

# 知母治疗湿热痹证有效物质组纯化工艺优选

杨欣欣, 王巍, 包永睿, 王帅, 蔡琳, 覃娟, 孟宪生\*

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600)

**[摘要]** **目的:** 优选知母治疗湿热痹证有效物质组纯化工艺参数。**方法:** 以芒果苷为指标, HPLC 测定含量, 对 8 种不同类型树脂进行考察, 优选最佳树脂型号及其纯化条件。**结果:** 确定最佳纯化条件为 HPD-400 型大孔树脂, 加 2 BV 提取液进行吸附, 分别用 3 BV 水, 6 BV 30% 乙醇洗脱。纯化后芒果苷纯度比原药液中含量提高 6.6 倍, 总固体物减少 87.3%。**结论:** 纯化后药液中多糖等杂质明显减少, 以芒果苷为代表的皂苷类成分得以较好的保留, 为知母治疗湿热痹证研究提供前期研究基础。

**[关键词]** 知母; 芒果苷; 大孔吸附树脂

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)08-0007-03

## Optimization of Purification Technology for Effective Material Group from *Anemarrhena asphodeloides* for Damp Arthralgia

YANG Xin-xin, WANG Wei, BAO Yong-rui, WANG Shuai, CAI Lin, QIN Juan, MENG Xian-sheng\*

(College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize purification technology parameters of effective material group from *Anemarrhena asphodeloides* for damp arthralgia in clinical. **Method:** With mangiferin as index, eight different types macroporous resins were investigated, optimum resin and its purification conditions were optimized. **Result:** Optimum macroporous resin was HPD-400 resin, and its purification conditions were as follows: added 2 BV extract liquid to adsorption, then eluted by 3 BV water, and eluted with 6 BV 30% ethanol. After purified, purity of mangiferin increased 6.6 times as original liquid, total solids reduced 87.3%. **Conclusion:** After purified, polysaccharide and other impurities reduced significantly in medicine liquid, mangiferin (as represent of saponins) was preserved better, this study provided preliminary research base for treatment of damp arthralgia with *A. asphodeloides*.

**[Key words]** *Anemarrhena asphodeloides*; mangiferin; macroporous resin

知母性苦寒而质不燥,既能清气分实热,又能清肾经虚火、清热不伤正、滋阴不恋邪。知母中含有甾体皂苷类、双苯吡酮类、木脂素类及微量元素等,在诸多治疗湿热痹证的中药方剂中都是必不可少的一味药材。经前期文献调研及药效学试验得知,知母

治疗湿热痹证有效物质组为皂苷类成分。本试验以芒果苷为含量检测指标,采用大孔吸附树脂法对知母皂苷类成分进行纯化,以期对知母治疗湿热痹证有效物质组的工业化生产提供可行的纯化工艺条件。

### 1 材料

知母药材购自大连开发区保健大药房,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为 *Anemarrhena asphodeloides* Bge。芒果苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111607-200402),乙腈为色谱纯,水为去离子水,HPD-100, HPD-300, HPD-400, HPD-450, HPD-600 型树脂(河北沧州宝恩化工有限公司)

**[收稿日期]** 20111114(003)

**[基金项目]** 重大专项“十一五”计划项目(2010ZX09401-304)

**[第一作者]** 杨欣欣, 硕士, 讲师, 从事药物分析及数据统计研究, Tel: 0411-87406496, E-mail: byr1026@163.com

**[通讯作者]** \* 孟宪生, 博士, 教授, 从事中药组分配伍、代谢组学及药品质量分析, Tel: 0411-87406496, E-mail: mxsvvy@126.com

司), AB-8, NKA-9, D101 型树脂(天津南开合成树脂有限公司)。1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent), CP225D 型 1/10 万电子分析天平(德国 Sartorius)。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件与系统适用性试验** AgilentTC-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.2% 冰醋酸(15:85), 检测波长 258 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 ℃。

**2.2 对照品溶液制备** 取芒果苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度 0.199 6 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.3 供试品溶液制备** 取知母药材约 50 g, 精密称取, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 10 倍量 50% 乙醇, 加热回流 3 次, 每次 2 h, 放冷, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩至无醇味, 放冷, 加水定容至 250 mL, 摇匀, 备用。

