

图6 提取物在AB-8树脂上的解吸曲线

Fig. 6 Desorption curve of extract on AB-8 resin

集洗脱液,定容于100 mL量瓶中,测定丁香苦苷的质量浓度。原药液、醇洗脱液分别干燥,称定质量。结果原药液固形物为8.52 g,丁香苦苷质量分数为19.92%;醇洗脱液固形物为2.74 g,丁香苦苷质量分数为47.56%。洗脱率为91.57%,精制程度为238%。

### 3 讨论

大孔树脂的极性和空间结构是影响吸附性能的重要因素,本实验从生产成本考虑,选取非极性(D-101、X-5)、弱极性(AB-8)、中性(HPD400)和极性(NKA-I、HPD500)4类典型的大孔吸附树脂进行静态吸附-解吸筛选,结果弱极性AB-8型和极性HPD400、HPD500型树脂对丁香苦苷的吸附量较大,这是由于丁香苦苷分子由非极性的环烯醚萜母核

和葡萄糖苷链组成,这种分子结构使其总体具有一定的极性和亲水性,有利于弱极性和极性树脂吸附。

体积比表面积是影响树脂吸附量的主要因素,丁香苦苷相对分子质量为494,有利于被孔径较大的树脂吸附,在孔径适合时,树脂的吸附量随比表面积增大。但在某些情况下,吸附作用力过强不利于解吸,如HPD400、HPD500、X-5型树脂的吸附量较大,但解吸率并不突出,不适用于分离。另外,树脂的孔径越大,吸附大分子杂质越多,从而造成树脂的吸附选择性下降,如AB-8和D-101、HPD400、HPD500型树脂的比表面积相近,但由于D-101型树脂的孔径远大于AB-8,因此吸附量有所下降。HPD400、HPD500型树脂由于孔径大,吸附选择性低,而以AB-8解吸液中丁香苦苷量最高。

综上所述,树脂的吸附能力是由极性、比表面积、孔径以及被分离物质的理化性质等综合因素决定。弱极性AB-8型树脂的极性、比表面积和孔径均适合,吸附量大,易于解吸,解吸液中丁香苦苷量最高,采用适宜的工艺条件,可获得最佳生产效果。

### 参考文献:

- [1] 王丹丹,刘盛泉,陈英杰,等.紫丁香有效成分的研究[J].药学学报,1982,17(2):951-954.
- [2] 米靖宇,宋纯清.大孔吸附树脂在中草药研究的进展[J].中成药,2003,23(12):914-917.

## 乳块消片HPLC指纹图谱的研究

孙宁,秦培勇\*,谭天伟

(北京化工大学生命科学与技术学院 生物加工过程重点实验室,北京 100029)

**摘要:**目的 研究乳块消片的高效液相指纹图谱,为科学评价及有效控制乳块消片的质量提供了有效可靠的方法。方法 利用高效液相色谱法测定了10批乳块消片样品,色谱条件为:Kromasil C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1%醋酸水溶液(A)-甲醇(B),梯度洗脱;体积流量:1 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:25 °C;进样量:20 μL。结果 精密度、重现性和稳定性试验中各共有峰相对保留时间和相对峰面积RSD均小于3%,所得的色谱图各色谱峰分离较好,基线平整,符合指纹图谱有关规定。结论 乳块消片的指纹图特征性及专属性强,可作为全面控制乳块消片质量的依据。

**关键词:**乳块消片;丹酚酸B;指纹图谱

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)11-1659-04

乳块消片是由橘叶、丹参、皂角刺、川楝子、地龙和王不留行组成,具有疏肝理气、活血化瘀、消散乳

块的作用,临床治疗乳腺增生疗效显著。由于乳块消片药味较多,成分复杂,仅仅测定其中的一个或几个

收稿日期:2008-01-23

基金项目:863项目(2005AA02Z245),973项目(2007CB714304);国家自然科学基金资助项目(20636010,20806006);北京市科技计划项目(D0205004040211);北京化工大学青年教师基金(QN0616)

