

大孔吸附树脂 AB-8 对芒果苷吸附及扩散动力学的影响

邓妍芳*, 索绪斌#, 黄旖旎, 宋文霞(广东药学院中药学院, 广州 510006)

中图分类号 R284.2; O643.12 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)04-0480-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.04.16

摘要 目的: 研究大孔吸附树脂 AB-8 对芒果苷的吸附及扩散动力学影响。方法: 将 1 g 干树脂置于 200 ml 芒果苷溶液(0.02 mg/ml)中振荡过夜, 测定大孔吸附树脂 AB-8 吸附量以计算静态吸附率与静态解吸率, 从而确定等温线模型。将 1 g 大孔吸附树脂 AB-8 置于 0.04、0.025、0.012 5、0.006 25、0.003 125 mg/ml 芒果苷溶液中, 分别在 303、313、323 K 下恒温振荡器中振荡 24 h, 测定溶液中芒果苷含量以计算平衡吸附量, 从而确定热力学参数。将 1 g 大孔吸附树脂 AB-8 分别置于 0.04、0.025 mg/ml 芒果苷溶液中, 于 303 K 恒温条件下浆法吸附, 测定大孔吸附树脂 AB-8 吸附量并绘制芒果苷吸附动力学曲线, 从而确定吸附动力学模型。采用反相高效液相色谱法测定芒果苷含量。色谱柱为 Kromasil C₁₈, 流动相为甲醇-0.1% 磷酸(35:65, V/V), 流速为 1 ml/min, 检测波长为 259 nm, 柱温为室温, 进样量为 20 μ l。结果: 芒果苷质量浓度在 0.001 25~0.02 mg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999 8$), 精密度试验 RSD 均小于 0.75%, 回收率为 98.77%~100.67%, 稳定性试验 RSD 为 1.17%。大孔吸附树脂 AB-8 对芒果苷的静态吸附率与解吸率分别为 82.73%、87.10%。大孔吸附树脂 AB-8 对芒果苷的吸附特征以 Freundlich 方程描述更准确, 其属于多分子层吸附, 以物理吸附为主。大孔吸附树脂 AB-8 对芒果苷的整个吸附过程趋向于准二级动力学模型, 芒果苷在大孔吸附树脂 AB-8 的吸附是自发放热物理过程。结论: 芒果苷在大孔吸附树脂 AB-8 上的吸附率和解吸率较高, 室温下能自发进行, 增加大孔吸附树脂 AB-8 孔径可提高其扩散速率。大孔吸附树脂 AB-8 是一种分离纯化芒果苷的理想树脂。

关键词 芒果苷; 大孔吸附树脂 AB-8; 热力学; 动力学

Influence of the Adsorption and Diffusion Kinetics of Macroporous Absorbent Resin AB-8 on Mangiferin

DENG Yan-fang, SUO Xu-bin, HUANG Yi-ni, SONG Wen-xia (College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the influence of absorption and diffusion kinetics of macroporous absorbent resin AB-8 on mangiferin. METHODS: The static absorption rate and resolution rate were calculated by testing macroporous resin AB-8 absorption, with dry resin 1 g into mangiferin solution (0.02 mg/ml) shaken overnight, and then determine Freundlich model. Dry resin 1 g were added into mangiferin solution (0.04, 0.025, 0.012 5, 0.006 25, 0.003 125 mg/ml) shaking for 24 h in the temperature oscillator with 303, 313, 323 K respectively to test the content of mangiferin solution to determine the equilibrium absorption capacity and thermodynamic parameters. With the slurry solution, dry resin 1 g were put into mangiferin solution 0.04, 0.025 mg/ml respectively with 303 K to test AB-8 absorption quantity macroporous absorbent resin AB-8 absorption, draw the mangiferin absorption kinetic curve and determine the absorption kinetic model. The content of mangiferin was tested by RP-HPLC, with Kromasil C₁₈ column, mobile phase of methanol-0.1% phosphoric acid (35:65, V/V), at flow rate of 1 ml/min, with detection wavelength of 259 nm, room temperature and injection volume of 20 μ l. RESULTS: The concentration of mangiferin within 0.001 25-0.02 mg/ml showed a good linear relationship ($r=0.999 8$) with peak area values. RSD values of precision test were less than 0.75%, recoveries were 98.77%-100.67%, RSD of stability test was 1.17%. The static absorption rate and resolution rate of macroporous absorbent resin AB-8 on mangiferin were 82.73%, 87.10%. Freundlich equation can describe the adsorption characteristics of macroporous absorbent resin AB-8 on mangiferin, and it belongs to multi-molecular layer adsorption with physical adsorption. The whole adsorption process of macroporous absorbent resin AB-8 on mangiferin tended to quasi-second-order kinetic model that the absorption was a spontaneous physical adsorption process with heat releasing. CONCLUSIONS: The absorption rate and resolution rate of macroporous absorbent resin AB-8 on mangiferin are high, occurring spontaneously at room temperature. The diffusion rate can be improved by increasing the macroporous absorbent resin AB-8 aperture. Macroporous absorbent resin AB-8 is a rational resin for the separation and purification of mangiferin.

