

较好,但粉末含水量较高,吸湿性较大,并且微粉硅胶成本较高,不利于大量生产;以单一可溶性淀粉作辅料,含水量较低,吸湿性较小,但流动性不如微粉硅胶作单一辅料时好。所以本研究采用微粉硅胶与可溶性淀粉配伍得出最佳处方:微粉硅胶 1%,可溶性淀粉 14%。

实验过程中,考虑到是中药复方制剂,有效成分较复杂,并且大多含有黏液质、糖等成分,容易吸湿,所以取干粉吸湿率作为指标之一。绿原酸是本复方主要有效成分之一,但受热容易破坏,因此,取其在干粉中的量也作为指标之一,代表方中受热易破坏成分。综合两个指标,能较好控制药物成分的损失,提高工艺质量。

浸膏的相对密度对喷雾干燥效果影响最大。中药浸膏由于成分复杂,密度大,黏稠度就增大,雾化时形成的粒径也大,干燥速度慢,而且形成的粉末含水量高;如果相对密度太低,得到的颗粒粉细小,引湿性增加,被尾气带走的粉也增多,且蒸发水分量增

加,消耗较多能源,增加生产成本,效率也低。

由于中药提取液的喷干粉极易吸湿,故操作室内应适当控制空气的相对湿度,所得干粉应尽快密闭贮藏或至于干燥器中,并且要求在称量操作时力求迅速,在测定时要以扣除水分的干燥品计算,最大限度地保证实验结果的准确性。

本实验还作了喷雾干燥法和传统干燥法的比较研究。传统干燥法需要经过蒸发后干燥,时间长,效率低,成本高,人力资源浪费,而且干燥后结块,难以回收;而采用喷雾干燥法不但可以解决此类问题,而且可以大大提高浸膏粉的流动性及稳定性^[4]。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 田 静,潘旭旺,蒋小琴. 复方茵柏颗粒中绿原酸的含量测定方法研究[J]. 中华中医药学刊,2009,27(3):555.
- [3] 李 智,韩 静,岑 琴,等. 喷雾干燥法改善中药浸膏吸湿性的研究[J]. 中国药房,2007,18(27):2114.
- [4] 王秀良,向大雄,赵绪元. 不同赋形剂及配方对中药喷雾干燥浸膏粉粒粒的影响[J]. 中成药,2002,24(2):90.

D-101 型大孔吸附树脂纯化生姜中 6-姜酚的研究

李群力¹,许玲玲¹,麻佳蕾¹,蒋晓萌^{2*}

(1. 金华职业技术学院医学院,浙江 金华 321007; 2. 天津尖峰天然产物研究开发有限公司,天津 300457)

摘要:目的 研究 D-101 型大孔树脂分离纯化生姜提取物的工艺条件及参数。方法 以 6-姜酚的量为指标,采用大孔树脂法分离纯化生姜提取物。结果 最佳工艺为:提取物加入 30%乙醇充分溶解,提取物与溶剂之比为 1:120(g/mL),滤过,滤液以 2 mL/min 的流速上样,大孔树脂柱的径高比为 1:7,先用 6 BV 的水洗脱,再用 6 BV 75%乙醇洗脱,洗脱流速为 5 mL/min,75%乙醇洗脱液减压浓缩至干,6-姜酚的得率可达 3.91%(以提取物计)。

结论 该方法分离纯化生姜提取物可行。

关键词:生姜提取物;大孔树脂;6-姜酚;纯化

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)11-1749-04

生姜 *Zingiber officinale* Rosc. 是姜科姜属多年生草本植物,也是临床上常用中药。姜的化学成分复杂^[1],其中的姜酚、姜酮、姜烯酚等可能是姜油抗氧化等多种作用的主要物质基础^[2]。姜酚具有很强的抗氧化、抗炎、清除自由基及抗肿瘤等作用,是生姜的主要活性成分,其中尤以 6-姜酚的量为高^[3]。目前从生姜中分离纯化姜酚等有效成分多采用有机溶剂萃取法^[4,5]或色谱法^[6],这些方法操作复杂,还需要耗费大量的有毒的有机溶剂,成本较高。大孔