作者简介:孙宁(1982-),男,吉林省吉林市人,北京化工大学硕士研究生,研究方向为中药制剂。

\*通讯作者 秦培勇 Tel:(010)64448962 E-mail:qinyq@mail.buct.edu.cn

有效成分难以较好地控制整个片剂的质量。指纹图谱为分析中药提供了有效的手段,能从整体上进行质量控制<sup>[1~3]</sup>。因此本实验采用梯度洗脱的方式对乳块消片的指纹图谱进行了研究,为全面控制乳块消片的质量提供了可靠的方法。

1 仪器与试药

Alltech 高效液相色谱仪,Chemstation 色谱工作站。

甲醇(色谱纯,北京试剂公司);水(超纯水);丹酚酸B 对照品(中国药品生物制品检验所);乳块消片由北京中医药大学药厂提供的未包衣的素片。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 醋酸水溶液(A)-甲醇(B), 梯度洗脱, 0 min, 5%B, 45 min, 35%B, 90 min, 65%B; 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取丹酚酸B 对照品 0.100 mg, 用甲醇溶解并定容在 10 mL 量瓶中, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 采用均匀取样法从每批乳块消片中取出 2 片素片, 研成粉末, 精密称取 100 mg, 用超纯水定容在 25 mL 量瓶中, 超声溶解, 0.45 μm 滤膜滤过, 即得。

2.4 方法学考察<sup>[4]</sup>

2.4.1 精密度试验: 取批号为 73074 的样品, 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 结果其相对保留时间的 RSD 小于 3%, 各共有峰相对峰面积比值的 RSD 小于 3%。

2.4.2 重现性试验: 取批号为 73074 的样品 6 份, 制备供试品溶液, 分别进样, 结果其相对保留时间的 RSD 小于 3%, 各共有峰相对峰面积比值的 RSD 小于 3%。

2.4.3 稳定性试验: 取批号为 73074 的样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、12、24 h 进样测定。结果其相对保留时间的 RSD 小于 3%, 各共有峰相对峰面积比值的 RSD 小于 3%。结果表明在 24 h 内, 乳块消片的色谱指纹图谱基本稳定, 没有明显的变化, 符合指纹图谱的要求。

2.5 实验结果: 按所建立的测定条件对 10 批乳块消片进行测定, 其典型的 HPLC 的色谱指纹图谱见图 1。比较获得的色谱图, 确定有 29 个主要的共有特征峰, 其占总峰面积 90% 以上, 见表 1。丹酚酸 B 为参照物 S(峰 26), 以其保留时间和峰面积为 1, 分别计

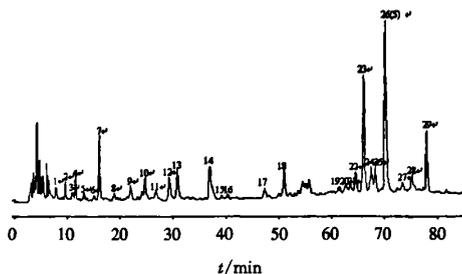


图 1 乳块消片的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC Fingerprint of Rukuaixiao Tablets

表 1 乳块消片指纹图谱共有特征峰面积比

Table1 Percentage area of common characteristic peaks in fingerprint of Rukuaixiao Tablets

批号	共有特征峰面积比例/%	批号	共有特征峰面积比例/%
73020	91.21	73069	91.56
73031	92.63	73071	93.36
73048	91.23	73072	90.85
73053	92.42	73073	93.67
73054	93.12	73074	91.56

算其他各特征峰的相对保留时间和相对峰面积, 见表 2、3。

《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》对 HPLC 指纹图谱图法的方法误差通常认定为: 相对保留时间的 RSD 为 1%, 相对峰面积的 RSD 为 10%。由表 2 可以看出, 29 个共有峰的相对保留时间 RSD 都小于 1%, 因此, 可以认为它们都分别为同一组分。由表 3 可以看出, 29 个共有峰中, 只有峰 23、25 的相对峰面积 RSD 小于 10%, 其余的相对峰面积都大于 10%, 在 10%~40%, 因此, 可以得出峰 23、25 的量基本相同, 其他的各峰的量存在差异, 但差异不大。