KEYWORDS Mangiferin; Macroporous absorbent resin AB-8; Thermodynamics; Kinetics

芒果苷(Mangiferin, MGF)是一种四羟基吡酮的碳糖苷, 属双苯吡酮类化合物。现代药理研究证明, 芒果苷具有良好的抗肿瘤、抗氧化、免疫调节、抗炎等多种活性, 具有广阔的临

* 硕士研究生。研究方向: 中药新剂型和新技术。E-mail: 180456850@qq.com

通信作者: 副教授。研究方向: 新型药物缓释制剂。电话: 020-39352691。E-mail: suoxubin04@163.com

床应用前景^[1-2]。芒果苷的分离纯化大多采用液-液萃取, 效率低, 无法用于工业大批量生产。而近年来大孔吸附树脂凭借其高效及高选择性, 已广泛用于芒果苷的分离纯化^[3-7]。其分离物纯度高、操作简便, 但是芒果苷在大孔吸附树脂 AB-8 上的吸附行为和机制却无相关文献报道。因此, 笔者通过研究芒果苷在大孔吸附树脂 AB-8 上的吸附动力学特性和热力学参数, 为优化大孔吸附树脂对芒果苷的分离纯化条件提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

SCL-10AVP型高效液相色谱仪(日本岛津公司);ZRS-8G型溶出度测试仪(天津市新光分析仪器技术有限公司);759型紫外-可见分光光度计(上海菁华科技有限公司);PHS-3E型pH计(上海雷磁仪器有限公司);DZKW-S-4型电热恒温水浴锅(北京市光明医疗仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

芒果苷对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号: MUST-12110201,纯度:≥98%);芒果苷原料药(南京泽郎医药科技有限公司,纯度:95%);大孔吸附树脂AB-8(天津南大树脂科技有限公司);甲醇(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);乙醇(分析纯,天津市百世化工有限公司)。

2 方法与结果

2.1 芒果苷的含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸(35:65, V/V),流速:1 ml/min;检测波长:259 nm;柱温:室温;进样量:20 μl。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒质量的芒果苷对照品1 mg至50 ml量瓶内,用流动相溶解并稀释至刻度,制得0.02 mg/ml芒果苷对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取洗脱液经0.4 μm滤膜滤过,即得。

2.1.4 标准曲线的制备 分别精密量取“2.1.2”项下芒果苷对照品溶液适量,用流动相制成质量浓度为0.02、0.01、0.005、0.002 5、0.001 25 mg/ml的对照品系列溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。以芒果苷的质量浓度(x)为横坐标、峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=1\times 10^3x+17\ 150(r=0.999\ 8)$ 。结果表明,芒果苷检测质量浓度在0.001 25~0.02 mg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.1.5 精密度试验 按“2.1.3”项下方法制备质量浓度为0.005 mg/ml的芒果苷供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件考察日内精密度(5次)、日间精密度(5 d)。结果,日内、日间精密度的RSD分别为0.74%、0.73%(n=5),表明此方法的精密度良好。

