

# 大孔吸附树脂分离纯化赤雹根总皂苷的工艺研究<sup>Δ</sup>

聂佳\*,李忠思,佟继铭,刘春楠,刘克明,刘永平<sup>#</sup>(河北省中药研究与开发重点实验室/承德医学院中药研究所,河北承德 067000)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0322-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.08

**摘要** 目的:考察大孔吸附树脂分离纯化赤雹根总皂苷(TSTR)的工艺。方法:采用紫外-可见分光光度法测定TSTR含量。通过比较不同型号(AB-8、D101、DM130、HPD100、HPD300、HPD450、HPD600、HPD826、NKA-9)大孔吸附树脂的静态吸附、解吸性能,筛选大孔吸附树脂型号;以TSTR含量为指标,考察大孔吸附树脂对TSTR吸附的影响因素(树脂径高比、药液质量浓度、吸附体积流量、饱和吸附量)、解吸的影响因素(解吸溶剂体积分数、解吸溶剂体积流量、解吸溶剂体积),筛选最优工艺条件并进行验证及TSTR的纯化制备。结果:以HPD100型大孔吸附树脂对TSTR的吸附和解吸性能较佳;吸附的最优工艺条件为树脂柱径高比1:5、药液质量浓度1 g/mL、吸附体积流量1 BV/h、饱和吸附量为1.25 g生药/1 g HPD100树脂;解吸的最优工艺条件为解吸溶剂乙醇体积分数75%、解吸体积流量3 BV/h、解吸溶剂体积5 BV;验证工艺中TSTR的平均解吸保留率为77.96% (RSD=0.46%, n=3),最终所制备的TSTR干膏中TSTR的纯度为52.47% (RSD=1.53%, n=3)。结论:该优选纯化工艺稳定可行,可用于TSTR的分离纯化。

**关键词** 大孔吸附树脂;分离;纯化;赤雹根;总皂苷

## Study on the Separation and Purification Technology of Total Saponins from the Root of *Thladiantha dubia* by Macroporous Adsorption Resin

NIE Jia, LI Zhongsi, TONG Jiming, LIU Chunnan, LIU Keming, LIU Yongping (Hebei Provincial Key Laboratory of TCM Research and Development/Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical College, Hebei Chengde 067000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate the separation and purification technology of total saponins from the root of *Thladiantha dubia* (TSTR). METHODS: The content of TSTR was determined by UV-visible spectrophotometry. By comparing static adsorption and desorption properties of different types (AB-8, D101, DM130, HPD100, HPD300, HPD450, HPD600, HPD826, NKA-9) of macroporous adsorption resin, the type of macroporous adsorption resin was screened. With the content of TSTR as the index, influential factors of macroporous adsorption resin for adsorbing (ratio of height to diameter of resin, mass concentration of medicine liquid, adsorption volume flow, saturated extent of adsorption) and desorbing (desorption solvent volume fraction, desorption solvent volume flow, volume of desorbed solvent) TSTR were investigated. The optimal technology was screened. The technology validation, purification and preparation were conducted. RESULTS: HPD100 type macroporous adsorption resin had good adsorption and desorption properties for TSTR. The optimal adsorption technology was that the ratio of the height to diameter of the resin column was 1:5; mass concentration of medicine liquid was 1 g/mL; adsorption volume flow rate was 1 BV/h; saturated adsorption capacity was 1.25 g per 1 g HPD100 resin; the optimal desorption technology was that the volume fraction of desorption solvent ethanol was 75%; volume flow rate of desorption was 3 BV/h; the volume of desorption solvent was 5 BV. The average desorption retention rate of TSTR was 77.96% in technology validation (RSD=0.46%, n=3) and the purity of prepared TSTR in TSTR dry cream was 52.47% (RSD=1.53%, n=3). CONCLUSIONS: The optimal purification technology is stable, feasible and suitable for the separation and purification of TSTR.

