

# 文冠果壳苷提取、纯化工艺及其馏分抑菌活性的研究

李金焕<sup>1</sup>, 于景华<sup>2</sup>, 王力华<sup>2</sup>, 原树生<sup>1</sup>, 阴黎明<sup>2</sup>, 王丽丽<sup>1</sup>

(1. 东北林业大学 森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 中国科学院 沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:**以文冠果壳为试材,采用超声振荡的方法,研究了超声温度、超声功率、超声时间、料液比对文冠果壳粗提物提取率的影响,通过正交实验确定最佳提取工艺条件。依次通过硅胶 H 柱、ODS-A 反相柱对总皂苷进行分离纯化,流动相分别为甲醇乙酸乙酯、甲醇水溶液,并选用 3 种细菌和 2 种真菌考察抑菌活性。结果表明:最佳提取工艺条件是超声温度 70 ℃,超声功率 180 W,超声时间 30 min,经 HPLC 分析,料液比 1:25 g·mL<sup>-1</sup>,提取率为 17.26%,对提取率的影响顺序为料液比>超声时间>超声功率>超声温度。80%甲醇馏分的文冠果壳苷含量和纯度最高,该馏分对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌有抑制作用。该研究为文冠果壳苷的提取纯化工艺优化,抑菌活性的开发提供了理论基础。

**关键词:**文冠果壳苷;提取;硅胶;分离纯化;抑菌活性

**中图分类号:**S 667.909<sup>+</sup>.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)14-0144-04

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.)属无患子科文冠果属落叶乔木或灌木,别名僧灯毛道、文登阁、温旦革子等,原产于我国北方地区<sup>[1]</sup>。据文献报道,在文冠果果壳中富含大量三萜类化合物<sup>[2]</sup>,其中文冠果壳苷是一种新发现的、含量相对较高的活性物质<sup>[3]</sup>,已被报道的药理特性有抗炎、抗氧化、抑制 HIV 蛋白酶、改善小鼠学习记忆障碍、治疗阿兹海默综合症等<sup>[4-8]</sup>。因此,文冠果壳苷的深度探索与高效利用对于临床药物开发、生活用品创新、食品工业发展均有重要意义。虽然有关植物皂苷提取、纯化及其细菌和真菌抑菌作用的研究已有大量报道<sup>[9-11]</sup>,但对文冠果壳苷的抑菌活性却知之甚少。该研究从皂苷与植物病原菌相互关系角度出发<sup>[12]</sup>,着重分析文冠果壳苷的提取分离纯化工艺及在纯化过程中得到的不同馏分对细菌和真菌的抑制效果,以期今后的生产实践提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料文冠果壳及文冠果壳苷对照品由中国科

学院沈阳应用生态研究所提供;细菌:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*);供试真菌:白色念珠菌(*Candida albicans*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)(以上菌种均为该实验室保存);甲醇、无水乙醇、正丁醇、乙酸乙酯(天津市科密欧化学试剂有限公司);硅胶 H、ODS-A、细菌培养基、真菌培养基(市售)。

供试仪器:旋转蒸发仪、真空抽滤泵、超声振荡仪、水浴锅(上海亚荣生化仪器厂);电子天平、玻璃柱(市售);灭菌锅(上海申安立式灭菌器 LDZX-30FB);超净工作台(苏州净化设备有限公司);培养箱(江苏中和实验仪器制造有限公司);恒温振荡器(上海一恒科学仪器有限公司);离心机(北京金恒祥仪器有限公司);HPLC (Agilent1100 高效液相色谱仪)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 文冠果壳总皂苷提取纯化工艺过程** 取文冠果壳粉末 20 g,在常温下选取 95%乙醇作为提取溶剂,室温浸泡 12 h,超声浸提,常温放置,过滤,回收滤渣。利用旋转蒸发仪器对滤液进行旋蒸,利用回收的溶剂对滤渣进行 2 次浸泡浸提,将 2 次滤液减压浓缩的浸膏合并。加适量甲醇完全溶解,4 000 r·min<sup>-1</sup>离心 8 min,取上清液,重复 3 次后合并。所得上清液经旋转蒸发得到棕色粘稠液体,后经真空冷冻干燥得黄色固体,称重,计算提取率<sup>[13-14]</sup>。文冠果壳浸提物提取率(%)=提取干物质质量/文冠果壳粉末质量×100。

