

大孔吸附树脂富集茵陈蒿汤中蒿属香豆素的工艺研究

刘太华, 毕元, 肖小河, 袁海龙*
(解放军第 302 医院 药学部, 北京 100039)

摘要: 目的 研究大孔吸附树脂富集茵陈蒿汤中蒿属香豆素的工艺条件及参数。方法 以蒿属香豆素为指标, 考察大孔吸附树脂富集茵陈蒿汤中蒿属香豆素的最佳工艺条件。结果 提取液上大孔吸附树脂柱, 吸附 30 min 后, 以 5 倍树脂量的蒸馏水洗去杂质, 再以 3~4 倍树脂量的 70% 乙醇洗脱蒿属香豆素为最佳工艺。结论 此法可较好地富集茵陈蒿汤中的主要有效成分蒿属香豆素。

关键词: 茵陈蒿汤; 蒿属香豆素; 大孔吸附树脂; 富集

中图分类号: R 284. 2; R 286. 02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)07-0603-02

Enrichment process of scoparone from Yinchenhao Decoction with macroporous resin

LIU Tai-hua, BI Yuan, XIAO Xiao-he, YUAN Hai-long

(Department of Pharmacy, No. 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

Abstract: **Object** To study the optimal conditions and parameters for the enrichment process of scoparone in Yinchenhao Decoction (YCHD) with macroporous resin. **Methods** With the enrichment degree of scoparone in YCHD as an index, the optimal conditions of the enrichment process were investigated. **Results** The optimal conditions were that the aqueous extract of YCHD was taken into the macroporous resin column, and kept for 30 min, then the resin was washed by five times of distilled water to get rid of impurity and three — four times of 70% ethanol to elute scoparone. **Conclusion** The process is feasible to enrich effective ingredient scoparone from YCHD.

Key words: Yinchenhao Decoction (YCHD); scoparone; macroporous resin; enrichment

茵陈蒿汤始载于《伤寒论》, 由茵陈蒿、栀子、大黄组成, 具有清热利湿、利胆等功效, 临床上用于治疗湿热黄疸型肝炎、周身颜面发黄、发热、大便秘结、小便短赤、胆石症等疾病^[1]。茵陈蒿活性成分主要为蒿属香豆素、茵陈色原酮、绿原酸、黄酮、挥发油等。蒿属香豆素是茵陈蒿中的主要利胆成分, 并有抗炎、镇痛、心血管作用等^[2], 在秋季的花蕾和果实中含量最高^[3]。本实验采用大孔吸附树脂对茵陈蒿汤提取液进行精制, 并以蒿属香豆素为指标, 考察 D₁₀₁ 型大孔吸附树脂富集蒿属香豆素的工艺条件与参数。

1 仪器和材料

HP1100 色谱仪(美国惠普公司)。茵陈蒿(2001 年采自山东青岛, 经本部肖小河博士鉴定为菊科植物茵陈蒿 *Artemisia capillars* Thunb., 蒿属香豆素对照品(自制, 经军事医学科学院仪器中心 UV, IR, MS, HNMR 等波谱分析确定为蒿属香豆素, 经高效液相色谱归一化法计算, 纯度为 99.67%), D₁₀₁ 型大孔吸附树脂(天津农药厂)。甲醇(色谱纯)。

2 色谱条件

色谱柱: μ BonapakTM C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(40:60); 检测波长: 280 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 室温。理论塔板数按蒿属香豆素峰计算应不低于 4 000。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备: 精密称取蒿属香豆素对照品 15.40 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇超声溶解并稀释至刻度。精密量取 1.0 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀即得。

3.2 供试品溶液的制备: 根据茵陈蒿汤配方比例, 称取茵陈蒿 150 g、栀子 75 g、大黄 50 g, 以 10 倍量水煎煮 2 次, 每次煎煮 1 h, 合并滤液, 减压浓缩至 500 mL。

3.3 线性关系考察: 精密吸取对照品溶液 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μ L 分别进样, 按上述色谱条件测定蒿属香豆素峰面积。进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明, 蒿属香豆素在 0.015 4~0.184 8 μ g 呈良好的线性关系, 其回归方程为 $Y = 0.108 4 + 1.098.17X$, $r = 0.999 8$ 。

* 收稿日期: 2002-10-13

作者简介: 刘太华(1970—), 男, 山东济宁人, 军事医学科学院硕士研究生, 研究方向: 中药药效物质基础及新药开发。Tel: (010) 66933324

3.4 精密度考察:精密吸取供试品溶液,重复测定 5 次,得蒿属香豆素峰面积 RSD 为 0.31% ($n=5$)。

3.5 稳定性考察:供试品溶液于 2, 4, 8, 12, 24 h 分别测定。结果表明,供试品溶液室温保存,24 h 内蒿属香豆素含量稳定, RSD 为 1.36% ($n=5$)。

3.6 加样回收率试验:精密吸取 1 mL 供试品溶液 5 份,每份中加入一定量的对照品溶液,依法测定,结果蒿属香豆素平均回收率为 99.66%, RSD 为 1.15% ($n=5$)。

