

# 仪器分析课程中的柱色谱实验

## ——大孔吸附树脂分离纯化中药栀子中的栀子苷单体

周婷婷<sup>1,2</sup>, 闻俊<sup>1,2</sup>, 范国荣<sup>1,2</sup> (1. 第二军医大学药物分析学教研室, 上海 200433; 2. 上海市药物代谢重点实验室, 上海 200433)

**摘要** 介绍一个操作简便、快速、经济、环保的柱色谱分离方法, 适用于分析化学(仪器分析)课程中的柱色谱实验教学。通过该实验有助于学生理解柱色谱实验的基本操作及实验条件优化方法, 了解不同浓度的洗脱液对分离效果的影响, 从而熟悉和掌握(大孔吸附树脂)柱色谱分离纯化中药包括天然产物活性成分的基本原理及实验技能。

**关键词** 分析化学; 仪器分析; 大孔吸附树脂; 柱色谱

**中图分类号:** G64      **文献标识码:** B      **文章编号:** 1006-0111(2009)04-0307-02

柱色谱是一种经典的色谱分析方法, 它具有简便、经济、通用性强等优点, 能够大量地有效分离和纯化中药包括天然产物以及有机化合物成分。从国内外学术期刊上所发表的文章不难发现, 柱色谱仍是目前应用最为广泛的色谱技术, 在分析化学-仪器分析实验中, 柱色谱是药学专业本科生必须掌握的内容。目前我国的高等院校使用的教材和实验指南中一般采用硅胶作为柱色谱的固定相进行教学<sup>[1]</sup>。这类实验方法耗时长, 试剂消耗大, 且使用的流动相(洗脱剂)通常为氯仿、甲醇等有毒、有害有机溶剂, 不但对环境造成污染, 还会对学生的身体具有较强的毒副作用。

为解决以上问题, 经过反复研究, 并结合作者部分科研工作成果<sup>[2]</sup>, 我们对柱色谱实验进行了具有针对性的教学改革, 选用大孔吸附树脂作为柱色谱的固定相, 从中药栀子中分离纯化其主要活性成分栀子苷化合物。本实验使用的流动相(洗脱剂)为对环境无污染的乙醇水溶液, 实验操作时间适宜(3~4学时), 可在一般实验室内完成。该实验容易为教师和学生所接受, 可作为高等院校生物医药及食品等相关专业的分析化学-仪器分析柱色谱实验教学内容。

### 1 实验目的

掌握大孔吸附树脂柱色谱实验的基本原理; 熟悉影响实验结果的主要因素; 掌握柱色谱法分离纯化天然产物活性成分的操作步骤和方法。

### 2 实验原理

大孔吸附树脂是一类不含交换基团且具有大孔结构的高分子吸附剂。它具有较大的比表面积, 可以通过物理吸附从水溶液中有选择的吸附有机物, 具有选择性好、解吸容易、机械强度高、可反复使用和流体阻力小等优点。

本实验根据栀子苷在环烯醚萜苷类成分中相对极性较弱的特点, 用大孔吸附树脂纯化栀子果实粗提物时, 先用大量水和 10% 乙醇洗去杂质及极性大的环烯醚萜苷类成分, 再用 20% ~ 30% 乙醇选择性洗脱栀子苷以减少高浓度乙醇洗脱所引入的弱极性杂质及其它环烯醚萜苷类成分。这种简单的制备方法所获得的栀子苷纯度很高, 避免了借助其它方法分离纯化而造成的环境污染。

### 3 仪器和试剂

**主要仪器:** 色谱柱(3cm 内径玻璃柱), 比重计。  
**药材与试剂:** 栀子(江西产, 上海童涵春堂中药饮片厂), D101型大孔吸附树脂(天津海光化工有限公司), 95% 乙醇加水配至各种浓度。

### 4 实验步骤

**4.1 制备栀子果实粗提物** 取干燥栀子果实药材粗粉 500 g 用 10 倍量 50% 乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h 过滤, 合并滤液, 60 °C 减压浓缩至稀浸膏, 真空干燥得栀子果实粗提物, 得率为 26.6%。该部分实验由教员提前做好。

**4.2 制备栀子苷** 取上述栀子果实粗提物, 加水混悬后总体积为 2 000 mL。加入到装有 1 500 g 经预处理过的 1300 大孔吸附树脂层析柱上, 上样完毕后吸附 2 h, 用 6 000 mL 水洗脱(弃去)。再用 8 000 mL 10% 乙醇洗脱(弃去), 最后用 6 000 mL 20% 乙

