

(16 m× 0.22 mm, 0.25 μm); 柱温: 70 °C; 进样口温度: 200 °C; 检测器: FID; 温度: 200 °C; 载气: 氮气; 压力: 5.0 psi; 分流进样; 分流比: 50: 1; 进样量: 1 μL 见图 1

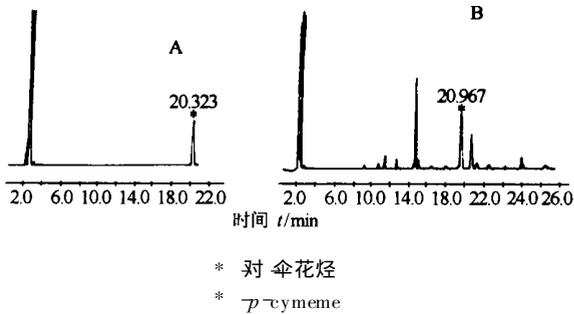


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 色谱图

Fig. 1 GC chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

2.2 供试品溶液的制备: 精密称取单萜烃油 0.35 g (分析单萜烃胶丸时, 取胶丸 10 粒, 切开, 将内容物混匀取样), 置 50 mL 量瓶中, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2.3 对照品溶液的制备: 取对伞花烃对照品适量, 精密称定, 加正己烷溶解并制成 0.5 mg/mL 的对照品溶液。

2.4 线性关系考察: 精密称取对伞花烃对照品 0.2512 g, 置 50 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密量取贮备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 各进样 1 μL, 每点进样 3 次, 取其峰面积平均值 (RSD 均小于 1.8%), 对浓度回归, 得线性回归方程 $Y = 1669867C + 21015$, $r = 0.99985$ 结果表明, 峰面积与进样量线性关系良好, 线性范围为 0.1~1.0 mg/mL。

2.5 精密度试验: 取对照品溶液, 连续进样 6 次, 峰

面积 $RSD = 1.9\%$

2.6 稳定性试验: 取样品溶液分别在 0, 2, 24, 48 h 进样, 峰面积 $RSD = 2.4\%$ 。结果表明, 样品溶液在 48 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 同一批单萜烃油样品, 独立测定 5 次, 含量平均值为 8.2%, $RSD = 2.5\%$, 结果表明方法重现性良好。

2.8 回收率试验: 取已知含量的单萜烃油, 精密称取 5 份, 各精密加入一定量对伞花烃贮备液, 测定, 计算回收率。结果平均回收率为 100.05%, $RSD = 1.9\%$ 。

取已知含量的单萜烃油胶丸, 精密称取 5 份, 各精密加入一定量对伞花烃贮备液, 测定, 计算回收率。结果平均回收率为 100.23%, $RSD = 2.6\%$ 。

2.9 样品测定: 按 2.2 项下方法制备样品, 测定, 结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Data of sample determination ($n = 3$)

品 种	批 号	对伞花烃	$RSD\%$
单萜烃油	1	8.0%	0.8
	2	8.1%	0.9
单萜烃胶丸	980105	9.8 mg/丸	1.2
	980210	9.3 mg/丸	1.5
	010216	10.4 mg/丸	0.9
	010901	10.5 mg/丸	1.7

3 讨论

原标准用 PEG 12 000~2 000 为固定相, TCD 检测, 经用 6% PEG 6 000 柱试验, 达不到分离效果。后改用 FID 检测, 分别用了 6% PEG 6 000 柱、5% PEG-20M 柱、2.5% SE-30 柱和 2% OV-17 柱, 均达不到理想的分离效果, 所以改用毛细管色谱柱, 经试验, 在 SE-54 毛细管柱上可达到较好的分离, 分离度为 1.5。

吸附树脂对葛根中葛根素的分离研究

欧来良, 史作清, 施荣富, 王春红*

(南开大学高分子化学研究所 吸附分离功能高分子国家重点实验室, 天津 300071)

葛根为常用中药, 具有调节血压、增加冠脉血流量^[1]、改善脑循环^[2]、抑制血小板聚集^[3]、抗氧化自由基等作用。临床应用于冠心病、脑血栓^[4,5]均取得

了明显的疗效。由于粉葛根中葛根素的含量远远低于野葛根, 从而大大限制了粉葛根的药用。目前虽然也有利用野葛根分离得高含量葛根素的报道, 但大

* 收稿日期: 2002-08-08
基金项目: 国家自然科学基金 (20174017)

多采用酸水解法^[6]或溶剂萃取法,但酸水解法虽然得到了高含量葛根素,却破坏了药材中其他未知或已知药效成分,一定程度上损害了中药特色。本实验采用吸附树脂仅通过“吸附-脱附”一步的简单工艺即可从粉葛根中得到较高含量的葛根素,并采用 HPLC法对葛根素的含量进行了测定

1 仪器与药品

高效液相色谱仪(Waters公司);AD-1 AD-3 吸附树脂(南开大学化工厂提供),AD-2和 AD-4吸附树脂(本实验室合成);葛根购自保定市药材公司,经河北省安国市医药公司鉴定为广西粉葛 *Pueraria thomsonii* Benth.;葛根素对照品(中国药品生物制品检定所);工业乙醇,无水甲醇(色谱级)