2.1.6 回收率试验 取“2.1.3”项下供试品溶液回收溶剂后进行回收率试验。以测得量与加入量相比,计算回收率。回收率试验结果见表1。

表1 回收率试验结果

Tab 1 Results of the recovery test

编号	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
1	0.24	0.25	104.17	98.77	4.72
2	0.25	0.24	96.00		
3	0.26	0.25	96.15		
1	0.49	0.49	100.00	100.67	3.11
2	0.49	0.51	104.08		
3	0.48	0.47	97.92		
1	0.98	0.99	101.02	99.68	1.18
2	0.99	0.98	98.99		
3	1.02	1.01	99.02		

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(0.002 5 mg/ml),分别于0、2、4、6、8、10、24 h时取样,按“2.1.1”色谱条件下进样测定,记录色谱图,计算RSD。结果,稳定性试验的RSD为

1.17%,表明样品溶液在24 h内稳定,可满足试验分析的要求。

2.2 大孔吸附树脂AB-8的预处理

将新购的AB-8加入5倍量95%乙醇浸泡24 h后,装入玻璃柱中进行动态淋洗,洗至流出液不呈现混浊为止;继续加蒸馏水洗至无醇味为止,然后用5% HCl浸泡4 h,蒸馏水洗至中性;最后用2% NaOH浸泡4 h,蒸馏水洗至中性,倾出玻璃柱,得干树脂备用^[8]。

2.3 大孔吸附树脂AB-8吸附及解吸

称取干树脂3份(每份1 g),装入200 ml具塞锥形瓶中,加入0.02 mg/ml的芒果苷溶液(500 mg芒果苷溶于1 000 ml水中,得0.5 mg/ml溶液,稀释)200 ml。在303 K恒温条件下,将封好口的锥形瓶置于恒温水浴振荡器中振荡过夜,使树脂充分吸附;吸附平衡后,按“2.1.1”项下色谱条件测定、计算吸附量。再滤出已吸附平衡的树脂,用200 ml纯水冲洗后,用滤纸吸干,分别加入20%乙醇100 ml进行洗脱,收集洗脱液进行检测。根据公式(1)(2)分别计算静态吸附率(A)和静态解吸率(D)。

$$A(\%)=(c_0-c_e)/c_0\times 100\% \quad (1)$$

$$D(\%)=c_d/(c_0-c_e)\times 100\% \quad (2)$$

式中, c_0 和 c_e 分别为溶液初始时和平衡时芒果苷的质量浓度(mg/ml); c_d 为洗脱液中芒果苷的质量浓度(mg/ml)。

大孔吸附树脂在分离纯化方面的应用是利用吸附的可逆性。被分离物质的极性不同,树脂对其吸附作用力强弱不同,解吸难易亦不同。因此,吸附量及解吸率的测定是证明树脂型号使用合理的重要环节。对大孔吸附树脂AB-8进行A与D的计算,结果 $A=82.73\%$, $D=87.10\%$ 。可以看出,大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附力强;但是芒果苷具一定极性,用20%乙醇可将芒果苷洗脱下来。

另外,芒果苷溶液在酸性条件下能快速被吸附且达到平衡;而在中性及碱性条件下,芒果苷溶液不被吸附或微弱吸附。分析其原因可能是芒果苷分子中有4个羟基,呈弱酸性,随着pH的上升,部分酚羟基会发生电离导致大孔树脂与芒果苷的吸附力降低。所以,试验尽量控制在酸性条件下。

2.4 芒果苷在大孔吸附树脂AB-8上等温平衡吸附

2.4.1 等温线吸附方程拟合 称取预处理过的干树脂5份(每份1 g)于50 ml量瓶中,分别加入质量浓度为0.04、0.025、0.012 5、0.006 25、0.003 125 mg/ml的芒果苷溶液。分别在303、313、323 K下恒温振荡器中振荡24 h,待吸附平衡后,测定溶液中芒果苷的质量浓度。根据公式(3)计算平衡吸附量(Q_e , mg/g)^[9]:

$$Q_e=(c_0-c_e)V/m \quad (3)$$

式中, c_0 和 c_e 分别为溶液初始时和平衡时芒果苷的质量浓度(mg/ml); V 为芒果苷溶液的体积(ml); m 为大孔吸附树脂AB-8的质量(g)。

根据所测得的数据绘出大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附等温线(见图1)。由图1可以看出,在质量浓度一定时,吸附量随着温度的升高而降低,提示吸附为放热过程,降低温度有利于吸附行为的进行^[10];此外,随着初始温度的增加,传质推动力和芒果苷分子与吸附位点接触的概率随之增加,故平衡吸附量和吸附速率减小。