吸附树脂具有吸附容量大,选择性好、吸附速度快、再生处理方便、使用周期长、节省费用等诸多优点。因此本实验采用大孔吸附树脂法纯化生姜提取物中 6-姜酚等有效成分,为进一步研制出高效的生姜制剂提供参考。

1 仪器与材料

BC-R501 旋转蒸发器(上海贝凯生物化工设备有限公司),MDS-6 微波萃取仪,Waters 2487 高

收稿日期:2009-02-07

基金项目:浙江省科学技术研究计划资助项目(2007C33018)

作者简介:李群力(1969—),女,硕士,教授,从事药理学教学与研究。Tel:(0579)82232082 E-mail:zjliql@yahoo.com.cn

* 通讯作者 蒋晓萌 Tel:(0579)82326868 E-mail:jxm@163.com

效液相色谱仪(2487 紫外分光检测器, Breeze 色谱工作站, 20 μL 手动进样阀), 高速药材粉碎机(浙江金华华盛实业有限公司), 1004 型电子天平(上海天平仪器厂)。

生姜(金华市医药公司购入, 吴远文鉴定, 产地浙江永康), 水洗净, 晾干, 粉碎, 备用。6-姜酚对照品(天津中新药业集团股份有限公司, 质量分数为98%, 批号 Y-070730-6JF-M), 乙醇、冰醋酸为分析纯, 甲醇为色谱纯, 水为超纯水。D-101 型大孔吸附树脂(上海医药工业研究院)。

2 方法与结果

2.1 HPLC 法测定 6-姜酚

2.1.1 色谱条件: Diamonsil C_{18} 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-1.5% 磷酸水溶液(65:35); 体积流量为 0.5 mL/min; 检测波长为 280 nm; 柱温为室温。理论塔板数以 6-姜酚计算大于 5 000。

2.1.2 对照品溶液的制备: 精密称取 6-姜酚对照品 30 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀即得 1.2 mg/mL 储备液。精密吸取储备液 1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 120 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备: 精密称取生姜纯化物样品适量, 加入流动相溶解并转移至 50 mL 量瓶中, 用流动相定容至刻度, 摇匀, 即得, 进样前经 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

2.1.4 标准曲线的制备: 精密量取 6-姜酚对照品储备液, 用甲醇稀释为 24、30、48、60、120、240 $\mu\text{g/mL}$ 溶液, 分别取 20 μL , 进样测定峰面积。以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 33\,699 X + 12\,120 (r = 0.999\,7)$, 结果表明 6-姜酚在 24~240 $\mu\text{g/mL}$ 时与峰面积线性关系良好。

2.1.5 精密度试验: 对同一供试品溶液进行 5 次测定, 按 6-姜酚峰面积计算其 RSD 为 1.35% ($n = 5$)。

2.1.6 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液 20 μL , 分别于 0、0.5、1、6、12、24 h 进样测定 6-姜酚峰面积, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 基本稳定, RSD 值为 2.34%。

2.1.7 加样回收率试验: 精密称取一定量生姜纯化物 9 份(含 6-姜酚约 115 μg), 分别加入 6-姜酚对照品 30、60、120 μg , 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得平均回收率 101.0%, RSD 为 2.77% ($n = 9$)。

2.1.8 测定法: 精密吸取对照品溶液和供试品溶液 20 μL , 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 由回归

方程计算 6-姜酚的质量分数。

2.2 大孔树脂种类的选择: 大孔吸附树脂通常依其极性分为非极性、弱极性、极性 3 类。通常极性较大的分子适用中极性大孔树脂上分离, 极性小的分子适用非极性大孔树脂分离。大孔吸附树脂型号很多, 其中 D-101 型大孔树脂是一种非极性吸附剂, 而生姜中的有效成分 6-姜酚、8-姜酚等极性很小, 因此采用 D-101 型大孔吸附树脂纯化生姜的有效成分。

2.3 大孔吸附树脂的预处理和再生: 将 D-101 型大孔吸附树脂用无水乙醇浸泡 24 h 后湿法装柱, 待树脂装好后, 用 95% 乙醇洗脱树脂柱, 洗至流出液与蒸馏水按照 1:1 混合不产生白色浑浊, 再用蒸馏水冲洗至无乙醇味; 然后用 2 倍体积 5% 盐酸以 2.5 mL/min 体积流量通过树脂层, 并浸泡 2~4 h 后, 用蒸馏水以同样的流速洗至流出液 pH 值呈中性; 最后用 2 倍体积 2% 氢氧化钠溶液以 2.5 mL/min 体积流量通过树脂柱, 并浸泡 2~4 h 后, 用蒸馏水以同样流速洗至流出液 pH 值呈中性。