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 KromasilTM C₈(5 μ m, 150 mm \times 4.6 mm),流动相为 H₂O-CH₃CN-H₃PO₄(900:100:1),流速为 0.8 mL/min,室温,检测波长为 250 nm,进样量为 20 μ L。色谱图见图 1

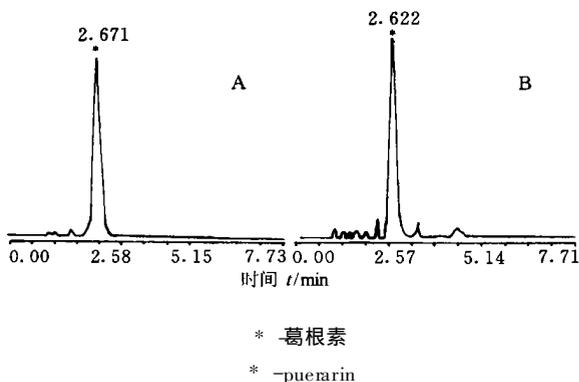


图 1 葛根素对照品(A)和葛根提取物(B)的 HPLC图谱
Fig. 1 HPLC chromatograms of puerarin reference substance (A) and *P. thomsonii* extract (B)

2.2 标准曲线的绘制:取葛根素对照品适量,精密称取,加水-甲醇(1:1)溶液溶解后,配制 4, 10, 20, 50, 100 μ L/mL的溶液,分别取上述溶液各 20 μ L注入液相色谱仪,在上述色谱条件下进行分析,记录色谱峰面积。在 4~100 μ L/mL时,色谱峰面积与葛根素的量呈线性关系。线性回归方程为: $Y = 293\ 598.05 + 235\ 859.75X, r = 0.999\ 29$

2.3 葛根供试品的制备:精密称取过 20目筛的葛根粉 50g,用 50%乙醇加热回流 2次(2, 1.5 h)合并滤液,减压回收乙醇,离心,过滤,得澄清液,备用。

2.4 吸附树脂的预处理:本实验所用 AD-1 AD-2 AD-3 AD-4分别为非极性、弱极性、中极性和强极性吸附树脂。使用前先用石油醚抽提 10 h,然后用乙醇浸泡 24 h,湿法装柱。先用乙醇清洗至流出液

加水不浑浊,再用蒸馏水洗至水液澄清。AD-1 AD-2 AD-3树脂即可使用,AD-4树脂需经酸、碱处理后方可使用。

2.5 静态吸附和解吸

2.5.1 静态吸附量的测定:精确称取经预处理的树脂 0.2 g(除去水分后约 0.1 g)于 50 mL具塞磨口三角瓶中,精密加入 20 mL葛根提取液,置电动振荡机上振荡 12 h,振荡频率为 150次/min。充分吸附后,测定吸附前后葛根素的浓度,按下式计算各树脂室温下静态的吸附量。结果见表 1

$$Q = (C_D - C_r)V/W$$

式中 Q 为吸附量(mg), C_D 为起始浓度(mg/mL), C_r 为剩余浓度(mg/mL), V 为溶液体积(mL), W 为树脂质量(g)

2.5.2 静态解吸率的测定:取上述饱和和吸附树脂分别加 50%乙醇溶液 20 mL,振荡 12 h。测定解吸液中葛根素的量,根据吸附量计算解吸率,结果见表 1

表 1 吸附树脂对葛根素的吸附量

Table 1 Adsorption capacity of resins on puerarin

树脂 极性	比表面积 $/(m^2 \cdot g^{-1})$	吸附量 $/(mg \cdot g^{-1})$	解吸率 /%
AD-1 非极性	600	37.2	89.7
AD-2 弱极性	500	45.8	91.7
AD-3 中极性	120	19.8	95.4
AD-4 强极性	100	31.4	84.5

从表 1可以看出,不同极性的树脂对葛根素表现出不同的吸附性能,AD-1树脂比表面积最大,因此具有较高的吸附量;AD-2树脂由于少量极性基团的引入,使其具有高比表面的同时也具有了一定的亲水性,增加了在水中的溶胀度,所以对黄酮类的吸附量大大增加;AD-3树脂骨架上由于大量酯基的引入,其亲水性提高的同时大大降低了树脂的比表面积,所以 AD-3树脂吸附量较小,但很容易洗脱;AD-4树脂具有强极性,能选择性地吸附葛根素,但洗脱较难。

2.6 葛根素的动态洗脱分离:从葛根素的分子结构来看,有一个极性糖基(Glu)和一个非极性黄酮母核,这样的结构使其总体显示弱极性,但其又具有酚羟基结构,可以作为一个良好的氢键供体。综合以上因素,选用非极性、弱极性或具有氢键受体结构的吸附树脂可能对葛根素具有较好的分离效果。因此本实验分别取葛根素提取液上非极性、弱极性、中极性(氢键受体型)、强极性树脂柱(经预处理),控制吸附流速 1 BV/h。吸附完毕后,用 4 BV 50%乙醇洗脱,控制流速 0.5 BV/h(洗脱液经 HPLC分析无葛根素残留)。洗脱液浓缩,真空干燥即得产品。不同树