吸附过程是溶质分子在吸附剂与溶剂两相界面上进行分配的过程。在一定温度下,当吸附过程达到平衡时,溶质分子在液相和固相中的浓度关系可用吸附等温方程式来表示。使用等温吸附模型Freundlich方程[公式(4)]进行拟合分析,结果

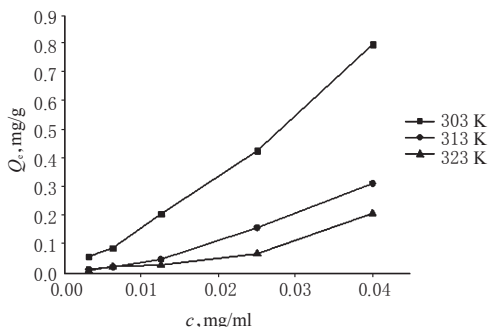


图1 不同初始温度下的静态吸附等温线

Fig 1 Adsorption isotherm of static adsorption at different initial

见表2。拟合方程的 R 均大于0.95,表明Freundlich方程可以描述大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附特征:多分子层吸附,以物理吸附为主^[11-12]。

$$\ln Q_e = (1/n) \ln c_e + \ln K_F \quad \dots \quad (4)$$

式中, Q_e 为吸附平衡时的吸附量(mg/g); c_e 为溶液中芒果苷的平衡质量浓度(mg/ml); n 、 K_F 为Freundlich方程系数。

表2 大孔吸附树脂AB-8等温线拟合Freundlich方程

Tab 2 Freundlich equation for macroporous absorbent resin AB-8 isothermal curve

等温线模型	T, K	回归方程	参数		
			K_F	n	R^2
Freundlich	303	$y=1.0718x+3.6937$	40.19	0.933	0.9842
	313	$y=1.2717x+3.4557$	31.69	0.786	0.9743
	323	$y=0.9649x+1.4267$	4.17	1.036	0.9698

2.4.2 吸附热力学参数 对大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附过程进行热力学特性分析,参考Gibbs方程、Van't Hoff方程和Gibbs-Helmholtz方程^[13];分别计算得出吸附过程的吸附自由能变(ΔG)、焓变(ΔH)和熵变(ΔS)^[14]。

Van't Hoff方程:

$$\ln(1/c_e) = \ln K_0 - \Delta H/RT \quad \dots \quad (5)$$

式中, c_e 为绝对温度为 T 时,达到一定平衡吸附量时溶液中芒果苷的平衡质量浓度; K_0 为方程常数; R 为理想气体常数[8.314 J/(mol·K)]。通过 $\ln c_e$ 对 T^{-1} 作图,计算直线斜率得 ΔH 。

Gibbs方程:

$$\Delta G = -nRT \quad \dots \quad (6)$$

式中, n 为Freundlich方程中的参数; R 为理想气体常数; T 为温度。

Gibbs-Helmholtz方程:

$$\Delta S = (\Delta H - \Delta G)/T \quad \dots \quad (7)$$

$\Delta G < 0$, $\Delta H < 0$,表明大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附为自发放热过程,降低温度有利于吸附;并且 ΔG 的绝对值都小于20 kJ/mol,说明吸附属于物理吸附。 ΔS 为负值,表明随着吸附的进行,吸附体系无序度随芒果苷分子的平衡自由度和转动自由度减小而减小。 ΔS 随温度的增加而增大同样证明低温有利于吸附。吸附热力学参数见表3。

表3 吸附热力学参数

Tab 3 Absorption thermodynamic parameters

T, K	ΔH , kJ/mol	ΔG , kJ/mol	ΔS , J/(mol·K)
303		-2.350	-250
313	-77.01	-2.045	-240
323		-2.782	-230

