

# 红参中人参总皂苷的大孔树脂纯化工艺

黄立新<sup>1</sup>,熊友文<sup>2</sup>,张启云<sup>2</sup>,李冰涛<sup>2</sup>,汤喜兰<sup>2</sup>,罗卉<sup>2</sup>,徐国良<sup>2\*</sup>

(1. 江西艺术职业学院基础部,南昌 330013;

2. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室,南昌 330004)

**[摘要]** 目的:优选最佳的分离纯化红参中人参总皂苷的工艺条件。方法:以人参总皂苷的量为指标,比较不同型号树脂和不同工艺条件对人参总皂苷的分离纯化能力。结果:确定 HPD-400 大孔树脂为人参总皂苷的纯化材料,其最佳工艺条件是药液质量浓度  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,药液 pH 4.68,吸附速度  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ ,用 4 BV80% 乙醇以  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的速度洗脱人参总皂苷。结论:本工艺条件可以用于含有人参总皂苷的中药制剂的制备提供依据。

**[关键词]** 大孔吸附树脂;红参;人参总皂苷;纯化

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)06-0006-04

## Purification of Total Saponins from Panax Ginseng by HPD Macroporous Resins

HUANG Li-xin<sup>1</sup>, XIONG You-wen<sup>2</sup>, ZHANG Qi-yun<sup>2</sup>, LI Bing-tao<sup>2</sup>, TANG Xi-lan<sup>2</sup>, LUO Hui<sup>2</sup>, XU Guo-liang<sup>2</sup>

(1. Basic Department, Jiangxi Vocational College of Art, Nanchang 330013, China; 2. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (Ministry of Education), Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the optimum methods of extracting and refining ginsenosides from red ginseng. **Method:** The ability of extracting and refining ginsenosides was compared in different types of macroporous resin and different technological conditions with total amount of ginsenosides as index. **Result:** The HPD-400

**[收稿日期]** 20101112(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30960513)

**[通讯作者]** \* 徐国良,博士,教授, Tel:0791-7118657, E-mail: xuguoliang6606@126.com

型不同的是双指数模型是根据物质质量守恒定律和费克扩散第一定律建立的中药浸膏粉吸湿过程动力学模型,参数有特定的物理意义。因此,作者认为双指数模型用于描述中药浸膏粉吸湿动力学过程具有重要参考价值,为深入研究中药浸膏粉吸湿性和中药制剂防潮技术具有较好的指导作用。

### [参考文献]

- [1] 林婷婷,何雁,肖雄,等. 中药浸膏粉吸湿过程模型及应用研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(7): 847.
- [2] 杜若飞,冯怡,刘怡,等. 中药提取物吸湿特性的数据分析与表征[J]. 中成药, 2008, 30(12): 1767.

- [3] 何群,李万忠,王净净,等. 不同辅料对愈痛灵颗粒所用原料(干膏粉)吸湿性的影响[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(10): 753.
- [4] 候艳冬. 九节茶干膏粉的吸湿性实验研究[J]. 中国医药指南, 2008, 6(6): 13.
- [5] 杨小妹,黄益群,何雁,等. 不同辅料对十全大补汤浸膏粉吸湿性的影响[J]. 江西中医学院学报, 2008, 20(5): 57.
- [6] 中国药典. 一部[S]. 2005: 487, 500, 643, 406.
- [7] 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂. 第6册. 1992: 1.

[责任编辑 全燕]

macroporous resin was best for separating and purifying total saponins in the following technological conditions: the sample concentration was  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 4.68, the flow rate was  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ , the eluting reagent was 80% ethanol (4 times the volume of column) and eluting velocity was  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ . **Conclusion:** The technological condition will provide bases for the preparation technique of Traditional Chinese Medicine containing ginsenosides.