**第一作者简介:**李金焕(1989-),女,硕士研究生,研究方向为植物资源开发与利用。E-mail:ljh1171690707@163.com.

**责任作者:**于景华(1972-),男,博士,研究员,研究方向为野外植物资源保护与开发。E-mail:YU1989345@126.com.

**基金项目:**科技基础性工作专项基金资助项目(2014FY110600)。

**收稿日期:**2016-03-22

1.2.2 提取条件的优化 称取文冠果壳粉末 20 g,以超声温度(A)、超声功率(B)、超声时间(C)、料液比(D)为因素,按照  $L_9(3^4)$  正交设计进行正交实验分析<sup>[15]</sup>。因素和水平见表 1。

表 1  $L_9(3^4)$  正交实验设计

Table 1 The design of orthogonal experiment  $L_9(3^4)$

水平 Level	因素 Factor			
	A 超声温度 Ultrasound temperature /℃	B 超声功率 Ultrasound power /W	C 超声时间 Ultrasound time /min	D 料液比 Material to liquid ratio /(g·mL <sup>-1</sup> )
1	50	180	15	1:15
2	60	210	30	1:20
3	70	270	45	1:25

1.2.3 总皂苷的分离纯化 将提取到的黄色粉末用超纯水溶解,搅拌均匀,再用等体积乙酸乙酯、正丁醇分别萃取,静置,待分层后取乙酸乙酯萃取液下层,后用水饱和正丁醇萃取,取上层液体,经旋转蒸发,得总皂苷浸提物<sup>[16-17]</sup>。

1.2.4 文冠果壳苷的分离纯化 首先采用硅胶 H 柱纯化。将硅胶 H 上柱,压实后使上平面与工作台平行。取 28 g 总皂苷与适量硅胶 H 拌样后干法上柱,总皂苷与硅胶 H 质量的比例约为 1:25。硅胶 H 柱的流动相选用甲醇-乙酸乙酯溶液,设置 5 种浓度,按照甲醇含量为 10%、30%、50%、70%、100% 进行配制<sup>[18-20]</sup>。所得馏分依次记为 10%、30%、50%、70%、100%。收集到的馏分经旋转蒸发后称重并进行 HPLC 分析。根据分析结果和馏分得率,将壳苷含有比例较高的馏分合并,进一步分离纯化。取 20 g 合并后的馏分,采用 ODS-A 反相柱分离制备,冷冻干燥。上柱过程同上,流动相溶剂选用甲醇-水溶液,按照甲醇含量为 60%、70%、80%、100% 进行配制。所得馏分依次记为 60%、70%、80%、100%。同样,将收集的馏分进行 HPLC 分析,得各馏分壳苷的纯度<sup>[21-25]</sup>。将冷冻干燥得到的固体粉末称重,计算馏分得率。馏分得率(%)=馏分干样质量/上样量×100。

1.2.5 病菌培养基 采用牛肉膏蛋白胨标准培养基培养细菌。牛肉膏 3 g,蛋白胨 10 g,NaCl 5 g,琼脂 15~20 g,无菌水 1 000 mL,调节 pH 7.0~7.2,121 ℃ 灭菌 20 min<sup>[26]</sup>;采用马铃薯培养基(PDA)培养真菌。马铃薯 200 g,去皮切块煮沸 0.5 h,纱布过滤,再加蔗糖 20 g,琼脂 15~20 g,无菌水 1 000 mL,121 ℃ 下灭菌 30 min<sup>[26]</sup>。

