

图 1 加入氮酮 (A) 及不加入氮酮 (B) 的化癍巴布膏剂体外透皮吸收曲线

Fig. 1 Percutaneous absorption curves of HBSP with laurocapran (A) and without laurocapran (B)

贴于离体鼠角质层一侧 接收池中不加接收液以消除因经皮渗透及吸水造成的影响,而只考察试验过程中因挥发性成分挥发而造成的影响 分别于 8, 24, 50 h 依次称取其中一份巴布剂约 0.5 g, 同时该套装置即结束试验 另称取新拆封的巴布剂约 0.5 g 作为 0 h 的样本, 进行丁香酚的含量测定

样品置 25 mL 容量瓶中, 加适量无水乙醇, 超声提取 30 min 后放冷, 定容, 取 3 μL 注入气相色谱仪中测定, 根据峰面积计算出含量 (C), 以时间 t 为横坐标, 各时间点丁香酚含量 (C) 为纵坐标, 绘制曲线, 见图 2 可见体外透皮吸收试验过程中, 化癍巴布剂基本稳定。

3 讨论

3.1 我们曾经选用生理盐水、30% 乙醇生理盐水液、50% 乙醇生理盐水液作为接受液测定胡椒碱的含量, 结果用 50% 乙醇生理盐水液溶解最好, 含量最高 所以选用 50% 乙醇生理盐水液作为接受液。

3.2 胡椒碱对照品溶液经紫外扫描, 发现 339 nm

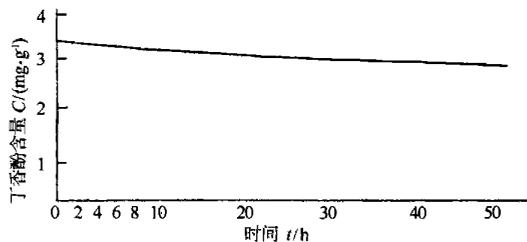


图 2 50 h 内丁香酚含量变化曲线

Fig. 2 Anenol change curve during 50 h

处有最大吸收, 所以选用 339 nm 为检测波长

3.3 不加氮酮明显小于加了氮酮的化癍巴布膏的累计透过量, 说明氮酮起到了很好的促渗透作用, 化癍巴布膏中加入氮酮是合理可行的。

3.4 化癍巴布膏在 0~50 h 体外经皮恒速渗透, 作用时间较长, 有望发展成为长效的经皮给药制剂

3.5 制剂稳定性试验中曾选择冰片作为指标, 因为对照品有两个峰, 计算后得到的标准曲线中的线性关系不如丁香酚, 两者的含量相似, 故采用丁香酚为挥发性成分指标。

References

- [1] Tan X Z, Zhang Z Y, Li J S. Experiment of transdermal absorption *in vitro* of matrine in Xiaoliuzhitong Babu Plaster [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22(11): 760-761.
- [2] Wang J X, Li L Y, Guo L. Studies on percutaneous absorption of berberine from Ruyijinhuang Adhesive Tape [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(9): 677-679.
- [3] Li H S, Jia Z C, Zhang M H, et al. Determination of piperine in *Piper longum* L. by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1986, 6(6): 346-348.
- [4] Zhang J M, Zhang H, Zhou Y Q. Application of gas chromatography in the quality control of Jingbutong Adhesive Tape [J]. *Phys Test Chem Anal Part B—Chem Anal* (理化检验·化学分册), 2001(Suppl): 61-62.

苦玄参、黄芩与黄柏的大孔树脂提取研究

邹节明, 陆浩, 何斌, 吴敏菊*

(桂林三金药业股份有限公司药物研究所, 广西 桂林 541004)

摘要: 目的 探讨大孔吸附树脂在精制苦玄参、黄芩与黄柏有效部位的应用。方法 以中药中的有效成分为指标, 筛选适用的大孔吸附树脂型号, 评价树脂吸附与解吸工艺。结果 苦玄参、黄芩与黄柏提取物精制适用树脂型号分别为 HPD500、HPD300 与 HPD100, 吸附阶段的泄漏点分别为 1.5、0.5 和 1; 饱和点分别为 11、2 和 4.75; 解吸阶段的适用乙醇浓度分别为 50%、30% 和 50%。结论 不同型号的大孔吸附树脂对中药有效部位的提取精制有较大差别。

