

2.6 喜果苷晶体的制备:喜果苷的收集液经旋蒸浓缩至析出少量固体,放置冷却析出大量针状晶体,滤过。针晶用50%乙醇溶液超声溶解,滤过,滤液旋蒸浓缩,多次重结晶后,晶体由淡黄色变为无色。最后将无色针晶晾干,50℃真空抽干至恒重。收率为0.03%,质量分数达99%。

3 讨论

ME-1树脂可有效除去喜树果提取液中的杂质,使喜果苷的质量分数由1.524%提高至21.52%,再经ME-3树脂吸附,喜树碱及其类似物也被有效去除,喜果苷的质量百分数可进一步提高到60%左右,最后经重结晶得到喜果苷晶体。此法提取工艺简单,收率较高(90%以上),利于工业化生产。

References:

- [1] Wall M E, Wani M C, Cook C E, *et al.* The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukethia and tuthor inhibitor from *Camptotheca acuminata*, [J]. *J. Am Chem Soc*, 1966, 88 (16): 3888-3889.
- [2] Lin L Z, Song C Q, Xu R S. The isolation and identification of 11-hydroxy camptothecin [J]. *Acta Chem Sin* (化学学报), 1982, 40 (1): 85-88.
- [3] Lin L Z, Zhao Z Y, Xu R S. The chemical constituents in root of *Camptotheca acuminata* [J]. *Acta Chem Sin* (化学学报), 1977, 35 (3,4): 227-230.
- [4] Feng J C, Zhang S H, Tan Y D, *et al.* The development in research on campto- theca acuminata and utilization of camptothecin [J]. *Sci Silvae Sin* (林业科学), 2000, 36 (5): 100-108.
- [5] Wang R F, Shi Z Q, Shi R F. Chromatographic separation of camptothecine and vincoside-lactam with macroporous hypercrosslinked resins [J]. *Ion Exchange Adsorp* (离子交换与吸附), 2002, 18 (5): 412-418.

高速逆流色谱分离茶叶中咖啡因和茶碱

陆向红¹, 王定海¹, 计建炳¹, 任其龙², 吴平东²

(1. 浙江工业大学化学工程与材料学院, 浙江 杭州 310014; 2. 浙江大学材料与化学工程学院, 浙江 杭州 310027)

高速逆流色谱(high-speed countercurrent chromatography, HSCCC)是利用多层螺旋管行星式运动形成的特殊离心力场来实现两溶剂相在管柱里的单向性流体动力学分布状态,以使流动相在高速穿过管柱时保证固定相在管柱里达到较高的保留值,同时促进了两相间的充分混合和逆流传递。这种分离体系对不同物理性质的广泛溶剂系统具有较强的适应性,能够采用多样的体系条件和操作方式,因此逆流色谱在稀有金属、天然药物以及蛋白质的分离、纯化等很多方面有广泛的应用^[1~3]。本实验采用HSCCC对茶叶中咖啡因和茶碱实现分离,同时考察相关因素的影响。

1 仪器与材料

N型同步行星式高速逆流色谱仪,浙江大学二次资源国家专业实验室自制,色谱柱采用多层内径为2 mm的聚四氟乙烯螺旋管,色谱柱容量为270 mL,仪器的半径为10 cm, $\beta=0.5\sim1.5$,仪器的转速为0~1 500 r/min。HPUV—8452型紫外分光光度计,高压平流计量泵(杭州前进石油机械厂)。

咖啡因和茶碱均为生化级别,购自于Sigma公司;氯仿为分析纯,水由NANO pure ultrapure water system (Barmsteas USA)制备。

2 方法与结果

2.1 标准曲线制备:各称取20 mg咖啡因和茶碱对照品,分别用水溶解并转移到2个100 mL量瓶中,加水至刻度。分别稀释成10、15、20、25、30、45、50、60、80、90、100、120、160、180、200 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,在254 nm下测定吸光度。以质量浓度(C)对吸光度(A)作图,得到咖啡因和茶碱的标准曲线,通过最小二乘法关联实验数据,得到咖啡因和茶碱的标准曲线方程。咖啡因: $C=54.44 A, R^2=0.9993$ 。茶碱: $C=45.07 A, R^2=0.9990$ 。

2.2 溶剂系统的配制:将等体积的氯仿和水在分液漏斗中剧烈振荡摇匀,使两相达到平衡,静置分层,下相(氯仿相)为流动相,上相(水相)为固定相。

2.3 样品溶液的配制:准确称取咖啡因和茶碱对照品各100 mg,并用等体积的上下两相溶解,配制成50 mg/mL的混合溶液。

2.4 逆流色谱分离咖啡因和茶碱的操作:用计量泵将固定相注满螺旋管后开启直流电机,并调至某一转速,以一定流量从首端泵入流动相,在色谱柱尾端用量筒接受流出的固定相;待色谱柱尾端不再有固定相流出时,表明系统已稳定,量出流出的固定相体积,计算在此条件下的固定相保留率;进样0.7 mL,