醇洗脱, 20% 乙醇洗脱流份减压浓缩后, 真空干燥 (60 °C), 得栀子苷棕色粉末 6.42 g 得率为 1.3%。采用高效液相色谱 (HPLC) 法对该粉末进行纯度检测 (峰面积归一化法) 测得栀子苷纯度为 98.9%。HPLC 分析条件为色谱柱 Lichrospher C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈: 1% 醋酸水溶液 = 10: 90 流速 0.9 mL/min 柱温 25 °C, 检测波长 238 nm。在此条件下栀子苷的高效液相色谱图见图 1, 峰 1 为栀子苷。

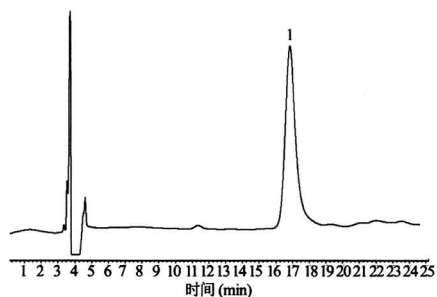


图 1 经大孔吸附树脂纯化的栀子苷高效液相色谱图  
1-栀子苷

## 5 实验记录

记录洗脱流速, 流分的颜色变化。

## 6 讨论

6.1 可根据不同学校的实验学时数适当调整实验内容, 如有条件的实验室可安排学生进行一次单独的高效液相色谱法实验, 对所得洗脱液进行纯度检测。或采用薄层色谱等不同检测手段对其进行分析并比较分析结果。

6.2 大孔吸附树脂一般含有未聚合的单体、制孔剂、引发剂及其分解物、分散剂和防腐剂等脂溶性杂质, 使用前应先预处理。一般选用甲醇、乙醇或丙酮连续洗涤数次, 洗至加适量水至无白色浑浊现象, 再用蒸馏水洗至无醇味即可。有条件的实验室可安排学生对树脂进行预处理。

6.3 树脂用久了吸附的杂质就会增多, 降低其吸附能力, 故使用一段时间后需要再生。树脂的再生通常可以用溶剂来实现, 通常采用 95% 乙醇作为再生剂。实验结束后可安排学生对树脂进行再生处理, 但需注意的是如直接以 95% 乙醇洗脱树脂, 有可能会引起色谱柱的碎裂, 需通过逐渐升高乙醇浓度梯度洗脱才可。

6.4 本实验采用大孔吸附树脂仅以水和低浓度乙醇洗脱, 对环境不造成污染, 在洗脱过程中通过水及 10% 乙醇梯度洗脱, 按极性大小依次除去极性强于栀子苷的环烯醚萜苷类化合物及杂质, 最后以不高于 30% 的低浓度乙醇选择性洗脱栀子苷, 减少弱极性杂质的干扰, 无需进一步纯化即可得到纯度高于 98% 的栀子苷, 操作简单, 且树脂可再生后重复使用, 实验成本较低。

实验结束后安排学生讨论洗脱液的选择、流速控制等对柱色谱分离效果的影响。

### 参考文献:

- [1] 魏红, 吴秋业. 化学实验 (II) [M] 北京: 人民卫生出版社, 2005. 11
- [2] 范国荣, 周婷婷, 柴逸峰, 等. 一种用栀子果实制备高纯度栀子苷的方法 [P]. 中国, 2005100261430.

收稿日期: 2009-03-09

## 《药学实践杂志》2009年第 4 期继续教育试题答题卡

姓名	科别	职称	
邮编	电话		
工作单位			
◀ 试题 1	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 2	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>
◀ 试题 3	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 4	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>
◀ 试题 5	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 6	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>
◀ 试题 7	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 8	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>
◀ 试题 9	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 10	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>
◀ 试题 11	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 12	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>
◀ 试题 13	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 14	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>
◀ 试题 15	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>	◀ 试题 16	A <input type="radio"/> B <input type="radio"/> C <input type="radio"/> D <input type="radio"/> E <input type="radio"/>

注: ①请将正确的答案用 2B 铅笔涂黑 ②答题卡复印有效

③回函地址: 上海市国和路 325 号药学实践杂志编辑部收 (200433)