

吸附树脂对麻黄附子细辛汤中麻黄碱的吸附与解吸性能

容蓉^{*}, 王小平, 蒋海强, 杨勇, 巩丽丽
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 以麻黄碱为指标, 通过静态吸附及解吸附、动态解吸附试验考察了 4 种不同极性的大孔吸附树脂纯化麻黄附子细辛汤的效果。采用 HPLC 测定麻黄碱的质量浓度。结果表明, D-101 型树脂对麻黄碱的静态吸附饱和时间为 1 h, 饱和吸附量为 $999.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 静态解吸率 90.5%, 动态解吸率 94.1%, 适于该复方提取液的纯化。

[关键词] 麻黄附子细辛汤; 麻黄碱; 大孔吸附树脂; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0017-03

Macroporous Adsorption Resin for Extracting Ephedrine in Mahuang Fuzi Xixin Tang

RONG Rong^{*}, WANG Xiao-ping, JIANG Hai-qiang, YANG Yong, GONG Li-li
(College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] Objective: Four different macroporous resins of D101, AB-8, DM130 and ADS-7 were studied by the test of capability of static adsorption, static desorption and dynamic desorption according to the index of ephedrine. The concentration of ephedrine was determined by HPLC. Macroporous resin of D101 was the optimal absorbent for purifying Mahuang Fuzi Xixinting with static saturation time of 1 hour, static absorption capability of $999.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, static desorption rate of 90.5% and dynamic desorption rate of 94.1%.

[Key words] Mahuang Fuzi Xixin Tang; ephedrine; macroporous resin; HPLC

麻黄附子细辛汤出自《伤寒论》, 由麻黄、细辛、炮附子 3 味药组成, 现代药理研究表明, 该方具有改善心血管、治疗呼吸系统疾病的作用^[1]。大孔吸附树脂具有物理化学稳定性高、选择性独特、解析条件温和、再生简便等诸多优点^[2], 通过从中药及其复方提取液中选择性地吸附有效部位, 可达到分离、富集中药有效部位(群)或有效成分(群)的目的, 改变传统中药制剂的“粗、黑、大”现象^[3-4]。麻黄碱是麻黄附子细辛汤中主要有效成分之一, 有类似肾上腺素的交感神经兴奋作用^[5]。采用大孔树脂分离提取麻黄碱已有文献报道^[6], 但仅限于对麻黄单味药材提

取液的研究, 且采用含强酸(盐酸)的流动相洗脱。本试验以麻黄碱含量为指标, 采用 HPLC 测定, 考察了 4 种不同极性的树脂在乙醇-水体系中, 对麻黄附子细辛汤水提液中麻黄碱的吸附及解吸特性, 为纯化麻黄附子细辛汤水提液、优选其有效部位提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(包括 G1315B 型 DAD 检测器, G1311A 型四元泵, G1329A 型自动进样器, 美国 Agilent 公司)。

麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎, 产地内蒙古; 附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx 子根的加工品, 产地四川; 细辛为马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag. 的干燥根及根茎, 产地吉林。以上药材均经山东中医药大学李峰教授鉴定, 符合《中国药典》2005 年版相

[收稿日期] 20100917(004)

[基金项目] 山东省高等学校科技计划项目(J10LF20)

[通讯作者] * 容蓉, 副教授, 从事中药复方活性成分与质量控制研究, Tel: 0531-89628593, E-mail: r.rong@sducm.edu.cn

关项下标准。D101, AB-8, DM130, ADS-7 型树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司, 粒径均为 0.3 ~ 1.25 mm); 麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所, 含量 100%, 批号 0773-9910); 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 麻黄附子细辛汤水提液的制备 分别称取麻黄 200 g、附子 300 g、细辛 100 g, 混合后加 16 倍量水, 90 ℃ 水浴提取 3 次, 每次 1 h, 过滤, 合并提取液, 浓缩至 2 L, 得麻黄附子细辛汤水提液(Mahuang Fuzi Xixintang MFXT)。