2.5 芒果苷在大孔吸附树脂AB-8上的吸附行为研究

称取处理好的干树脂2份(2 g),分别置于智能溶出小杯中,第1小杯中加入0.04 mg/ml的芒果苷溶液100 ml,第2小杯中加入0.025 mg/ml的芒果苷溶液100 ml。于303 K恒温条件下,以桨法(100 r/min)进行吸附。每隔一定时间抽取5.0 ml进行测定,连续测定7 h(第1小时内每10 min取样;第2~7小时内每1 h取样),根据公式(8)计算大孔吸附树脂对芒果苷的吸附量(Q_t , mg/g)。以吸附量 Q_t (mg/g)对时间作图,绘制大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附动力学曲线。

$$Q_t = (c_0 - c_t)V/m \quad \dots \quad (8)$$

式中, Q_t (mg/g)为 t 时刻大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附量; c_0 和 c_t 分别为溶液初始时和 t 时刻溶液中芒果苷的质量浓度(mg/ml); V 为芒果苷溶液的体积(ml); m 为大孔吸附树脂AB-8的质量(g)。

一般而言,固-液界面的吸附过程主要包括吸附质分子的膜扩散和颗粒内扩散两个过程控速。为了进一步研究总芒果苷的质量浓度随时间变化的规律,分别采用准一级和准二级动力学方程及颗粒内扩散模型对不同质量浓度下的动力学数据进行拟合,考察吸附过程中的控速步骤^[15]。

准一级动力学模型:

$$\lg(Q_e - Q_t) = \lg Q_e - \frac{k_1}{2.303} t \quad \dots \quad (9)$$

准二级动力学模型:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad \dots \quad (10)$$

颗粒内扩散模型:

$$Q_t = k_d t^{1/2} + C \quad \dots \quad (11)$$

式中, k 为吸附速率常数; t 为时间; Q_t 和 Q_e 分别为 t 时刻和吸附达平衡时大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的吸附量(mg/g); k_d 为颗粒内扩散速率常数[mg/(g·min^{1/2})]; C 为截距。

吸附初期,吸附量随吸附时间的增加而迅速增大;吸附后期,随着活性吸附位点的饱和及芒果苷浓度的降低导致吸附体系克服固液界面传质阻力作用减弱,吸附趋于平缓。芒果苷不同质量浓度下的吸附动力学曲线见图2。

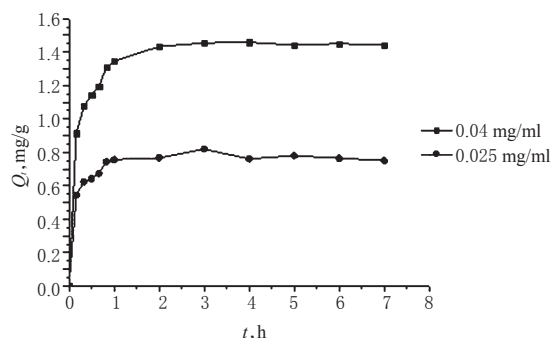


图2 芒果苷不同质量浓度下的吸附动力学曲线

Fig 2 Absorption kinetics curve of mangiferin at different initial concentrations

从准一级和准二级动力学模型的拟合参数(见表4)可看出,准二级动力学模型不仅拟合曲线的 R^2 值较准一级动力学模型的 R^2 值高,而且拟合所得的吸附量与试验值更为接近,这表明大孔吸附树脂AB-8对芒果苷的整个吸附过程更符合准二级动力学模型。

表4 芒果苷不同质量浓度下的动力学拟合模型参数

Tab 4 Fitting model parameters of kinetics of mangiferin at different initial concentrations

模型	质量浓度, mg/ml	回归方程	参数		
			k	Q 或 C	R^2
准一级动力学模型	0.04	$y = -0.2331x - 0.3561$	$0.537(k, \text{min}^{-1})$	$1.455(Q, \text{mg/g})$	0.8332
	0.025	$y = -0.1422x - 0.6895$	$0.327(k, \text{min}^{-1})$	$0.819(Q, \text{mg/g})$	0.5737
准二级动力学模型	0.04	$y = 0.6848x + 0.0812$	$5.780(k, \text{g}/(\text{mg}\cdot\text{min}))$	$1.460(Q, \text{mg/g})$	0.9994
	0.025	$y = 1.2455x + 0.1267$	$1.250(k, \text{g}/(\text{mg}\cdot\text{min}))$	$0.803(Q, \text{mg/g})$	0.8030
颗粒内扩散模型	0.04	$y = 1.2839x + 0.1862$	$1.2839(k, \text{mg}/(\text{g}\cdot\text{min}^{1/2}))$	$0.1862(C)$	0.9061
	0.025	$y = 0.3573x + 0.4007$	$0.3573(k, \text{mg}/(\text{g}\cdot\text{min}^{1/2}))$	$0.4007(C)$	0.9676