关键词: 苦玄参; 苦玄参苷 I; 黄芩; 黄芩苷; 黄柏; 盐酸小檗碱; 大孔吸附树脂

中图分类号: R284.2; R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)03-0222-05

Study on extracting purified active components of *Picria fel-terrae*, *Scutellaria baicalensis* and *Phellodendron chinense* with macroporous resins

ZOU Jie-ming, LU Hao, HE Bin, WU Min-ju

(Institute of Materia Medica, Guilin Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541004, China)

Abstract Object To study the application of macroporous resins to the purified active components of *Picria fel-terrae* Lour., *Scutellaria baicalensis* Georgi, and *Phellodendron chinense* Schneid. **Methods** With the purified active components of Chinese materia medica (CMM) as a standard, we selected the suitable macroporous resins and studied the optimum technological parameters of the adsorption and elution. **Results** The suitable three types of macroporous resins which were used to the purified active components of CMM were HPD500 for *P. fel-terrae*, HPD300 for *S. baicalensis*, and HPD100 for *P. chinense*. In the absorption course, when the ratios between the medicinal materials amount and the volume of macroporous resins were 1.5 for *P. fel-terrae*, 0.5 for *S. baicalensis* and 1 for *P. chinense*, the purified active components of CMM appeared leaking, and were no more absorbed when the ratios were 11 for *P. fel-terrae*, 2 for *S. baicalensis* and 4.75 for *P. chinense*. In the elution course, the optimum alcohol concentrations were 50% for *P. fel-terrae*, 30% for *S. baicalensis* and 50% for *P. chinense*. **Conclusion** It is obviously different to refine the active components of CMM, while using the diverse types of macroporous resins.

Key words *Picria fel-terrae* Lour.; picfelterraenin I_A; *Scutellaria baicalensis* Georgi; baicalin; *Phellodendron chinense* Schneid; berberine hydrochloride; macroporous resin

大孔吸附树脂作为一种多孔道、大孔径的高分子分离材料,根据被吸附对象的极性和相对分子质量大小,以及在不同溶剂中的溶解度差异,可以大量、迅速、选择性地吸附或解吸化学成分,达到有机化合物的分离和提纯。在实际生产应用中,针对不同中药有效部位选择适用的树脂并采用合理的实验设计和测定方法评价具体工艺条件,才能充分发挥大孔吸附树脂处理技术在中药提取中的作用^[1,2]。本实验以苦玄参提取物中的苦玄参苷 I_A、黄芩提取物中的黄芩苷和黄柏提取物中的总生物碱的含量为考察指标,选择适用于提取上述中药的皂苷类、黄酮类、总生物碱类有效部位的大孔吸附树脂型号,并通过吸附曲线、解吸曲线和 HPLC 谱图等技术方法评价树脂吸附与解吸工艺。

1 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪 (Waters515 高压泵, Waters717 自动进样器, Waters996 二级管矩阵检测器, Millennium 32 色谱工作站), 岛津 UV-2401PC 紫外分光光度仪。

苦玄参 *Picria fel-terrae* Lour., 黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi, 黄柏 *Phellodendron chinense* Schneid. 均购自桂林药材站。苦玄参苷 I_A 对照品由广西植物研究所提供 (纯度为 98.31%), 黄芩苷 (批号: 0715-200010), 盐酸小檗碱 (批号: 0713-9906) 对照品购自中国药品生物制品检定所。甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

大孔吸附树脂均购自河北沧州宝恩化工有限公司。

2 方法与结果

2.1 苦玄参苷 I_A 的含量测定

2.1.1 色谱条件: 色谱柱: Phenomenex C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-冰醋酸 (38: 62: 0.5); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 264 nm。在此条件下, 苦玄参苷 I_A 与样品中其他成分达到基线分离 (图 1)。

