

品,甲醇清洗后即可。硅胶柱色谱分离得到的莫诺苷粗品含有多种杂质,很难结晶且纯度达不到对照品的要求,故进一步进行制备高效液相色谱分离纯化。

3.3 曾将硅胶柱色谱后得到的莫诺苷粗品进行薄层色谱制备,未能得到莫诺苷结晶且纯度不够;制备高效液相色谱分离后经冷冻干燥得到质量分数达 99% 的莫诺苷白色的结晶。

致谢:华北制药集团新药中心牛长群老师帮助测定质谱和核磁共振谱。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Wang T S, Pan Y, Yin F, et al. Effect of loganin and synephrine on rabbit model with severe hemorrhagic shock [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 1999, 15 (6): 345-346.
- [3] Guo L L, Zhou Y, Wang X D, et al. Effect of the extract of

the fruit of *Cornus officinalis* on rat splenic lymphocytic proliferation [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2001, 24 (3): 38-40.

- [4] Recio M C, Giner R M, Manez S, et al. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents [J]. *Planta Med*, 1994, 60 (3): 232-234.
- [5] Xu H Q, Hao H P, Zhang X, et al. Morroniside protects cultured human umbilical vein endothelial cells from damage by high ambient glucose [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25 (4): 412-415.
- [6] Pi W X, Cai B C, Pan Y, et al. Study on enrichment process of *Cornus officinalis* glycosides with macroporous resin and active carbon [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (8): 583-584.
- [7] Xu L Z, Li H Y, Tian L, et al. Studies on the chemical constituents of common *Macrocarpum* (*Cornus officinalis*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26 (2): 62-65.
- [8] Han S Y, Pan Y, Ding G, et al. Application of ^1H -NMR and ^{13}C -NMR on structure identification of iridoids from *Fructus Corni* [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中医学刊), 2004, 22 (1): 56-59.

大孔树脂吸附法富集野菊花总黄酮的工艺研究

盛 萍¹, 帕丽达·阿不力孜², 刘 波¹, 刘宏炳¹

(1. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830054; 2. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830054)

摘要:目的 研究大孔树脂吸附法富集野菊花总黄酮的工艺条件及参数。方法 以野菊花总黄酮为考察指标, 考察大孔树脂富集野菊花总黄酮的最佳工艺条件。结果 野菊花提取液(50 mg 生药/mL) 5 mL 上大孔树脂柱(150 mm×10 mm), 吸附 30 min 后, 先用 100 mL 蒸馏水洗脱除去杂质, 然后用 70% 乙醇 100 mL 洗脱, 洗脱速度为 2 mg/mL, 洗脱剂用量为 9 倍量树脂, 树脂可重复使用 3 次, 采用此条件为最佳工艺。结论 AB-8 型大孔树脂在所确定的工艺条件下, 可较好的吸附分离野菊花总黄酮。其 70% 乙醇洗脱物中总黄酮质量分数达 4.34% 以上, 总黄酮收率为 84.47% 以上。采用此法可以较好的富集野菊花中的有效成分。

关键词:野菊花; 总黄酮; 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(2006)08-1170-04

Enrichment processing of total flavone of *Chrysanthemum indicum* with macroporous adsorption resin

SHENG Ping¹, PA Li-da · A Bu-Lizi², LIU Bo¹, LIU Hong-bing¹

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China;

2. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

Key words: *Chrysanthemum indicum* L.; total flavone; macroporous adsorption resin

野菊花为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序, 具有疏风清热、消肿解毒的功效^[1]。现代药理研究表明野菊花总黄酮是其降压、抗菌、抗病毒的主要有效成分^[2]。大孔吸附树脂是一种具有多孔立体结构人工合成的聚合物吸附剂, 是在离子交换剂和其他吸附剂的应用基础上发展起来的一类新型树脂, 是依靠它和被吸附分子

之间的范德华力, 通过它巨大的比表面积进行吸附而工作的。合成吸附剂有大的比表面积和类似活性炭颗粒的内细孔结构, 这些多孔特性使之从水溶液中有效地吸附有机化合物, 且具有选择性吸附有机化合物的能力, 可用于皂苷、黄酮、蒽醌、生物碱、水溶性酚性成分等的富集, 其吸附性能、吸附条件参数因化合物的理化性质不同而不同^[3]。本实验采用该

技术,以野菊花中主要成分总黄酮为评价指标,对 6 种树脂进行了筛选并着重考察了 AB-8 型大孔吸附树脂富集野菊花有效成分的工艺条件与参数,旨在为新药的研制开发中利用该技术制备野菊花总黄酮提供帮助,也为该技术的规范应用积累资料。