以 Q_t 对 $t^{1/2}$ 作图得到曲线明显分为两个阶段,说明大孔吸附树脂 AB-8 对芒果苷吸附速率受多个扩散模型的控制。虽然两个阶段的直线均不过原点,但是线性相关系数均较高,所以颗粒内扩散是这两个阶段的速率控制步骤,而颗粒内扩散主要受树脂中孔径分布的影响。这证明大孔吸附树脂 AB-8 的孔径分布较为广泛且主要包括大孔、中孔和微孔:阶段 1 主要在树脂的大孔和中孔中扩散;阶段 2 主要是树脂上的微孔发挥着吸附作用。此外,在 0.04、0.025 mg/ml 两个吸附阶段的颗粒内扩散速率的顺序均为 $k_{a0.04 \text{ mg/ml}} > k_{a0.025 \text{ mg/ml}}$,这表明在树脂吸附过程中,芒果苷在树脂微孔中的扩散阻力远大于在中孔和大孔中的扩散阻力。芒果苷不同质量浓度下颗粒内扩散拟合曲线见图 3。

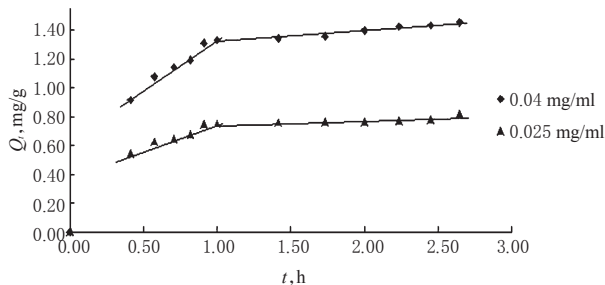


图3 芒果苷不同质量浓度下颗粒内扩散拟合曲线

Fig 3 Intra-particle diffusion curve fitting of mangiferin at different initial concentrations

在吸附初期,颗粒内扩散模型的拟合直线均不过原点,表明颗粒内扩散并不是唯一的速率控制步骤。本研究采用 Boyd 模型[公式(12)]对动力学数据进一步分析来验证液膜扩散对传质速率的影响。

$$B_t = -0.4977 - \ln\left(1 - \frac{Q_t}{Q_e}\right) \dots\dots\dots (12)$$

式中, B_t 为 t 时刻的液膜扩散系数; Q_t 和 Q_e 分别为 t 时刻和吸附达平衡时芒果苷的吸附量(mg/g)。

以 B_t 对 t 作图,以 Boyd 模型对吸附初期的动力学数据拟合所得的直线不过原点,说明吸附初期的速率由液膜扩散和颗粒扩散共同控制。随着吸附的进行,吸附质在微孔中的扩散逐渐成为 AB-8 对芒果苷吸附过程的速率控制步骤。颗粒内扩散为整个吸附过程的主要速率控制步骤。因此适当提高大孔树脂的孔径、孔隙率和表面积可提高扩散速率。不同质量浓度下 Boyd 模型的拟合曲线见图 4。

