

## 大孔树脂分离丹参酚酸 B 的筛选研究

**摘要:** 目的筛选分离丹酚酸 B 的最佳大孔树脂。方法以高效液相色谱 (HPLC) 测得丹酚酸 B 含量为指标, 对 10 种不同型号的树脂分别进行吸附与解吸性能考察。结果大孔树脂的吸附与解吸性能有较大差异, HPD450, D101, X5, HPD800, D4020, HPD700 对丹酚酸 B 均有较强的吸附与可洗脱性, D101 为最佳吸附树脂。

**结论:** 大孔树脂分离丹酚酸 B 方法是可行的。

丹酚酸 (salvianolic acids) 是中药丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 中的主要活性成分, 具有抗动脉粥样硬化、保护心肌细胞、防心脑血管缺血损伤、抗血小板凝聚、抗肝纤维化、改善记忆、抗肿瘤等作用 [1, 2]。丹参药材中水溶性成分提取, 多以丹参素或原儿茶醛为指标 [3, 4], 但两者在药材中的含量均较低, 只有丹酚酸 B 为丹酚酸中最主要的有效成分 [5]。目前对丹酚酸分离多采用醋酸乙酯萃取法, 但该方法溶剂消耗大, 并存在溶剂残留。大孔树脂吸附是目前用于许多有效成分分离的良好方法, 成本低、效率高, 但至今尚无筛选大孔树脂分离丹酚酸 B 的报道。本人就大孔树脂对丹参酚酸 B 的吸附与解吸性能进行综合考察, 以期找到一种分离丹参酚酸 B 的最佳大孔树脂。

### 1 材料与仪器

#### 1.1 材料与试剂

丹参药材, 湖北产, 60℃减压干燥后, 粉碎过 40 目筛。大孔树脂: HPD450 (弱极性)、HPD600 (极性)、HPD700 (非极性)、HPD800 (中极性) (河北沧州宝恩化工有限公司)、D101 (非极性) (天津海光化工有限公司)、D4020 (非极性)、AB8 (弱极性)、X5 (非极性)、S-8 (极性)、NKA9 (极性) (南开大学化工厂)。乙腈为色谱纯; 甲醇、甲酸为分析醇; 丹酚酸 B 对照品 (中国药检所, 批号 20031108)。

1.2 仪器 分离色谱柱 (20mm×500mm); Agilent 1100 高效液相色谱仪, 紫外检测器, 色谱柱 Kromasil C18(250mm×4.6mm)/5 μ m。

### 2 方法

2.1 丹参提取液的制备 丹参药材粉, 加 10 倍量 70%乙醇 50℃浸提 1 h, 过滤后滤渣再加 8 倍量 70%乙醇 50℃浸提 30min, 合并滤液, 减压浓缩至原体积的 1/3, 用 10%HCl 调 pH 至 3.0, 静置, 离心去沉淀 (4000r/min, 1min)。保留上清液, 并测定其中的丹酚酸 B 含量。

2.2 大孔树脂吸附 各种大孔树脂经乙醇、5%盐酸和 5%氢氧化钠顺序浸泡 3~5 h 后, 以水洗至 pH 中性。量取丹参提取液 100ml 各 10 份, 分别加入 HPD450, HPD600, HPD700, HPD800, D101, D4020, AB8, X5, S8, NKA9 树脂 10g, 静态吸附 24 h。过滤, 滤液测定丹酚酸 B 含量, 计算吸附率。

2.3 树脂解吸吸附后的树脂, 分别用水、30%, 50%, 70%乙醇各 100 ml 淋洗, 收集淋洗液, 测定丹酚酸 B 含量, 计算各溶液解吸率。解吸率为解吸量占吸附量的百分率。

#### 2.4 丹酚酸 B 的含量测定

采用高效液相色谱法。流动相: 乙腈: 甲醇: 水: 甲酸 (20:55:24:1), 柱温 30℃, 进样量 10 μ l, 流速 1ml/min, 运行时间 20min, 检测波长 276 nm。丹酚酸 B 的保留时间为 15.3min, 分离度大于 2.0, 理论塔板数不低于 5000。

#### 4.1 标准曲线制备

精密称定丹酚酸 B 对照品 23 mg, 水溶解并定容 50 ml。分别吸取对照液 0, 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10ml, 加水定容至 10 ml, 分别得到 0, 0.014 4, 0.028 8, 0.057 5, 0.115, 0.230, 0.460mg/ml 对照液梯度, 进样高效液相色谱仪。以峰面积 X 为横坐标, 浓度 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线。Y=0.000 106X+0.005464, r=0.9999。表明丹酚酸 B 在 0~0.460 mg/ml 范围内具有良好的线性关系。