1.2.6 抑菌效果测定 在无菌环境中将配制好的培养基倒入培养皿,待冷却静置后取 500  $\mu$ L 菌液均匀涂布。将冷冻干燥后的各馏分粉末,配制成浓度为 1 g·L<sup>-1</sup> 的溶液。取各馏分溶液 20  $\mu$ L 浸湿滤纸片,待试剂挥发后,将滤纸片放入培养皿中,并将培养皿放入培养箱进行培养。细菌培养温度设置为 37 ℃,培养 16~18 h,真菌设置为 28 ℃,培养 48 h。采用游标卡尺测量抑菌圈直径。

选用无菌水作为对照,3 次重复<sup>[27-30]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 总皂苷提取工艺的正交实验

根据正交实验结果,R 值越大,该因素对试验指标影响越大。由表 2 可知,各因素对总皂苷提取率影响的大小顺序为料液比>超声时间>超声功率>超声温度。最佳提取工艺为温度 70 ℃,功率 180 W,时间 30 min,料液比 1:25 g·mL<sup>-1</sup>,提取率达到 17.26%。最佳提取工艺验证试验结果表明,提取率高于正交实验中最高值,结果可信(表 3)。

表 2 超声提取正交实验结果

Table 2 The result of orthogonal experiment on ultrasonic extraction

序号 No.	因素 Factor				提取率 Extraction rate/%
	A 超声温度 Ultrasound temperature/℃	B 超声功率 Ultrasound power/W	C 超声时间 Ultrasound time/min	D 料液比 Material to liquid ratio/(g·mL <sup>-1</sup> )	
1	50	180	15	1:15	11.32
2	50	210	30	1:20	12.92
3	50	270	45	1:25	15.60
4	60	180	45	1:20	13.74
5	60	210	15	1:25	13.96
6	60	270	30	1:15	11.84
7	70	180	30	1:25	17.26
8	70	210	45	1:15	12.28
9	70	270	15	1:20	13.06
$k_1$	13.28	14.11	12.78	11.81	
$k_2$	13.18	13.05	14.01	13.24	
$k_3$	14.20	13.50	13.87	15.61	
$K_1$	39.84	42.32	38.34	35.44	
$K_2$	39.54	39.16	42.02	39.72	
$K_3$	42.60	40.51	41.62	46.82	
R	1.02	1.06	1.23	3.80	

表 3 最佳提取工艺验证试验

Table 3 The result of verified experiment on optimize extraction technique

序号 No.	因素 Factor				提取率 Extraction rate/%
	A 超声温度 Ultrasound temperature/℃	B 超声功率 Ultrasound power/W	C 超声时间 Ultrasound time/min	D 料液比 Material to liquid ratio/(g·mL <sup>-1</sup> )	
1	70	180	30	1:25	17.31
2	70	180	30	1:25	17.07
3	70	180	30	1:25	17.48
平均值 Mean					17.28

### 2.2 文冠果壳苷的分离纯化

由表 4 可知,经过硅胶 H 柱层析分离,10% 馏分的干物质含量最高,其馏分得率达到 39.54%,但是经 HPLC 分析,文冠果壳苷所占比例很少。100% 馏分干物质含量很低,馏分得率仅为 2.61%,且文冠果壳苷含量极少。30%、50%、70% 馏分的文冠果壳苷含量较高,且馏分得率较高,分别为 19.16%、26.84% 和 10.56%。因此合并 30%、50%、70% 馏分,用于 ODS-A 分离纯化。

由表 4 还可知,经 ODS 柱分离纯化后,60%、70%、80%、100%馏分得率分别为 44.13%、17.60%、37.71%、0.45%。60%馏分得率最高,100%馏分最低,70%、80%馏分居中。经 HPLC 分析,80%馏分纯度相对较高,70%居中,60%、100%馏分最少。

表 4 柱层析分离纯化得各馏分质量及得率

Table 4 The weight and percent of fractions purified through H and ODS-A column

馏分 Fraction	硅胶 H		馏分 Fraction	ODS-A	
	重量 Weight/g	得率 Percent/%		重量 Weight/g	得率 Percent/%
10%	11.07	39.54	60%	8.83	44.13
30%	5.36	19.16	70%	3.52	17.60
50%	7.52	26.84	80%	7.54	37.71
70%	2.96	10.56	100%	0.09	0.45
100%	0.73	2.61			