1 仪器、材料和试剂

Spectrumlab 54 紫外分光光度计(上海市棱光有限公司);KQ—400DB 型数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);电子天平(Sartorius 德国产);DZF—6021 型真空干燥箱(上海精密实验设备有限公司);DRT—SX 型恒温电热套(郑州长城科工贸有限公司);RE—52 旋转式蒸发器(上海安亭电子仪器厂)。

芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0080-9705),野菊花(购于新疆参茸药业有限公司),AB-8、X-5 型大孔吸附树脂(天津市光复精细化工研究所),HPD-100、HPD-400、HPD-450 树脂(河北沧州宝恩化工有限公司),HP-20 树脂(日本三菱公司)。所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 野菊花总黄酮的测定^[4]

2.1.1 对照品溶液的制备:精密称取在 120℃减压干燥至恒重的芦丁对照品 10 mL,置 50 mL 量瓶中,加蒸馏水少许,置水浴上微热使溶解,放冷,加蒸馏水至刻度,摇匀即得(每 1 mL 中含芦丁 0.2 mg)。

2.1.2 标准曲线的制备:精密量取芦丁对照品 0、1、2、3、4、5、6 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各加水至 6 mL,加 5%亚硝酸钠溶液 1 mL,使混匀,放置 6 min,加 10%硝酸铝溶液 1 mL,混匀,放置 6 min,加氢氧化钠溶液 10 mL,再加水至刻度,混匀,放置 15 min,在 512 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标绘制标准曲线,标准曲线方程为 $A=18.375 C+0.0493$, $r=0.9999$ 。

2.1.3 供试品溶液制备和总黄酮测定:野菊花药材 50 g,加 10 倍量 75%乙醇回流提取 2 次,每次 30 min,滤过,合并滤液,回收乙醇至无醇味,离心,取上清液,加蒸馏水定容至 1 000 mL (50 mg 生药/mL)作为样品液。从中吸取 5 mL 定容于 50 mL 量瓶中,从中精密吸取 5 mL,照标准曲线项下方法“加水至 6 mL……”依法测定吸光度,测得野菊花总黄酮的质量分数为 5.138%,RSD 为 1.7% ($n=5$)。

2.2 大孔吸附树脂的预处理:以乙醇湿法装柱。用 95%乙醇在柱上流动清洗,不时检出流出液至乙醇液与水混合(1:5)不呈白色混浊为止,然后以大量

蒸馏水洗去乙醇至无醇味。

2.3 树脂的筛选:精密吸取 4 mL 野菊花液分别通过 6 种不同型号的已预处理好的树脂柱,静置 30 min,依次用蒸馏水、70%乙醇洗脱,收集 70%乙醇洗脱液,蒸干,用甲醇定容于 50 mL 量瓶中,从中精密吸取 5 mL,照标准曲线项下方法“加水至 6 mL……”依法测定吸光度,测定野菊花总黄酮,与原液的测定结果比较,计算总黄酮回收率(总黄酮回收率=过柱后野菊花总黄酮质量/过柱前野菊花总黄酮质量 $\times 100\%$),结果见表 1。可见,在筛选的 6 种树脂中,用 AB-8 树脂纯化分离野菊花总黄酮,乙醇洗脱物中总黄酮和总黄酮回收率均最高,故确定 AB-8 树脂为分离纯化野菊花总黄酮的最佳树脂。

表 1 不同树脂对总黄酮的影响

Table 1 Effect of various resins on total flavone

树脂型号	总黄酮/%	总黄酮回收率/%
AB-8	4.35	84.66
X-5	2.23	43.40
HPD-100	3.10	60.33
HPD-400	2.12	41.26
HPD-450	2.61	50.79
HP-20	2.98	57.99

2.4 考察 AB-8 树脂纯化分离野菊花总黄酮的工艺参数

2.4.1 洗脱剂的确定:精密吸取 4 mL 野菊花供试品溶液分别通过 4 根 AB-8 树脂柱(150 mm $\times$ 10 mm),4 根树脂柱分别用水洗脱至洗脱液近无色,再分别用 30%、50%、70%、90%乙醇洗脱,分别回收乙醇,蒸干,用甲醇定容于 50 mL 量瓶中,从中精密吸取 5 mL,照标准曲线项下方法“加水至 6 mL……”依法测定吸光度,测定野菊花总黄酮,与原液的测定结果比较,计算总黄酮回收率,结果见表 2。结果显示,70%乙醇洗脱液中总黄酮和回收率均最高,且洗脱剂用量最小,故确定 70%乙醇液为最佳洗脱剂。

表 2 洗脱剂体积分数对总黄酮的影响

Table 2 Effect of eluent concentration on total flavone

洗脱剂	洗脱剂用量/mL	总黄酮/%	总黄酮回收率/%
30%乙醇	200	3.13	60.92
50%乙醇	150	3.36	65.39
70%乙醇	100	4.34	84.47
90%乙醇	120	3.98	77.46