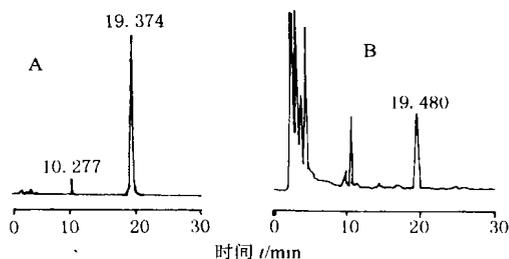


图 1 苦玄参苷 I_A 对照品 (A) 和苦玄参供试品 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of picfelterraenin I_A (A) and *P. fel-terrae* (B)

2.1.2 对照品溶液制备: 精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的苦玄参苷 I_A 对照品 4.87 mg, 置 10 mL 棕色量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀即得。

2.1.3 供试品溶液的制备: 苦玄参切成段状, 取适量, 加 12 倍量水提取 2 次, 每次 1 h, 滤过, 滤液合并, 浓缩至浸膏 (生药含量为 1 g/mL), 冷冻保存。分别用蒸馏水稀释不同的倍数, 过膜, 备用。

2.1.4 线性关系的考察:精密吸取苦玄参苷 I_A 对照品溶液 4, 6, 8, 10, 12, 14 μ L 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标, 苦玄参苷 I_A 含量为横坐标, 绘制标准曲线, 得方程 $Y=613\ 539X+37\ 410$, $r=0.999\ 1$, 线性范围: 1.912~6.692 μ g

2.1.5 测定方法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。

2.1.6 精密度试验:取同一供试品溶液, 连续自动进样 5 次, 计算得苦玄参苷 I_A 峰面积的 $RSD=0.67\%$ 。

2.1.7 稳定性试验:取同一份供试品溶液, 于配制后 0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h 依法测定。苦玄参苷 I_A 峰面积的 $RSD=2.38\%$ 。

2.2 黄芩苷的含量测定

2.2.1 色谱条件: 色谱柱: Phenomenex C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水-磷酸 (50: 50: 0.02); 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 277 nm。在此条件下, 黄芩苷与样品中其他成分能达到基线分离 (图 2)。

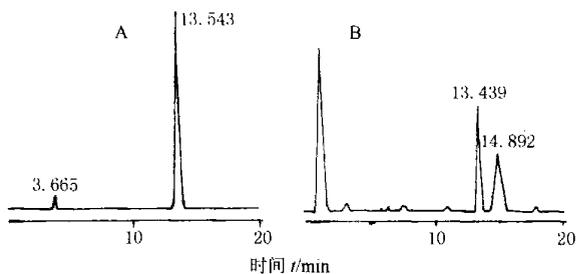


图 2 黄芩苷对照品 (A) 与供试品 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of baicalin (A) and *S. baicalensis* (B)

2.2.2 对照品溶液的制备:精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的黄芩对照品 6.168 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀即得。

2.2.3 供试品溶液的制备:取黄芩同 2.1.3 操作。

2.2.4 线性关系的考察:精密称取黄芩苷对照品 10.10 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。分别精密吸取上述溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积为横坐标, 进样量为纵坐标绘制标准曲线, 得方程 $Y=2.349\times 10^{-7}X+3.688\times 10^{-3}$, $r=0.999\ 8$, 线性范围: 0.202~2.02 μ g

2.2.5 测定方法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。

2.2.6 精密度试验:取同一供试品溶液, 连续自动进样 5 次, 计算黄芩苷峰面积, 其 $RSD=0.374\%$ 。

2.2.7 稳定性试验:取同一份供试品溶液, 于配制后 0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h 依法测定。黄芩苷峰面积的 $RSD=3.97\%$ 。

2.3 总生物碱的含量测定^[3]

2.3.1 对照品溶液的制备:精密称取经 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品 8 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.2 标准曲线的制备:分别精密量取对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L 盐酸溶液至刻度, 摇匀, 以相应的试剂为空白。照分光光度法, 在 345 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得方程 $Y=0.072\ 8X-0.003$, $r=0.999\ 99$, 线性范围: 3.48~17.4 μ g/mL

2.3.3 供试品溶液的制备:取黄柏按照 2.1.3 项下的方法所得样品溶液, 置中性氧化铝柱 (5 g, 内径约 1 cm, 湿法装柱, 用乙醇 30 mL 预洗) 上, 用乙醇洗脱, 收集洗脱液, 置 50 mL 量瓶中, 至洗脱液近刻度时为止, 加乙醇至刻度, 摇匀即得。