3 讨论

实验选了 3 种流动相: 甲醇-水-0.1% 冰醋酸、甲醇-乙腈-0.1% 的冰醋酸、乙腈-水-0.1% 冰醋酸。经比较发现在色谱条件中甲醇-水-0.1% 冰醋酸作为流动相条件下, 色谱图上各个色谱峰的分度度良好, 保留时间适中, 因此选甲醇-水-0.1% 冰醋酸流动相系统作为乳块消片 HPLC 指纹图谱检测的流动相。

实验选择了 260、280、320 nm 3 个波长同时进行测定, 结果在波长 280 nm 下出现的色谱峰最多, 峰型较好, 分度度高, 且基线平稳, 故选择 280 nm 作为乳块消片 HPLC 指纹图谱的检测波长。

所建立的乳块消片 HPLC 指纹图谱中, 有 29 个共有特征(指纹)峰, 各特征峰的相对保留时间和相对峰面积可以作为乳块消片剂质量伪劣的依据。所

表2 各批样品共有峰的相对保留时间

Table 2 Relative retention times of common characteristic peaks in every batch of samples

峰位	各批样品相对保留时间										RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	0.115	0.116	0.116	0.117	0.114	0.114	0.113	0.116	0.115	0.116	0.811
2	0.141	0.140	0.139	0.142	0.139	0.141	0.138	0.141	0.141	0.140	0.940
3	0.155	0.155	0.154	0.156	0.158	0.154	0.156	0.155	0.157	0.158	0.984
4	0.161	0.163	0.161	0.164	0.162	0.160	0.165	0.164	0.163	0.162	0.947
5	0.169	0.171	0.168	0.171	0.169	0.167	0.168	0.170	0.168	0.172	0.900
6	0.189	0.193	0.188	0.190	0.191	0.188	0.190	0.193	0.192	0.191	0.965
7	0.218	0.223	0.219	0.221	0.220	0.217	0.221	0.222	0.219	0.221	0.919
8	0.234	0.237	0.238	0.238	0.237	0.238	0.239	0.236	0.233	0.237	0.771
9	0.271	0.278	0.278	0.279	0.274	0.278	0.276	0.274	0.275	0.279	0.936
10	0.334	0.339	0.331	0.341	0.336	0.331	0.334	0.333	0.333	0.337	0.965
11	0.346	0.351	0.343	0.353	0.348	0.342	0.346	0.345	0.345	0.350	0.976
12	0.353	0.359	0.357	0.360	0.356	0.351	0.356	0.354	0.354	0.360	0.889
13	0.385	0.389	0.382	0.391	0.385	0.380	0.383	0.385	0.381	0.385	0.905
14	0.417	0.422	0.411	0.420	0.420	0.415	0.420	0.415	0.416	0.414	0.816
15	0.438	0.442	0.433	0.443	0.441	0.437	0.440	0.435	0.437	0.435	0.769
16	0.522	0.527	0.519	0.529	0.527	0.525	0.535	0.518	0.525	0.522	0.969
17	0.556	0.559	0.551	0.563	0.560	0.557	0.567	0.554	0.558	0.557	0.822
18	0.676	0.683	0.675	0.687	0.680	0.685	0.683	0.673	0.667	0.684	0.905
19	0.875	0.874	0.873	0.876	0.875	0.875	0.874	0.871	0.867	0.885	0.523
20	0.892	0.891	0.889	0.893	0.892	0.893	0.893	0.889	0.886	0.902	0.451
21	0.901	0.900	0.899	0.903	0.902	0.905	0.904	0.906	0.903	0.910	0.358
22	0.916	0.914	0.913	0.923	0.917	0.919	0.918	0.913	0.917	0.918	0.323
23	0.946	0.943	0.944	0.948	0.946	0.941	0.943	0.944	0.941	0.945	0.228
24	0.963	0.960	0.961	0.962	0.963	0.962	0.962	0.961	0.958	0.962	0.200
25	0.972	0.970	0.970	0.971	0.971	0.973	0.973	0.969	0.966	0.969	0.210
26	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
27	1.048	1.049	1.047	1.056	1.047	1.048	1.048	1.049	1.050	1.046	0.273
28	1.074	1.074	1.071	1.074	1.071	1.071	1.072	1.075	1.075	1.063	0.329
29	1.118	1.117	1.115	1.116	1.114	1.112	1.114	1.118	1.105	1.111	0.356

