

图 6 解吸时间对解吸效果的影响

Fig. 6 Effects of eluting times on desorption

以吸附流速为 0.5 mL/min 上样, 吸附 60 min 后, 先用水洗脱, 再用体积质量比为树脂量 8 倍的 60% 乙醇解吸 40 min, 收集洗脱液, 干燥, 即为总黄酮,

质量分数为 88%, 洗脱率 91%。

3 结论

H-103 型大孔树脂对菟丝子黄酮具有较强的吸附能力, 经该树脂吸附, 乙醇洗脱, 可将粗提物黄酮的含量提高到 88%, 洗脱率高于 90%, 具有工艺简单, 耗费有机溶剂少, 成本低等特点, 验证结果表明, 利用 H-103 型大孔树脂富集菟丝子黄酮, 方法操作简便, 可行, 为菟丝子黄酮类物质的分离和鉴定提供了基础。

Reference:

- [1] Chen L L, Wu C, Jiang Y Q. Studies on extracting procedure of total flavonoids from *Semen Cuscutae* [J]. *J Harbin Univ Commer* (哈尔滨商业大学学报), 2004, 20(6): 644-647.

大孔吸附树脂纯化秦艽中龙胆苦苷

蔺建新^{1,2}, 李茂星^{2*}, 张汝学², 贾正平², 高德玉¹, 许永全¹

(1. 武威市凉州医院, 甘肃 武威 733000; 2. 兰州军区总医院 药材科, 甘肃 兰州 730050)

秦艽是龙胆科龙胆属草本植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.、麻花秦艽 *G. straminea* Maxim.、粗茎秦艽 *G. crassicaulis* Duthie ex Burk. 或小秦艽 *G. dahurica* Fisch. 的干燥根, 主产甘肃、青海等地, 为重要传统中药, 具有祛风湿、止痛痹、清湿热的功效。秦艽中的化学成分, 早期研究认为主要含生物碱类成分, 但近年的化学分析结果表明, 秦艽中含有大量龙胆苦苷 (gentiopicroside) 等裂环烯醚萜苷, 为其苦味成分^[1]。大孔吸附树脂是近年来发展起来的一类有机高聚物吸附剂, 其具有较好的吸附性能, 吸附作用同表面吸附、表面电性或形成氢键等有关。本实验以秦艽中的主要成分龙胆苦苷和总固物为指标, 考察了 HPD-100 大孔吸附树脂富集纯化秦艽中龙胆苦苷的工艺。

1 仪器与材料

LC-6A 高效液相色谱仪 (日本岛津), SPD-6A 紫外检测器 (日本岛津), ANASTAS 色谱工作站 (天津); HPD-100 型大孔吸附树脂 (河北沧州宝恩化工有限公司); 龙胆苦苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110770-200308); 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 乙醇为药用级。秦艽购自兰州市黄河

中药市场, 经兰州医学院赵汝能教授鉴定为秦艽 *G. macrophylla* Pall. 的干燥根。

2 方法和结果

2.1 龙胆苦苷的测定^[2]: 取秦艽提取液及上柱后各部分的干燥物适量, 用乙醇超声溶解并定容至 25 mL, 作为供试品溶液。再取龙胆苦苷对照品适量, 精密称定, 加乙醇使成 0.5 mg/mL 溶液, 作为对照品溶液。采用高效液相色谱法进行测定。色谱柱: C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (3:7); 检测波长: 270 nm; 柱温: 25 °C; 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 20 μL。

2.2 大孔树脂的处理: 取 HPD-100 型大孔吸附树脂适量, 丙酮加热回流洗脱, 洗脱至洗脱液蒸干后无残留物。以乙醇湿法装柱, 继续用乙醇冲柱, 不时检查流出液, 至与水混合不呈白色浑浊为止。然后以大量的蒸馏水洗去乙醇, 备用。

2.3 工艺参数考察

2.3.1 秦艽药材的提取: 取秦艽药材 50 g, 粉碎成粗粉, 用 8~10 倍量 70% 乙醇加热回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 提取液滤过, 合并滤液, 低温减压回收乙醇用蒸馏水定容至 1 000 mL, 备用 (含生药 0.05 g/mL)。

收稿日期: 2006-03-13

作者简介: 蔺建新 (1978—), 男, 甘肃武威人, 药师主要研究方向为中药新药研究与开发。 Tel: (0935) 2232946

* 通讯作者 李茂星 Tel: (0931) 8975884

2.3.2 饱和和吸附量的测定:量取样品溶液 45 mL 上样于 10 g 已处理好的 HPD-100 型大孔吸附树脂柱(装于 50 mL 玻璃注射针管中),用蒸馏水冲洗至流出液中检测不出龙胆苦苷为止(薄层色谱法在流出液中检测出龙胆苦苷)。再用 30%乙醇冲洗,收集 30%乙醇洗脱部,浓缩蒸干,用甲醇定容至 10 mL,测定其龙胆苦苷,计算得大孔树脂的动态饱和吸附量为 18.22 mg/g。

