

3.5 在 pH 2.5~6.8, 稳定常数随 pH 的升高而降低, 在 pH 6.8 升到 pH 7.8 时, 稳定常数由 170 L/mol 升到 229 L/mol 表明两者在较酸性溶液和偏碱性溶液中包合作用较强, 根据实验结果, 宜选择 pH 2.5 的条件进行包合, 丹皮酚为弱酸性化合物, 随 pH 的升高, 丹皮酚的解离程度越大, 因而包合作用越弱。pH 6.8 升到 pH 7.8 时, 包合作用增加, 可能是存在其他包合机制, 有待进一步探讨。

3.6  $\beta$ -CD 能与许多化合物进行包合作用, 但由于包合少量药物常需使用大量的  $\beta$ -CD, 包合效率并不高, 因此在药物  $\beta$ -CD 包合物的形成过程中, 常使用条件不同的添加剂, 本实验考察了水溶性的高聚物 HPMC 对包合的影响, 结果表明: 加入 0.05%~0.15% HPMC 均能使稳定常数有较大幅度的提高, 导致平衡相溶解曲线向左上方移动, 表明加入一定量的 HPMC 可使丹皮酚与  $\beta$ -CD 的包合作用增强, 与文献报道一致<sup>[5]</sup>。0.05% HPMC 能使稳定常数提高 37%, 且使溶液黏度改变不大, 故宜选择加入 0.05% HPMC 以增加包合率。

3.7 按照优化条件, 本实验对常用的 3 种包合方法进行比较, 结果表明: 丹皮酚  $\beta$ -CD 包合物的制备以电动搅拌法为优, 其包合率为 82%, 丹皮酚的质量分数为 9.0%; 在 pH 2.5、加入 0.05% HPMC 条件下, 按优化条件制备 3 批包合物, 平均包合率为 91%, 丹皮酚的质量分数为 10.9%, 未完全包合的原因可能是部分丹皮酚在包合过程中挥发损失所致。

#### References:

- [1] Shu J Q, Wu C. Selection of optimum sulfonating conditions of paeonol by orthogonal test [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1995, 17 (9): 6-8.
- [2] Zang C, Gao J, Lin H W, et al. Study on preparation procedure of including compound of  $\beta$ -cyclodextrin with paeonol the orthogonal design [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1996, 18 (11): 1-3.
- [3] Pitha J, Hoshino J. Effect of ethanol on formation of inclusion complexes of hydroxypropyl cyclodextrins with testosterone or with methyl orange [J]. *Int J Pharm*, 1992, 80: 243-251.
- [4] Song H T, Guo T, Yan X T, et al. Studies on the preparation of cinnamon oil- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药) 2000, 31 (11): 818-820.
- [5] Loftsson T, Friorisksdottir H, Thorisdottir S, et al. The effect of hydroxypropyl methylcellulose on the release of dexamethasone from aqueous 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin formulations [J]. *Int J Pharm*, 1994, 104: 181-184.

## 大孔吸附树脂富集小蓟中咖啡酸酯类成分的研究

许 浚<sup>1</sup>, 张铁军<sup>1</sup>, 龚苏晓<sup>1</sup>, 黄晓君<sup>2</sup>, 薛 艳<sup>1</sup>

(1. 天津药物研究院, 天津 300193; 2. 天津中医学院, 天津 300193)

**摘要:**目的 通过对 23 种大孔吸附树脂筛选, 寻找适用于纯化小蓟中咖啡酸酯类成分的大孔吸附树脂, 为从小蓟中工业化生产咖啡酸酯类成分提供依据。方法 采用 23 种大孔吸附树脂对小蓟提取物进行吸附纯化, 以总咖啡酸酯收率和纯度作为指标综合评价。结果 23 种吸附树脂中, 以树脂 HPD-100 吸附洗脱的总咖啡酸酯的收率最高为 87.6%、纯度为 52.2%。结论 HPD-100 树脂综合性能良好, 适用于小蓟中咖啡酸酯类成分的纯化。