**KEYWORDS** Macroporous adsorption resin; Separation; Purification; Root of *Thladiantha dubia*; Total saponins

赤雹根为葫芦科多年蔓生草本植物赤雹(*Thladian-*

<sup>Δ</sup> 基金项目:河北省科技计划项目(No.14272502D);河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZD2016013);河北省高校省级重点学科建设(No.冀教高[2013]4号)

\* 硕士研究生。研究方向:天然产物有效成分的提取及纯化工艺。电话:0314-2291143。E-mail:834992210@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:教授,硕士生导师,硕士。研究方向:天然药物。电话:0314-2291888。E-mail:lyp@cdmc.edu.cn

*tha dubia* Bunge)的干燥成熟块根,味苦性寒,具有活血祛瘀、清热解毒、通乳等作用,满族民间常用于治疗风湿痹痛、腰腿痛、痛经及软组织损伤等<sup>[1]</sup>。前期研究结果证实赤雹根镇痛作用的主要有效部位为赤雹根总皂苷(TSTR)<sup>[1-2]</sup>,且TSTR对佐剂关节炎大鼠有较好的治疗作用,并能抑制炎症因子的表达,延缓滑膜病变的发生和发展<sup>[3-5]</sup>。目前对于皂苷类成分的提取有多种方法,其中

树脂吸附法有可选择性吸附、容易再生、可重复使用等优点,已广泛应用于皂苷类成分的分离和富集。因此,本研究选择9种树脂进行吸附、解吸试验,最终确立TSTR分离纯化的最优工艺条件,为TSTR后续的开发和利用提供一定的试验基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

HP-8453型紫外-可见分光光度计(美国惠普公司);GL-20B型冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂);GT16-3型高速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司);YP1200型电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司);AG245型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);电热恒温水浴锅(上海东星建材试验设备有限公司)。

### 1.2 药材、药品、树脂与试剂

赤芍根药材(2013年10月采集于河北省青龙满族自治县,经承德医学院中药研究所赵春颖教授鉴定,确认为葫芦科植物赤芍的成熟干燥块根);齐墩果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110709-201206,纯度:99.7%);大孔吸附树脂AB-8、D101、DM130、HPD100、HPD300、HPD450、HPD600、HPD826、NKA-9(沧州宝恩吸附材料科技有限公司,批号:20160309、20160419、20160309、20160422、20160420、20151125、20160325、20151225、20160419);甲醇为色谱纯;水为娃哈哈纯净水;其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 紫外-可见分光光度法测定TSTR含量

TSTR样品溶液的含量测定方法依据本实验室前期建立的紫外-可见分光光度法<sup>[6]</sup>。

2.1.1 TSTR样品溶液的制备 取赤芍根药材适量,置于圆底烧瓶中并加入70%乙醇浸泡过夜,在80℃下回流提取3次,每次1h。合并3次所得提取液,抽滤,然后将滤液置于圆底烧瓶中,减压浓缩,将浓缩液于烘箱中80℃烘干,得TSTR干膏,备用。加入适量水将所得干膏溶解即得TSTR样品溶液(所含生药质量浓度为1g/mL)<sup>[6]</sup>。

2.1.2 方法学考察 根据相应要求进行方法学考察<sup>[6]</sup>。以吸光度值为纵坐标(y),对照品质量浓度为横坐标(x, μg/mL)进行线性回归,得回归方程 $y=0.0559x-0.0271$ ( $r=0.9997$ ),TSTR在质量浓度为3.13~39.41 μg/mL范围线性关系良好。精密度试验中RSD=0.67%( $n=6$ ),1.5h内稳定性试验中RSD=2.91%( $n=6$ ),重复性试验中RSD=2.78%( $n=6$ ),平均加样回收率为98.9%(RSD=1.99%, $n=6$ ),均符合相关要求。

2.1.3 样品含量测定 准确移取“2.1.1”项下TSTR样品溶液1mL置于10mLEP管中,在545nm波长处测定吸光度值。经计算干膏中TSTR纯度为30.92%。

### 2.2 大孔吸附树脂型号的筛选

2.2.1 大孔吸附树脂的类型选择 根据TSTR的理化性

质以及大孔吸附树脂的吸附性能,选用AB-8、D101、DM130、HPD100、HPD300、HPD450、HPD600、HPD826、NKA-9共9种型号的大孔吸附树脂进行试验。将上述9种树脂分别用95%乙醇浸泡过夜,除去上层乙醇,湿法装柱,用95%乙醇先以2BV/h的流速洗至流出液加3BV纯水不再产生浑浊为止,然后用水洗至流出液无醇味,备用。