[**Key words**] macroreticular resin; red ginseng; total ginsenosides; purification

红参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的栽培品(习称“园参”)经蒸制后的干燥根。秋季采挖,洗净,蒸制后,干燥。其味甘,微苦,性温,归脾、肺、心经,具大补元气,复脉固脱,益气摄血之功。用于体虚欲脱,肢冷脉微,气不摄血,崩漏下血;心力衰竭,心源性休克<sup>[1]</sup>,其主要药效成分为人参皂苷。近年来,大孔树脂已广泛应用于中药的分离纯化中,已经成为分离纯化中药有效成分的一种有效方法<sup>[2-3]</sup>。本文以红参中人参总皂苷含量为指标,考察其在 HPD 系列大孔吸附树脂中的分离纯化条件,为含有人参总皂苷的中药制剂的制备提供工艺参数。

## 1 材料

UV-2550 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司),TG32A 1/10 万天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),玻璃色谱柱(内径 10 mm,高 20 cm),TS-1 型脱色摇床(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司)。

红参药材购于江西南昌黄庆仁华氏大药房,经江西中医学院杨武亮教授鉴定为五加科植物人参 *P. ginseng* 的根茎;人参皂苷 Re 对照品(中国药品生物制品检定所,含量测定用,批号 110754-200421),香草醛、冰酸、高氯酸、甲醇(均为分析纯),乙醇为 95% 食用乙醇,HPD 大孔树脂(药用级,河北沧州宝恩化工公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 人参总皂苷的含量测定

**2.1.1 标准品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的人参皂苷 Re 对照品 5 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀即得  $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液。

**2.1.2 红参提取液的制备**<sup>[4-5]</sup> 红参粉碎过 20 目筛,取 500 g 置 1 万 mL 圆底烧瓶中,加入 8 倍量 75% 乙醇回流提取 3 次,时间分别为 2,2,1 h,趁热过滤,合并滤液,回收乙醇至无醇味,浓缩至每 1 mL 相当于 1 g 红参原药材,即得红参提取液。

**2.1.3 标准曲线的制备**<sup>[6]</sup> 精密吸取人参皂苷 Re

对照品溶液 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mL 分别置 10 mL 具塞试管中,水浴挥干,加入 5% 香草醛冰乙酸溶液(临用新配)0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,摇匀,60 °C 恒温水浴加热 15 min,取出置于冰水浴中冷却后精密加入冰乙酸 5 mL,摇匀,加随行试剂,作为做空白对照,显色溶液在波长在 550 nm 波长处测定吸收值,以吸光度为纵坐标,人参皂苷 Re 含量( $\mu\text{g}$ )为横坐标,绘制标准曲线。得回归方程  $Y = 0.0032X - 0.0109$  ( $r = 0.9994$ ),结果表明人参皂苷 Re 在 20 ~ 100  $\mu\text{g}$  呈良好线性关系。

**2.1.4 人参总皂苷含量测定** 精密吸取红参提取液 0.5 mL,共 3 份置 60 mL 分液漏斗中,加入 9.5 mL 水,用水饱和正丁醇萃取 3 次,每次 10 mL,合并正丁醇层,减压回收至干,甲醇定容至 25 mL 量瓶中,精密吸取上述溶液 0.1 mL 按标准曲线项下操作,测定吸收值,计算以人参皂苷 Re 计人参总皂苷质量浓度,结果平均值  $27.22 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,RSD 1.18% ( $n = 6$ )。

**2.2 HPD 系列大孔树脂预处理**<sup>[7]</sup> 称取适量 HPD100,HPD200,HPD400,HPD500,HPD600 型新大孔树脂于烧杯中,加 2% NaOH 浸泡 2 h,装柱后用 2% NaOH 洗脱,流速为  $4 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ ,共洗脱 2 BV;蒸馏水洗至 pH 中性,加热至 60 °C,加 95% 乙醇浸泡 1 h,洗脱,流速为  $2 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ ,洗脱 4 BV 后检查乙醇流出液,至乙醇流出液与水混合(1:1)不呈白色浑浊为止,然后用大量蒸馏水洗至流出液无醇味。取出树脂备用。

**2.3 树脂的筛选** 准确移取 2 mL 各种经预处理树脂于 25 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 10 mL 红参提取液( $27.22 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),室温条件下置于摇床上( $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ )振摇 24 h,使之充分吸附后,过滤,测定滤液中总皂苷的质量浓度,计算吸附量( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )。后将充分吸附饱和的树脂,加 80% 乙醇溶液 10 mL,室温条件下置于摇床上( $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ )振荡 24 h,滤过后测定滤液中总皂苷的质量浓度,计算解吸率。结果见表 1。