3 讨论

芒果苷在大孔吸附树脂 AB-8 上 A 可达 82.73%, D 可达

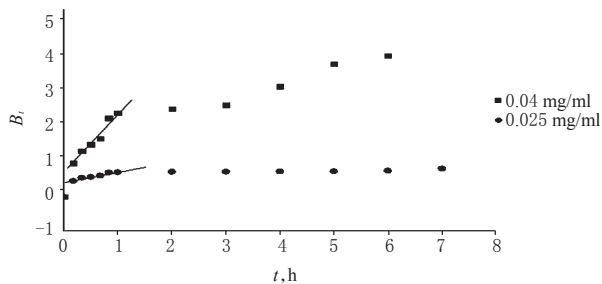


图4 芒果苷不同质量浓度下 Boyd 模型的拟合曲线

Fig 4 Boyd model curve fitting of mangiferin at different initial concentrations

87.10%, 20% 乙醇溶液即可充分洗脱。吸附过程为放热的物理吸附,室温下都能自发进行,且低温利于吸附进行。吸附过程趋向于准二级动力学模型,并由颗粒扩散及液膜扩散共同控速,增加大孔吸附树脂 AB-8 的孔径可提高扩散速率。根据国际通用分类方法,大孔吸附树脂 AB-8 的孔径分布较宽,中孔和大孔分布集中,吸附质较易进入树脂孔道。综合各项指标,大孔吸附树脂 AB-8 是一种分离纯化芒果苷的理想树脂。

参考文献

- [1] 邓家刚,覃骊兰.芒果苷近 5 年研究进展[J].长春中医药大学学报,2008,24(4):463.
- [2] Matkowski A, Kuśś P, Góralaska E, et al. Mangiferin: a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13(3): 439.
- [3] 徐小燕,潘林梅.影响大孔树脂吸附分离的因素及其在中药制备工艺中的应用[J].中国药房,2007,18(9):719.
- [4] 葛丹丹,张祎,刘二伟,等.芒果叶化学成分研究: I [J].中草药,2011,42(3):428.
- [5] 李春美,徐淑芬,党美珠.芒果多酚的提取纯化工艺研究[J].食品科技,2010,35(5):214.
- [6] 周丽明.芒果多酚的提取、分离纯化及抗氧化、抑菌作用研究[D].武汉:华中农业大学,2007.
- [7] Luo F, Lv Q, Zhao Y, et al. Quantification and purification of mangiferin from Chinese Mango (*Mangifera indica* L.) cultivars and its protective effect on human umbilical vein endothelial cells under H_2O_2 -induced stress[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(9): 11 260.
- [8] 张涵,索绪斌.两种大孔吸附树脂对柚皮苷的吸附动力学及热力学研究[J].中国新药杂志,2011,20(5):459.
- [9] 朱晟.大孔树脂吸附技术分离红霉素 A 及其异构体的基础研究[D].上海:华东理工大学,2012.
- [10] 吴晓宁,余陈欢.大孔树脂吸附乌蕨总黄酮的热力学研究[J].中华中医药学刊,2011,29(3):648.
- [11] 曹运兵. AB-8 大孔树脂对 1,2-环己二醇吸附性能研究[D].郑州:郑州大学,2012.
- [12] 叶振华.化工吸附分离过程[M].北京:中国石化出版社,1992:203.
- [13] 胡洋叶,王玉蓉,韩振蕴.大孔树脂吸附知母总皂苷的动力学与热力学研究[J].中药信息,2011,28(5):36.

黄芪多糖缓释纤维对成骨细胞MC3T3-E1增殖分化的影响

王相峰^{1*}, 刘童斌², 陈亚丹¹, 付秀娟^{1#} (1. 吉林大学第二医院, 长春 130041; 2. 吉林大学口腔医院, 长春 130041)

中图分类号 R944.9;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)04-0484-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.04.17

摘要 目的:研究黄芪多糖(AP)缓释纤维对成骨细胞MC3T3-E1增殖分化的影响。方法:将AP分别与左旋聚乳酸(PLLA)结合制备成AP质量浓度分别为0、25、50、100 μg/ml的静电纺丝缓释纤维,即PLLA、PLLA/AP1、PLLA/AP2、PLLA/AP3,以异硫氰酸荧光素为指示剂于荧光显微镜下观察MC3T3-E1细胞在上述4种缓释纤维上的黏附情况;采用紫外分光光度法在490 nm波长处测定PLLA/AP1、PLLA/AP2、PLLA/AP3中AP的含量,考察其21 d内的体外释放情况;采用MTT法检测4种缓释纤维作用24、48、72 h时MC3T3-E1细胞的增殖情况;采用酶标仪法检测4种缓释纤维对MC3T3-E1细胞作用3、5、7 d时的碱性磷酸酶(ALP)活性表达情况。结果:镜下观察PLLA纤维连续,较多空隙,表面光滑;PLLA/AP1、PLLA/AP2、PLLA/AP3纤维呈纵横交错的三维、多空网络结构,且3种AP载药量下纤维形态未见明显改变。PLLA/AP1、PLLA/AP2、PLLA/AP3能持续释放AP 21 d,且最初的24 h内释药呈突释状态。与PLLA比较,PLLA/AP2、PLLA/AP3能促进MC3T3-E1细胞的增殖,PLLA/AP1仅作用48 h时能促进MC3T3-E1细胞的增殖,差异具有统计学意义($P<0.05$);PLLA/AP1、PLLA/AP2、PLLA/AP3均能增强MC3T3-E1细胞中ALP活性表达,差异具有统计学意义($P<0.05$),且与AP浓度呈正相关。结论:AP缓释纤维具有一定的缓释作用,且对MC3T3-E1细胞的增殖、分化具有剂量依赖性的促进作用。