2.2.2 静态吸附、解吸性能比较 精密称取预处理后的9种大孔吸附树脂各5g,精密加入稀释至0.95mg/mL(以生药计)TSTR样品溶液23mL,每10min振摇1次(每次持续1min),连续2h,然后静置24h,过滤,收集吸附后滤液,测定每份滤液的吸光度,代入回归方程得出滤液中TSTR的质量浓度,然后计算每份的比吸附量和吸附率。分别将过滤后的树脂重新分别置于9只锥形瓶内,依次准确加入20mL70%乙醇,每10min振摇1次(持续1min),连续2h,静置8h后,过滤,测定滤液中TSTR的质量浓度,并计算其比解吸量和解吸率。设定吸附前药液中总皂苷质量为 $m_1$ 、流出液中总皂苷质量 $m_2$ 、解吸液中总皂苷质量为 $m_3$ 、湿树脂量为 $m_4$ ,则比吸附量 $= (m_1 - m_2) / m_4$ ;吸附率 $= (m_1 - m_2) / m_1 \times 100\%$ ;比解吸量 $= m_3 / m_4$ ;解吸率 $= m_3 / (m_1 - m_2)$ 。9种大孔吸附树脂对TSTR的吸附、解吸性能见表1。

表1 9种大孔吸附树脂对TSTR的吸附、解吸性能  
Tab 1 Adsorption and desorption properties of 9 kinds of macroporous adsorption resins for TSTR

树脂型号	极性	比上样量, mg/g	比吸附量, mg/g	吸附率, %	比解吸量, mg/g	解吸率, %
AB-8	弱极性	95.91	47.67	49.70	28.52	59.84
D101	非极性	95.91	46.54	48.53	28.35	60.91
DM130	弱极性	95.91	45.54	47.48	27.81	61.07
HPD100	非极性	95.91	50.68	52.84	30.36	59.90
HPD300	非极性	95.91	40.71	42.45	26.79	65.79
HPD450	非极性	95.91	46.34	48.31	28.14	60.73
HPD600	极性	95.91	44.99	46.90	27.41	60.94
HPD826	极性	95.91	46.00	47.76	33.58	73.00
NKA-9	极性	95.91	44.48	46.37	24.51	55.11

由表1可知,HPD100与HPD826的比解吸量分别为30.36、33.58mg/g,均高于其他7种型号的树脂,其中HPD100的比吸附量和吸附率分别为50.68mg/g、52.84%,HPD100的比吸附量和吸附率均高于其余8种型号的树脂。故采用HPD100型大孔吸附树脂纯化富集TSTR。

### 2.3 HPD100型大孔吸附树脂对TSTR吸附的影响因素考察

2.3.1 树脂径高比、药液质量浓度及吸附体积流量 根据预试验,以溶液中的TSTR质量为考察指标,选择对HPD100型大孔吸附树脂吸附TSTR可能产生影响的树脂柱径高比、药液质量浓度(以生药计)、吸附体积流量为考察因素设计正交试验,各组均取“2.1.1”项下TSTR

样品溶液 3 mL。正交试验因素与水平见表 2, 正交试验结果见表 3, 方差分析结果见表 4。

表 2 正交试验因素与水平

Tab 2 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素		
	A(树脂柱径高比)	B(药液质量浓度), g/mL	C(吸附体积流量), BV/h
1	1:3	0.5	1
2	1:5	0.75	2
3	1:7	1.0	4

表 3 正交试验结果

Tab 3 Results of orthogonal test

试验序号	因素				指标 TSTR 质量, mg
	A	B, g/mL	C, BV/h	D	
1	1	1	1	1	111.63
2	1	2	2	2	227.22
3	1	3	3	3	242.79
4	2	1	2	3	161.51
5	2	2	3	1	223.98
6	2	3	1	2	293.28
7	3	1	3	2	160.78
8	3	2	1	3	220.96
9	3	3	2	1	293.58
$K_1$	581.64	433.92	625.87	629.19	
$K_2$	678.77	672.16	682.31	681.28	
$K_3$	675.32	829.65	627.55	625.26	
R	32.38	131.91	18.81	18.67	

表 4 方差分析结果

Tab 4 Results of variance analysis

方差来源	方差平方和	自由度	均方	F	P
A	2 024.68	2	1 012.34	3.41	
B	26 462.63	2	13 231.31	40.59	<0.05
C	687.44	2	343.72	1.05	
D(误差)	651.89	2	325.95	1.00	

