

曲线,得回归方程 $Y=8\,264.1\,X-31.16$, $r=0.999$ 。结果表明原儿茶酸在 $2.75\sim44.0\,\mu\text{g/mL}$ 与峰面积呈较好的线性关系。

2.8 稳定性试验:精密吸取供试品溶液,分别于 0、1、3、5、12 h 测定原儿茶酸峰面积,结果其 RSD 为 2.07%,表明供试品溶液中原儿茶酸在 12 h 内稳定性良好。

2.9 精密性试验:取同一供试品溶液,重复进样 5 次,测定原儿茶酸峰面积,计算得其 RSD 为 2.42%。

2.10 重现性试验:取批号 050310 的样品,制成 5 份供试品溶液,进样测定,计算原儿茶酸的质量分数,结果原儿茶酸的平均质量分数为 $0.110\,\text{mg/g}$, RSD 为 2.96%。

2.11 回收率试验:精密称取含原儿茶酸 $0.125\,\text{mg/g}$ 的样品约 $1.0\,\text{g}$,共 5 份,分别精密加入原儿茶酸对照品 $0.120\,\text{mg}$,制备供试品溶液,依法测定,每份测定 2 次,计算得平均回收率为 98.62%,RSD 为 2.23%。

2.12 样品测定:取 5 批样品,制备供试品溶液,每批 2 份,精密吸取供试品溶液 $10\,\mu\text{L}$,注入液相色谱仪,测定峰面积,代入回归方程计算 5 批样品中原儿茶酸的质量分数,结果见表 1。

表 1 老鹳草软膏中原儿茶酸的测定结果

Table 1 Determination of protocatechuic acid in Laoguancao Ointment

批 号	原儿茶酸/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
050310	0.110
050311	0.104
050312	0.125
050313	0.134
050314	0.105

3 讨论

分别选择乙腈-0.1%磷酸水溶液(3:97)^[2]和乙腈-5mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(6:94:1)^[3]为流动相进行试验,结果乙腈-0.1%磷酸水溶液(3:97)的分离效果较好。

选用甲醇、0.1 mol/L 盐酸溶液回流提取的方法处理供试品,结果 0.1 mol/L 盐酸溶液处理所得原儿茶酸的提取效果更充分。

References:

- [1] Lei Z Y, Liu D L, Hu Y Q. A survey of chemical and pharmacological studies on *Geranium wilfordii* [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 2002, 25(10): 759.
- [2] Su Y, Bi Y G. HPLC Determination of protocatechuic acid in Yanlixiao Capsule [J]. *Ginseng Res* (人参研究), 2005(1): 30-32.
- [3] Xu Y H, Chao L B. Determination of protocatechuic acid in *Schisandra chinensis* by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(7): 817-819.

WLD 型大孔吸附树脂富集纯化大黄总蒽醌的工艺研究

李棣华,刘俊红,伍孝先,魏峻峰

(天津市中西医结合急腹症研究所,天津 300100)

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根及根茎,具有通里攻下、清热解毒、活血通瘀等功能。主要产地是甘肃、青海。大黄中化学成分复杂,有蒽苷、萜苷、鞣苷等,其中蒽苷为最主要成分^[1]。本实验以蒽醌类成分为指标对大黄进行了 WLD 型大孔吸附树脂富集的参数进行了研究。

1 仪器和材料

Shimadzu LC—10Atpv 高效液相色谱仪,Shimadzu Libror AEG—120 万分之一分析天平。WLD 型大孔吸附树脂由四川省中药研究所提供,甲酚色

谱纯,其余试剂均为分析纯,大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酸对照品均购自中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定总蒽醌

2.1.1 色谱条件^[2]:色谱柱: C_{18} ODS($150\,\text{mm}\times4.6\,\text{mm}$, $5\,\mu\text{m}$);流动相: 甲醇-1%高氯酸水溶液(85:15);检测波长: $254\,\text{nm}$;体积流量: $1.0\,\text{mL/min}$;灵敏度: $0.01\,\text{AUFS}$ 。