2.2 麻黄碱含量的 HPLC 测定^[7]

2.2.1 色谱条件 色谱柱 Zorbax SB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 乙腈-0.2% 磷酸水溶液(4:96); 柱温 30 ℃; 检测波长 210 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 进样量 20 μL。

2.2.2 麻黄碱含量测定 标准曲线的制备: 精密称取麻黄碱对照品 10 mg 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 得麻黄碱对照品贮备液。分别精密量取 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2, 3 mL, 各置 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 制成系列对照品溶液。分别进样测定, 各样品重复 3 次。以麻黄碱峰面积(A)对质量浓度(C)线性回归, 得回归方程 $A = 7.64 \times 10^4 C + 45.69$, $r = 0.9991$ 。表明麻黄碱在 4 ~ 60 mg·L⁻¹ 线性关系良好。

取 2.1 项下 MFXT 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用流动相溶解并定容, 得供试品溶液, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液按 2.2.1 项下色谱条件测定, 典型色谱图见图 1。测得 MFXT 中麻黄碱的质量浓度为 0.13 g·L⁻¹。

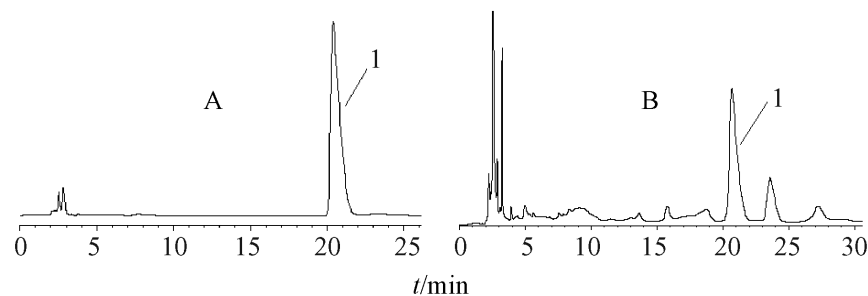


图 1 麻黄附子细辛汤中麻黄碱含量测定 HPLC
A. 麻黄碱对照品; B. 供试品; 1. 麻黄碱

2.3 4 种树脂对麻黄碱的静态吸附性能的考察^[8]

精密称取上述 4 种树脂各 5g, 分别加入 MFXT 50 mL。25 ℃ 恒温水浴振摇, 于 10, 20, 30, 45 min 和 1, 2, 6, 24 h 吸取上清液 500 μL, 置 5 mL 量瓶中, 用流动相定容, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液按 2.2.1 项下色谱条件测定麻黄碱的含量。按下式计算每克树脂中麻黄碱的吸附量, 结果见表 1。

$$Q = \frac{(C_1 - C_2) \times V}{m}$$

式中: Q 为吸附量; C₁ 为溶液中麻黄碱的起始质量浓度; C₂ 为溶液中残余麻黄碱的质量浓度; V 为溶液体积; m 为树脂用量。

表 1 4 种树脂不同时间对麻黄碱的静态吸附情况($\bar{x} \pm s, n = 3$)

树脂类型	吸附量 / μg·g ⁻¹							
	5 min	10 min	30 min	45 min	1 h	2 h	6 h	24 h
D101	764.3 ± 2.8	867.6 ± 4.5	875.2 ± 3.7	894.1 ± 4.1	999.5 ± 3.7	975.6 ± 5.0	946.1 ± 3.2	947.3 ± 6.3
AB-8	697.6 ± 3.2	785.3 ± 2.7	868.5 ± 4.2	949.6 ± 6.5	832.2 ± 5.3	941.5 ± 6.1	992.1 ± 4.0	984.7 ± 5.0
DM130	744.2 ± 4.3	753.6 ± 5.1	784.8 ± 2.9	861.3 ± 4.2	838.8 ± 5.1	826.0 ± 6.2	850.3 ± 5.1	715.0 ± 4.8
ADS-7	66.5 ± 2.3	321.3 ± 4.8	254.8 ± 5.1	347.6 ± 3.0	321.8 ± 4.1	432.3 ± 5.3	473.5 ± 7.2	304.4 ± 7.3