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

Note:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

由表 3、表 4 可知, 各因素对试验结果的影响程度依次为  $B > A > C$ , 其中因素 B 对试验结果具有显著影响 ( $P < 0.05$ )。由此确定最佳组合为  $A_2B_3C_2$ , 由于因素 C 对试验结果的影响最小, 出于降低成本的要求, 确定最终最佳水平组合为  $A_2B_3C_1$ , 即树脂柱径高比为 1:5, 药液质量浓度为 1.0 g/mL, 吸附体积流量为 1 BV/h。

2.3.2 饱和吸附量的确定 取 20 g HPD100 型大孔吸附树脂, 经预处理后湿法装柱, 备用。准确移取“2.1.1”项下 1.0 g/mL (以生药计) TSTR 样品溶液 100 mL, 在树脂柱径高比为 1:5, 药液质量浓度为 1.0 g/mL, 吸附体积流量为 1 BV/h 条件下装柱、上样, 每 5 mL 作为 1 个流分, 等体积收集 16 份。按“2.1”项下方法操作并计算每一流分中 TSTR 的质量, 以收集的流分序号为横坐标, 以 TSTR 的质量为纵坐标, 并绘制泄漏曲线, 结果见图 1。

由图 1 可知, 从流分 6 开始树脂柱出现明显的泄露现象, 流分 6 中 TSTR 的质量是流分 5 中的 3.3 倍, 故 20 g HPD100 型大孔树脂吸附上样液的最大体积为 25 mL,

即相当于 25 g 生药, 因此, 可推知 HPD100 型大孔树脂的饱和吸附量为每 1 g 树脂可吸附 1.25 g 生药。

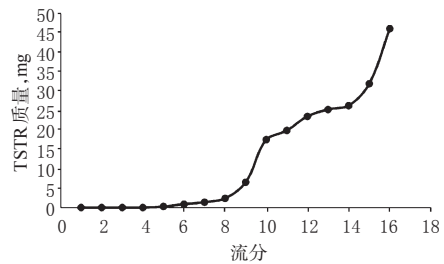


图 1 TSTR 在 HPD-100 型大孔吸附树脂上的泄漏曲线  
Fig 1 Leakage curve of TSRT on HPD-100 macro-porous adsorption resin

## 2.4 HPD100 型大孔树脂对 TSTR 解吸附的影响因素考察

2.4.1 解吸溶剂体积分数的考察 取 40 g 预处理后的 HPD100 型大孔树脂, 湿法装柱。量取 50 mL 质量浓度为 1.0 g/mL (以生药计) 的 TSTR 样品溶液, 以 1 BV/h 的流速通过树脂柱, 先用纯水洗至 Molish 反应为阴性, 然后依次用 1 BV 体积分数为 15%、30%、45%、60%、75%、90% 乙醇, 以 3 BV/h 的流速洗脱, 每 21 mL 作为一个流分, 等体积收集 18 份。从每个流分中精密移取 1 mL 置于 10 mL EP 管中, 按“2.1”项下方法操作并计算每一流分中 TSTR 的质量, 以收集的流分序号为横坐标, 以 TSTR 的质量为纵坐标, 并绘制洗脱曲线, 结果见图 2。

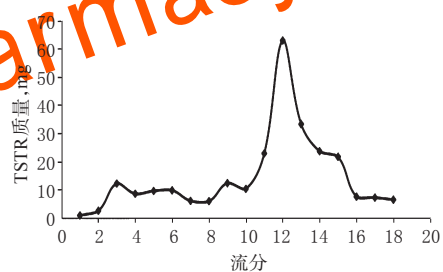


图 2 不同体积分数乙醇洗脱后 TSTR 的质量变化曲线  
Fig 2 Mass curve of TSRT after eluting with ethanol of different volume fractions

由图 2 可知, TSTR 主要集中在 60%~75% 乙醇洗脱液中, 总量占全部乙醇洗脱液中 TSTR 质量的 66.54%。由于 75% 乙醇具有良好的洗脱能力, 而 90% 乙醇洗脱液中 TSTR 含量偏低, 仅占 TSTR 总量的 7.97%, 从经济成本考虑, 洗脱时先用纯水洗去糖类极性大的杂质, 再用 30% 乙醇溶液洗去极性较大的杂质, 最后用 75% 乙醇溶液洗脱 TSTR。