脂对葛根素产率、产量的影响见表 2

表 2 不同树脂对葛根素产品质量的影响

Table 2 Effect of different resins on puerarin quality

树脂	葛根素含量 %	产率 %
AD-1	38.08	1.26
AD-2	32.6	2.25
AD-3	63.3	1.10
AD-4	24.13	1.01

由表 2 可以看出,非极性和弱极性的吸附树脂 AD-1 和 AD-2 具有较高的比表面积,主要靠物理吸附作用吸附葛根素,因此具有高容量、广谱性的特点,同时也较易洗脱。强极性树脂 AD-4 因具有强极性功能基(季胺基),能和葛根素的酚羟基产生强烈的相互作用,有效成分较难洗脱,所以葛根素的纯度和产率都较低。中极性吸附树脂 AD-3 具有较低的比表面积,但带有具有孤电子对的羰基官能团,羰基是良好的氢键受体,虽然吸附容量较低,但却能与具有酚羟基的黄酮(葛根素)形成氢键作用,从而大大提高了吸附选择性。所以对葛根素的分离来看,中极性吸附树脂效果较好。

3 讨论

3.1 从葛根素的分子结构来看,有一个极性糖基(Glu)和一个非极性黄酮母核,这样的结构使其总体显示弱极性,但其又具有酚羟基结构,可以作为一个良好的氢键供体。所以,本实验用弱极性且具有氢

键受体结构的吸附树脂,其对葛根素具有较好的分离效果。

3.2 吸附树脂用于葛根素的分离,既避免了水解法所造成的葛根中其他药效成分的破坏,又省去了传统溶剂萃取法的烦琐工艺,仅吸附-脱附一步工艺即可得到高含量的葛根素。在简化工艺的同时,也尽可能地保留了中药特色。

3.3 吸附树脂分离葛根素收率高、成本低(树脂可再生,溶媒用量少)操作简便、易于工业化生产。

References

- [1] Guo J P, Sun Q R, Zhou Q. Advances of pharmacological studies of *Radix Puerariae* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26(3): 163-165.
- [2] Duan Z G, Li H W, Xu L N. The effect of the puerarin on blood circulates round the brain of the aureate shrewmouse [J]. *Natl Med J China* (中华医学杂志), 1991, 71(9): 516-517.
- [3] Zhu Q L, Lü X R. The advance study in pharmacological and clinical use of puerarin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(11): 693-696.
- [4] Cui R, Lou Z B. Clinical analysis on the effect of pyrozdinum on 98 patients with coronary diseases [J]. *Her Med* (医药导报), 1996, 15(2): 64.
- [5] Wen Y C. 150 patients with the cerebral thrombosis were treated with puerarin injection [J]. *Human J Tradit Chin Med* (湖南中医杂志), 1998, 14(3): 44-45.
- [6] Pan W J, Liu Q G. Puerarin and daidzein were isolated from *Pueraria lobata* by the method of hydrolyzing [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 12(6): 66-69.

归脾汤片的薄层鉴别研究

张榕,徐宇,彭梦如,胡波*
(四川大学华西药学院,四川成都 610041)

古方归脾汤具益气补血、健脾养心之功效,临床广泛用于失眠健忘、崩漏、神经衰弱等症^[1]。目前报道的剂型有丸剂、膏剂、片剂、合剂、颗粒剂、口服液等^[2-7],但各剂型的质量控制方法仅有《中华人民共和国药典》与部颁标准中的当归、木香的薄层鉴别^[2,7]、阿魏酸的含量测定^[8,9]以及各剂型项下的有关规定。尽管该处方组成复杂,但作为国家基本药物之一,其质量控制远远不足,亦不符合我国中药现代化的战略要求。本文报道的归脾汤片是经水煮提取、浓缩、喷雾干燥、制粒、压片而成,工艺机械化程度

高,大大减少了影响质量的各种因素。本实验对当归、木香等 8 味中药的 TLC 研究正是填补了归脾汤制剂质量控制中薄层鉴别方面的不足,并在方法中选择毒性较小的溶剂,为该制剂的质量控制提供了一个简便、有效、具环保意义的方法。

1 仪器和试剂

喷雾干燥机(L-8型,日本大川原化工机株式会社);电子分析天平(METTLER AE240型);超声波清洗器(CQ-250型,上海超声波仪器厂);薄膜浓缩仪(瑞士BUCHI公司);离心机(LD-2A型,北京医

* 收稿日期: 2002-04-04

作者简介:张榕(1967-),女(壮族),广西武宣人,讲师,大学本科,1990年毕业于华西医科大学药学院药物化学专业,现主要从事新药研究开发中的质量分析工作。Tel: (028) 85501399