表3 各批样品共有峰的相对面积

Table 3 Relative peak area of common characteristic peaks in every batch of samples

峰位	各批样品相对峰面积										RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	0.067	0.055	0.067	0.050	0.069	0.068	0.035	0.060	0.055	0.053	18.476
2	0.047	0.042	0.057	0.037	0.063	0.069	0.057	0.067	0.062	0.075	21.364
3	0.016	0.012	0.021	0.015	0.020	0.023	0.021	0.027	0.021	0.028	25.299
4	0.018	0.017	0.027	0.018	0.025	0.027	0.025	0.026	0.021	0.024	17.577
5	0.052	0.053	0.074	0.064	0.073	0.075	0.070	0.075	0.066	0.086	15.196
6	0.025	0.025	0.034	0.022	0.031	0.041	0.037	0.035	0.020	0.015	29.371
7	0.023	0.021	0.026	0.022	0.025	0.035	0.034	0.034	0.023	0.033	20.372
8	0.171	0.165	0.213	0.190	0.248	0.235	0.239	0.239	0.217	0.241	14.100
9	0.035	0.033	0.031	0.034	0.035	0.043	0.033	0.041	0.031	0.045	14.133
10	0.018	0.016	0.017	0.017	0.017	0.021	0.019	0.017	0.016	0.026	17.003
11	0.048	0.046	0.038	0.046	0.043	0.045	0.036	0.045	0.042	0.062	15.704
12	0.079	0.082	0.115	0.099	0.127	0.128	0.104	0.100	0.095	0.093	16.526
13	0.060	0.055	0.048	0.062	0.078	0.068	0.019	0.015	0.060	0.069	39.185
14	0.141	0.139	0.136	0.118	0.159	0.139	0.116	0.140	0.129	0.120	10.034
15	0.166	0.161	0.152	0.153	0.189	0.164	0.150	0.166	0.156	0.151	7.378
16	0.187	0.187	0.178	0.179	0.272	0.241	0.225	0.240	0.219	0.160	17.137
17	0.051	0.054	0.048	0.046	0.048	0.059	0.055	0.039	0.035	0.036	17.252
18	0.130	0.149	0.152	0.135	0.169	0.109	0.106	0.146	0.123	0.149	14.672
19	0.053	0.066	0.051	0.048	0.043	0.083	0.060	0.048	0.041	0.047	23.169
20	0.071	0.076	0.079	0.065	0.071	0.100	0.085	0.067	0.061	0.101	17.978
21	0.039	0.043	0.044	0.037	0.043	0.084	0.056	0.025	0.027	0.040	37.729
22	0.083	0.130	0.079	0.074	0.080	0.151	0.131	0.080	0.048	0.169	38.412
23	0.575	0.577	0.611	0.564	0.636	0.660	0.586	0.568	0.539	0.583	6.128
24	0.127	0.132	0.129	0.127	0.134	0.199	0.182	0.136	0.133	0.174	18.343
25	0.148	0.141	0.155	0.142	0.173	0.159	0.136	0.143	0.146	0.146	7.239
26	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
27	0.049	0.061	0.074	0.050	0.086	0.102	0.073	0.057	0.063	0.129	33.956
28	0.076	0.085	0.087	0.092	0.103	0.182	0.093	0.084	0.106	0.123	29.848
29	0.149	0.206	0.263	0.230	0.253	0.312	0.350	0.207	0.261	0.295	22.956

建立的方法有较好的重现性、精密度和稳定性,为乳块消片的质量控制以及衡量其质量的优劣提供依据。

参考文献:

[1] 聂晶,田颂九,王国荣. 中药指纹图谱的研究现状[J]. 中草

药, 2000, 31(12): 881-884.

[2] 任德权. 中药指纹图谱质控技术的意义与作用[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(3): 135-140.

[3] 谢培山. 中药制剂色谱指纹图谱(图像)鉴别[J]. 中成药, 2000, 22(63): 391-395.