2.4.2 解吸溶剂体积分数的考察 按照以上优化条件装 4 根 HPD100 型大孔吸附树脂柱, 准确量取 4 份等体积质量浓度为 1.0 g/mL (以生药计) 的上样液, 以 1 BV/h 的流速通过树脂柱, 先用 5.5 BV 的纯水洗脱至 Molish 反应为阴性。然后分别用 8 BV 的 75% 乙醇以 1、2、3、4 BV/h 的解吸体积流量进行洗脱, 收集洗脱液, 每份精密移取

1 mL置于10 mL EP管中,按照“2.1”项下方法操作并计算每一流分中TSTR的质量,结果,当解吸体积流量分别为1、2、3、4 BV/h时,TSTR质量分别为106.31、106.73、109.66、106.99 mg。

当解吸体积流量为3 BV/h时,洗脱液中TSTR质量最大为109.66 mg,解吸体积流量从1~3 BV/h时,得到TSTR的质量与解吸体积流量的大小呈正相关关系,解吸体积流量增大至4 BV/h时,所得TSTR的质量开始下降,所以最佳的解吸体积流量为3 BV/h。

2.4.3 解吸溶剂体积的考察 精密量取13 mL质量浓度为1.0 g/mL(以生药计)的上样液,按照以上优化条件进行试验,吸附完全后,先用5.5 BV的纯水洗至Molish反应为阴性,然后用75%乙醇以3 BV/h的流速进行洗脱,流出液每流出1 BV时精确移取1 mL于10 mL EP管中,连续取样7次,按照“2.1”项下方法操作并计算每一流分(解吸溶剂体积为1、2、3、4、5、6、7 BV时)中TSTR的质量,结果见图3。

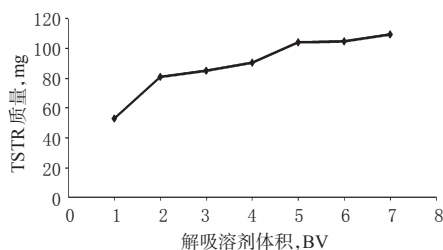


图3 解吸溶剂体积的考察

Fig 3 Study on the volume of desorption solvent

由图3可知,当解吸溶剂体积为7 BV时流出液中TSTR的质量是最大的,从5~7 BV解吸曲线增高趋势变缓,最终所得TSTR的质量相差不大,从经济成本上考虑,解吸时解吸溶剂的体积为5 BV时较佳。

### 2.5 工艺验证试验

配制质量浓度为1.0 g/mL(以生药计)的TSTR样品溶液30 mL,取3根树脂柱用HPD100型大孔树脂湿法装柱,经预处理后,各取10 mL样品溶液过树脂柱,树脂柱径高比为1:5,药液质量浓度为1.0 g/mL,吸附体积流量为1 BV/h条件进行吸附,5.5 BV纯水洗去极性较大的杂质,然后再用5 BV的75%乙醇溶液洗脱,分别收集乙醇洗脱液。按“2.1”项下方法操作并计算每一份洗脱液中TSTR的质量并计算解吸保留率(洗脱后TSTR的质量/吸附量×100%),结果见表5。

表5 TSTR的解吸保留率计算结果(n=3)

Tab 5 Results of desorption retention of TSTR(n=3)

编号	样品溶液中TSTR的质量,mg	吸附量,mg	洗脱后TSTR的质量,mg	解吸保留率,%	平均解吸保留率,%	RSD,%
1	237.30	135.74	106.24	78.27		
2	237.30	135.74	105.30	77.57	77.96	0.46
3	237.30	135.74	105.93	78.04		

前期试验证实,10 mL(含生药1.0 mg/mL)的上样液过径高比1:5的HPD100型大孔树脂柱的解析保留率为

57.20%。由表5可知,当上样液为10 mL时,TSTR的平均解吸保留率为77.96%(RSD=0.46%,n=3),说明用HPD100型大孔树脂富集纯化TSTR的最优工艺稳定可行。

### 2.6 TSTR的制备

取赤菴根生药材700 g(即生药量为700 g),按“2.1.1”项下方法制备TSTR干膏,按照树脂柱径高比为1:5,药液质量浓度为1.0 g/mL,吸附体积流量为1 BV/h纯化工艺装柱、上样,依次用5.5 BV纯水、4 BV 30%乙醇、5 BV 75%乙醇洗脱,收集75%乙醇洗脱液,减压浓缩,浓缩液于80℃烘箱中烘干,并测定其中TSTR的纯度,结果见表6。