结果表明:HPD-400 树脂对人参总皂苷的吸附

能力最好,其平均吸附容量为  $110.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;HPD-600 对人参总皂苷的解吸附能力最强,平均解吸率为 89.93%。综合考虑确定 HPD-400 为纯化红参中人参总皂苷的最佳树脂材料。

表 1 树脂型号筛选结果 ( $n=3$ )

树脂型号	平均吸附量/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	平均解吸率/%
HPD-100	97.45	82.51
HPD-200	86.15	84.21
HPD-400	110.35	87.49
HPD-500	97.65	82.02
HPD-600	70.30	89.93

注:吸附量 = (起始人参总皂苷量 - 滤液中人参总皂苷量) / 树脂体积,解吸率 = 解吸剂中总皂苷量 / 树脂吸附的总皂苷量  $\times 100\%$ 。

## 2.4 HPD-400 树脂纯化分离红参总皂苷工艺研究

### 2.4.1 上样浓度的确定

将不同质量浓度的红参提取液(6.8,3.4,1.7,0.85  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )以  $15 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速分别通过 HPD-400 大孔树脂柱(柱体积 8 mL),进行动态吸附,按 2.1.4 项人参总皂苷含量测定方法计算过柱液中人参总皂苷的量。结果见表 2。

表 2 上柱液浓度对人参总皂苷吸附的影响

上柱液质量浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	过柱液中人参总皂苷的量/mg	树脂中吸附的人参总皂苷的量/mg
0.85	39.41	96.68
1.7	39.02	97.08
3.4	41.37	94.73
6.8	43.32	92.78

由表 2 可知,上柱液质量浓度为  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,树脂中吸附的人参总皂苷的量较多,选择上柱液质量浓度为  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  为宜。

### 2.4.2 上柱液 pH 的确定

将  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  红参提取液(80 mL)上柱,提取液用 HCl/NaOH 调节至预定 pH(pH 计校正),以  $15 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速分别通过 HPD-400 大孔树脂柱(柱体积 8 mL),进行动态吸附,按 2.1.4 项人参总皂苷含量测定方法计算过柱液中人参总皂苷的量。结果见表 3。

由表 3 可知,酸性条件有利于人参总皂苷的吸附,当 pH 2 时,树脂中吸附的人参总皂苷较多,但样品液会出现浑浊,影响树脂的使用寿命,综合考虑上述因素,选择 pH 4.68,即原液上样。

### 2.4.3 吸附流速的确定

将浓度为  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的提取液(80 mL)分别以 7.5,15,22.5  $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速

通过 HPD-400 大孔树脂柱(柱体积 8 mL),进行动态吸附,按 2.1.4 项人参总皂苷含量测定方法计算过柱液中人参总皂苷的量。结果见表 4。

表 3 上柱液 pH 对人参总皂苷吸附的影响

上柱液 pH	过柱液中人参总皂苷的量/mg	树脂中吸附的人参总皂苷的量/mg
2	33.16	102.93
4	39.02	97.08
4.68(未调 pH)	39.02	97.08
6	44.49	91.61
8	46.25	89.85

表 4 吸附流速对人参总皂苷吸附的影响

吸附流速/ $\text{BV} \cdot \text{h}^{-1}$	过柱液中人参总皂苷的量/mg	树脂中吸附的人参总皂苷的量/mg
7.5	31.21	104.89
15	39.02	97.08
22.5	42.53	93.56

从表 4 可知,吸附速度为  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  时,树脂中吸附的人参总皂苷较多,故选择吸附速度为  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

### 2.4.4 泄漏曲线测定

将  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的提取液分别以  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速通过 HPD-400 大孔树脂柱(柱体积 8 mL),进行动态吸附,流出液每 4 mL 收集 1 份,按 2.1.4 项人参总皂苷含量测定方法计算各流出份中人参总皂苷的量,绘制泄露曲线。结果见图 1。

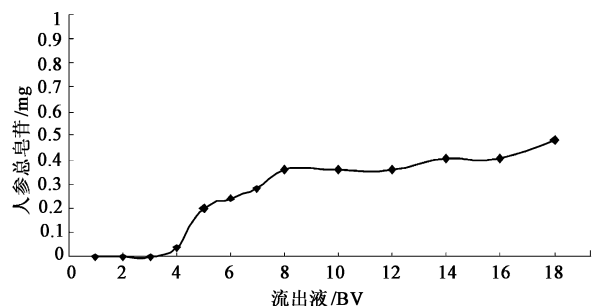


图 1 人参总皂苷泄漏曲线

由图 1 可知 5 BV 时发生明显泄露,故树脂此条件下,载样量为 4 BV,此条件下即吸附量为  $6.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 2.4.5 洗脱液的选择