2.4 上柱样品液的制备: 称取生姜药材粉末(过 60 目筛) 5 g, 加入 10 倍量 95% 乙醇, 置微波萃取仪中提取 1 次, 1 min, 提取液浓缩成稠膏, 真空干燥, 即得生姜提取物。提取物中 6-姜酚的质量分数为 5.6%。提取物加一定量的溶剂, 充分溶解, 滤过, 滤液作为上样液, 备用。

2.5 大孔吸附树脂对生姜提取物静态吸附的考察

2.5.1 饱和和吸附量的考察: 精密称取 1 g 提取物, 加 150 mL 30% 乙醇, 充分溶解后, 滤过, 滤液加入树脂 1 g(干质量), 用磁力搅拌器搅拌 20 min, 滤过, 滤液浓缩, 测定吸附前后溶液中 6-姜酚的质量浓度, 计算大孔树脂在室温下的饱和吸附量, 得大孔树脂在室温下的饱和吸附量是 20.16 mg/g。

$$\text{饱和和吸附量 } Q = (C_0 - C_r) \cdot V / W$$

Q 为饱和吸附量(mg/g), C_0 为吸附前 6-姜酚的质量浓度(mg/mL), C_r 为吸附后 6-姜酚的质量浓度(mg/mL), V 为溶液体积(mL), W 为树脂质量(g)

2.5.2 静态解吸率的考察: 树脂经静态吸附饱和后, 树脂用水洗过, 滤干, 加入 95% 乙醇 150 mL, 磁力搅拌 20 min 后, 滤过, 滤液浓缩定容至 100 mL, 取样, 测定滤液中 6-姜酚的质量浓度, 计算树脂的解吸率, 得树脂的静态解吸率为 75.9%。

$$\text{解吸率} = CV / 100 / (QW)$$

C 为解吸液中 6-姜酚的质量浓度(mg/mL); V 为溶液的体积(mL); Q 为树脂吸附量(mg/g); W 为所用树脂的质量(g)

2.6 大孔树脂纯化条件的考察

2.6.1 生姜提取物溶解用乙醇体积分数的考察:生姜提取物在水中的溶解度较小,需用低体积分数的乙醇溶解后,方可上柱。取两根大孔吸附树脂柱,将生姜提取物溶液分别用30%、40%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:100(g:mL),滤过,滤液按2 mL/min 体积流量上样,大孔树脂柱的径高比为1:7,分别用水洗脱至无色,然后用95%乙醇洗脱至无明显颜色,洗脱体积流量为2 mL/min,95%乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量分数,计算得率,分别为4.06%、3.33%。结果显示,40%乙醇溶解浸膏,上样后,流出液经HPLC检测含有6-姜酚,说明40%乙醇有解吸附作用,不宜选用;而用30%乙醇溶解浸膏,上样后,流出液经检测不含6-姜酚,因此选择30%乙醇溶解生姜提取物。

$$\text{得率} = CV \times 100 / W$$

C为洗脱液中6-姜酚的质量浓度(g/mL);V为溶液的体积(mL),W为上样前提取物的质量(g)

2.6.2 生姜提取物溶液质量浓度的考察:称取生姜提取物1 g,共4份,分别用30%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:60、1:80、1:100、1:120(g:mL),滤过,滤液按2 mL/min 体积流量上样,大孔树脂柱的径高比为1:7,分别用水洗脱至无色,然后用95%乙醇洗脱至无明显颜色,洗脱体积流量为2 mL/min,95%乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量浓度,计算得率,分别为3.56%、3.63%、3.73%、4.06%,因此,生姜提取物与溶剂的最佳比为1:120(g:mL)。

2.6.3 大孔树脂径高比的考察:称取生姜提取物1 g,共3份,分别用30%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:120(g:mL),滤过,滤液分别上径高比为1:1、1:4、1:7的大孔树脂柱,按2 mL/min 体积流量上样,分别用水洗脱至无色,然后用95%乙醇洗脱至无明显颜色,洗脱体积流量为2 mL/min,95%乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量浓度,计算得率,结果显示:径高比为1:1、1:4的大孔树脂柱,流出液经HPLC检测都有6-姜酚,得率又低;径高比为1:7时,无泄漏现象,故径高比选择为1:7。