4 大孔吸附树脂纯化条件考察

4.1 大孔吸附树脂的预处理与装柱:取 D₁₀₁ 大孔吸附树脂(含水 70%)以 95% 乙醇浸泡 24 h 后,装入树脂柱,95% 乙醇冲洗,同步检测流出液。当流出液与水混合(1:1)不产生白色浑浊时,再用蒸馏水冲洗至无醇味即可。

4.2 吸附容量的确定:精密量取茵陈蒿汤水煎液 70 mL 上 D₁₀₁ 大孔吸附树脂柱(1.5 cm×20 cm,干

树脂 9 g),控制流速 1~2 mL/min,过柱液流出后重吸附 1 次,柱上保留吸附 30 min,收集过柱液,平行操作 3 次,计算吸附容量(吸附容量为单位质量干树脂吸附蒿属香豆素的质量)^[4],结果蒿属香豆素吸附容量为 20.77 mg/g ($n=3$)。

4.3 洗脱溶媒的选择:精密量取 50 mL 茵陈蒿汤水煎液(含蒿属香豆素 148.65 mg) 4 份,分别上预处理好的 D₁₀₁ 大孔吸附树脂柱(干树脂各 12 g),流速 1~2 mL/min,过柱流出液重吸附 1 次,柱上保留吸附 30 min 后,收集过柱液。用蒸馏水冲洗树脂柱至流出液近无色,TLC 检测未见蒿属香豆素荧光斑点。分别用 30%, 50%, 70%, 90% 乙醇洗脱,每 25 mL 收集一份,共计 8 份,以 TCL 检测各流份中蒿属香豆素的出现情况,并结合颜色变化,合并 TLC,相同或相似的流份,浓缩,干燥称重,并以 HPLC 测定有蒿属香豆素存在的流份。结果见表 1。

由表1可见,30% 乙醇虽能洗下蒿属香豆素,但

表 1 不同溶媒洗脱蒿属香豆素的考察结果

Table 1 Result of scoparone eluted by different solvents

洗脱溶媒	蒿属香豆素洗脱量/ mg			蒿属香豆素 洗脱率/ %	醇洗液 固形物/ g	醇洗液中蒿属 香豆素含量/ %	上柱液固 形物/ g	上柱液中蒿属 香豆素含量/ %	精制程 度/ %
	0~50 mL	50~150 mL	150~200 mL						
30% 乙醇	4.90	22.75	15.64	29.12	1.56	2.78	6.75	2.20	126.36
50% 乙醇	22.18	84.44	20.19	85.13	2.11	6.01	6.75	2.20	273.18
70% 乙醇	35.87	102.21	—	92.89	2.36	5.85	6.75	2.20	265.91
90% 乙醇	37.23	102.81	—	94.21	2.45	5.72	6.75	2.20	260.00

洗脱能力弱。50% 乙醇洗脱能力稍强,但洗脱速度慢,需要的溶媒多,有效成分洗脱不集中,洗脱率也不高。70%, 90% 乙醇效果好,洗脱快,且洗脱率均在 90% 以上。本实验选用 70% 乙醇,因其与 90% 乙醇相比较经济,且在醇洗液固形物中的含量及精制程度都略高于 90% 乙醇。

5 工艺验证

取茵陈蒿 60 g, 栀子 30 g, 大黄 20 g, 按前法制备茵陈蒿汤水煎液,均分 4 份,其中 3 份分别上大孔吸附树脂柱(干树脂各 12 g), 70% 乙醇液 150 mL 洗脱,HPLC 法测定蒿属香豆素含量。原药液、醇洗液分别浓缩,干燥,称重。结果原药液固形物为 7.24 g,蒿属香豆素含量为 2.15%,醇洗液固形物为 2.63 g,蒿属香豆素含量为 5.37%,蒿属香豆素洗脱率为 91.96%,精制程度为 249.92%。

6 讨论

中药中有效成分的传统精制方法多为水醇法,但有效成分损失多,乙醇消耗量大,周期长。大孔吸附树脂技术的引进成为中药有效单体成分或复方中某一单体成分分离纯化的有效手段,具有高效、快

速、方便、选择性等优点。

研究表明 D₁₀₁ 型大孔吸附树脂对茵陈蒿汤中有效成分蒿属香豆素具有很好的吸附能力,且解吸附快,洗脱率大于 90%,经过大孔吸附树脂柱处理的药液固形物比上柱前原药液显著降低,有效成分含量提高,精制程度在 200% 以上。验证结果表明利用 D₁₀₁ 型大孔吸附树脂精制纯化蒿属香豆素,工艺稳定、方法可行。

References:

[1] Li L F, Jin Y H, Yuan G D, et al. Comparative study of separate and mixed Yinchenhao Decoction on choleretic effects and phagocytic function of celiac macrophage [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 1998, 4(4): 39-41.

[2] Wang X J, Sun H, Liu Z S. Quantitative analysis of 6, 7-dimethylscutletin and capillarisine in *Artemisia capillaris* Thunb. and prescriptions containing the crude drug [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1994, 19(11): 667-670.

[3] Xu Q C, Yan L J, Yang C S. Studies on quality of *Artemisia capillaris* Thunb. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1983, 14(1): 35-40.

[4] Cai X, Liu Z Q, Wang P X, et al. Study on purification process of ginsenosides with macroreticular resin [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(9): 631-634.