关键词 黄芪多糖;左旋聚乳酸;缓释纤维;MC3T3-E1细胞;增殖;分化

Effects of Astragalus Polysaccharides Sustained-release Fibers on the Proliferation and Differentiation of Osteoblast Cells MC3T3-E1

WANG Xiang-feng¹, LIU Tong-bin², CHEN Ya-dan¹, FU Xiu-juan¹ (1.The Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, China; 2.Stomatology Hospital of Jilin University, Changchun 130041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of Astragalus polysaccharides (AP) sustained-release fibers on the proliferation and differentiation of osteoblast cells MC3T3-E1. METHODS: 0, 25, 50 and 100 μg/ml AP were dispersed into Poly-L-lactide acid (PLLA) to fabricate electrospun fibers, i.e. PLLA, PLLA/AP1, PLLA/AP2 and PLLA/AP3. The adhesion of MC3T3-E1 to 4 kinds of sustained-release fiber were observed by fluorescence microscope using fluorescein isothiocyanate as indicator. The contents of AP in PLLA/AP1, PLLA/AP2 and PLLA/AP3 were determined by UV spectrophotometry at 490 nm. The *in vitro* release of AP was investigated within 21 d. The proliferation of MC3T3-E1 treated with 4 kinds of sustained-release fibers for 24, 48 and 72 h were measured by MTT assay. The expression of alkaline phosphatase (ALP) of MC3T3-E1 cells was detected by ELISA after treated with 4 kinds of sustained-release fibers for 3, 5 and 7 d. RESULTS: PLLA fibers were continuous and smooth in appearance, and had multiple gaps. PLLA/AP1, PLLA/AP2 and PLLA/AP3 fibers showed the maze of three-dimensional multiple-gap reticular structure, and there was no obvious change of fiber morphology under the drug-loading amount of 3 kinds of AP. AP could be continuously released by PLLA/AP1, PLLA/AP2 and PLLA/AP3 for 21 d, and showed burst release within first 24 h. Compared with PLLA, PLLA/AP2 and PLLA/AP3 could promote the proliferation of MC3T3-E1, and the promotion effect of PLLA/AP1 on the proliferation of MC3T3-E1 only needed 48 h; there was statistical significance ($P<0.05$). PLLA/AP1, PLLA/AP2 and PLLA/AP3 could enhance the expression of ALP in MC3T3-E1, which was positively associated with AP dose; there was statistical significance ($P<0.05$). CONCLUSIONS: AP can effectively control the release of AP and promote the proliferation and differentiation of MC3T3-E1 in dose-dependent manner.

KEYWORDS Astragalus polysaccharides; Poly-L-lactide acid; Sustained-release fiber; MC3T3-E1 cell; Proliferation; Differentiation

[14] 冯自立, 刘金生, 李旭午. D-101大孔树脂吸附薯蓣水溶性皂苷的热力学和动力学分析[J]. 广东化工, 2012, 39

* 药师, 硕士研究生。研究方向: 临床药学。电话: 0431-88796255。E-mail: xiangfeng1012@163.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 0431-88796255。E-mail: fxj462003@163.com

(10):10.

[15] 杨小彦, 李稳宏, 唐璇, 等. 胡芦巴总皂苷在HPD 400A大孔树脂上的吸附性能研究[J]. 离子交换与吸附, 2011, 27(1):53.

(收稿日期:2014-03-06 修回日期:2014-06-27)

(编辑:张静)