## 天花粉多糖的提取、分离与纯化研究

黄晓兰<sup>1</sup>, 吴惠勤<sup>1</sup>, 王蔚<sup>2</sup>, 黄芳<sup>1</sup>, 林晓珊<sup>1</sup>

(1. 中国广州分析测试中心 广东省化学危害应急检测技术重点实验室, 广东 广州 510070;

2. 广州中一药业有限公司, 广东 广州 510000)

**摘要:**目的 系统地研究天花粉多糖分析的样品前处理方法,包括提取、分离及纯化方法,为进一步开展天花粉多糖的组成及相对分子质量等分析研究,探讨其药理药效奠定基础。方法 试验了加热回流、不同温度浸提、超声波振荡等方法提取天花粉多糖,对天花粉多糖的沉淀分离条件进行了优化,并采用重结晶、透析、柱色谱等方法进行纯化,采用苯酚-硫酸分光光度法测定多糖的质量分数,并用核磁共振波谱法进行验证。结果 天花粉多糖于 45℃ 超声波振荡提取效果最佳,不同纯化方法所得天花粉多糖的质量分数不同,重结晶法得到的多糖质量分数为 58.8%,透析法得到的多糖质量分数为 51.3%,色谱柱纯化后的多糖质量分数最高可达 94%。结论 本研究建立了天花粉多糖的样品前处理分析方法,解决了天花粉中淀粉、蛋白以及柠檬酸等化合物的干扰问题,获得了质量分数较高的天花粉多糖,可用于天花粉多糖的进一步分析。

**关键词:**天花粉;多糖;分离;纯化

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)11-1662-04

天花粉是葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的干燥块根,又名栝楼根、蒺根,具有清热生津、消肿排脓的功效,用于治疗热病烦渴、肺热燥咳、内热消渴、疮疡肿毒<sup>[1]</sup>。临床上常用的消渴症方如玉泉丸、玉液汤、玉女煎等均将天花粉作为主药。天花粉在增强机体免疫功能、抗肿瘤、抗艾滋病病毒方面具有很好的功效<sup>[2]</sup>。天花粉多糖具有降血糖的活性<sup>[3]</sup>。天花粉中具有活性的多糖的量很低,而富含淀粉,虽然这些淀粉也属于多糖类,但没有降糖功效,并且对天花粉多糖的提取纯化干扰很严重。天花粉中含有的天花粉蛋白属于水溶性的天然高分子化合物,也严重干扰天花粉多糖的分离提取和分析。有关天花粉有效成分的提取分离的研究大多是针对天花粉蛋白<sup>[4~7]</sup>,对天花粉多糖的研究较少<sup>[8,9]</sup>。因此本实验对天花粉多糖测定前处理中的提取、分离和纯化方法作了研究,比较了不同方法提取天花粉多糖,并优化了天花粉多糖的沉淀分离条件,采用重结晶、透析、柱色谱等方法纯化,然后采用分光光度法测定多糖,并采用核磁共振波谱法进行验证,得到了较满意的结果。

### 1 仪器与试剂

721N 型分光光度计,上海分析仪器厂;核磁共振波谱仪;超声波振荡仪。

无水乙醇、丙酮、苯酚、硫酸均为 AR 级;Sephadex G-50 和 Sephadex G-100 葡聚糖凝胶;葡萄糖,AR 级,质量分数大于 99.9%,使用前经 105℃ 烘 4 h;试验用水为 Millipore 超纯水。

### 2 方法与结果

2.1 天花粉多糖的测定:采用苯酚-硫酸分光光度法。称取一定量的天花粉多糖样品,用水溶解并定容,取 1 mL 溶液加入 1 mL 5% 苯酚,再加入 5 mL 浓硫酸摇匀,于沸水浴中反应 15 min,取出放置至室温,于 490 nm 波长处测定吸光度值。以水作空白,以葡萄糖溶液作对照同时测定,得到标准曲线,根据标准曲线方程计算出多糖的量。

#### 2.2 天花粉多糖的提取

2.2.1 提取方法的选择:取经粉碎后的天花粉,加入 10 倍量的水提取,比较了加热回流(100℃)、不同温度浸提和超声波振荡提取等方法结果见表 1。若按传统的加热回流提取方法,由于天花粉中富含淀粉,

收稿日期:2007-12-15

基金项目:广东省科技计划资助项目(2006B35605009)

作者简介:黄晓兰(1964—),女,广东潮州人,研究员,主要从事药物及食品分析工作。Tel:(020)87686536 E-mail:wenhxl@126.com