**2.4 静态吸附与解析试验** 将已处理好的 9 种树脂, 抽滤至干, 各称取 1 g 至 50 mL 锥形瓶中, 加入 0.2 g·mL<sup>-1</sup> 样品溶液 30 mL, 每 10 min 振摇 20 s, 持续 3 h, 静置 24 h 使其达到饱和吸附, 抽滤, 取滤液采用 HPLC 测定静态吸附前后溶液中芒果苷含量, 计算树脂吸附量和吸附率。吸附后树脂加入 50% 乙醇 25 mL 解析, 每 10 min 振摇 20 s, 使其充分解析, 持续 3 h, 静置 24 h, 抽滤, 取滤液测定解析前后溶液中芒果苷含量, 计算树脂解析率。结果见表 1。

表 1 不同型号树脂对芒果苷的静态吸附和静态解析试验

树脂型号	树脂吸附容量/mg·g <sup>-1</sup>	吸附率/%	解析率/%
HPD-100	23.33	63.63	43.62
HPD-300	23.37	64.11	70.31
HPD-400	22.86	62.88	78.22
HPD-450	21.86	59.88	41.94
HPD-600	21.72	59.55	59.81
AB-8	22.07	60.52	59.05
NKA-9	24.06	66.20	35.06
D-101	21.76	59.47	46.67

结果表明, 芒果苷吸附率最大的树脂型号为 NKA-9, 但其解析率很小; 芒果苷解析率最大的是 HPD-400, 其吸附率也比较高, 故确定 HPD-400 型树脂为知母治疗湿热痹证有效物质组纯化的最佳树脂。

### 2.5 动态吸附与洗脱试验

**2.5.1 泄漏曲线考察及洗脱剂液浓度考察** 将处

理好的 HPD-400 型树脂 10 mL, 加入 0.2 g·mL<sup>-1</sup> 的样品溶液, 上柱流速 2 BV·h<sup>-1</sup>, 收集流出液, 每份 10 mL, 共 8 份, 测定流出液中芒果苷的质量浓度分别为 0, 0.063, 0.123, 0.315, 0.630, 0.819, 0.895, 0.977 g·L<sup>-1</sup>, 知母提取液上样至第 3 份时流出液中芒果苷含量显著增大, 说明以芒果苷为代表的知母皂苷类成分出现明显泄漏, 故确定最大上样量为 2 BV, 即树脂与上柱量之比为 0.4 g·mL<sup>-1</sup>。

取样品溶液 10 mL 加于 10 mL HPD-400 型树脂柱上, 3 BV 水洗脱后, 分别用 3 BV 体积分数 30%, 50%, 70%, 90% 的乙醇洗脱, 流速 2 BV·h<sup>-1</sup>, 收集洗脱液, 将洗脱液定容至 50 mL 量瓶中, HPLC 测定洗脱液中芒果苷的质量浓度分别为 0.050, 0.412, 0.046, 0.003, 0.001 g·L<sup>-1</sup>。表明 30% 乙醇可将近全部芒果苷洗脱下来。

**2.5.2 洗脱剂用量考察** 取 10 mL 样品溶液加于 10 mL HPD-400 型树脂柱上, 30% 乙醇以 0.25 mL·min<sup>-1</sup> 的流速进行洗脱, 流出液每 10 mL 收集 1 管, 共 9 份, 结果洗脱液中芒果苷的质量浓度分别为 0.454, 0.395, 0.175, 0.120, 0.078, 0.056, 0.005, 0.002, 0.002 mg, 表明 6 倍量 30% 乙醇可将 92.4% 的芒果苷洗脱下来; 结合生产成本考虑, 确定 6 BV 30% 乙醇为以芒果苷为代表的知母皂苷类的洗脱剂用量。

**2.6 纯化效果** 取 10 mL HPD-400 型树脂, 湿法装柱, 加入 20 mL 知母提取液, 3 BV 水洗除杂, 6 BV 30% 乙醇进行洗脱, 分别将洗脱液和 20 mL 母液蒸干, 各称取 0.1 g 用甲醇定容至 50 mL, 测定含量。结果纯化后干膏中芒果苷的平均质量分数 61.46 mg·g<sup>-1</sup>, 原药液总固体物中芒果苷的平均质量分数 9.38 mg·g<sup>-1</sup>, 即纯化后芒果苷含量提高了 6.6 倍, 表明经树脂纯化后药液中多糖等杂质明显减少。

## 3 讨论

知母提取物中含有大量多糖等杂质, 采用大孔树脂吸附法可很好除去, 达到分离纯化知母皂苷类成的目的; 整个工艺操作简便可行, 为知母皂苷工业化生产提供可行的纯化工艺条件。

