

- metabolites in mouse brain tissue [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 1995, 18(6): 64.
- [4] Zhao S Z. Antiepileptic effect of  $\alpha$ -asarone and possible mechanisms [J]. *J Chin Integ Med* (中西医结合学报), 1984, 4(8): 490.
- [5] Nanjing Pharmaceutical University. Preliminary research of volatile oil of *Acorus gramineus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1978, 9(6): 1.
- [6] Hu J G, Gu J, Wang Z W. Experimental study on *Acorus gramineus* and its effective components effected central nervous system [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1999, 15(3): 19.
- [7] Li L, He Y P, Jiang H L, et al. Research on proportions of *Acorus Tatarinowii* Schott combined with borneol and its protective effect on cerebral neurons [J]. *Tradit Chin Drug Res Chin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2003, 14(5): 19-21.
- [8] Zhou D X. Promoting effect of *Acorus gramineus* on study and memory of mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1992, 23(8): 417.
- [9] Zeng G S. Effect analysis on 41 cases of Gansong Tang treat epilepsy [J]. *Zhejiang J Tradit Chin Med* (浙江中医杂志), 1981, 16(11): 521.
- [10] Shan S J, Xu Q P. Effect of Yizhi Jiaonang on learning and memory in mice and possible mechanisms in voled in its actions [J]. *Pharmacol and Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1994, 10(1): 13.
- [11] Liu J Q. 30 Cases of treatment of Alzheimer's disease by Jiawei Siqu Tang [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med* (陕西中医), 1996, 17(3): 112.
- [12] Xie M C, Chu J J, Peng W H, et al. Effects of Dingzhi Pills on the scopolancine induced impairment of passive avoidance in rats [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21(8): 490.
- [13] Bel G. Chromosome damage in human lymphocytes induced by  $\beta$ -asarone [J]. *Planta Med*, 1987, 53(3): 251.

## 大孔吸附树脂技术在中药中应用现存问题分析与探讨

刘鄂湖<sup>1,2</sup>, 鄢 丹<sup>1</sup>, 蔡光明<sup>1\*</sup>, 肖小河<sup>1</sup>, 夏新华<sup>2</sup>

(1. 解放军 302 医院全军中药研究所, 北京 100039; 2. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410007)

大孔树脂是 20 世纪 70 年代末发展起来的一类有较好吸附性能的有机高聚物吸附剂, 最早用于废水处理、化学工业、分析化学、临床检定和治疗等领域<sup>[1-3]</sup>。近年来大孔吸附树脂在天然药物化学成分的提取、分离纯化、制剂工艺改革、制剂质量分析等方面有了较广泛的应用研究, 并明确显示出其独特的作用。利用大孔吸附树脂的多孔结构和选择性吸附功能可从中药提取液中分离精制有效成分或有效部位, 最大限度地去除杂质, 与中药制剂传统工艺比较, 应用大孔树脂吸附技术所得提取物体积小、不吸潮、易制成外型美观的各种剂型, 特别适用于颗粒剂、胶囊剂和片剂, 改变了传统中药制剂的“粗、黑、大”现象, 有利于中药制剂剂型的升级换代, 促进了中药现代化研究的发展。

虽然大孔吸附树脂在中药制剂领域的应用已取得一定的进展, 但是由于树脂纯化技术的应用时间相对较短、用来制备中药复方制剂则刚刚起步, 相关基础研究较薄弱等原因, 实际应用中还存在一些问题, 因此, 它的应用还有一个不断发展完善的过程。但是近年来大孔吸附树脂在纯化中药成分时已成为“超级”热点, 一些科研工作者更是对其大加推崇, 在考虑分离纯化方法时, 大孔树脂往往成为其首选甚至必选。本文就近年来大孔树脂在中药成分精制纯化中应用过程中存在的问题进行一些探讨。

### 1 树脂的型号和质量

采用大孔吸附树脂精制中药的关键在于保证应用的安全性、有效性、稳定性及可控性。应用大孔树脂分离、纯化中药提取液, 首先就应针对提取液中主要成分的理化性质选择合格的树脂。据不完全统计, 目前国内生产的用于分离、纯化