将  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的提取液(32 mL)以  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速通过 HPD-400 大孔树脂

柱(柱体积 8 mL),进行动态吸附,依次用蒸馏水,20%乙醇,40%乙醇,60%乙醇,80%乙醇,95%乙醇各 20 mL 洗脱(洗脱流速  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ ),洗脱液每 4 mL 收集 1 份,计算各洗脱份中人参总皂苷的量和固体总量,结果表 5。

表 5 各洗脱液中固体量和人参皂苷总量

乙醇/%	人参总皂苷 /mg	固体量 /mg	人参皂苷 质量分数/%
20	2.097	34.4	6.09
40	3.226	10.4	31.02
60	19.838	28.0	70.85
80	21.613	26.4	81.87
95	3.548	4.4	80.64

结果表明,80%乙醇液中人参皂苷纯度最高,20%乙醇液中人参皂苷纯度较低,考虑纯化需要,最终选择先以 20%乙醇液除杂后再用 80%乙醇液洗脱。

**2.4.5 洗脱液用量** 将  $1.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的样品液(32 mL)以  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$  的流速通过 HPD-400 大孔树脂柱(柱体积 8 mL),进行动态吸附,先用 20%乙醇洗脱除杂,后 80%乙醇洗脱(洗脱流速  $7.5 \text{ BV} \cdot \text{h}^{-1}$ ,洗脱液 8 mL 收集 1 份,共收集 6 份,按 2.1.4 项人参总皂苷含量测定方法计算各洗脱份中人参总皂苷的量。结果见图 2。

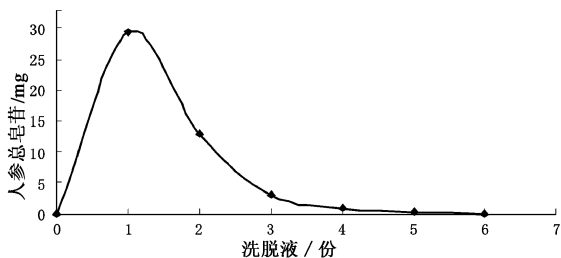


图 2 人参总皂苷洗脱曲线

由图 3 可见,当洗脱量为 4 BV 时,95%以上人参总皂苷即能被完全洗脱,故选择洗脱量为 4 BV。

### 3 讨论

作者使用过 8%香草醛乙醇-77%硫酸与 5%香草醛冰醋酸-高氯酸 2 种显色系统对人参总皂苷含量进行测定,试验结果发现 5%香草醛冰醋酸-高氯酸显色更稳定。

本试验先用 20%乙醇洗脱除杂,后 80%乙醇洗脱,人参总皂苷含量由 5.42% 上升到 88.02%,使水溶性较强的成份大部分得以洗脱,且经洗脱前后高效液相色谱图比较,对人参皂苷成分影响很小,说明经 20%乙醇除杂后利于人参总皂苷的纯化,更适于制作含红参的中药注射剂。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2005:105.
- [2] 程新梅.大孔吸附树脂分离技术在中药制药工业中的应用[J].中国药房,2008,19(18):1431.
- [3] 屠鹏飞,贾存勤,张洪全.大孔吸附树脂在中药新药研究和生产中的应用[J].世界科学技术——中医药现代化,2004,6(3):22.
- [4] 党锁凤,苟正军.红参在中药产业大生产中提取工艺的研究[J].中国实用医药,2007,22(2):32.
- [5] 谢丽玲,任理,赖县生,等.红参中人参总皂苷的提取纯化工艺研究[J].中药材,2009,32(10):1602.
- [6] 蔡雄,刘中秋,王培训,等.大孔吸附树脂富集纯化人参总皂苷工艺[J].中成药,2001,23(9):631.
- [7] 贾存勤,李阳春,屠鹏飞,等.HPD系列大孔吸附树脂预处理方法研究[J].中国中药杂志,2005,30(18):1425.

[责任编辑 全燕]