记录时间并以一定的时间间隔收集流出液,并采用紫外分光光度计测定 254 nm 处的吸光度;待分离过程结束,关闭输液泵及电机,用氮气将柱子中的残留物推出,然后用甲醇冲洗色谱柱。

2.5 洗脱曲线的制备:通过咖啡因和茶碱的标准曲线,计算 HSCCC 分离后流出液中咖啡因和茶碱的质量浓度,并对时间作图,得到不同条件下 HSCCC 的洗脱曲线,见图 1、2。

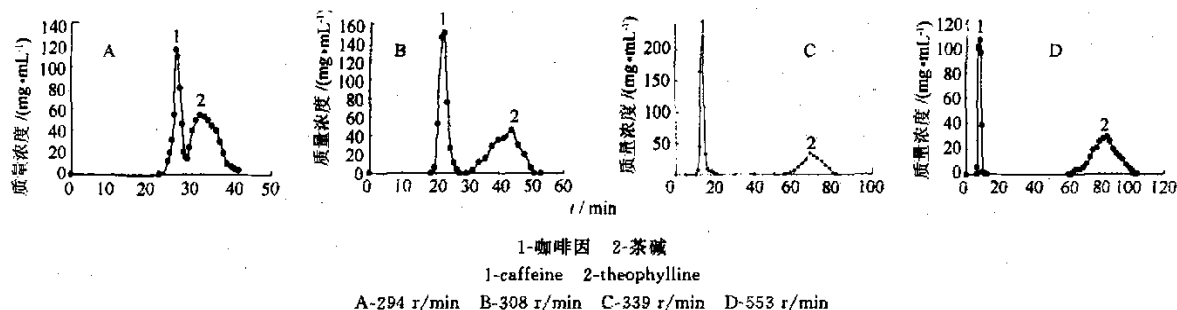


Fig. 1 Effect of revolution speed on elution of caffeine and theophylline by HSCCC

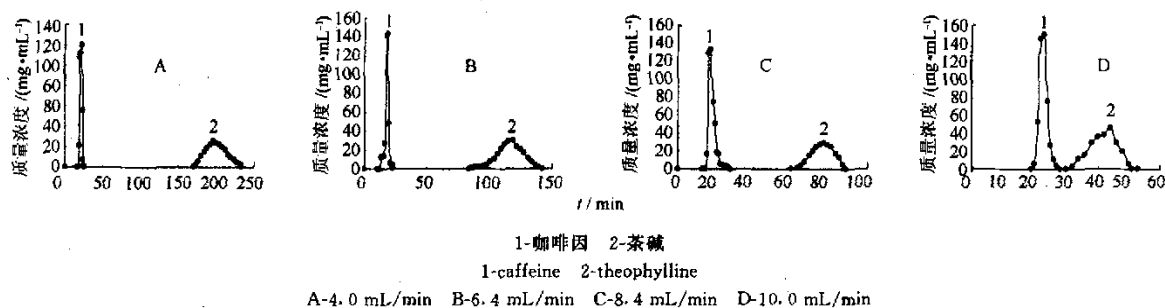


Fig. 2 Effect of flow rate on elution of caffeine and theophylline by HSCCC

结果显示,在流量为 10.0 mL/min 时,随着转速的增加,咖啡因和茶碱的分离情况逐渐好转。在转速为 294 r/min 时,咖啡因和茶碱两峰部分重叠,转速增加至 308 r/min 时,咖啡因和茶碱两峰刚好达到基线分离,而转速达到 339 和 553 r/min 时,咖啡因和茶碱的分离程度进一步提高。在转速为 308 r/min 时,在实验的流量范围内,咖啡因和茶碱均能达到基线分离。

2.6 逆流色谱分离茶叶水提取物中的咖啡因和茶碱:称取 50.0 g 茶叶,加 1000 mL 去离子水,80 ℃ 下浸泡 5 h,滤过,滤液浓缩至约 5 mL,进样,并使其在氯仿-水(1:1)(上相为固定相),流量为 10 mL/min,转速 339 r/min 条件下运行,收集馏份,稀释后测定吸光度(A),以 A 对时间作图,见图 3。分别收集 10~22 min 馏份和 55~84 min 馏份,并采用 HPLC 分析。结果显示,HSCCC 可以直接用于分离茶叶水提取物中的咖啡因和茶碱,咖啡因在收集到的 10~22 min 馏份中,并且此馏份基本不含茶碱。茶碱在收集到的 55~84 min 馏份中,此馏份也基本不含咖啡因。

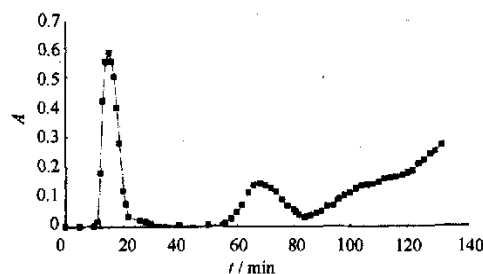


Fig. 3 Elution curve of water extract solution of tea isolated by HSCCC

2.7 分离条件的优化:一个好的分离条件,不仅要考虑有好的分离度,还要考虑完成一个分离所需的时间和所耗费的溶剂。为了对分离条件进行优化,实验综合考虑转速、流量对分辨率、洗脱体积、洗脱时间的影响。计算方法分别见式(1)、式(2)。

$$V_R = t_R \times F \quad (1) \quad R_s = \frac{2(V_{R2} - V_{R1})}{W_{b1} + W_{b2}} \quad (2)$$