中药提取液的树脂有 D-101 型、DA201 型、SIP 系列、X-5 型、AB-8 型、GDX104 型、LD605 型、LD601 型、CAD-40 型、DM-130 型、R-A 型、CHA-111 型、WLD 型(混合型)、H107 型、NKA-9 型等, 这些树脂同国外产的树脂(美国罗门-哈斯公司的 XAD 系列、日本三菱化成工业株式会社的 HP 系列等)相比, 生产厂家和树脂型号显得比较混乱, 就以目前最常用的 D-101 型树脂来说, 供应厂家就有天津树脂厂、天津骨胶厂、天津农药厂(1989 年兼并天津制胶厂, 现转制为天津农药股份有限公司)、上海试剂厂、天津市试剂厂、天津南开大学化工厂等, 但缺乏统一的标准, 厂家提供给用户的有关树脂性能(极性、比表面积、孔径、孔度等)的参数参差不齐, 缺乏必要的指导, 使得树脂的质量难以得到保证, 给使用者在实际应用中带来一定的盲目性, 从而直接导致纯化出现不理想的结果。而大孔吸附树脂是吸附性和筛选性原理相结合的分选材料, 树脂的孔径、孔度、表面积及极性等不同, 性质迥异, 因此使用时必须根据实际情况加以选择。各方应共同努力规范树脂的生产供应市场, 以统一树脂的质量, 为广大研究者们提供质量优良的吸附剂。

### 2 树脂的安全性

树脂的组成与结构既决定树脂的吸附性能, 也可从中了解可能存在的有害残留物。市售的大孔吸附树脂一般含未聚合的单体、致孔剂(多为长碳链的脂肪醇类)、引发剂、分散剂和防腐剂等。这些物质混入制剂中对人体大都会产生一定的危害, 因此使用前必须经过处理将其除去。根据国家食品药品监督管理局有关大孔树脂安全性的规定, 对已使用的同牌号苯乙烯型大孔吸附树脂, 可免做动物安全性实验, 但需根据

收稿日期: 2006-08-31

作者简介: 刘鄂湖(1981—), 男, 药剂学硕士, 主要从事中药新药研究与开发工作。 Tel: (010)66933324 E-mail: lehabc@sina.com

\* 通讯作者 蔡光明 Tel: (010)66933323 E-mail: cgm1004@vip.sina.com

树脂残留物可能产生的毒性反应,在新药的毒理学实验中适当延长观察周期,增加观察项目,如考察对神经系统、骨髓等的影响。对从未做过动物安全性实验,第一次用于新药申报的大孔树脂,应以定型产品进行动物安全性实验,提供安全性研究资料,以说明应用该树脂的安全性。中药注射剂采用大孔树脂纯化应慎重,需提供充足的依据,确保经树脂纯化药物的安全性和有效性。注射剂纯化用大孔树脂,应选用同类树脂中有有机残留物量最低者,或采用注射剂专用树脂<sup>[4]</sup>。

目前各种型号的大孔树脂还基本没有药用标准,也没有药用标准的预处理方法,而在一般研究时,许多科研机构根本就没有去考虑大孔树脂有害物质残留问题。目前,文献报道的处理方法对处理的时间和处理程度的判断含糊不一,对预处理结果缺乏充分可信的考察指标,尤其是安全性指标。常见的树脂前处理用溶剂有乙醇、甲醇、酸碱、丙酮等。前处理工艺合格的指标多为“醇洗脱液加水不显浑浊”,也有以洗脱液蒸干后无残留物为指标。事实上,树脂处理至洗脱液加水不显浑浊止,仍有一些树脂残留物未洗净。考虑到临床用药对制剂质量的严格要求,建议树脂生产厂在允许的情况下,为用户提供生产树脂所用的各种试剂的理化参数及其相关的检测手段,同时应提供前处理的具体方法与目的,建立处理合格与否的评价指标与方法,以确保无有害物质引入到分离纯化后的成品中。

用大孔树脂纯化技术制备的药物,应建立成品中树脂残留物及裂解产物的检测方法,制订合理的限量,并列入质量标准正文。目前合格的检测方法可谓少之又少,但文献报道的气相色谱检测法得到了专家的认可,如袁海龙等<sup>[5]</sup>用毛细管气相色谱法,配以预空进样对 D-101 大孔树脂可能带来的 7 种残留物进行测定取得了很好的效果;陆宇照等<sup>[6]</sup>用气质联用及气相色谱法研究大孔树脂苯系列残留物,表明以醇处理及酸碱处理的 D-101 型大孔树脂提取中药是安全可靠的。

### 3 树脂的适用性

由于大孔吸附树脂的固有特性,它能富集、分离不同母核结构的药物,可用于单一或复方的分离与纯化。但实际上,大孔吸附树脂型号很多,性能用途各异,不同类型树脂对同一成分有不同程度的吸附,同一型号树脂对多种成分也有不同程度的吸附。而中药成分又极其复杂,尤其是复方中药,因此必须根据功能主治明确其有效成分类别和性质,选择适宜的树脂。