2.6.4 上样吸附体积分数的考察:称取生姜提取物1 g,共3份,分别用30%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:120(g:mL),滤过,滤液分别上3根径高比为1:7的大孔树脂柱,分别以10、5、2 mL/min 流速上样,分别用水洗脱至无色,然后用95%乙醇洗脱至无明显颜色,洗脱体积流量为2 mL/min,95%乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量浓度,计算得率,结果得率分别为2.48%、3.05%、3.97%,以

2 mL/min为宜。

2.6.5 乙醇洗脱体积分数的考察:称取生姜提取物1 g,共3份,分别用30%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:120(g:mL),滤过,滤液上分别上3根径高比为1:7的大孔树脂柱,以2 mL/min 体积流量上样,分别用水洗脱至无色,然后分别用75%、85%、95%乙醇洗脱至无明显颜色,洗脱体积流量为2 mL/min,乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量浓度,计算得率,分别为3.87%、3.86%、3.89%,得率相接近,为节省成本,以75%乙醇洗脱为宜。

2.6.6 水洗用量的考察:称取生姜提取物1 g,共3份,分别用30%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:120(g:mL),滤过,滤液上分别上3根径高比为1:7的大孔树脂柱,以2 mL/min 体积流量上样,分别用2、4、6 BV的水洗脱至无色,然后用75%乙醇洗脱至无明显颜色,洗脱体积流量为2 mL/min,乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量浓度,计算得率,分别为3.97%、4.03%、4.02%,在得率上相差不大,但其中用6 BV水洗脱后,乙醇洗脱液经HPLC检测,杂质峰较少,质量浓度较高。因此,采用6 BV的水洗脱。

2.6.7 洗脱速度的考察:称取生姜提取物1 g,共3份,分别用30%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:120(g:mL),滤过,滤液上分别上3根径高比为1:7的大孔树脂柱,以2 mL/min 体积流量上样,用6 BV的水洗脱至无色,然后用75%乙醇洗脱至无明显颜色,洗脱体积流量分别为10、5、2 mL/min,乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量浓度,计算得率,分别为3.17%、3.96%、3.96%,因此,采用5 mL/min 的体积流量洗脱。

2.6.8 乙醇用量的考察:称取生姜提取物1 g,共3份,分别用30%乙醇溶解,提取物与溶剂比为1:120(g:mL),滤过,滤液上分别上径高比为1:7的大孔树脂柱,以2 mL/min 体积流量上样,用6 BV的水洗脱至无色,再分别用2、4、6 BV 75%乙醇洗脱,洗脱体积流量分别为5 mL/min,乙醇洗脱液浓缩至干,测定6-姜酚的质量浓度,计算得率,分别为1.81%、3.35%、3.79%。因此,采用6 BV的75%乙醇洗脱。

2.7 生姜提取物纯化工艺的确定:生姜提取物加入30%乙醇充分溶解,提取物与溶剂比为1:120(g:mL),滤过,滤液按2 mL/min 体积流量上样,大孔树脂柱的径高比为1:7,先用6 BV的水洗脱,再用6 BV的75%乙醇洗脱,洗脱体积流量5 mL/min,75%乙醇洗脱液减压浓缩至干,即得生姜纯化物。

2.8 生姜提取物纯化工艺的验证:按上述确定的工

艺条件制备3批样品,测定6-姜酚的质量分数,结果表明,生姜粗提物经大孔吸附树脂纯化后,以粗提物计,6-姜酚平均得率为3.91%,以纯化物计,6-姜酚平均质量分数为30.24%。对药材、粗提物和纯化物中6-姜酚的质量分数进行比较,见表1。经大孔树脂纯化后,6-姜酚的质量分数有了明显提高,显示本纯化方法可行。

表1 生姜药材、粗提物和纯化物中的6-姜酚

Table 1 Determination of 6-gingerol in ginger, extracts, and purified preparation

批号	6-姜酚/%		
	药材	粗提物	纯化物
090701	0.112 3	5.61	30.60
090702	0.116 9	5.75	30.02
090703	0.118 9	5.58	30.11

