

参考文献:

- [1] 刘为萍, 刘素香, 唐慧珠, 等. 雷公藤研究新进展[J]. 中草药, 2010, 41(7): 1215-1218
- [2] 苏维广, 孟江. 雷公藤的临床应用[J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(10): 845-846
- [3] Kupchan S M. Triptolide and triptidiolide, novel antileukemic diterpenoid triepoxides from *Tripterygium wilfordii* [J]. *J Am Chem Soc*, 1972, 94: 7194
- [4] 张文娟, 涂胜豪, 胡永红, 等. 正常人外周血单个核细胞对雷公藤内酯醇的耐药特征和机制的研究[J]. 中草药, 2009, 40(4): 601-605
- [5] 郑俊民. 经皮给药新剂型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006
- [6] 甄小龙, 刘婷, 杨文婧, 等. 青藤碱水凝胶贴剂的微针经皮给药的研究[J]. 中草药, 2010, 41(6): 892-896
- [7] 林绥, 邓思珊, 阙慧卿, 等. 雷公藤中雷公藤甲素和雷公藤乙素的测定[J]. 中草药, 2008, 39(9): 1409-1411

赤芍中芍药苷的大孔吸附树脂纯化研究

刘帅英¹, 徐文峰², 李水福^{1*}

(1 丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000; 2 丽水市中医院 药剂科, 浙江 丽水 323000)

摘要:目的 考察不同型号大孔吸附树脂对赤芍中芍药苷的纯化效果, 为树脂药用技术应用和赤芍相关产品开发提供参考。方法 HPLC 法测定芍药苷; 采用动态吸附法, 考察大孔树脂的吸附、解吸性能和纯化效果。结果 D-101A 树脂综合性能最佳。结论 D-101A 树脂纯化赤芍中芍药苷效果较好, 可用于工业化生产。

关键词:赤芍; 芍药苷; 大孔吸附树脂

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)09-1480-03

大孔树脂是一类不带离子交换基团的多孔性交联聚合物, 具有大孔结构的高分子吸附剂。物理化学性质稳定, 比表面积大, 吸附容量大, 选择性好, 吸附速度快, 解吸条件温和; 对有机物选择性好, 不受无机盐类及其他强离子、低分子存在的影响, 有利于吸附; 品种多, 不同品种可吸附多种有机化合物; 流体阻力较小; 脱色能力高; 再生处理方便、使用周期长、宜于构成闭路循环、节省费用。同时还可减少产品的吸潮性, 有效去除重金属, 解决中药重金属超标的难题^[1-2]。目前主要用于中草药的分离纯化, 如对药材样品的预处理、对单味中药提取物的分离纯化及对中药复方提取物的分离纯化, 其中对中药提取物中苷类^[3]、黄酮^[4]、生物碱^[5]的分离效果良好, 有的已实现工业化生产, 具有广阔的发展前景。近年来, 赤芍在心血管及肝病治疗领域的广泛药理活性引起了普遍关注^[6]。虽有以芍药苷为指标, 采用大孔树脂吸附法富集纯化赤芍总苷的报道^[7], 但未见用不同型号大孔树脂吸附法比较纯化效果的研究。本实验以 HP-20、HPD-100、LS-45、D-101、D-101A 大孔吸附树脂对赤芍中有效成分进行富集纯化, 为树脂药用技术应用提供一定的参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱系统(G1311A 四元泵、G1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱、G1315A

二极管矩阵检测器)。LXJ-II 型离心机(上海医用分析仪器厂); AE-50 电子天平(瑞士); 玻璃色谱柱(15 cm × 1 cm、30 cm × 5 cm)。

芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110836-200520); 赤芍饮片由亳州京皖中药饮片厂提供, 经丽水市食品药品检验所李水福主任中药师鉴定为毛茛科植物川赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch 的干燥根; 重蒸馏水(自制), 甲醇(色谱纯), 其他试剂均为分析纯。大孔树脂: HP-20(上海摩速科学器材有限公司), HPD-100(沧州宝恩化工有限公司), D-101、D-101A(安徽三星树脂科技有限公司), LS-45(天津农药厂)。