**关键词:**小蓟; 咖啡酸酯类; 大孔吸附树脂; 纯化

**中图分类号:**R284.2; R286.02

**文献标识码:**B

**文章编号:**0253-2670(2005)06-0846-03

### Enrichment of caffeate in *Cirsium setosum* by macroporous adsorption resins

XU Jun<sup>1</sup>, ZHANG Tie-jun<sup>1</sup>, GONG Su-xiao<sup>1</sup>, HUANG Xiao-jun<sup>2</sup>, XUE Yan<sup>1</sup>

(1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**Abstract: Objective** To search for the method used in enriching caffeates in *Cirsium setosum* by macroporous adsorption resin, 23 types of macroporous adsorption resin were optimized, which could provide the industrial production of caffeates with the theory basis. **Methods** The adsorption and elution ratios, product purity and yield, as total indices, were comprehensively evaluated by 23 types of macroporous adsorption resin in enriching the extracts in *C. setosum*. **Results** The product purity and yield of caffeates by the HPD-100 type macroporous adsorption resin were the highest and up to 52.2% and 87.6%. **Conclusion** The HPD-100 type macroporous adsorption resin shows better comprehensive

adsorption property. It is available for the enrichment of caffeates in *C. setosum*.

**Key words:** *Cirsium setosum* (Willd.) MB.; caffeates; macroporous adsorption resin; enrichment

小蘗为菊科植物刺儿菜 *Cirsium setosum* (Willd.) MB. 的干燥地上部分。味甘、苦,性凉,有凉血止血、祛瘀消肿的功能,用于衄血、吐血、尿血、便血、崩漏下血、外伤出血、痈肿疮毒<sup>[1]</sup>。小蘗主要止血成分为绿原酸和咖啡酸等<sup>[2]</sup>。绿原酸及其类似物是一类苯丙素类化合物,由咖啡酸和奎尼酸缩合而成,所以又被称为咖啡酸酯类成分<sup>[3,4]</sup>。大孔吸附树脂是一种新型的有机高聚物吸附剂,由于其具有操作简便、树脂易再生、有机溶剂用量小等许多优点,近年来被广泛地应用于天然产物的提取分离<sup>[5]</sup>。本实验以小蘗中总咖啡酸酯为指标,采用紫外-可见分光光度法,对 23 种大孔吸附树脂进行筛选,结果表明树脂 HPD-100 对小蘗中的咖啡酸酯类成分选择吸附性好、易于解吸附且纯化效果优良。

## 1 仪器与试剂

UV-1601 型紫外-可见分光光度计。

大孔吸附树脂 D-101、D-3520、D-4006、D-4020、X-5、AB-8、S-8、NKA-I、NKA、NKA-9(南开大学化工厂); ADS-7、ADS-17; XDA-6、LSA-10、LSA-30、LSA-33(西安蓝深交换吸附材料有限责任公司); HPD-100、HPD-300、HPD-400、HPD-450、HPD-500、HPD-600、HPD-750(河北沧州宝恩化工有限公司)。

小蘗药材产于陕西咸阳,经天津药物研究院中药现代研究部张铁军研究员鉴定,符合《中华人民共和国药典》2000 年版一部标准。

绿原酸对照品由中国药品生物制品检定所购得(批号:0753-200111)。甲醇为 GR 级。

## 2 方法与结果

### 2.1 总咖啡酸酯的测定

2.1.1 对照品溶液的制备:取绿原酸对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成 10.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的溶液,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备:取小蘗药材粗粉约 1.0 g,精密称定,置 100 mL 圆底烧瓶中,加入 50 mL 冷水,称定质量,回流提取 1.5 h,放冷,再称定质量,用冷水补足减失的质量,摇匀,滤过。取续滤液 10 mL,用稀盐酸调节 pH 2~3,用 9 倍体积醋酸乙酯分 3 次萃取,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加 50% 甲醇制成适当质量浓度,摇匀,即得。