表6 TSTR的含量测定结果(n=3)

Tab 6 Results of content determination of TSTR(n=3)

编号	生药量, g	TSTR干膏的质量, g	纯化后TSTR质量, g	纯度, %	平均纯度, %	RSD, %
1	700	97.37	51.11	52.49		
2	700	97.81	51.32	52.47	52.47	1.53
3	700	97.67	51.24	52.46		

由表6可知,所制备的TSTR干膏中TSTR的纯度为52.47%(RSD=1.53%,n=3),纯度大于50%,说明采用本法富集、纯化TSTR的工艺合理、可行。

### 3 讨论

大孔树脂为一类新型非离子型高分子化合物,能够选择性吸附有机物,具有吸附容量大、解吸速度快、洗脱率高、再生容易等优点<sup>[1]</sup>。已有研究发现,用大孔吸附树脂富集、纯化玉竹、人参、木瓜、黄芪等总皂苷效果较为理想<sup>[11]</sup>。目前已广泛应用于天然药物的分离与富集,尤其适用于水溶性化合物,如皂苷、黄酮等成分。

树脂径高比、药液质量浓度及吸附体积流量,这三者可以直接影响大孔吸附树脂的吸附性能。合理的径高比可以提高树脂对植物有效成分的吸附与分离。对于药液质量浓度,若药液质量浓度过高,则黏度较大,被吸附的物质往树脂内部扩散传质速度变慢,杂质与有效成分或有效成分之间产生竞争吸附,易导致树脂过饱和;若药液质量浓度过低,则黏度较小,在一定上样流速下溶液通过柱床流速较快,大于传质速度,传质未进行彻底即可能泄露<sup>[15]</sup>。对于吸附体积流量,若流量过快时,可能会导致树脂对样品有效成分吸附不充分,从而造成样品有效成分的泄露;流量过慢时,吸附速率会下降,时间消耗增加,使生产周期延长,成本提高。因此,本试验考察树脂径高比、药液质量浓度及吸附体积流量这3种因素的不同水平对结果的影响,得出3因素的最优水平组合为树脂柱径高比为1:5,药液质量浓度为1.0 g/mL(以生药计),吸附体积流量为1 BV/h。

赤菴根的主要成分为三萜皂苷类成分,迄今为止已经从赤菴根中分离并鉴定出多个皂苷类成分,主要为齐墩果酸类化合物。本试验对9种具有极性、非极性、弱极性的大孔吸附树脂对TSTR的吸附、解吸性能进行了

# 救必应酸的单体制备及RP-HPLC法测定救必应药材及精制品中3种活性成分的含量

王圆<sup>1\*</sup>,高兵<sup>1</sup>,陈华<sup>2</sup>,张雷<sup>1#</sup>(1.华南理工大学生物科学与工程学院,广州 510006;2.广东省药品检验所,广州 510180)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0326-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.09

**摘要** 目的:制备高纯度的救必应酸并测定救必应药材及精制品中3种活性成分紫丁香苷、长梗冬青苷、救必应酸的含量。方法:采用醇提法制备救必应皂苷,以甲醇和氢氧化钠进一步水解,并经重结晶后得到救必应酸单体。采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定救必应药材及精制品1和精制品2中紫丁香苷、长梗冬青苷、救必应酸的含量。色谱柱为Agilent XDB C<sub>18</sub>,流动相为水-乙腈(梯度洗脱),柱温为30℃,流速为1.2 mL/min,检测波长为210 nm,进样量为10 μL。结果:所制救必应酸纯度达99%以上。紫丁香苷、长梗冬青苷、救必应酸进样量分别在0.18~3.22、0.59~10.36、0.20~3.53 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系( $r$ 均为0.999 9),精密性、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均小于2.0%( $n=6\sim7$ ),平均加样回收率为96.08%~100.81%(RSD≤1.98%, $n=6$ )。紫丁香苷、长梗冬青苷、救必应酸的含量在救必应药材中分别为1.61%、7.26%、1.29%(RSD≤1.08%, $n=3$ ),在精制品1中分别为0.8259%、4.18%(RSD≤1.67%, $n=3$ );在精制品2中分别为0.7329%、7.41%(RSD≤1.15%, $n=3$ )。结论:所制救必应酸纯度高、制备方法简单且安全环保。建立的RP-HPLC法简单、可靠,可满足快速测定救必应药材及其精制品含量的要求。