2 方法与结果

2.1 大孔吸附树脂的预处理及含水率的测定: 分别取大孔树脂, 加乙醇溶胀 24 h, 索氏提取器提取 12 h 以除去树脂中残留的致孔剂等杂质。95% 乙醇湿法装柱, 然后用 95% 乙醇以 2 BV/h 通过树脂层, 洗至流出液加等量水不出现白色混浊为止。再用水以 2 BV/h 洗至无醇味。改用 5% 盐酸溶液以 4 BV/h 通过树脂层, 用水洗至中性, 换用 2% 氢氧化钠溶液以 4 BV/h 洗涤, 最后用水洗至 pH 值中性即可, 测定含水率, 结果 D-101、HP-20、HPD-100、LS-45、D-101A 树脂的含水率分别为 69.85%、61.01%、66.29%、68.24%、69.34%。

* 收稿日期: 2010-02-10

作者简介: 刘帅英(1982-), 女, 浙江丽水, 药师, 硕士, 从事药品检验和药物研究工作。

Tel: (0578) 2155869 E-mail: lus@conbagroup.com

2.2 样品液的制备: 称取芍药饮片粉碎成细粉, 10 倍药材量蒸馏水煮沸提取 3 次, 2 h/次, 合并提取液, 3 000 r/min 离心 25 min, 浓缩至相当于含药材量 4 g/mL。加入无水乙醇调至乙醇体积分数为 60%, 置冰箱静置隔夜后 3 000 r/min 离心 15 min, 合并上清液, 回收乙醇至无醇味, 蒸馏水调至样品液相当于含药材量 4 g/mL。精密吸取样品液 2 mL, 置于蒸发皿中, 水浴蒸干, 甲醇溶解并定容至 25 mL。精密吸取 5 mL 置干燥至恒定质量的蒸发皿内, 精密称定质量, 浓缩至适当质量浓度后真空干燥至恒定质量, 以干浸膏计算得芍药苷质量分数为 15.3%, 用蒸馏水调整样品液中芍药苷质量浓度至 3.403 2 mg/mL。

2.3 大孔吸附树脂对芍药苷动态吸附量的考察: 精密称取预处理后的 D-101、HP-20、HPD-100、LS-45、D-101A 大孔吸附树脂各 6.0 g, 以蒸馏水装柱, 放净水, 加入样品溶液各 50 mL, 控制体积流量 2 BV/h, 过柱液重吸附 1 次, 收集过柱液, 滤过, 精密吸取续滤液 5 mL, 水浴蒸干, 甲醇溶解定容于 50 mL 量瓶中, 测定芍药苷的质量浓度。以 4 BV 蒸馏水洗脱上述吸附饱和的树脂柱, 体积流量为 2 BV/h, 收集水洗液, 水浴蒸干, 甲醇溶解定容至 50 mL, 测定芍药苷的质量浓度, 计算最大吸附量、吸附率, 结果见表 1。可见大孔树脂动态吸附容量大小顺序为: D-101 > HPD-100 > D-101A > LS-45 > HP-20。

2.4 不同树脂动态解吸率考察: 分别以 50% 乙醇

表 1 芍药苷的动态吸附容量考察

Table 1 Dynamic adsorption capacity of paeoniflorin on resins

树脂型号	规格/mm	吸附前质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)	吸附后质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)	水洗量/mg	最大吸附量/ (mg · g ⁻¹)	吸附率/%
HPD-100	0.3~1.20	3.403 2	0.576 9	5.82	71.01	39.74
HP-20	0.5~1.20	3.403 2	0.818 2	6.05	54.50	31.03
D-101	0.2~0.84	3.403 2	0.320 1	15.01	79.31	45.12
D-101A	0.2~0.84	3.403 2	0.652 7	16.22	67.22	38.21
LS-45	0.4~1.25	3.403 2	0.930 0	16.25	59.20	33.05