根据“类似物易吸附类似物”的原则,即一般非极性大孔树脂适用于从极性溶液(如水)中吸附非极性有机物;而极性大孔树脂适用于从非极性溶液中吸附极性溶质;中等极性吸附剂,不但能够从非水介质中吸附极性物质,同时它们具有一定的疏水性,也能从极性溶液中吸附非极性物质,按照这个原则,脂溶性成分(如甾体、二萜、三萜、黄酮、木脂素、香豆素、生物碱等)选择非极性或弱极性树脂,而皂苷、生物碱苷、黄酮苷、蒽醌苷、木脂素苷、香豆素苷、环烯醚萜苷等宜选择弱极性或极性树脂。但是在实际应用过程当中,分离极性大的物质如皂苷类成分,往往用极性树脂分离效果反而不如用

非极性或弱极性的树脂,而且极性大的树脂容易将一些水溶性的多糖、氨基酸等杂质一起吸附,增加后处理工作的难度。因此这个原则不一定完全适用于大孔树脂工艺,在应用大孔树脂分离纯化时,切忌生搬硬套,而应考察不同型号树脂对不同成分的吸附性能和适用性。

应用大孔吸附树脂除去水溶性杂质取得了一些成功的经验,但必须明确,同任何工艺都不可能解决中药提取的所有问题一样,树脂吸附法也有它的局限性,如大孔树脂对各类成分的吸附特征一般不同,吸附量差别很大,很难用一种树脂将所有有效成分分离出来;中药中某些多糖类有效成分和多肽类有效成分用大孔树脂吸附技术精制效果不好等。应在中医药理论指导下,针对具体品种,提供采用树脂分离纯化并证明其效果的研究资料和数据,如单方中被纯化物的保留率,复方则应有具代表性的定量、定性指标或药效学指标,说明采用树脂纯化工艺的可行性、可靠性与合理性。若采用组合树脂纯化工艺,则应说明组合树脂种类与组合方式,并提供足以说明采用组合树脂必要性的实验数据。

### 4 树脂吸附及洗脱工艺

应用大孔吸附树脂分离纯化中药成分时,上样液必须用水溶解后滤过或者离心处理,否则影响吸附甚至引起树脂柱的堵塞。因此很多极性较小的成分在水溶液中析出而弃去,不溶性成分是不是可以舍去,几乎所有的研究都未曾去注意这个问题。笔者认为,不溶性成分是否全部为无效成分有必要做进一步探讨,最好结合药理确定。

近年来,大孔树脂吸附技术在中药领域内的应用日益增多,其精制中药复方的优势也越来越得到人们的重视。然而由于中药复方中成分较复杂,其有效成分可能为一系列的多个化合物,包括组成复方的单味药的有效成分以及复方提取可能形成的复合物。大孔树脂对不同成分的吸附选择性大不相同,加上不同成分间吸附竞争的存在,使得实际吸附状况十分复杂,经过树脂精制后,复方中有效成分的保留率也不同,会使实际上各药味间的用量比例产生改变。如侯世祥等<sup>[17]</sup>用大孔树脂纯化一中药复方,在相同纯化工艺条件下,复方中小檗碱、大黄蒽醌保留率为 80%~85%,而单味药材几乎达 100%。复方与单方中小檗碱在 LD605 树脂中的比上柱量:复方为 0.877 mg/g,单方为 21.12 mg/g;比吸附量:复方为 0.807 mg/g,单方为 19.66 mg/g,复方比吸附量仅为单方的 1/24。故中药复方运用大孔树脂精制,首先要明确纯化目的,充分考虑采用树脂纯化的必要性与方法的合理性,研究解决其有效评价这一基础问题。

用树脂分离纯化复方是发展趋势,但因中药成分多,一个成分代表不了该方的全部作用,所以中药复方混合上柱纯化者,应做相应的、足以能说明纯化效果的研究,提供出详尽的实验资料。一般仅用一个指标,一种洗脱剂是不能说明其纯化效果的,要根据处方组成尽可能以每味药的主要有效成分作为指标监控各吸附分离过程,在确有困难时可配合其他理化指标。在理化指标难以保证其“质量”时,还应配合主要药效学对比实验,以证明上柱前与洗脱后药物的“等效性”。

## 5 树脂的稳定性与再生

大孔吸附树脂是有机高分子聚合物,在使用过程中会因为某些成分的不可逆吸附而老化,虽经再生处理,吸附能力也会降低,从而影响其对有效成分的吸附、分离,并且在一定条件下或长期的使用过程中,树脂还可能会发生降解而进入药液中产生二次污染,严重影响产品的安全性。目前,由于大多是小批量的处理样品和短时间的使用树脂,所以未见有此类报道。在实际操作中若不注意,不仅造成生产上的浪费,更重要的是影响制剂产品的质量。“节约资源,保护环境”是当今社会的一大主题,目前,大多失去交换能力或化学降解的树脂被随意丢弃,不仅造成资源浪费,而且会导致环境污染,也是树脂大批量应用于中药制剂中亟需解决的课题。一般情况下,纯化同一种药物的大孔树脂,当其吸附量下降30%以上时,则应视为不宜再用。笔者认为应加强对大孔树脂的再利用研究,研究者应提供再生工艺的方法与目的,建立评价再生树脂是否符合要求的指标与方法,说明树脂经多次反复再生后其纯化效果的一致性。