3 讨论

本研究采用大孔吸附树脂法对生姜提取物的纯化工工艺进行考察,结果表明生姜提取物经过大孔树

脂纯化后,许多水溶性杂质被除去,大孔树脂能够有效地对生姜有效成分进行富集,使有效成分6-姜酚的质量分数明显增加。本工艺稳定,切实可行,为生姜制剂的研究提供参考。

参考文献:

- [1] 何文珊,严玉霞. 生姜的化学成分及生物活性研究概况[J]. 中药材,2001,24(5):376.
- [2] 路萍,赖炳森,梁萍,等. 姜油体外抗氧化活性和对细胞DNA损伤防护作用的实验研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(9):873-875.
- [3] 姜泉,夏斌. 6-姜酚对大鼠脑缺血再灌注炎症细胞因子的影响[J]. 咸宁学院学报:医学版,2007,21(4):281-283.
- [4] Hiroe K. Gingerol compounds from the rhizomes of *Zingiber officinale* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(5): 1793-1786.
- [5] Hiroe K. Cyclic diaryl heptanoids from rhizomes of *Zingiber officinale* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(1): 273-277.
- [6] Zarat R. Application of two rapid techniques of column chromatography to separate the pungent principles of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) [J]. *J Chromatogr*, 1992, 609(1/2): 407-413.

HPLC 法测定板蓝根颗粒中落叶松树脂醇-吡喃糖苷

安益强^{1,2},袁海建³,施峰¹,贾晓斌^{1*},宁青¹

(1. 江苏省中医药研究院 中药新型给药系统重点实验室 国家中医药管理局中药口服释药系统重点研究室,江苏 南京 210028; 2. 河南仲景药业股份有限公司,河南 郑州 450001; 3. 泰州职业技术学院,江苏 泰州 225300)

摘要:目的 测定板蓝根颗粒中落叶松树脂醇-吡喃糖苷,比较不同厂家板蓝根颗粒中落叶松树脂醇-吡喃糖苷的差异。方法 采用高效液相色谱法测定,Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈-水(11:89);体积流量为1.0 mL/min,检测波长为225 nm,进样量20 μL,柱温为30℃。结果 落叶松树脂醇-吡喃糖苷的线性范围为0.061 5~1.844 1 μg($r=0.999 5$),平均加样回收率为99.01%,RSD为1.99%。结论 建立的方法可以简便、准确地测定板蓝根颗粒中落叶松树脂醇-吡喃糖苷,重现性好;各厂家生产的板蓝根颗粒中落叶松树脂醇-吡喃糖苷的差别较大,有必要建立落叶松树脂醇-吡喃糖苷的定量控制方法。

关键词:板蓝根颗粒;落叶松树脂醇-吡喃糖苷;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)11-1752-03

板蓝根颗粒收录于《中国药典》2005年版,是我国传统治疗病毒性感冒及腮腺炎的理想药物,主要以十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的根,即板蓝根为原料制成的单味制剂^[1]。《中国药典》2005年版仅通过定性鉴别对板蓝根颗粒进行质量控制,无定量测定指标,难以严格控制药品质量,保证用药的安全、有效。板蓝根制剂的质量控制研究

多以靛蓝、靛玉红为指标^[1,2],而靛蓝、靛玉红为脂溶性成分,用水提取几乎提取不出,而实际生产中板蓝根多为水提取,提取出的量较小,况且靛蓝、靛玉红没有抗病毒活性,不适合作为板蓝根颗粒的控制指标。落叶松树脂醇-吡喃糖苷[clemastanin B, 7S, 8R, 8'R-(+)-落叶松树脂醇-4,4'-二-O-β-D-吡喃葡萄糖苷]具有显著的抗病毒活性^[3],且水溶性较好,

收稿日期:2009-01-29

基金项目:江苏省中医药领军人才资助项目(2006);苏州市科技计划资助项目(SSY0606)

作者简介:安益强(1982—),男,河南省开封人,就职于河南仲景药业股份有限公司质保部,研究方向为中药适宜新剂型。

Tel:(0371)67986771 E-mail: anyhe2006@yahoo.com.cn

* 通讯作者 贾晓斌 Tel:(025)85637809 E-mail:jxiaobin2005@hotmail.com