溶液洗脱上述树脂柱, 洗脱体积流量为 2 BV/h, 收集洗脱液, 10 mL/份, 洗脱至洗脱液中检测不出芍药苷为止。精密吸取各洗脱液 5 mL, 水浴蒸干, 甲醇溶解定容至 50 mL, 测定芍药苷的质量浓度, 绘制动态洗脱曲线, 见图 1 和表 2。可见 HP-20 解吸率较好。

脱, 合并收集洗脱液 6 BV, 测定芍药苷质量浓度, 并将此洗脱液回收乙醇并真空干燥至恒定质量, 测定其固型物量, 计算芍药苷的质量分数, 结果见表 3。可见 D-101A 大孔树脂对芍药苷的纯化效果较好。

2.5 不同树脂对芍药苷纯化效果的考察: 取预处理后的 D-101、HP-20、HPD-100、LS-45、D-101A 大孔吸附树脂各 6.0 g, 精密称定, 以上述方法上样、洗

2.6 验证试验: 按照上述筛选出的最佳树脂进行验证, 3 次试验的洗脱率均在 92% 以上, 芍药苷的质量分数均在 40% 以上, 其平均质量分数达到了 80.11%。

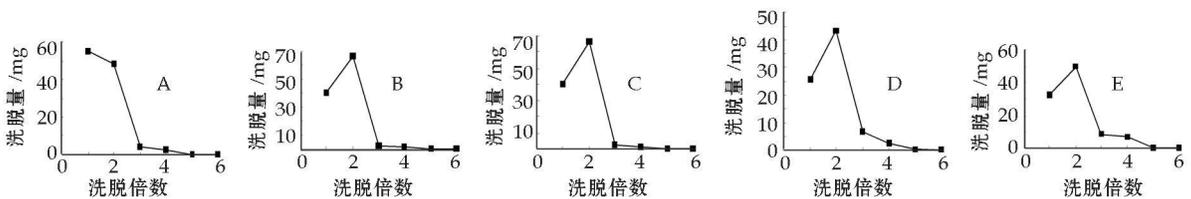


图 1 HPD-100(A)、HP-20(B)、D-101(C)、LS-45(D)和 D-101A(E)树脂对芍药苷的动态洗脱曲线

Fig 1 Dynamic elution curves of paeoniflorin on HPD-100 (A), HP-20 (B), D-101 (C), LS-45 (D), and D-101A (E)

表 2 不同树脂对芍药苷动态洗脱

Table 2 Dynamic elution of various resins on paeoniflorin

树脂型号	上样量/ mg	流出液/ mg	水洗量/ mg	醇洗总量/ mg	洗脱率/%
HPD-100	165.69	28.15	5.76	100.46	78.23
HP-20	165.69	3.86	5.01	156.82	94.65
D-101	165.69	10.02	10.07	92.12	63.27
LS-45	165.69	40.33	9.26	75.34	64.90
D-101A	165.69	2.43	9.32	153.94	92.91

表 3 不同树脂洗脱物中芍药苷的测定

Table 3 Determination of paeoniflorin in eluted material of various resins

树脂类型	洗脱物质量/g	芍药苷质量/mg	芍药苷质量分数/%
HPD-100	0.191 0	100.46	50.60
HP-20	0.306 3	156.82	45.58
D-101	0.220 9	92.12	42.70
D-101A	0.216 2	153.94	73.20
LS-45	0.235 4	75.34	30.01

3 讨论

大孔树脂型号众多,质量差异较大,无统一药用标准,合成原料及溶剂不易除去,应对树脂预处理,预处理试验表明经多次超声预处理后,树脂破碎,真空脱吸附法洗脱体积略小,洗脱液紫外吸收度下降较快,但洗脱倍数减少优势不显著,考虑到树脂应用过程中的可行性及其成本,本实验采用碱-醇预处理方法。