2.4.2 最佳上柱量的确定:分别吸取野菊花供试品溶液 4、5、10、15、20、25 mL,上柱且静置 20 min,依次用蒸馏水 100 mL,70%乙醇 100 mL 洗脱,蒸干,甲醇定容于 50 mL 量瓶中,测定总黄酮,计算总黄酮回收率,结果见表 3。结果显示,5 mL 上柱量与其

表 3 不同上柱量对总黄酮的影响

Table 3 Effect of various adsorption capacities on total flavone

上柱量/ mL	总黄酮/ %	总黄酮回 收率/%	上柱量/ mL	总黄酮/ %	总黄酮回 收率/%
4	4.34	88.57	15	3.79	77.35
5	4.79	97.76	20	3.16	64.49
10	3.97	81.02	25	2.50	51.02

他各上柱量通过树脂后,70%乙醇洗脱液中总黄酮无显著差异,这说明 5 mL 上柱量为饱和上柱量,超过 5 mL 即超过了树脂的吸附容量,且 5 mL 上柱量过柱后野菊花总黄酮量与 5 mL 样品原液中总黄酮量接近,故 5 mL 为最佳上柱量。

2.4.3 洗脱速度的确定:分别吸取野菊花供试品溶液 5 mL 上 3 根树脂柱,以 70%乙醇洗脱,分别以 1、2、3 mL/min 的速度洗脱,测定其总黄酮,计算总黄酮回收率,结果见表 4。可见,洗脱流速 2 mL/min 时,洗脱剂的用量最少,总黄酮与回收率均最大,故确定洗脱流速为 2 mL/min。

表 4 不同洗脱流速的比较

Table 4 Comparison of various current velocities

洗脱速度/(mL·min ⁻¹)	洗脱剂用量/mL	总黄酮/%	总黄酮回收率/%
1	200	3.14	64.08
2	100	4.41	90.00
3	150	4.16	84.92

2.4.4 最佳吸附时间的确定:分别吸取 5 mL 供试品溶液 4 份,通过 4 根树脂柱,分别静置 5、15、30、60 min,依次用蒸馏水、70%乙醇洗脱,收集 70%乙醇洗脱液,测定总黄酮,计算总黄酮回收率,结果见表 5。可见,静置 30 min 后总黄酮与其回收率均最高,时间过长或过短均偏低,这可能与时间过长解吸困难,时间过短吸附不完全有关。故确定最佳吸附时间为 30 min。

表 5 不同吸附时间的比较

Table 5 Comparison of various adsorption times

吸附时间/min	总黄酮/%	总黄酮回收率/%
5	4.02	82.04
15	4.13	84.29
30	4.82	98.37
60	4.16	84.90

2.4.5 洗脱曲线的考察:按上述确定的吸附洗脱条件,取野菊花供试品溶液 5 mL 进行上柱,分段收集洗脱液,每个树脂体积(湿体积)收集 1 份,共收集 18 份,分别测定吸光度,计算总黄酮,结果见表 6。可见,第 10 份洗脱液中总黄酮已经很少,可认为树脂柱上吸附的总黄酮已经洗脱完全,故确定洗脱剂用量为 9 倍量树脂体积。

表 6 不同流份中总黄酮的比较

Table 6 Comparison of total flavone in various flowing capacities

流份(序号)	总黄酮/%	流份(序号)	总黄酮/%
1	0.403	10	0.093
2	1.216	11	0.064
3	0.862	12	0.036
4	0.676	13	0.028
5	0.422	14	—
6	0.325	15	—
7	0.238	16	—
8	0.163	17	—
9	0.138	18	—

2.4.6 树脂重复使用次数考察:按上述确定的吸附洗脱条件,取野菊花供试品溶液过柱,在同一根树脂柱上重复操作 5 次,分别计算 5 次的总黄酮与其回收率,结果见表 7。可见,树脂重复使用 3 次后,对黄酮的吸附量已经明显下降,需要再生才可以继续使用,故树脂可重复使用 3 次。

表 7 树脂重复过柱对总黄酮的影响

Table 7 Effect of resin repeated adsorptions on total flavone

次数	总黄酮/%	总黄酮回收率/%
1	4.81	98.16
2	4.16	84.90
3	3.14	64.08
4	1.39	28.37
5	0.25	5.10

3 讨论

3.1 本实验证实了 AB-8 型大孔吸附树脂富集总黄酮不仅具有吸附快、解吸率高等特点,而且具有吸附容量较大,洗脱率高,树脂再生简单等优点,在野菊花富集总黄酮工艺中具有一定的推广应用价值。

