

无患子皂苷的大孔吸附树脂分离纯化工艺

马育彪^{1,2}, 何宇新^{1*}, 彭镰心², 吴金伟¹, 米之金¹

(1. 西华大学生物工程学院, 成都 610039; 2. 成都大学, 成都 610106)

[摘要] 目的: 筛选适合分离纯化无患子总皂苷的大孔吸附树脂并确立纯化工艺参数。方法: 以大孔吸附树脂对常春藤皂苷元保留率为考察指标, 选用 4 种型号的大孔吸附树脂进行纯化。结果: 最佳条件是采用 D-101 型大孔吸附树脂, 洗脱乙醇体积分数为 50%, 乙醇用量为 5 BV。结论: D-101 树脂在所确定的工艺条件下, 可较好地分离纯化无患子皂苷。

[关键词] 无患子; 常春藤皂苷; 大孔树脂; 分离纯化; 高效液相色谱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0023-03

Study on Isolation and Purification of Saponin from Sapindaceae with Macroporous Resin

MA Yu-biao^{1,2}, HE Yu-xin^{1*}, PENG Lian-xin, WU Jin-wei¹, MI Zhi-jin¹

(1. Xihua University of Biological Engineering Department, Chengdu 610039, China;

2. Chengdu University, Chengdu Sichuan 610106, China)

[Abstract] **Objective:** To screen the suitable resin for purification of saponin from sapindaceae and to establish the optimum technological parameters of purification. **Method:** According to the retention rate of the hederagenin, four types of macroporous resin were used to purify the saponin from sapindaceae. **Result:** The best conditions was: D-101 of macroporous resin; the concentration of ethanol eluate was 50%; the usage of ethanol was 5 BV. **Conclusion:** D-101 of macroporous resin showed good capability of isolation and purification of saponin from sapindaceae.

[Key words] sapindaceae; hederagenin; macroporous resin; isolation and purification; HPLC

[收稿日期] 20101211(001)

[第一作者] 马育彪, 硕士研究生, 从事中药新制剂的研究, Tel: 028-84616653, E-mail: 369273877@qq.com

[通讯作者] * 何宇新, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事中药新制剂新剂型研究, Tel: 028-87725898, E-mail: heyuxin66@126.com

[参考文献]

- [1] 陈亚平, 王柏. 盐酸麻黄碱的大鼠肠吸收研究[J]. 药学进展, 2010, 34(7): 319.
- [2] 高荣, 龚涛, 符垚, 等. 银黄注射液及口服液中绿原酸和黄芩苷在大鼠体内的药动学比较[J]. 华西药理学杂志, 2007, 22(3): 283.
- [3] 栾连军, 裘国丽, 程翼宇. 吴茱萸碱和吴茱萸次碱在家兔体内的药动学研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(1): 48.
- [4] 张明发, 张军. 甘草酸药动学研究进展[J]. 临床药物治疗杂志, 2009, 7(2): 44.
- [5] 聂菲, 李宗孝. 液膜技术在医药化工中的应用[J]. 精细化工中间体, 2004, 34(1): 6.
- [6] P Wiczorek J Jsson, L Mathiasson. Extraction of dansylated amino acids using the supported liquid membrane technique[J]. Analytica Chimica Acta, 1997, 337(2): 183.
- [7] 莫凤奎, 王晶, 王焕青, 等. 乳状液膜法提取北豆根总碱[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(4): 278.

[责任编辑 全燕]

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110221.1128.000.html>

无患子属无患子科无患子 *Sapindus mukorossi* Gaerth, 俗称油患子、肥珠子等, 其果皮中含有的皂苷具有多方面的作用, 如可作为天然表面活性物质用于天然洗发香波及各种洁肤护肤化妆品^[1], 有良好的气泡去污作用^[2], 还具有抗菌、消炎、抗病毒、杀虫等^[3-5]多种生物活性。本文通过对大孔吸附树脂富集纯化无患子皂苷工艺条件参数的研究, 进一步探索其合理的分离纯化工艺流程。

1 材料

无患子果实购自四川省成都市西南药都, 经西华大学杨文宇讲师鉴定为无患子科植物无患子 *S. mukorossi* 的种子。常春藤皂苷元对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111733-200603)。超纯水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