式中 V_R (V_{R1} 、 V_{R2}) 表示咖啡因和茶碱的保留体积; t_R 表示咖啡因和茶碱的保留时间; W_{b1} 、 W_{b2} 表示咖啡因和茶碱两色谱峰的峰宽; F 表示流量; R_s 表示咖啡因和茶碱两峰的分辨率

在 10 mL/min 流量下,转速对分辨率、洗脱体积的影响见图 4。在 308 r/min 的转速下,流量对分辨率、洗脱体积的影响见图 5。结果表明,在 10 mL/min 流量下在实验的转速范围内,随着转速的增加,洗脱体积增加,分辨率先增加后下降,转速为 339 r/min 时,分辨率达到最大;在实验流量范围内,随着流量的增加,分辨率下降,茶碱的洗脱体积降低,在流量为 10.0 mL/min 时,既能保证咖啡因和茶碱的基线分离,又能使完成分离所需的溶剂用量最小,此时完成分离所需的时间也最短。

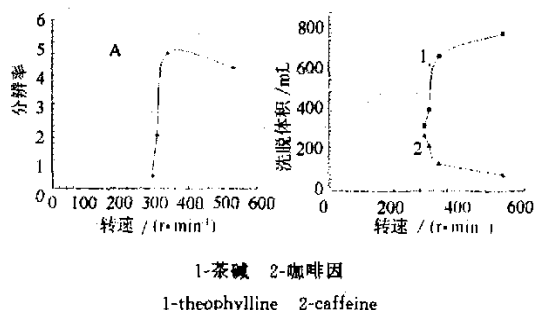


图 4 转速对咖啡因与茶碱分辨率(A)和洗脱体积(B)的影响

Fig. 4 Effects of revolution speed on resolution (A) and elution volume (B) of caffeine and theophylline

综合以上,选择氯仿-水(1:1),流量 10 mL/min,转速 339 r/min 作为分离咖啡因、茶碱的色谱条件。另外在此选定的色谱条件下,高速逆流色谱仪对咖啡因和茶碱的分离有很强的分离能力,从色谱图上咖啡因和茶碱的分离情况看,进样量还可以大

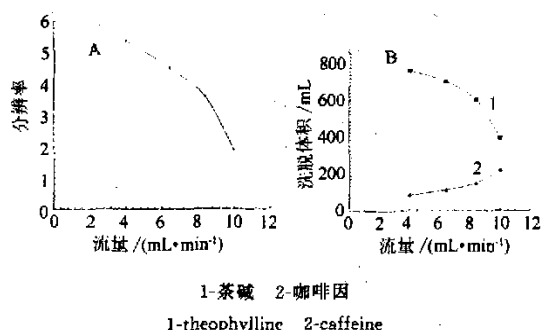


图 5 流量对咖啡因与茶碱分辨率(A)和洗脱体积(B)的影响

Fig. 5 Effect of flow rate on resolution (A) and elution volume (B) of theophylline and caffeine

大提高,这是其他色谱所不能及的。

3 讨论

高速逆流色谱作为新型的分离技术,对天然产物有效成分的分离具有很大的优势,它具有处理量大、适应性强、产品损失小等优点。

References:

- [1] Pukhovskaya V M, Maryutina T A, Grebneva O N, et al. Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopic determination of rare earth elements in geological samples after preconcentration by countercurrent chromatography [J]. *Spectrochim Acta (Part B)*, 1993 48 B (11): 1365-1370.
- [2] Hitoshi A, Shigekazu U, Shoichi T. Characteristics of centrifugal partition chromatography for Lanthanoid separation in Hdehp extraction system [J]. *J Liq Chromatogr*, 17 (8): 1821-1835.
- [3] Lee S S. Application of centrifugal partition chromatography to the separation of Lauraceous alkaloids [J]. *J Chromatogr A*, 1994, 667 (1-2): 332-326.

安宫胶囊的成型工艺研究

刘艳菊,李水清

(湖北中医学院,湖北 武汉 430061)

安宫胶囊由益母草、香附等中药组成。益母草活血调经、利尿消肿,香附能行气解郁、调经止痛。该处方是临床使用多年的经验方,具活血化瘀、调经止痛的作用,疗效确切可靠。通过对该方药物提取制得干浸膏和挥发油的包合物,制得安宫胶囊原料药。为了制备出质量稳定,满足大生产需要的制剂,对其成型工艺作了进一步研究。笔者根据临床给药量,以吸湿

率、休止角为指标筛选不同辅料,并对其流动性和临界相对湿度进行进一步评价。

1 仪器与材料

SHH-150 恒温恒湿培养箱(重庆华茂仪器有限公司),分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。安宫胶囊原料由湖北中医学院制剂实验室制备,各辅料均符合药用标准。