2.1.3 紫外检测波长的选择:分别取对照品溶液与

供试品溶液,在 200~400 nm 波长扫描。结果表明,对照品溶液与供试品溶液都在 327 nm 波长处有最大吸收,所以选择 327 nm 作为检测波长。

2.1.4 标准曲线的绘制:精密称取绿原酸对照品 2.66 mg,置 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇至刻度,摇匀;精密量取 0.5、1.0、2.0、2.5、3.0、4.0 mL 分别置 6 个 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,在 327 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标,进行线性回归,结果表明:在 2.66~21.28  $\mu\text{g}/\text{mL}$  与吸光度呈良好的线性关系,其回归方程为  $Y=0.055X+0.0038$ ,  $r=0.9999$ 。

2.1.5 测定:分别取对照品溶液与供试品溶液,照紫外分光光度法(《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录 VA),在 327 nm 波长处测定吸光度,代入方程计算。

2.2 上树脂用供试品溶液的制备:称取小蘗药材 1 kg,加入 10 倍体积冷水,加热煎煮 3 次,每次 2 h,合并提取液并浓缩至 1 L(相对密度为 1.15),备用。

2.3 树脂预处理:大孔树脂分别用 95% 药用乙醇浸泡 24 h,充分溶胀,用乙醇洗至流出液加适量蒸馏水无白色浑浊现象时为止,最后用蒸馏水洗至无醇味,备用。

2.4 不同吸附树脂对小蘗中咖啡酸酯类成分的静态吸附:分别取已经处理好的湿树脂各 1.0 g,用滤纸吸干水分,准确称重,置 50 mL 具塞锥形瓶中,分别加入 2.4 mg/mL 的样品溶液 10 mL,每隔 1 h 振荡 1 次,持续 10 h,然后静置 12 h,滤过,测定吸附前后溶液的吸光度值,按照下式计算静态吸附率。

结果见表 1。表 1 结果表明,树脂 S-8、NKA-I、NKA、ADS-7、XDA-6、LSA-30、LSA-33、HPD-100、HPD-300、HPD-400、HPD-750 对小蘗中咖啡酸酯类成分具有较好的吸附性能,可进一步作洗脱试验。

$$\text{静态吸附率} = \frac{\text{吸附前的量} - \text{吸附后的量}}{\text{吸附前的量}} \times 100\%$$

2.5 不同吸附树脂对小蘗中咖啡酸酯类成分的静态洗脱:取 S-8、NKA-I、NKA、ADS-7、XDA-6、LSA-30、LSA-33、HPD-100、HPD-300、HPD-400、HPD-750 具有较好吸附性的树脂,分别依次用 30%、60% 乙醇各 10 mL,浸提 24 h,按照下式计算解吸率。结果见表 2。结果表明,树脂 XDA-6、LSA-30、LSA-33、HPD-100、HPD-300、HPD-400、HPD-

表 1 23 种大孔吸附树脂静态吸附率测定结果

Table 1 Static adsorption ratios by 23 types of macroporous adsorption resins

树脂型号	吸附率/%	树脂型号	吸附率/%	树脂型号	吸附率/%
D-101	16.70	NKA- I	61.76	HPD-100	60.23
D-3520	15.44	NKA	96.16	HPD-300	57.67
D-4006	36.46	ADS-7	85.03	HPD-400	59.66
D-4020	13.67	ADS-17	36.21	HPD-450	37.92
AB-8	39.51	XDA-6	57.76	HPD-500	45.67
S-8	59.91	LSA-10	39.53	HPD-600	33.83
X-5	37.36	LSA-30	62.00	HPD-750	60.31
NKA-9	15.80	LSA-33	56.00		