岛津 LC-20 高效液相色谱仪 (LC-20AB 溶剂输出泵, CBM-20Alite 系统控制器, Prominence SIL-20AC 自动进样器, CTO-20A 柱温箱, SPD-20AV UV-VIS 检测器, LC Solution 工作站); BS200S 电子天平 (北京塞多利斯天平有限公司)。

2 方法与结果

2.1 常春藤皂苷含量测定

2.1.1 色谱条件 Ultimate™ XB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm 5 μm), 流动相乙腈-0.05% 磷酸 (80:20), 检测波长 205 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL, 柱温 25 °C。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取常春藤皂苷元对照品 14.5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得 0.58 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 线性关系考察 分别用标准溶液进样 6, 8, 10, 12, 14 μL 进行测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标绘制标准曲线。回归方程为 $Y = 677.062X + 33.854$ ($r = 0.9999$)。表明常春藤皂苷在 3.48 ~ 8.12 μg 线性关系很好。

2.1.4 供试品溶液的制备及测定 取样品溶液 1 mL, 加甲醇 10 mL, 75% 盐酸 2 mL, 加热回流 2 h, 放冷, 加三氯甲烷萃取 2 次, 每次 20 mL, 合并三氯甲烷层, 蒸干, 残渣用甲醇溶解并定至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 过滤, 即得供试品溶液, 分别精密吸取上述供试品溶液各 10 μL 注入色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 计算常春藤皂苷含量。

2.2 吸附原液的制备 称取干燥药材适量, 加水 8

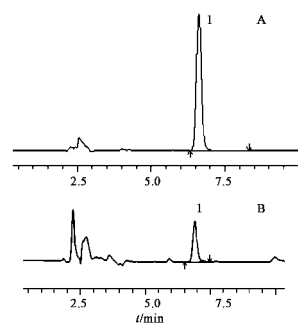


图 1 无患子高效液相色谱

A. 对照品; B. 样品; 1. 常春藤皂苷

倍量, 提取 2 次, 每次 1 h。考虑其吸水率为 85%, 故第 1 次提取前多加 0.85 倍量的水, 应加入 8.85 倍量的水。合并提取液, 过滤, 滤液浓缩定容 (每 1 mL 滤液相当于 0.5 g 药材), 作为吸附原液。

2.3 吸附树脂的预处理 取市售树脂先用乙醇浸泡溶胀 24 h, 湿法装柱, 用 95% 乙醇洗脱, 至流出液加 5 倍量的纯水不变白色浑浊为止。再用大量的纯水洗尽柱内乙醇, 作为湿树脂, 备用。

2.4 洗脱率的计算 常春藤皂苷元洗脱率 = 乙醇洗脱下的常春藤皂苷含量 (mg) / 上柱药液的常春藤皂苷含量 (mg) × 100%。

2.5 吸附树脂的筛选 准确量取经预处理的 4 种湿树脂 25 mL, 湿法装柱。各上样 60 mL 原液, 速度 0.4 ~ 0.5 mL·min⁻¹, 然后以相同的速度依次用水和 50% 乙醇洗脱 (均至流出液无色), 收集乙醇洗脱液, 测定常春藤皂苷元含量, 计算其提取率, 确定树脂类型。结果见表 1。

表 1 不同树脂类型的筛选

树脂类型	常春藤皂苷元的洗脱率 / %
D-400	71.09
D-401	81.09
AB-8	77.28
D-440	65.67

由表 4 可知, 由上述试验结果可知: D-401 大孔树脂分离纯化常春藤皂苷元提取率较高, 故确定选用 D-401 大孔树脂对无患子皂苷分离纯化工艺进行研究。

2.6 动态吸附试验

2.6.1 D-401 大孔树脂对常春藤皂苷元动态吸附性能的考察 为了考察 D-401 大孔树脂对常春藤皂苷元的动态吸附性能, 确定 D-401 大孔树脂的样品处理量, 进行泄漏曲线的测定, 取无患子水提取液,

加入 D-101 大孔树脂中,大孔树脂体积为 20 g,流速控制为 $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$,分段收集,每收集 10 mL 立即测定吸光度,共收集 900 mL,根据药液吸附流出体积和流出液常春藤皂苷元质量浓度测定结果绘制泄漏曲线,从而确定 D-101 大孔树脂的样品处理量。以药液吸附流出体积为横坐标,以流出液常春藤皂苷元浓度为纵坐标,绘制泄漏曲线,结果见图 2。由泄漏曲线确定上样量为 $3.5 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ (药液体积:树脂质量)。