**关键词** 救必应;紫丁香苷;长梗冬青苷;救必应酸;制备;反相高效液相色谱法

考察,确定了HPD100型大孔吸附树脂分离纯化TSTR的效果比较理想,通过梯度洗脱,先采用低浓度30%乙醇溶液洗去极性较大的杂质,然后再用75%乙醇溶液洗脱获得纯度为52.47%的TSTR。由于30%乙醇洗脱液中含有一定量的皂苷,故将30%乙醇洗脱液收集,浓缩,80℃烘干后得到干膏,用于进一步的分离纯化研究。从结果上分析,TSTR的含量由原来的干膏中的30.82%提高到洗脱物中的52.47%,纯化工艺稳定可行。

综上分析,HPD100型大孔吸附树脂对TSTR具有良好的纯化性能,且工艺条件稳定,可为TSTR的工业化生产提供理论参考,同时也为TSTR类物质的分离、鉴定及其应用研究提供了依据。

## 参考文献

- [1] 张玉玲,赵波,陈建双,等.赤菴根镇痛作用及有效部位研究[J].时珍国医国药,2010,21(10):2483-2484.
- [2] 刘永平,陈建双,张玉玲,等.赤菴根总皂苷镇痛作用研究[J].辽宁中医杂志,2011,38(5):993-995.
- [3] 陈建双,于海荣,张玉玲,等.赤菴根总皂苷对类风湿性关节炎大鼠血清细胞因子的影响[J].时珍国医国药,2012,23(5):1097-1098.
- [4] 刘永平,陈建双,赵波,等.赤菴根总皂苷对实验性佐剂性关节炎镇痛作用的研究[J].辽宁中医杂志,2011,38(8):1659-1661.

\* 硕士研究生。研究方向:医药生物。电话:020-39380678。E-mail:yuanyuan03\_03@163.com

# 通信作者:教授,博士生导师。研究方向:新药创制与开发、医药生物学。电话:020-39380678。E-mail:lzhangce@scut.edu.cn

- [5] 祝晴晴,梅爱敏,刘永平,等.赤菴根总皂苷对类风湿性关节炎大鼠NF-κB p65和IL-6表达的影响[J].中药药理与临床,2015,31(6):62-66.
- [6] 刘春楠,洪文婷,祝晴晴,等.不同产地赤菴根中总皂苷含量的比较分析[J].承德医学院学报,2015,32(5):371-373.
- [7] 刘敏彦,王玉峰,叶晓红,等. HPD300型大孔吸附树脂纯化白芍总苷的工艺研究[J].中国医院药学杂志,2010,30(3):201-204.
- [8] 赵惠茹,龙静,杨黎彬,等. HPD-300大孔吸附树脂对山茱萸总皂苷分离工艺的优化[J].中成药,2014,36(2):416-419.
- [9] 黄怀鹏,刘彩霞,高国领,等.大孔树脂纯化积雪草总苷的工艺研究[J].中药材,2008,31(7):1072-1074.
- [10] 陈红专,张静. AB-8大孔树脂分离纯化积雪草总苷的工艺研究[J].中医药信息,2011,28(2):33-35.
- [11] 王晓林,李珍,钟方丽.大孔树脂法纯化玉竹总皂苷的工艺研究[J].食品科学,2012,33(18):83-87.
- [12] 王辉,何伟,任军.大孔吸附树脂纯化人参皂苷类成分的工艺研究[J].中国药房,2009,20(24):1865-1867.
- [13] 郭婵元,杨小明,马海乐,等.大孔树脂分离纯化宣木瓜总皂苷[J].食品工业科技,2015,36(1):140-143.
- [14] 金乾兴,李艳芳,杨洁红,等.大孔树脂吸附法优化分离纯化黄芪总皂苷的实验研究[J].中华中医药学刊,2014,32(11):2599-2601.
- [15] 彭青,李晓刚,刘亚明.大孔吸附树脂研究进展[J].实用中医药杂志,2013,29(5):409-412.

(收稿日期:2017-04-09 修回日期:2017-12-11)

(编辑:刘明伟)