2.3.4 测定方法:精密量取供试品溶液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 照 2.3.2 项下的方法, 自“加 0.1 mol/L 盐酸溶液至刻度……”起, 依法测定, 计算即得。

2.4 大孔吸附树脂预处理:以 95% 乙醇溶液浸泡树脂 24 h, 充分溶胀后用湿法装柱 (4 cm \times 80 cm), 以 2 BV/h 的流速洗脱, 至流出液与水混合不呈白色混浊为止, 再用蒸馏水洗至无醇味, 备用。称取树脂时以树脂在水中溶胀后的体积 (mL) 为单位。

2.5 上柱样品液的制备:照 2.1.3 项下方法制备苦玄参、黄芩上柱样品液和 2.3.3 项下方法制备黄柏的上柱样品液。

2.6 适用树脂的筛选:采用静态吸附法, 通过测定吸附残液和解吸液的指标成分浓度筛选最适树脂。量取大孔型树脂 (苦玄参、黄芩、黄柏分别取 10, 40, 20 mL 树脂), 置锥形瓶中, 分别加入上柱样品液 (苦玄参、黄芩、黄柏的上柱样品液含生药浓度分别为 0.2, 0.05, 0.1 g/mL), 浸渍 24 h (每隔 8 h 振摇一次), 滤过。100 mL 蒸馏水洗涤树脂, 洗涤液与滤液合并, 测定吸附残液中的指标成分浓度评价吸附效果。向树脂中加入一定浓度的乙醇溶液 (苦玄参、黄芩、黄柏分别用 70% 乙醇 100 mL, 50% 乙醇 200 mL, 50% 乙醇 100 mL), 浸渍 24 h (每隔 8 h 振摇一

次), 滤过 用乙醇溶液 50 mL 洗涤树脂, 洗涤液与滤液合并作为样品溶液, 测定解吸液中的指标成分

浓度, 评价解吸效果。结果见表 1

表 1 显示: HPD500树脂对苦玄参苷 I_A 的吸附

表 1 不同型号大孔吸附树脂的静态吸附和解吸效果

Table 1 Results of adsorption and elution with different types of macroporous resins

树脂 型号	苦玄参苷 I _A			黄芩苷			黄柏总生物碱 (以盐酸小檗碱计)		
	吸附量 /(mg·mL ⁻¹)	解吸量 /(mg·mL ⁻¹)	解吸率 /%	吸附量 /(mg·mL ⁻¹)	解吸量 /(mg·mL ⁻¹)	解吸率 /%	吸附量 /(mg·mL ⁻¹)	解吸量 /(mg·mL ⁻¹)	解吸率 /%
HPD100	7.90	6.64	84.1	20.18	8.37	41.5	11.77	7.42	63.0
HPD300	10.46	7.01	67.0	22.35	11.29	50.5	10.20	6.25	61.3
HPD400	9.61	7.21	75.0	19.48	10.02	51.4	9.84	7.26	73.7
HPD500	10.50	8.70	82.9	16.40	9.47	57.7	9.79	6.86	70.1
HPD600	9.36	8.06	86.1	16.32	8.95	54.9	9.09	6.31	69.4
HPD700	10.14	5.94	58.5	19.90	10.88	54.7	10.89	8.14	74.7
HPD800	2.80	2.51	89.6	19.82	0.02	0.1	0.24	0.20	83.7
D001	0.98	0.92	94.4	6.27	0.02	0.3	10.43	0.13	1.3
D113	0.80	0.74	92.0	2.75	0.91	33.0	10.90	0.10	1.0
D201	2.65	2.39	90.2	19.63	0.01	0.1	0.31	0.28	89.0
D301	3.03	2.78	91.8	18.46	0.01	0.1	0.50	0.44	86.7

量最高, 确定作为苦玄参提取工艺的适用树脂型号; HPD300树脂对黄芩苷的吸附量最高, 因此作为黄芩提取工艺的适用树脂型号; HPD100树脂对总生物碱吸附量最高, 确定作为黄柏提取工艺的适用树脂型号。