2.1.2 供试品溶液的制备^[3,4]:精密吸取相当于大黄药材 $0.1\,\text{g}$ 的提取液于 $100\,\text{mL}$ 圆底烧瓶中,烘干,加 20%硫酸 $2.5\,\text{mL}$,室温振摇 5 min,加氯仿 30

mL, 水浴加热(80 ℃)回流水解 60 min, 放冷至室温, 吸出氯仿层; 第 2 次加氯仿 20 mL, 振摇, 放置 10 min, 吸出氯仿层; 第 3 次加氯仿 20 mL, 振摇, 放置 10 min, 吸出氯仿层, 反复抽提至氯仿层无色, 合并氯仿液, 以无水硫酸钠脱水, 滤过, 减压回收溶剂至干, 残渣用乙腈溶解于 25 mL 量瓶中, 加乙腈至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.1.3 对照品溶液的配制: 分别精密称定芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品 13 mg, 分别加入 50 mL 量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 2.5 mL 加入同一 25 mL 量瓶中, 加乙腈至刻度, 摇匀即得。

2.1.4 线性关系的考察: 稀释倍减法进行稀释。取 20 μL 进样, 测定峰面积。以峰面积与质量浓度作图, 计算得标准曲线方程。芦荟大黄素: $C = 1.157 \times 10^{-5} X - 0.1755$, $r = 0.9998$, 线性范围为 9.72 ~ 518.4 μg; 大黄酸: $C = 1.257 \times 10^{-5} X + 0.04933$, $r = 0.9994$, 线性范围为 9.376 ~ 600 μg; 大黄素: $C = 1.443 \times 10^{-5} X - 0.1437$, $r = 0.9997$, 线性范围为 8.406 ~ 538 μg; 大黄酚: $C = 1.003 \times 10^{-5} X - 0.1971$, $r = 0.9998$, 线性范围为 8.756 ~ 560.4 μg; 大黄素甲醚: $C = 1.328 \times 10^{-5} X - 0.09895$, $r = 0.9998$, 线性范围为 7.594 ~ 486 μg。

2.1.5 测定: 取供试品溶液进样测定, 计算。以 5 种蒽醌之和作为总蒽醌。

2.2 TLC 法鉴别总蒽醌^[5]: 取流出液 10 mL, 置试管中, 加 HCl 1 mL, 水浴加热 30 min, 立即冷却, 加入乙醚 10 mL, 振摇, 吸出乙醚层, 挥干, 残渣用氯仿 1 mL 使溶解, 即得供试品溶液。进行 TLC 鉴别。

2.3 大孔吸附树脂的预处理: 将大孔吸附树脂于饮用水中漂洗, 滤干, 树脂用 3 倍量 5% 氢氧化钠溶液浸泡 12 h, 再用 5% 氢氧化钠溶液淋洗过柱, 去离子水洗至流出液呈中性, 再加入 2% 盐酸乙醇溶液浸泡 12 h, 1 BV/h 冲洗至流出液加等量水不混浊止, 再用去离子水冲洗至中性并无醇味, 即可。

2.4 静态吸附量的考察: 准确平行称取 2 份 WLD 型大孔吸附树脂, 每份 20 g, 置于 250 mL 磨口烧瓶中, 分别按生药与树脂比例为 1:5 和 1.5:5 加入大黄提取液, 密塞, 室温放置 24 h, 时时震荡, 充分吸附后滤过, 供制备供试品溶液。采用薄层色谱法, 以大黄所含的蒽醌类成分为指标进行鉴别。结果生药与树脂比例为 1:5 时未检测出蒽醌类成分, 而生药与树脂比例为 1.5:5 可检测出大黄酸, 故确定 1 g WLD 型大孔吸附树脂的吸附量为 0.2 g 大黄药材。