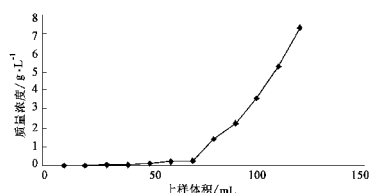


图2 常春藤皂苷元动态吸附泄漏曲线

2.6.2 洗脱剂的确定 本试验分别选择 40% 乙醇,50% 乙醇,60% 乙醇作为洗脱剂,考察其吸附率,结果常春藤皂苷元的解析率分别为 65.75%,78.19%,73.36%。50% 乙醇的洗脱效果最好,洗脱率达 78.19%。因此确定选择 50% 乙醇作为解析剂。

2.6.3 洗脱剂用量的考察 取吸附原液,上 D-101 大孔树脂中,先加水洗脱至基本无色,再用 50% 乙醇洗脱,分段收集洗脱用乙醇,分别测定常春藤皂苷元含量,直至洗脱液中几乎不含常春藤皂苷元为止,以洗脱液乙醇用量为横坐标,收集液中常春藤皂苷元的浓度为纵坐标绘制树脂解吸曲线,通过解吸曲线确定洗脱剂乙醇用量,结果表明,乙醇用量为 5 BV 时,可基本将常春藤皂苷元洗脱下来,故确定洗脱用乙醇量为 5 BV。结果见图 3。

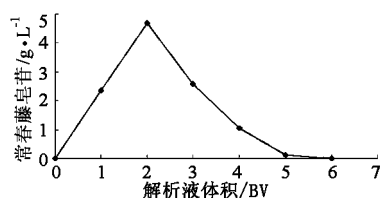


图3 常春藤皂苷树脂解析曲线

3 结论与讨论

本试验初步确定纯化最佳工艺为 D-101 大孔吸附树脂纯化无患子中总皂苷成分,50% 乙醇,5 BV 量 $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 速度洗脱,收集。

饶厚曾等采用乙醇回流提取-正丁醇萃取分离工艺^[6]及微波萃取工艺^[7],魏凤玉等采用泡沫分离法^[8]得到了无患子皂苷,但存在所需溶剂量大,效率低等问题。本试验采用水提取,大孔树脂分离纯化无患子中总皂苷,提取分离效果较好,且成本较低,适合工业放大生产。

文献中多用分光光度法测定总皂苷含量,本文采用常春藤皂苷作为含量指标,采用高效液相色谱法测定总皂苷含量,分离度良好。

[参考文献]

- [1] 孙洁如,陈孔常,周鸣方,等.无患子表面活性物及其复配体系的性质研究[J].日用化学工业,2002,32(4):16.
- [2] 孙洁如.天然表面活性植物无患子和土槿叶的研究及应用[D].上海:华东理工大学,2001.
- [3] 王建新.天然活性化妆品[M].上海:中国轻工业出版社,1997:183.
- [4] Meyer A L, Aboin J A, Bacchi E M. Antiulcer activity of *Sapindus saponaria* L. in the rat [J]. J Ethnopharmacol, 2002, 82(1):41.
- [5] Huang H C, Liao S C, Chang F R, et al. Molluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, inhibitory agents of golden snails *Pomacea canaliculata* [J]. J Agric Food Chem 2003, 51:4916.
- [6] 饶厚曾,桑成涛.微波萃取法提取无患子皂苷工艺[J].辽宁石油化工大学学报,2006,12(4):70.
- [7] 饶厚曾,郭隆华.无患子皂苷提取工艺研究[J].江西科学,2002,20(1):55.
- [8] 魏凤玉,张静,解辉.泡沫分离法纯化无患子皂苷[J].中成药,2009,31(7):1021.

[责任编辑 全燕]