2.7 吸附阶段的考察: 取静态吸附实验选择的树脂 400 mL 装柱 (径高比为 1:8)。取生药上柱样品液 (生药浓度均为 0.1 g/mL) 以 4 BV/h 的流速 (约 27 mL/min) 连续通过树脂柱, 收集流出液。测定流出液中的指标成分浓度, 绘制吸附曲线, 见图 3~5

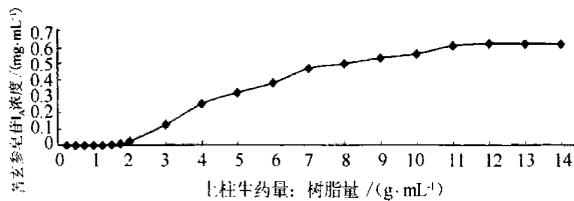


图 3 HPD500树脂对苦玄参水提取液的吸附曲线

Fig. 3 Adsorption curve in water extraction of *P. chinensis* with HPD500 macroporous resin

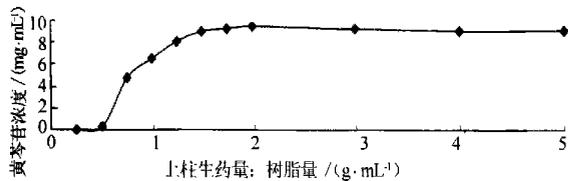


图 4 HPD300树脂对黄芩水提取液的吸附曲线

Fig. 4 Adsorption curve in water extraction of *S. baicalensis* with HPD300 macroporous resin

图 3~5 显示, 苦玄参水提取液中苦玄参苷 I_A 的泄漏点和饱和点分别在 1.5 和 11 左右, 黄芩水提取液中黄芩苷的泄漏点和饱和点分别在 0.5 和

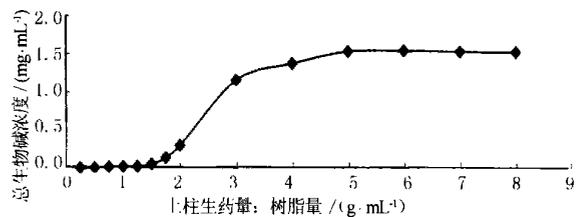


图 5 HPD100树脂对黄柏水提取液的吸附曲线

Fig. 5 Adsorption curve in water extraction of *P. chinensis* with HPD100 macroporous resin

2.00 左右, 黄柏水提取液中总生物碱的泄漏点和饱和点分别在 1.00 和 4.75 左右。

2.8 解吸阶段的考察: 取已吸附的树脂, 4 BV 蒸馏水淋洗后, 依次用 10%、30%、50%、70%、90% 乙醇溶液各 4 BV 进行梯度解吸, 分段收集解吸液 (每份 1 BV, 共 20 份)。测定解吸液中的指标成分浓度, 绘制解吸曲线, 见图 6~8 合并各浓度的解吸液, 测定指标成分含量结果见表 2

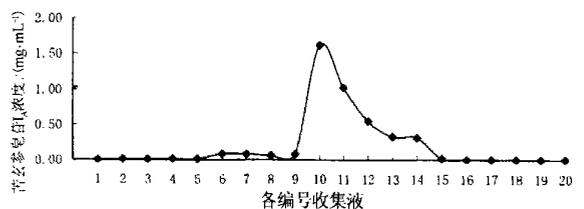


图 6 HPD500树脂对苦玄参水提取液的解吸曲线

Fig. 6 Elution curve in water extraction of *P. chinensis* with HPD500 macroporous resin

图 6~8 和表 2 显示: 苦玄参水提取液的适用解吸乙醇浓度为 50%, 其解吸液中的苦玄参苷 I_A 浓度达到最高值, 解吸产物的总固体中苦玄参苷 I_A 含量最高, 比原液提高了约 4.2 倍。30% 乙醇溶液解