结果表明, D101 和 AB-8 型树脂对麻黄碱的静态吸附量较大, DM130 次之, ADS-7 的吸附能力较低; 从吸附饱和和所需时间来看, DM130 达峰时间最短(45 min), D101 为 1 h, AB-8 和 ADS-7 为 6 h。故从对麻黄碱的吸附量和吸附饱和所需时间综合考虑, D101 型树脂的静态吸附效果较理想。

2.4 4 种树脂对麻黄碱的静态解吸附能力的考察^[9] 精密称取 4 种树脂各 5 g, 照 2.3 项下方法进行静态吸附, 分别于 1 h, 6 h, 45 min, 6 h 取出达到吸附饱和的 D101, AB-8, DM130, ADS-7 树脂, 并测定以上 4 种树脂对麻黄碱的吸附量。将树脂置滤纸上

吸干药液, 分别加入 95% 乙醇 50 mL 作为洗脱液, 置 25 ℃ 水浴振摇 24 h 后, 移取洗脱液 10 mL, 用 60 ℃ 水浴蒸至近干。剩余物用流动相溶解, 转移并定容至 10 mL 量瓶中。经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液测定洗脱液中麻黄碱的质量浓度, 计算出各洗脱液中麻黄碱含量, 并结合各树脂中的麻黄碱吸附量, 按下式计算静态解吸附率 D₁。结果表明, D101, AB-8, DM130, ADS-7 树脂对麻黄碱的静态解吸附率分别为 (90.5 ± 1.9)%, (86.1 ± 2.4)%, (81.4 ± 2.6)%, (70.3 ± 2.1)% (n = 3)。可见, D101 树脂的静态解吸附效果优于其他树脂。

$$D_1 = \frac{C_d \times V_d}{(C_1 - C_2) \times V} \times 100\%$$

式中: C_d 为脱液中麻黄碱的质量浓度; V_d 为脱液体积; C_1 为溶液中麻黄碱的起始质量浓度; C_2 为溶液中残余麻黄碱的质量浓度; V 为溶液体积。

2.5 4种树脂对麻黄碱的动态解吸附试验

2.5.1 树脂的预处理及装柱 树脂用 95% 乙醇浸泡 24 h, 湿法装柱 (2 cm × 10 cm), 用 95% 乙醇洗脱至流出液与水的 1:5 混合液不呈白色混浊为止。蒸馏水洗至无醇味, 用去离子水浸泡待用。

2.5.2 动态解吸附试验^[9] 取 MFXT 各 1 mL 分别上 4 种不同类型树脂柱, 饱和 1 h 后用 95% 乙醇 100 mL 洗脱, 控制流速约为 1.0 mL·min⁻¹。收集洗脱液, 在 60 ℃ 水浴中蒸至近干, 用流动相溶解, 转移并定容至 10 mL 量瓶中。经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液测定洗脱液中麻黄碱的含量。按下式计算麻黄碱的动态解吸附率 D_2 。结果表明, D101, AB-8, DM130, ADS-7 树脂对麻黄碱的动态解吸附率分别为 (94.1 ± 2.1)%, (93.4 ± 2.7)%, (88.5 ± 2.5)%, (87.1 ± 3.1)% ($n=3$)。可见, D101 和 AB-8 型树脂的动态解吸附效果较好。

$$D_2 = \frac{C_0 \times V_0}{C \times V} \times 100\% \quad (3)$$

式中, C_0 为洗脱液中麻黄碱的质量浓度; V_0 为洗脱液的体积; C 为 MFXT 中麻黄碱的质量浓度 (0.13 g·L⁻¹); V 为提取液的上样体积。