## 6 结语与建议

不同的纯化方法具有不同的特点,在中药提取液的精制过程中的使用也不应盲目,因为中药配方各异,成分复杂,不同的纯化方法对不同药物有效成分的影响也不同,其用法用量、纯化工艺条件对成品质量的影响也很大,所以应根据临床治疗的需要、处方中各药物的化学性质及所制备的剂型的要求,比较选择不同的分离和纯化方法。一种新技术在中药制剂中应用的成功与否,产品疗效是其最终的评价。大孔吸附树脂在中药制剂领域的应用已取得一定的进展,但许多应用规律尚未完全清楚,需要工作中根据实际情况不断探索、不断积累。影响大孔树脂精制纯化效果的因素很多,如树脂型号、料液的预处理、上柱药液浓度、药液pH值、药液盐浓度、上柱流速、树脂柱的径高比、吸附温度、洗脱液的种类、用量、流量等。正因为树脂纯化工艺受如此多因素的影响,在实际应用过程中,纯化结果尤其在放大生产时往往出现较大的差异。因此在工艺研究中应对树脂处理的主要影响因素进行考察,明确具体工艺条件,保证树脂纯化工艺的稳定性。中试试验中建议对使用过程出现的具体问题予以注意,并设法解决,以保证纯化效果。如树脂柱更换洗脱剂时如何避免产生

气泡,如何使大型树脂柱上样均匀等。建议建立树脂上样泄漏点及洗脱终点的判断方法,防止有效成分的泄漏和漏洗<sup>[8]</sup>。

鉴于中医用药和中成药本身的特殊性,必须要对制剂的药理、药效、临床疗效等方面的考察做进一步的研究才能确认树脂吸附法的优劣及其在中药制剂中应用的意义。笔者认为当前还应加强大孔树脂基础方面的研究工作:(1)展开对大孔吸附树脂纯化不同中药有效部位的特性研究,寻找具有指导意义的吸附特性参数;(2)探讨各类有效成分在树脂上的吸附模型(多分子层吸附或单分子层吸附),拟合必要的数学模型以指导实际操作;(3)加强工业生产上的放大试验研究。通过这些研究,对于优化生产工艺,提高分离效果,充分利用中药材资源具有重要意义;尤其是为推广吸附纯化法于中药制剂提供应用基础。可以相信,随着各基础研究和应用研究的不断深入,大孔树脂吸附分离技术也将得到更好的发展,必然对中药现代化的进程起到积极的推进作用。

## References:

- [1] Axelsson J T, Bodley J W, Chen J Y. Anion exchange chromatography of protein on AGMP-1 high-performance liquid chromatography equipment [J]. *Anal Biochem*, 1984, 142(2): 373.
- [2] Liu Y, Ingle J D J. Automated two-column ion exchange system for determination of the speciation of trace metals in natural waters [J]. *Anal Chem*, 1989, 61(6): 525.
- [3] Ma Z S. Application of macroporous absorption resin on pharmacy field [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19(12): 40.
- [4] The technology requirement of macroporous absorption resin's application on separation, purification of Chinese Medicine [A]. *Discussion Conference on Macroporous Absorption Resin's Application on Separation, Purification* [C]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2000.
- [5] Yuan H L, Li X Y, Xiao X H. Analytic study on residues of D-101 macroporous resin by headspace sampling [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2003, 14(2): 121.
- [6] Lu Y Z, Yang Z R, Li J. Analytic study on Benzene series residues of D-101 macroporous resin on Chinese Medicine [J]. *J Yunnan Coll Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2003, 26(2): 17.
- [7] Hou S X, Tian H K. Application of macroporous absorption resin on separation, purification of Chinese Medicine Compound [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2000, 11(13): 131.
- [8] Hu J, Zhou Y H. Application of macroporous absorption resin on refinement, purification of Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(2): 127.

# 红车轴草的研究进展

刘 岩,刘顺航,王 平

(天津天士力现代中药资源有限公司,天津 300402)

红车轴草为豆科车轴草属植物红车轴草 *Trifolium pratense* L. 的花序及带花枝叶,多年生草本植物,高30~60

cm,又名红三叶、红花苜蓿、红菽草、红荷兰翘摇、金花菜。其原产于小亚西亚和西南欧,广泛分布于温带及亚热带地区,