2.3.3 洗脱溶媒的选择:取 120 mL 样品溶液加到 30 g 已处理好的 HPD-100 型大孔吸附树脂柱上(装于 50 mL 玻璃注射针管中),蒸馏水预洗脱后,依次用 10%、30%乙醇各 500 mL 梯度洗脱,分段收集,每 50 mL 为一流份,HPLC 法检测龙胆苦苷,洗脱曲线见图 1。结果显示 10%、30%乙醇溶液均能洗脱龙胆苦苷,但 10%乙醇溶液的洗脱能力有限,不能使龙胆苦苷完全解吸,30%乙醇溶液则能使龙胆苦苷等快速解吸,且洗脱容积小。故解吸洗脱溶媒定为 30%乙醇溶液。

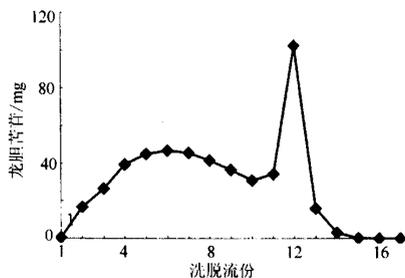


图 1 洗脱溶媒的选择

Fig. 1 Selection of eluting solvent

2.3.4 30%乙醇洗脱量的确定:取样品 100 mL 上样于 25 g 已处理好的 HPD-100 型大孔吸附树脂柱上,静置 30 min 后,先用蒸馏水洗脱至无色,再用 30%乙醇共 400 mL 依次洗脱,每 50 mL 为 1 流份,HPLC 法检测龙胆苦苷,见图 2。结果显示至第 6 份洗脱液中龙胆苦苷几乎为零,说明用 250 mL 30%乙醇已将龙胆苦苷洗脱完全,故计算后确定其洗脱溶媒体积为上样体积的 2.5 倍。

2.3.5 富集程度考察:取 100 mL 秦艽提取液,按上述条件上柱洗脱,收集 30%乙醇洗脱液,减压回收乙醇,干燥至恒重。另取 100 mL 秦艽提取液亦减压干燥至恒重,分别测定总固物,并测定上柱前后总固物中龙胆苦苷,结果见表 1。结果显示,以 HPD-100 型大孔吸附树脂柱前后的总固物和龙胆苦苷为指标,大孔吸附树脂法可以有效的去除杂质,使龙胆苦苷大幅度提高,而且龙胆苦苷的保留率达到 90%

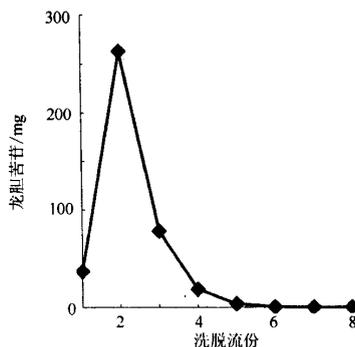


图 2 洗脱量的选择

Fig. 2 Selection of eluting volume

表 1 大孔树脂对龙胆苦苷的富集

Table 1 Enrichment of gentiopicrosin with macroporous resin

项目	总固物/g	龙胆苦苷量/mg	龙胆苦苷/%
上柱前	1.36	441.2	32.44
上柱后	0.45	401.7	89.33
水洗脱物	0.90	0	0

以上,说明 HPD-100 型大孔吸附树脂可用于秦艽中龙胆苦苷类的富集。

2.3.6 大孔树脂的重复利用:量取 30 mL 秦艽提取液上样于 10 g 已处理好的 HPD-100 型大孔树脂柱上,依次用蒸馏水、30%乙醇、95%乙醇洗脱,收集 30%乙醇洗脱部分,蒸干称质量,用甲醇定容至 200 mL,高效液相色谱法测定龙胆苦苷。用蒸馏水冲洗树脂柱至无醇味。依照上述方法重复上样洗脱 8 次,结果见表 2。结果显示,HPD-100 型大孔树脂吸附秦艽中的龙胆苦苷有很好的重复利用性。

表 2 HPD-100 大孔树脂的重复利用

Table 2 Reutilization of HPD-100 macroporous resin

上样次数	龙胆苦苷上样量/mg	龙胆苦苷洗脱量/mg	龙胆苦苷得率/%	总固物中龙胆苦苷量/%
1	132.36	117.75	88.96	87.22
2	132.36	115.86	87.53	85.82
3	132.36	113.75	85.94	84.26
4	132.36	110.48	83.48	81.84
5	132.36	111.89	84.53	82.88
6	132.36	110.21	83.26	81.64
7	132.36	109.79	82.95	81.33
8	132.36	104.80	79.18	77.63

3 讨论

3.1 秦艽为临床常用中药,具有祛风湿,清湿热,止痹痛的功效,主产于甘肃,青海等地,而以甘肃产的秦艽品质较好,为甘肃的道地药材,《中国药典》2005 年版一部规定有效成分龙胆苦苷的质量分数 >2%,本实验所选秦艽中的龙胆苦苷质量分数约为 8.8%,符合《中国药典》的要求。