2.4.2 样品测定吸取样液 2 ml, 加水溶解并定容至 100 ml。过滤, 滤液过 0.45 μm 微孔滤膜, 进样高效液相色谱仪, 按标准曲线制作方法测定峰面积, 计算样液的丹酚酸 B 含量。

### 3 结果

3.1 各种树脂对丹酚酸 B 的吸附性能比较 经测定, 丹参提取液的丹酚酸浓度为 24.056 Mg, 各种树脂对其均有吸附, 吸附率均在 70% 以上。在所试树脂中, 除 AB8 和 NKA9 外, 其它均表现良好的吸附性, 吸附率大于 90%。结果见表 1。吸附能力排序为: D101>S-8>HPD700>HPD450>HPD800>X5>D4020>HPD600>AB8>NKA9。

表 1 不同树脂对丹酚酸 B 的吸附与解吸率%

树脂型号	吸附率	30%乙醇解吸率	50%乙醇解吸率	70%乙醇解吸率	总解吸率
HPD700	97.55	15.74	54.84	21.75	92.33
HPD600	90.69	21.01	32.88	24.05	77.94
HPD800	95.30	24.82	47.81	21.45	94.08
HPD450	96.18	22.64	49.97	25.87	98.48
D101	99.12	12.19	49.17	35.55	96.92
AB-8	76.68	27.08	27.57	6.42	61.08
D4020	93.41	28.56	47.80	16.90	93.26
S-8	98.49	1.95	8.19	8.95	19.09
X-5	95.20	26.39	45.56	22.43	94.38
NKA-9	74.70	20.27	19.19	8.07	47.53

3.2 各种树脂的解吸性能 S8 和 NKA9 树脂在低醇洗脱液下即解吸大部分, 而其它树脂较少解吸, 只有提高乙醇浓度 50% 以上才有较多的解吸。总解吸率排序为: HPD450>D101>X5>HPD800>D4020>HPD700>HPD600>AB8>NKA-9>S8。各种树脂对于解吸所需醇浓度有较大差异, 如 D101 和 HPD450 在 50% 以上才有较大解吸, 而 D4020 在 50% 醇浓度以下即有较大解吸。综合解吸与吸附能力, 除 HPD600, AB8, NKA9, S8 外, 其它均可作为丹酚酸 B 的分离用树脂, D101 为最佳吸附与解吸树脂。

### 4 讨论

#### 4.1

大孔树脂法作为分离丹酚酸 B 的方法是方便可行的, 通过吸附可将提取液中的酚酸 B 富集, 通过不同浓度醇洗脱, 可得到不同纯度的丹酚酸 B 产品。由于树脂可再生, 因而可反复使用, 故而是分离丹酚酸 B 的良好方法。

4.2 本实验对丹酚酸 B 的吸附和解吸进行了静态考察, 通过吸附解吸, 筛选出适合的树脂。但为了结合生产, 采用大孔树脂柱, 提取液的吸附和解吸处在流动状态下, 其参数有所变化, 因此下步实验中需进一步考察大孔树脂对丹酚酸 B 的动态吸附状况。

#### 参考文献:

- [1] 林佳, 徐丽珍, 李琰, 等. 不同产地丹参中丹参酮 II A 的含量比较 [J]. 中国中药学杂志, 2002, 27(2):153.
- [2] 吴世蓉. 不同产地丹参其主要化学成分的分与测定 [J]. 基层中药杂志, 2002, 16(3):24.
- [3] 黄治林, 张均田. 丹参中三种水溶性成分的体外抗氧化作用 [J]. 药学学报, 1992, 27(2): 96.

[4] 王文祥, 周巧霞, 蒋木岗, 等. 比色法测定丹参及提取物水溶性总酚的改进 [J]. 中草药, 2001, 32(8): 711.

[5] 张启伟, 张颖, 李计萍, 等. 高效液相色谱法测定丹参中丹酚酸 B [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(12): 848.

## 植物提取解决方案

雾化提取分离技术, 此项技术的优势在于:

- 1、喷雾提取为连续性生产, 每小时药材提取量可达 2 吨以上
- 2、常温提取, 对热敏性的物质具有很好的保护作用, 回收率达 90%以上;
- 3、溶剂使用了大幅降低, 只有普通回流提取的一半;
- 4、此项技术为常温提取, 提取过程无需加热或者少量加热, 能耗减低 9 成以上。
- 5、设备成本低 和其他形式的连续提取机组相比, 成本只有其 1/5。

综上所述, 此项技术为连续性、常温、逆流提取技术, 特别适合大量、单一品种的热敏性成分提取, 优势十分明显, 可广泛应用于天然植物提取、中药提取、保健品、植物农药等行业, 市场前景广阔。

西安鸿生生物技术有限公司

联系人: 霍国强

地址: 西安市高新六路 40 号康鸿产业园 A 座 304 室

咨询电话: 029-88452005 转 812

手机: 18291479004

邮编: 710075

QQ:445371208