2.5 动态吸附量的考察: 大黄提取液从含 150 g WLD 型大孔吸附树脂的树脂柱(树脂床体积 BV 为 300 mL)上端加入, 控制药液流量为 2 BV/h, 从流出下端分段收集流出液, 每隔一定的体积取样, 供制备供试品溶液。采用薄层色谱法, 以大黄所含的蒽醌类成分为指标, 对树脂吸附后的流出液进行鉴别。结果当加入提取液超过相当于 30 g 药材时, 流出液中即可检出大黄酸或其蒽苷类成分, 说明当药材与树脂的比例超过 1:5 时, 出现泄漏现象。确定 1 g WLD 型大孔吸附树脂的最佳吸附量为 0.2 g 大黄药材。与静态吸附量完全一致。

2.6 洗脱用乙醇体积分数的筛选: 按生药与树脂比例为 1:5 取大黄水提液上柱, 控制药液流量为 2 BV/h。从柱上方缓缓加入水冲洗至近无色, 弃去洗液, 再用一定体积分数的乙醇洗脱, 控制洗脱流量为 1.5 BV/h, 收集洗脱液, 混匀, 取样制备供试品溶液, 测定总蒽醌洗脱率, 结果 50%、70%、90% 乙醇对总蒽醌的洗脱率分别为 61.02%、81.27%、80.24%。结果表明用 70% 作为洗脱用乙醇体积分数洗脱时总蒽醌洗脱率可达 80% 以上。

2.7 洗脱乙醇用量的筛选: 按生药与树脂比例 1:5, 取大黄水提液上柱, 控制药液流量为 2 BV/h。从柱上方缓缓加入水冲洗至近无色, 弃去洗液, 再用 70% 乙醇 450 mL 洗脱, 控制洗脱流量为 1.5 BV/h, 收集洗脱液至 150 mL 开始取样, 以后每 50 mL 取样 1 次, 共 450 mL, 制备供试品溶液, 测定结果见表 1。可见用 70% 乙醇洗脱, 可将 80% 左右的有效成分解吸附, 乙醇用量 300 mL 时即可达到洗脱总量 98% 以上, 因此使用 300 mL 70% 乙醇洗脱即可, 即 1 BV。

表 1 洗脱乙醇用量筛选结果

洗脱液	洗脱率/%	占洗脱液总量/%
提取液	100	—
150 mL	69.00	84.47
200 mL	75.61	91.81
250 mL	78.70	96.34
300 mL	80.40	98.42
350 mL	81.31	99.53
400 mL	81.61	99.90
450 mL	81.69	100

2.8 径高比的筛选: 按生药与树脂比例 1:5, 取大黄水提液上柱, 控制药液流量为 2 BV/h。从柱上方缓缓加入水冲洗至近无色, 弃去洗液, 再用 1 BV 70% 乙醇洗脱, 控制洗脱流量为 1.5 BV/h, 收集洗脱液, 待 70% 乙醇洗脱完毕, 再用适量水洗脱, 合并

洗脱液,分别测定总蒽醌的量,结果径高比分别为1:3、1:5、1:7时,总蒽醌的量分别为8.464、9.268、8.700 mg/g 生药。结果表明径高比为1:5时吸附洗脱效果较好。

2.9 药液流量的筛选:按生药与树脂比为1:5,径高比1:5,取大黄水提液上柱,按设定药液流量进行上柱。从柱上方缓缓加入水冲洗至近无色,洗液弃去,再用1 BV 70%乙醇洗脱,洗脱流量为1.5 BV/h。收集洗脱液,待70%乙醇洗脱完毕,再用适量水洗脱,合并洗脱液,分别测定总蒽醌的量,结果药液流量分别为1、2、3 BV/h时,总蒽醌的量分别为9.662、9.160、8.746 mg/g 生药。结果表明药液流量控制在1 BV/h时吸附洗脱效果较好。