### 2.3 各馏分抑菌作用

由表 5 可知,80%馏分对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌有抑制作用,对另外 3 种菌种抑菌效果不明显。100%馏分对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌有抑制作用,且对前者的抑制效果好于后者,对其它 3 种菌种抑菌效果不明显。60%、70%馏分对所有菌种均无抑菌效果。对金黄色葡萄球菌而言,100%馏分比 80%的抑菌效果好。

表 5 不同馏分抑菌作用的比较

Table 5 The comparison of anti-microbial activities of different purified fractions

馏分 Fraction	细菌 Bacteria			真菌 Fungi	
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	立枯丝核菌 <i>R. solani</i>	白色念珠菌 <i>C. albicans</i>
60%	—	—	—	—	—
70%	—	—	—	—	—
80%	—	12.45±0.58	—	—	10.74±0.25
100%	11.91±0.27	13.52±0.35	—	—	—

注:“—”表示抑菌效果较弱。数据为平均值±标准误差。

Note:“—” means the anti-microbial activity is weak. Data is mean±SE.

### 3 结论与讨论

该试验采用超声法提取文冠果壳皂苷,通过正交实验得到最佳提取工艺为超声温度 70℃,超声功率 180 W,超声时间 30 min,料液比 1:25 g·mL<sup>-1</sup>,提取率达 17.26%。对提取率影响最大的因素是料液比,其余依次为超声时间、超声功率、超声温度。所得总皂苷经过硅胶 H 柱分离纯化后,10%、100%馏分基本不含文冠果壳皂苷或较少。将合并的 30%、50%和 70%馏分经过 ODS-A 反相柱纯化后,80%馏分中的文冠果壳皂苷含量和纯度最高。

在已有的分离纯化研究中,大孔树脂吸附法应用较为广泛,在豆角、无患子、人参等皂苷的提取中均得到较好效果<sup>[31-32]</sup>。文冠果壳皂苷的分离纯化也有采用大孔吸

附树脂法的报道,王晓等<sup>[33]</sup>采用乙醇为流动相,发现文冠果壳皂苷主要富集在 70%乙醇馏分中,收率可达 8.71%。该试验直接采用硅胶 H 及 ODS-A 分离纯化,干法装柱,干法上样。该方法具有节约时间,馏分得率高(可达 37.71%),纯化度高的优点,不足之处是 ODS-A 成本较高,未来的研究工作应考虑如何提高 ODS-A 的纯化效率,降低生产成本。文冠果壳皂苷具有抗癌、治疗阿兹海默综合症等多种生物活性<sup>[34]</sup>,对临床药物开发、食品工业发展等均具有重要意义,因此对文冠果壳皂苷的高效、高纯度提取纯化显得十分必要,上述提取纯化工艺为工业生产工艺的改造提供了可靠的理论依据。

研究发现,80%馏分对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌有抑制作用。100%馏分对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌有抑制效果。4 种馏分对枯草芽孢杆菌和立枯丝核菌均无明显抑菌圈。据文献报道,三七、无患子、麻风树果壳等植物器官中均含有抑菌成分,其中皂苷被认为是主要的抑菌物质<sup>[35-38]</sup>。文冠果壳中含有大量皂苷,其中文冠果壳皂苷是一种含量相对较高的三萜皂苷<sup>[39]</sup>,该试验通过对分离纯化得到的不同纯度文冠果壳皂苷馏分考察抑菌活性发现,文冠果壳皂苷可能仅对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌有抑制作用;而其它皂苷可能对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌存在一定的抑菌作用。此外,不同馏分对同一菌种的抑菌作用不同,说明不同馏分的各皂苷浓度不同,所引起的抑菌效果也不同<sup>[40]</sup>。综合上述结果,文冠果壳皂苷对部分菌种具有一定的抑菌效果,与其它成分结合在抑菌方面是否有促进作用,其作用机理、抑菌作用所需的浓度范围等均需要深入的研究。而且分离纯化工艺的进一步优化也十分必要,以期获得更理想的抑菌效果。

