.com](http://www.中国中药杂志.com)。

联系电话:稿件查询010-64045830转602;主任电话010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。