3.2 AB-8 型树脂对野菊花总黄酮有良好的吸附性能,其工艺条件为野菊花提取液上样质量浓度为 50 mg/mL,洗脱剂为 70%乙醇,洗脱剂用量为 9 倍量树脂体积,洗脱速度为 2 mL/min,树脂可重复使用 3 次。在此条件下,用 AB-8 树脂吸附分离总黄酮,乙醇洗脱物中野菊花总黄酮质量分数达 4.34% 以上,总黄酮回收率达 84.47% 以上。

3.3 大孔吸附树脂技术虽在工业化进程中还存在一些实际应用问题^[5,6],比其他天然吸附剂具有不可替代的优点,尤其是其孔径和孔度的大小,比表面积、极性等性能都可以人为控制调节,供任意选择,因此在中药、中成药制剂研究中已日趋成熟,应用前景广泛。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dectionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1979.
- [2] Beijing Chrysanthemum Cooperates Group. The preparation clinical observation of *Chrysanthemum* encloses 430 cases of curative effect analysis [J]. *Bull Chin Mater Med* (中药通报), 1983, 8 (4): 39-40.
- [3] Liu Z Q, Lai X P, Wu Y H, et al. Study on enrichment process of Baohe Pills with macroporous resin [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23 (8): 550-552.
- [4] Lin C R. The determination of flavonoid content of flowers of *Chrysanthemum indicum* [J]. *Guihaia* (广西植物), 2002, 22 (5): 467-468.
- [5] Li B T, Wang X, Li X J. The application of separation of natural product by macroporous resin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1990, 21 (8): 42-44.
- [6] Hou S X, Tian H K. The application of separation and purification process of compound in TCM by macroporous adsorption resin [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2000, 11 (3): 131-133.

党参颗粒的质量标准研究

李 松, 隆 龙

(江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214434)

党参颗粒为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根制成, 具有补中益气、健脾益肺的功效, 用于脾肺虚弱、气短心悸、食少便溏、虚喘咳嗽、内热消渴等症, 是临床常用的补益药^[1]。党参中主要有多糖、聚乙炔醇、甾醇类、三萜类、苯丙素苷类、生物碱、内酯类、酚酸、黄酮等多种化学成分^[2]。现代药理研究表明党参有免疫增强作用, 同时具有一定的双向调节作用, 对胃黏膜损伤具有保护作用, 对记忆障碍有改善作用, 具有对心血管和血液系统的作用、抗衰老作用、抗应激作用等。《中国药典》2005 年版一部“党参”项下仅有薄层鉴别, 缺少对党参质量的有效控制指标。为控制党参颗粒的质量, 保证产品均一稳定, 本实验以党参炔苷为指标成分对党参颗粒进行定性和定量测定^[3], 结果满意, 可作为产品的质量控制方法。

1 仪器与试剂

Waters 600E 高效液相色谱仪, Waters 2487 双通道紫外检测器(美国 Waters 公司); JS-3030 色谱工作站(大连江申分离科学技术有限公司); 超声清洗机(无锡超声电子设备厂); REPROSTAR3 薄层成像系统(CAMAG)。

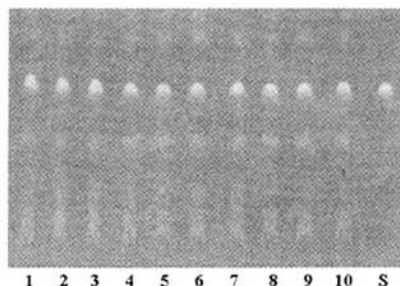
党参炔苷对照品(自制, 经高效液相色谱分析, 质量分数 $\geq 98\%$)。硅胶 G(青岛海洋化工厂, 薄层色谱用); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。党参颗粒由江阴天江药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱定性鉴别: 取本品约 1 g, 加甲醇 25

mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 2 mL 使溶解, 置 C_{18} 固相萃取小柱(500 mg, 用甲醇、50% 甲醇、20% 甲醇各 10 mL 预洗)中, 先用 20% 甲醇洗脱、再用 50% 甲醇各 5 mL 洗脱, 收集 50% 甲醇洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取党参炔苷对照品适量, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。按照《中国药典》2005 年版一部附录 VI B 薄层色谱法试验, 吸取供试品溶液 10 μ L、对照品溶液 2 μ L, 分别点于同一硅胶 HF_{254} 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(16:5:0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 加热 5 min, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。见图 1。

2.2 定量测定



1~10-为党参颗粒 S-为党参炔苷
1—10-Dangshen Granule S-lobetyolin

图 1 党参颗粒的 TLC 图谱

Fig. 1 TLC Chromatogram of Dangshen Granule

收稿日期: 2005-11-05

基金项目: 国家“十五”重大科技专项“创新药物和中药现代化”(2001BA701A41)

作者简介: 李 松(1969—), 男, 江苏人, 工程师, 主要从事中药质量标准研究。Tel: (0510) 86408091 E-mail: lis@tianjiang.com