### 参考文献

- [1] 赵彩云,宿华,赵英顺.文冠果的综合开发利用价值[J].内蒙古林业调查设计,2008(6):118-119.
- [2] 李占林.文冠果壳化学成分及其生物活性研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2006.
- [3] LI Z L, YANG B Z, LI X, et al. Triterpenoids from the husks of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2006, 8(4): 361-366.
- [4] JI X, XIA M, CHI T, et al. Investigation of anticancer effect of *Xanthoceraside in vitro* and the mechanism of *Xanthoceraside*-induced human breast cancer MCF-7 cell death[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2008, 28(1).
- [5] 纪雪飞,刘新霞,吴喆,等.文冠果壳提取物对β-淀粉样蛋白致动物学习记忆障碍的改善作用[J].沈阳药科大学学报,2007,24(4):232-237.
- [6] 迟天燕,王力华,纪雪飞,等.文冠果壳对侧脑室注射 Aβ1-42 致痴呆模型小鼠学习记忆障碍的改善作用[J].沈阳药科大学学报,2010,27(4):314-319.
- [7] 刘新霞,杨新爱,屈婵,等.文冠果壳提取物对学习记忆障碍的改善作用[J].中药新药与临床药理,2007,18(1):23-25.
- [8] 毛祖林,李晓波,龚文明.人参皂苷提取工艺优选[J].时珍国医国药,2007,18(1):23-25.



2008,19(11):2762-2763.

- [9] 李波,孙天颖,于鑫洋. 苜蓿皂苷的抑菌活性和抗氧化特性的研究[J]. 食品研究与开发,2013(2):1-2.
- [10] 李笑梅,王松. 菜豆皂苷抗氧化及抑菌活性研究[J]. 食品科学,2011,32(17):81-84.
- [11] 苏波. 毛茛皂苷的提取及其抑菌作用初步分析[J]. 怀化学院学报,2011,30(2):53-56.
- [12] 赵雪淞,刘民,马丹丹,等. 皂苷与植物病原真菌相互关系研究进展[J]. 中国生物防治学报,2011,27(3):404-409.
- [13] 马玉哲,张俊杰,李红霞. 中药有效成分提取分离技术最新进展[J]. 河北理工大学学报(自然科学版),2009(1):26.
- [14] 洪振宇. 文冠果皂甙的提取及生物转化[D]. 大连:大连工业大学,2012.
- [15] 王乐乐,董志,刘媛,等. 人参皂苷 Rg1 的提取纯化及其含量测定[J]. 中国药房,2013,24(7):605-607.
- [16] 许柏艳,李金,田晶,等. 文冠果壳皂甙的分离纯化及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技,2015,36(15):252-255.
- [17] 李光勋,王力华,陈玮. 正交实验优选文冠果壳中文冠果壳皂苷提取工艺[J]. 食品科学,2009(2):11.
- [18] 胡森,钱国平,苏宝根,等. 硅胶柱层析纯化青蒿素[J]. 华西药学杂志,2005,20(4):283-285.
- [19] 董亮,赵长新,俞志敏,等. 硅胶柱层析分离苦豆子系列生物碱[J]. 农药,2006,45(4):256-258.
- [20] 姜瑞清,周琳,黎继烈,等. 硅胶柱层析纯化花生根中白藜芦醇工艺研究[J]. 食品科技,2010(1):199-202.
- [21] 赵敬娟,杜先锋. 油茶皂苷对照品制备及高效液相色谱定量法的研究[J]. 中国油脂,2009,34(4):68-72.
- [22] 李育川,郭巧生,房海灵,等. 小桐子果壳抑菌活性部位的分离及其 HPLC-MS 分析[J]. 中草药,2010(9):1445-1448.
- [23] 王秀云. 柱层析-HPLC 法测定阳强保肾丸中淫羊藿苷的含量[J]. 中国药房,2008,19(15):1179-1180.
- [24] 蔡向阳,夏金华. RP-HPLC 法同时测定丹七片中三七皂苷 R1 和人

参皂苷 Rg1 的含量[J]. 中国药房,2008,18(36):2837-2838.