本试验以芒果苷作为含量检测指标, 优选最佳纯化工艺, 与前期试验采用紫外分光光度法以总皂苷作为含量检测指标实验结果一致, 因此该试验方法准确可靠, 可以作为知母治疗湿热痹证有效物质组的检测指标。

### [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:197.

# 中药复方双秦眼用凝胶体外释药性能

刘树扬<sup>1</sup>, 冯伟红<sup>2</sup>, 杜茂波<sup>2</sup>, 梁丽娜<sup>3</sup>, 葛克亚<sup>1</sup>, 刘淑芝<sup>2\*</sup>

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 中国中医科学院眼科医院, 北京 100040)

[摘要] 目的: 研究双秦眼用凝胶体外释放特性。方法: 以秦皮甲素为指标, 采用高效液相法进行含量测定; 采用改良的 Franz 扩散池法, 以半透膜为释放膜, 研究双秦眼用凝胶的体外释放特性。结果: 双秦眼用凝胶中秦皮甲素的释放以一级模型拟合较好, 拟合方程  $Y = -1.2588X - 0.8162 (r = 0.9992)$ 。结论: 双秦眼用凝胶释放为非 Fick 扩散。

[关键词] 双秦眼用凝胶; 释药性能; 高效液相色谱法; Franz 扩散池; 秦皮甲素

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)08-0009-03

## *In vitro* Releasing Property of Shuangqin Eye Gel

LIU Shu-yang<sup>1</sup>, FENG Wei-hong<sup>2</sup>, DU Mao-bo<sup>2</sup>, LIANG Li-na<sup>3</sup>, GE Ke-ya<sup>1</sup>, LIU Shu-zhi<sup>2\*</sup>

(1. College of Chinese Medicine, Capital Medicine University, Beijing 100069, China;  
2. Institute of Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China;  
3. Eye Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100040, China)

[Abstract] **Objective:** To study on *in vivo* releasing characteristics of Shuangqin eye gel. **Method:** The content of aesculin was determined by HPLC, which was used as index; Modified Franz diffusion cell method was applied to investigate *in vitro* release characteristics of Shuangqin eye gel with semi-permeable membrane as a barrier. **Result:** Aesculin in Shuangqin eye gel released fitted well with first order model, fitting equation of it:  $Y = -1.2588X - 0.8162 (r = 0.9992)$ . **Conclusion:** Release of Shuangqin eye gel was non-Fick diffusion.

[Key words] Shuangqin eye gel; release performance; HPLC; Franz diffusion cell; aesculin

眼用凝胶为半固体制剂, 可黏附在黏膜表面, 与滴眼液相比, 滞留时间较长, 可增加药物在眼部的吸收, 使药物缓慢由结膜传递至鼻腔, 减少因全身吸收引起的毒副作用<sup>[1]</sup>。中药复方双秦眼用凝胶为医

院制剂, 由秦皮、野菊花等组成, 动物试验及 269 例临床应用均证实其对单纯疱疹病毒角膜炎具有良好疗效。本论文主要对复方双秦眼用凝胶的体外释药性能进行研究, 以探索其体外释药规律。

[收稿日期] 20111201(002)

[基金项目] 重大新药创制科技专项(20092X09301-005)

[第一作者] 刘树扬, 在读硕士, 从事中药新剂型研究, Tel: 15910927588, E-mail: cpulsy@163.com

[通讯作者] \* 刘淑芝, 研究员, 博士生导师, 从事中药新剂型与质量标准研究, Tel: 010-84043227, E-mail: liushuzhi2004@sina.com

[2] 王颖异, 郭宝林, 张立军. 知母化学成分的药理研究进展[J]. 科技导报, 2010, 28(12): 110.

[3] Shin J S, Noh Y S, Kim D H, et al. Mangiferin isolated from the rhizome of *Anemarrhena asphodeloides* inhibits the LPS-induced nitric oxide and prostaglandin E2 via the NF- $\kappa$ B inactivation in inflammatory macrophages[J]. Nat Prod Sci, 2008, 14(3): 206.

[4] 翟红莉, 孙连娜, 来威, 等. HPLC 法测定知母药材及其

相关制剂中芒果苷和新芒果苷的含量[J]. 解放军药学学报, 2007, 23(6): 99.

[5] 孙国祥, 纪宏, 于秀明, 等. 知母 HPLC 指纹图谱的 4 种相似度评估[J]. 中成药, 2008, 30(1): 1.

[6] 王帅, 孟宪生, 包永睿, 等. 树脂联用富集与纯化柴胡总皂苷[J]. 医药导报, 2011, 30(4): 423.

[责任编辑 仝燕]