实验中的上柱液质量浓度、解吸乙醇体积分数、洗脱速度、洗脱体积等条件参考了相关文献报道^[8]以及预试验而确定。实验结果表明,HP-20 虽有极高的解吸率,但是其吸附量较低;D-101A 对芍药苷有较好的吸附、洗脱能力,是纯化芍药苷的良好吸附剂,经其纯化处理后,芍药苷质量分数由 15.3% 提

高到了 80.11%,并且验证实验表明其工艺参数稳定,有一定的应用价值。

参考文献:

- [1] 尹蓉莉,江靖,张淑儒,等.大孔吸附树脂纯化白芍总苷的工艺研究[J].时珍国医国药,2005,16(7):610-612
- [2] 张荣泉,王德仁.大孔吸附树脂在中药成分精制中的应用[J].中国药业,2004,13(5):72-73
- [3] 胡晨旭,魏峰,郭治昕,等.大孔吸附树脂分离纯化连翘酯苷 A 的工艺研究[J].中草药,2010,41(5):732-734
- [4] 刘刚,费艳,赵卉,等.大孔吸附树脂法纯化黄芩总黄酮工艺的研究[J].中草药,2010,41(1):58-60
- [5] 徐晓宏,张铁军,廖茂梁,等.大孔吸附树脂分离纯化黄连总生物碱的工艺研究[J].中草药,2007,38(8):1167-1170
- [6] 冀兰鑫,黄浩,李长志,等.赤芍药理作用的研究进展[J].药物评价研究,2010,33(3):233-236
- [7] 卢丹,窦志华,罗琳.芍药内酯苷、芍药苷双指标考察赤芍提取工艺[J].江苏中医药,2008,40(5):64-66
- [8] 廖正根,蒋且英,梁新丽,等.大孔吸附树脂富集白芍牡丹皮共有成分芍药苷的工艺研究[J].江西中医学院学报,2007,19(5):68-70

高效液相色谱法测定骨刺胶囊中土的宁

王或丽¹,戴德雄²,朱莹^{2*}

(1. 丽水市食品药品监督管理局,浙江 丽水 323000; 2. 浙江维康药业有限公司,浙江 丽水 323000)

摘要:目的 建立骨刺胶囊中土的宁的测定方法。方法 采用 HPLC 法测定, Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10% 磷酸调节 pH 值 2.8); 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 35 °C; 检测波长 260 nm; 进样量 20 μL。结果 土的宁在 0.118 8~1.782 0 μg 线性关系良好。平均回收率 96.34%, RSD 为 0.50%。结论 该方法简便,灵敏,专属性强,重复性好,可作为骨刺胶囊的质量控制方法。

关键词:骨刺胶囊; 土的宁; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)09-1482-02

骨刺胶囊为《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 17 册收录骨刺片改剂型品种,由昆布、骨碎补、党参、马钱子粉、桂枝、威灵仙、牡蛎(煅)等 15 味中药组成,具有散风邪,祛寒湿,舒筋活血,通络止痛的功效,用于颈椎、胸椎、腰椎、跟骨等骨关节增生性疾病,对风湿性、类风湿性关节炎有一定的疗效。马钱子粉的主要成分为土的宁,为有毒成分,因此需对其进行严格的限量。原标准采用薄层色谱法对土的宁进行测定。为了严格控制药品中土的宁,本实验采用 HPLC 法测定骨刺胶囊中土的宁,并对其量进行了严格的限定。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 液相色谱仪, Agilent 色谱工作站; BP211D 电子天平(感量 0.1 mg; 0.01 mg); USC 一

202 超声波清洗器。

土的宁对照品(批号 110705-200005)由中国药品生物制品检定所提供。骨刺胶囊(0.36 g/粒)由浙江维康药业有限公司提供。乙腈、甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1-2]: Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.01 mol/L 庚烷磺酸钠与 0.02 mol/L 磷酸二氢钾等量混合溶液(用 10% 磷酸调节 pH 值 2.8); 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 35 °C; 检测波长 260 nm; 进样量 20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 土的宁对照品易溶于三