从静态吸附量、静态及动态解吸附率的试验结果来看, D101, AB-8 树脂对麻黄碱都具有较好的吸附性能; 而 D101 树脂的静态吸附饱和所需时间较短, 吸附、解吸附速度较快, 较适于 MFXT 中麻黄碱的富集纯化, 故用其继续进行试验。

2.6 不同体积分数乙醇对 D101 树脂吸附的麻黄碱动态解吸附能力考察 取 MFXT 1 mL 上 D101 型树脂柱, 依次用去离子水, 30%, 50%, 70%, 95% 的乙醇各 100 mL 进行梯度洗脱, 控制流速约为 1.0 mL·min⁻¹。分别收集各个梯度的洗脱液, 用 60 ℃ 水浴蒸至近干, 剩余物流动相溶解, 转移并定容至 10 mL 量瓶中。经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液按 2.2.1 项下色谱条件测定洗脱液中麻黄碱的含量, 计算各个梯度洗脱液对麻黄碱的动态解吸附率, 结果分别为 (4.2 ± 0.1)%, (61.3 ± 1.9)%, (6.3 ± 0.2)%, (5.6 ± 0.1)%, (1.4 ± 0.1)% ($\bar{x} \pm s, n=3$)。可见, 麻黄碱主要集中在 30% 乙醇洗脱部位。

3 小结

试验表明, 4 种树脂对 MFXT 中麻黄碱吸附分离的特点不一样。在静态吸附试验中, 树脂 D101, AB-8, DM130 对麻黄碱都有较大的吸附量。D101 树脂静态吸附 1 h 后, 吸附量随着时间的增加而降低。AB-8 对麻黄碱的静态吸附速度较慢, 在 45 min 出现一个小峰值, 但直到 6 h 后对麻黄碱的吸附量才达到饱和。DM130 在 45 min 时对麻黄碱的吸附量达到饱和, 但吸附量比上述 2 种树脂低。

梯度洗脱的总解吸率 (78.8%) 与 95% 乙醇洗脱的结果 (94.1%) 相差较大, 分析原因可能是在梯度洗脱时, 首先采用洗脱能力很弱的去离子水进行洗脱, 延长了麻黄碱在色谱柱上的保留时间, 造成了部分不可逆现象。另外, 在梯度洗脱过程中, 洗脱液的分步处理, 会对其中的麻黄碱造成少量的损失, 故使得总洗脱效率较之于 95% 乙醇直接洗脱的效率低。

[参考文献]

- [1] 段小毛, 李茯梅, 卢新华, 等. 麻黄细辛附子汤镇痛药理作用研究[J]. 中医药学刊, 2006, 24(3): 513.
- [2] 刘斌, 石任兵. 大孔吸附树脂吸附分离技术在中药复方纯化分离中的应用[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2003, 5(5): 39.
- [3] 马盼香, 金华, 李雅玲. 大孔吸附树脂在天然药物有效成分提取分离中的应用进展[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(6): 101.
- [4] 陈强. 大孔吸附树脂在中药新药制备工艺研究中的应用[J]. 福建中医学院学报, 2009, 19(2): 67.
- [5] 丁丽丽, 施善松, 崔健, 等. 麻黄化学成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1661.
- [6] 任海戎, 查丽杭, 秦川, 等. 大孔树脂分离提取麻黄碱的研究[J]. 离子交换与吸附, 2002, 18(2): 97.
- [7] 葛斌, 罗燕梅, 许爱霞, 等. HPLC 测定麻黄药材中麻黄碱与伪麻黄碱的含量[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(3): 173.
- [8] Jia G, Lu X. Enrichment and purification of madecassoside and asiaticoside from *Centella asiatica* extracts with macroporous resins[J]. J Chromatogr A, 2008, 1193(1/2): 136.
- [9] 李坤平, 潘天玲, 高崇凯, 等. 大孔吸附树脂富集纯化布渣叶总黄酮的研究[J]. 中药材, 2009, 32(4): 601.

[责任编辑 仝燕]