2.10 洗脱流量的筛选:按生药与树脂比为1:5,径高比1:5,取大黄水提液上柱,控制药液流量为1 BV/h。从柱上方缓缓加入水冲洗至近无色,弃去洗液,再用1 BV 70%乙醇洗脱,按设定洗脱流量进行洗脱,收集洗脱液,待70%乙醇洗脱完毕,再用适量水洗脱,合并洗脱液,分别测定总蒽醌的量,结果洗脱流量分别为0.5、1、1.5 BV/h时,总蒽醌的量分别为9.775、9.613、9.432 mg/g 生药。结果表明采用1 BV 70%乙醇洗脱,流量控制0.5 BV/h时洗脱效果较好。

2.11 验证试验:按生药与树脂比为1:5,径高比1:5,取大黄水提液上柱,控制药液流量为1 BV/h。

从柱上方缓缓加入水冲洗至近无色,洗液弃去,再用1 BV 的70%乙醇洗脱,控制洗脱流量为0.5 BV/h,收集洗脱液,待70%乙醇洗脱完毕,再用适量水洗脱,合并上述洗脱液,平行试验3份,分别测定,结果总蒽醌的量分别为9.712、9.666、9.869 mg/g。

3 讨论

WLD型大孔吸附树脂是D-101型树脂、AB-8型树脂等数种按一定比例混合而成的产品。大黄提取液经WLD型大孔吸附树脂富集纯化后,干膏收率小于10%,且提取物吸湿性极小,为一种可行的中药精制方法。

References:

- [1] Wu X X, Wei J F, Liu J H, *et al.* Study on extraction and purification process of total anthraquinone in Rheum [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2005, 3 (8): 126-129.
- [2] Fu G. HPLC Determination of free and combined anthraquinones in Rheum tanguticum Maxim [J]. *J Beijing Med Univ* (北京医科大学学报), 1998, 30(Suppl): 20-21.
- [3] Zong Y Y. MECC Separation and determination of content of a few kind of Rheum [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(8): 594-598.
- [4] Wei J F. Studies on the quality standard of Dachengqitang Granula [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (4): 257-260.
- [5] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

《中草药》投稿特别注意事项

1. 实验性论文需要单位介绍信(注明:论文内容真实,作者排名无争议,无一稿两投,无泄密)。
2. 创新性论文优先发表,新化合物免收版面费。
3. 图题、表题、图注、表注需中英文双语表示。
4. 文后参考文献译成英文。
5. 本刊不收审稿费,但刊用稿件要收取版面费。
6. 投稿时请留下联系方式(电话和E-mail)。

WLD型大孔吸附树脂富集纯化大黄总蒽醌的工艺研究

作者: [李棣华](#), [刘俊红](#), [伍孝先](#), [魏峻峰](#)
作者单位: [天津市中西医结合急腹症研究所, 天津, 300100](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2007, 38 (6)
被引用次数: 3次

参考文献(5条)

1. [Wu X X;Wei J F;Liu J H](#) [Study on extraction and purification process of total anthraquinone in Rheum](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2005(08)
2. [Wei G](#) [HPLC Determination of free and combined anthraquinones in Rheum tanguticum Maxim](#) 1998(zk)
3. [Zong Y Y](#) [MECC Separation and determination of content of a few kind of Rheum](#) 1995(08)
4. [Wei J F](#) [Studies on the quality standard of Dachengqitang Granula](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2000(04)
5. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005

本文读者也读过(1条)

1. [徐晶](#). [陈再兴](#). [袁昌鲁](#). [XU Jing](#). [CHEN Zai-xing](#). [YUAN Chang-lu](#) [大孔吸附树脂富集纯化大黄总蒽醌的工艺研究](#) [期刊论文]-[中华中医药学刊](#)2008, 26(1)

引证文献(3条)

1. [曹宝平](#) [高新技术在现代中药提取分离领域中运用](#)[期刊论文]-[中国现代药物应用](#) 2011(18)
2. [程新梅](#) [大孔吸附树脂分离技术在中药制药工业中的应用](#)[期刊论文]-[中国药房](#) 2008(18)
3. [大黄中蒽醌的提取纯化工艺研究进展](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2010(11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706032.aspx