3.2 秦艽中的有效部位为环烯醚萜苷类成分,其中的主要成分为龙胆苦苷,药理研究表明龙胆苦苷具有一定的抗炎作用,对炎症早期渗出具有一定的抑制作用,且对化学性及免疫性肝损伤具有保护作用^[4],因此,对于这样一种有效部位明确,药理活性明显的中药,对其运用现代化的方法进行分离纯化具有一定的实际意义。

3.3 本实验曾采用 D-101 型大孔吸附树脂进行分离纯化,但采用此种树脂时,与 HPD-100 型大孔吸附树脂相同上样量时,水洗脱液中却检出龙胆苦苷,故认为 D-101 型大孔吸附树脂不适宜分离纯化秦艽中龙胆苦苷。而后又试验了 HPD-600、LSA-5B 型

等其他几种树脂,均未取得好的吸附效果,而采用 HPD-100 型大孔吸附树脂对秦艽中的龙胆苦苷有较好的吸附,且重复利用度高,故确定采用 HPD-100 型大孔吸附树脂。

References:

- [1] Liu Y H, Li Q C, Studies on secoiridoid glycosides of *Gentiana macrophylla* Pall. [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1994, 16(1): 85-87.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [3] Chen C X, Liu Z W, Sun Z R, et al. Studies on anti-inflammatory effect of gentiopicroside [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(9): 814-816.
- [4] Li Y Q, Zhao D H, Pan B R, et al. Effect of gentiopicroside on live injury of rat [J]. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报), 2001, 22(18): 1645-1646.

微粉化对制何首乌中脂溶性和水溶性成分的影响

徐月红¹, 王宁生^{2*}, 陈宝¹, 徐黎¹

(1. 中山大学药学院 药剂室 广东 广州 510080; 2. 广州中医药大学临床药理所, 广东 广州 510405)

制何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 干燥块根的炮制品,具补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨的作用,临床上以 6~12 g 饮片煎服,但制何首乌饮片常为不规则皱缩块片,厚约 1 cm,质坚硬,以常规饮片形式煎煮其有效成分不能充分溶出。制何首乌中主要含脂溶性蒽醌类和水溶性二苯乙烯苷类成分,其中蒽醌类大黄素、大黄素甲醚为制何首乌的主要脂溶性有效成分,以游离和结合型共存于制何首乌中。本研究将制何首乌通过气流粉碎成微粉,研究微粉化对制何首乌脂溶性和水溶性成分的影响,探讨微粉化技术在制何首乌中应用的可行性和必要性。

1 材料、仪器与试剂

制何首乌饮片由广州市药材公司中药饮片厂提供,经何岚博士鉴定为蓼科植物何首乌 *P. multiflorum* Thunb. 的干燥块根炮制品。

DF-15 流水式粉碎机(温岭市大德中药机械有限公司)、QLM-90K 微型流化床对撞式气流磨(浙江省上虞市和力粉体有限公司)、Mastersizer 2000 激光粒度测定仪(Malvern)、SK250LH 超声波

清洗器(上海 Kodos)、Waters1525 高效液相色谱仪、UV2487 检测器、717 自动进样器。

甲醇、乙腈(Tedia, HPLC 级)、大黄素(批号 0756-9908)、大黄素甲醚(批号 0758-9402)、二苯乙烯苷(批号 0844-200003)对照品均由中国药品生物制品检定所提供,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 普通粉和微粉的制备:制何首乌饮片经普通粉碎机粉碎过 40 目筛制得普通粉;以制何首乌普通粉为原料经气流粉碎机粉碎,制得微粉。利用激光粒度分布仪测定普通粉和微粉的粒径分别为 $d_{0.5} = 89.21 \mu\text{m}$, $d_{0.9} = 314.14 \mu\text{m}$ 和 $d_{0.5} = 10.15 \mu\text{m}$, $d_{0.9} = 22.30 \mu\text{m}$ 。

2.2 制何首乌中游离和结合型大黄素、大黄素甲醚的处理^[1]。

2.2.1 制何首乌中游离蒽醌的提取:精密称取制何首乌样品粉末 0.2 g,加入甲醇 25 mL,密闭称质量,超声 30 min,取出,称质量,补足减失质量,取上清液,过 0.45 μm 微孔滤膜,供 HPLC 分析。

2.2.2 制何首乌中结合蒽醌的提取:精密称定样品

收稿日期:2006-03-19

基金项目:广东省人事厅博士后基金(2003816);广东省自然科学基金博士启动(04300311)

作者简介:徐月红(1970—),女,湖北武穴人,副教授,博士,1997 年获得沈阳药科大学药剂学硕士学位,2002 年获上海中医药大学医学博士学位,主要从事药物新剂型新技术研究。

Tel:(020)33023785 Fax:(020)87331160 E-mail:lssxyh@mail.sysn.edu.cn

* 通讯作者 王宁生 Tel:(020)36585532