表 2 11 种大孔吸附树脂静态洗脱率测定结果

Table 2 Static elution ratios by 11 types of macroporous adsorption resins

树脂型号	洗脱率/%		
	30%乙醇	60%乙醇	合计
S-8	33.54	26.34	59.88
NKA- I	29.49	55.39	84.88
NKA	25.42	56.50	81.92
ADS-7	15.52	22.93	38.45
XDA-6	67.51	31.94	99.45
LSA-30	69.48	29.41	98.89
LSA-33	76.74	26.36	103.10
HPD-100	84.58	19.72	104.30
HPD-300	69.66	30.30	99.96
HPD-400	68.84	30.26	99.10
HPD-750	65.79	25.69	91.48

750 对小茴中咖啡酸酯类成分的吸附率和解吸率都较高,因此,可进一步作动态吸附洗脱试验。

$$\text{解吸率} = \frac{\text{解吸液质量浓度} \times \text{解吸液体积}}{\text{吸附液质量浓度} \times \text{吸附液体积}} \times 100\%$$

2.6 动态吸附-洗脱试验:分别称取以上吸附率和解吸率都较高的 7 种大孔吸树脂适量,用蒸馏水装柱(300 mm×15 mm)后,用 2 BV 2.4 mg/mL 样品液以 2 BV/h 的速度上样,然后依次用 4 BV 蒸馏水、4 BV 30%乙醇洗脱,收集 30%乙醇洗脱液,UV 法分别测定总咖啡酸酯,并测定总固体量,通过以下公式计算得到总咖啡酸酯收率和质量分数。结果见表 3。结果表明,虽然树脂 LSA-33 吸附洗脱绿原酸

表 3 7 种大孔吸附树脂动态吸附-洗脱试验结果

Table 3 Dynamic adsorption and elution by seven types of macroporous adsorption resin

树脂型号	上柱总咖啡酸酯/mg	洗脱总咖啡酸酯/mg	纯化后干膏/mg	总咖啡酸酯收率/%	总咖啡酸酯质量分数/%
XDA-6		72.03	158.66	60.0	45.4
LSA-30		87.59	194.21	73.0	45.1
LSA-33		62.28	114.37	51.9	54.5
HPD-100	120.0	104.06	199.35	86.7	52.2
HPD-300		92.13	220.41	76.8	41.8
HPD-400		100.81	231.22	84.0	43.6
HPD-750		73.28	141.47	61.1	51.8

及其类似物的纯度最高,但是其收率也最低,而树脂 HPD-100 吸附-洗脱的绿原酸及其类似物的收率和纯度都较高,所以 HPD-100 可确定为适用于小茴中咖啡酸酯类成分的纯化。

$$\text{收率} = \frac{\text{上柱液中成分质量}}{\text{洗脱液中成分质量}} \times 100\%$$

$$\text{质量分数} = \frac{\text{洗脱液中成分质量}}{\text{洗脱液干膏质量}} \times 100\%$$

### 3 讨论

总咖啡酸酯主要集中在 30%乙醇洗脱物,所以以 30%乙醇洗脱物为考察对象。如果树脂 LSA-33 和 HPD-750 改用更高体积分数乙醇,虽然总咖啡酸酯回收率将会提高,但相应的总咖啡酸酯纯度会降低。除此之外,使用高体积分数乙醇,会相应增加生产成本和危险性。综合考虑,树脂 HPD-100 最适合于小茴中咖啡酸酯类成分的纯化。

### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Li Q H. Hemostatic components in *Herba Cirsii* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1982, 13 (9): 9-12.
- [3] Zhang A L, Ma Q, Gao J M, et al. Studies on bioactivities of chlorogenic acid and its analogues [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (2): 173-176.
- [4] Wei Q, Ma X H. Advances in the research of chlorogenic acid and its extraction and isolation methods [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23 (2): 135-138.
- [5] Mi J Y, Song C Q. Advances of application of macroporous resin study of traditional Chinese herbs [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23 (12): 914-917.

## 《中草药》杂志被确认为允许刊载处方药广告的第一批医药专业媒体

据国家药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知,《中草药》杂志作为第一批医药专业媒体,允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电话:(022)27474913 23006821 传真:23006821 联系人:陈常青