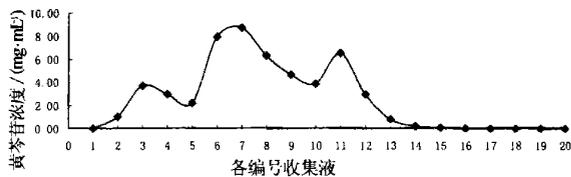


图 7 HPD300树脂对黄芩水提取液的解吸曲线

Fig. 7 Elution curve in water extraction of *S. baicalensis* with HPD300 macroporous resin

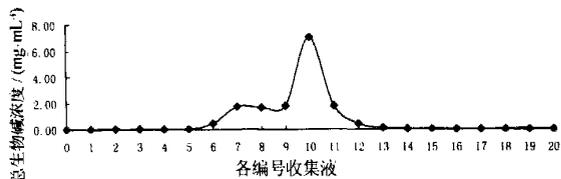


图 8 HPD100树脂对黄柏水提取液的解吸曲线

Fig. 8 Elution curve in water extraction of *P. chinense* with HPD100 macroporous resin

吸液中的黄芩苷解吸量最高,总固体中黄芩苷含量比原液提高了约 4.1倍。10%、30%和 50%乙醇解吸液中都有较高的黄芩苷含量,提示在黄芩提取工

表 2 不同浓度的乙醇溶液解吸物的比较

Table 2 Comparison of eluted components on different alcohol concentrations

样 品	总固体中苦玄参	总固体中黄	总固体中总生
	苷I A 含量 %	芩苷含量 %	物碱含量 %
上柱样品液	2.77	19.33	10.09
吸附流出液	0.00	6.42	0.00
10%乙醇解吸液	0.35	60.18	0.79
30%乙醇解吸液	1.62	79.53	17.13
50%乙醇解吸液	11.52	35.56	42.08
70%乙醇解吸液	11.40	2.59	12.42
90%乙醇解吸液	0.00	0.00	2.39

艺中可以考虑使用 10%、30%、50%乙醇进行梯度洗脱。黄柏水提取液的适用解吸乙醇浓度为 50%，其解吸液中的总生物碱浓度达到最高值,解吸产物的总固体中总生物碱含量最高,比原液提高了约 4.2倍。

3 讨论

3.1 不同中药有效部位的提取精制对大孔吸附树脂型号有不同要求,不同型号的大孔吸附树脂对其的吸附与解吸能力存在较大差别,应从先进性、适用性、生产性以及经济性等方面予以综合评价,选择吸附与解吸效果均较好的适用树脂型号。

3.2 选用 HPD500 HPD300 HPD100树脂,采用单柱单洗脱剂的方法,分别对主要有效部位为皂苷类的苦玄参、黄酮类的黄芩、总生物碱类的黄柏水提取液有较好的精制效果,其产物中有效成分含量可提高 4倍以上。

3.3 大孔吸附树脂应用于中药提取物的精制,若单柱吸附,上柱液含生药量以在泄漏点附近为宜;若多柱串联吸附,上柱液含生药量以接近饱和点为宜。

3.4 乙醇是大孔吸附树脂处理技术用于中药精制的常用经济解吸剂,不同类型、性质的中药有效部位或成分都可通过试验寻找最佳解吸效果的乙醇浓度或最佳的梯度洗脱组合。

References

- [1] Chen Y Q. Study on application of seven kinds of macroporous adsorption resin to refine Lemai Capsule [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(8): 553-555.
- [2] Mi J Y, Song C Q. Advances of application of macroporous resin in study of traditional Chinese herbs [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(12): 914-917.
- [3] *Ch P* (中国药典), 2000 ed. Vol I .

气相色谱法测定进口沉香中苜基丙酮的含量

王凌,季申*

(上海市药品检验所,上海 200233)

进口沉香为瑞香科植物沉香 *Aquilaria agallocha* Roxb. 含有树脂的木材,是传统的进口中药。文献报道^[1]其主要含有倍半萜类、芳香族成分和 2-(2-苜基)色酮衍生物等成分,其中芳香族成分苜基丙酮具止咳作用,并与沉香中树脂的形成有关,

黄白色木材(未形成树脂的组织)中没有苜基丙酮^[2],因此本实验建立了气相色谱法测定苜基丙酮含量的方法。结果证明本方法灵敏、准确、可靠,可作为控制沉香质量的有效方法。

1 仪器与试剂