- [25] 倪林,李树华,卢海啸,等. HPLC 法测定显脉香茶菜中 nodosin 的含量[J]. 广东药学院学报,2010,26(6):605-607.
- [26] 杨革. 微生物学实验教程[M]. 北京:科学出版社,2005:48.
- [27] 傅勇,雷鹏,韩玉梅,等. 大孔吸附树脂法制备无患子皂苷及其抑菌活性表征[J]. 中药材,2010(2):267-272.
- [28] 翟梅枝,王磊,何文君,等. 核桃青皮乙醇提取物抑菌活性研究[J]. 西北植物学报,2009(12):2542-2547.
- [29] 李笑梅,王松. 菜豆皂苷抗氧化及抑菌活性研究[J]. 食品科学,2011,32(17):81-84.
- [30] 甄静荣,丛建森,刘艳萍,等. 金氏真蛇尾皂苷的抗氧化和抑菌活性研究[J]. 食品科技,2015(6):285-289.
- [31] 李健,吴佳慧,黎晨晨. 豆角皂苷的纯化工艺研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2011,27(5):717-719.
- [32] 彭拓华,陈洁炜,黄湘兰,等. 大孔树脂富集纯化人参总皂苷工艺条件优选[J]. 中药材,2006,27(4):392-394.
- [33] 王晓,朱巧,孟大利,等. 大孔吸附树脂分离纯化文冠果壳皂苷的工艺研究[J]. 沈阳:沈阳药科大学学报,2012,29(2):147-151.
- [34] 齐越. 文冠果壳皂苷抗阿尔茨海默病的炎症相关机制研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2013.
- [35] 杨敏,梅馨月,郑建芬,等. 三七主要病原菌对皂苷的敏感性分析[J]. 植物保护,2014,40(3):76-81.
- [36] 金秋,奚立民,张昕欣,等. 无患子皂苷的抗菌活性研究[J]. 科技通报,2014,30(3):35-38.
- [37] 李育川,王定康,耿开友,等. 麻疯树果壳正丁醇相抑菌活性部位的分离和鉴定[J]. 江苏农业科学,2013,41(3):275-277.
- [38] 曾礼华,严飏,陈放. 麻疯树叶提取物对鸡大肠杆菌,金黄色葡萄球菌的体外抑菌作用[J]. 中国家禽,2008(21):35-37.
- [39] 王颖,姜生,孟大利,等. 文冠果的化学成分与生物活性研究进展[J]. 现代药物与临床,2011,26(4):269-273.
- [40] 倪付花,桑青,陈敏,等. 皂荚皂苷的提取及其抑菌作用的研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(2):351-352.

## Extraction and Column Chromatography Purification Technology of Xanthoceraside and Antimicrobial Activities of Different Fractions

LI Jinhuan<sup>1</sup>, YU Jinghua<sup>2</sup>, WANG Lihua<sup>2</sup>, YUAN Shusheng<sup>1</sup>, YIN Liming<sup>2</sup>, WANG Lili<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040; 2. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang, Liaoning 110016)

**Abstract:** Taking *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. shell as material, effects of materials liquid ratio (ML), ultrasound temperature (UTe), ultrasound time (UTi) and ultrasound intensity (UI) on extraction rate of crude extract were studied and the optimize extraction conditions were done by orthogonal experiment. Then the xanthoceraside was separated and purified through silica gel H and ODS-A column. Finally, to research the anti-microbial activities of different fractions from purifications, three kinds of bacteria and two kinds of fungi were collected. The results showed that the optimize extraction conditions were that the UTe, UI, UTi, SR was 70 °C, 180 W, 30 minutes, 1 : 25 g · mL<sup>-1</sup>, respectively; the optimize extraction rate was 17.26%. The content and purity of xanthoceraside was the highest in the 80% methanol-water fraction, which anti-microbial activities were presented on *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Some theoretical basis were provided for the optimization of the extraction and purification techniques and the research of anti-microbial activities of xanthoceraside.

**Keywords:** xanthoceraside; extraction; silica gel; separation and purification; anti-microbial activity