

的 f_2 值分别为 57、69、34。相似因子法中若 f_2 值不低于 50, 则认为两条溶出曲线相似; 且值越大, 两者越相似。因此, 处方 2 制备包衣片具有与市售产品最相似的溶出曲线。处方 2 制备的片芯、包衣片以及市售产品的溶出曲线(图 2) 亦表明, 薄膜包衣对片剂溶出的影响也非常小。

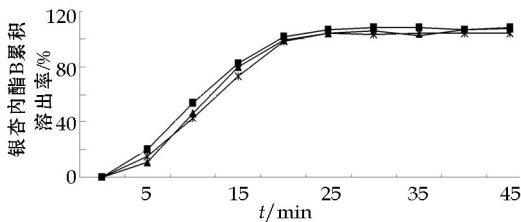


图 2 处方 2 与市售品溶出曲线

Fig 2 Dissolution profiles of Formulation 2 and product on market

3 讨论

表 2、3 的结果可以看出, 善达与微晶纤维素配

合使用可显著改善银杏叶提取物物理性质, 通过两者比例的调整使处方粉体更适合直接压片, 片芯硬度和脆碎度均能符合薄膜包衣的要求, 制备的薄膜包衣片释放结果符合标准并具有与市售产品最相似的溶出曲线。

参考文献:

- [1] 李红珠. 2008 年美国植物提取物市场逆势而上, 中国所占的份额反而下降[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(5): 310-312.
- [2] 洪森荣, 严明华. 银杏叶提取物对缺血再灌注小鼠脑细胞凋亡的保护作用[J]. 中草药, 2007, 38(12): 1864-1867.
- [3] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [4] 黄朝霞. 粉末直接压片工艺的进展[J]. 现代食品与药品杂志, 2007, 17(5): 31-36.
- [5] Gohel M C, Jogani P D. A Review of co-processed directly compressible excipients [J]. J Pharm Sci, 2005, 8(1): 76-93.
- [6] 夏锦辉, 刘昌孝. 固体药物制剂的体外溶出度的统计学评价分析[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(2): 130-131.

大孔吸附树脂分离纯化连翘酯苷 A 的工艺研究

胡晨旭^{1,2}, 魏峰¹, 郭治昕¹, 周水平¹

(1. 天津天士力集团研究院, 天津 300410; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

摘要:目的 筛选出一种高效实用的分离纯化连翘酯苷 A 的大孔吸附树脂, 并使分离纯化工艺达到最优化。方法 以连翘酯苷 A 质量浓度为指标, 考察多种型号大孔吸附树脂纯化连翘酯苷 A 的吸附及洗脱条件。结果 AB-8 型大孔吸附树脂为分离纯化连翘酯苷 A 的最佳大孔吸附树脂, 最佳工艺为: 上样质量浓度为生药 0.3 g/mL, 最大上样量为树脂的 2 倍体积, 洗脱剂为 30% 乙醇, 洗脱剂的用量为 6 倍量树脂柱体积。结论 AB-8 型大孔吸附树脂能显著提高连翘酯苷 A 的质量分数, 具有吸附量较大, 洗脱率高, 经济环保等优点, 适合于规模化生产。

关键词: 连翘酯苷 A; 大孔吸附树脂; 分离纯化

中图分类号: R284.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)05-0732-04

连翘及连翘属其他植物中的咖啡酰糖苷类成分连翘酯苷 A、C、D、E 均有很强的抗菌活性, 尤其是所含连翘酯苷 A (forsythiaside A) 的量最多^[1], 有很大的开发价值。本实验通过对不同型号大孔树脂进行筛选, 确定了采用 AB-8 大孔吸附树脂对连翘酯苷 A 进行分离纯化的工艺。

1 仪器、试剂与材料

安捷伦 (Agilent) 1100 系列高效液相色谱仪; Buchi R-200 型旋转蒸发仪 (瑞士 Buchi 公司); 电子精密天平 (奥豪斯公司)、梅特勒 XS105DU 电子天平; 1092 型恒温水浴摇床 (德国 GFL 公司); KQ-100 型

超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

青翘, 产地山西, 购于河北永正润生医药有限公司, 经天津天士力研究院中药研究所魏峰教授鉴定为木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实; 连翘酯苷 A 对照品 (天津一方科技有限公司提供, 质量分数为 98.5%); HPD100、HPD400、HPD600 树脂 (河北沧州宝恩吸附材料科技有限公司); NKA-9、X-5、AB-8 树脂 (天津兴南允能高分子技术有限公司); DA201、D-101 树脂 (天津市海光化工有限公司); 高效液相用乙腈为色谱纯 (默克公司); 高纯水; 其他试剂均为分析纯。

收稿日期: 2009-08-22

作者简介: 胡晨旭 (1979—), 男, 辽宁凌源人, 工程师, 天津中医药大学硕士研究生, 主要从事中药新药研究及天然产物开发工作。

Tel: (022) 26736553 E-mail: huchenxu1999@126.com

2 方法与结果

2.1 提取液的制备:取青翘药材,分别用水、酸水、乙醇、70%乙醇和甲醇 5 种溶剂采取浸泡、回流和超声 3 种方式提取,结果以甲醇回流提取的提取率最高,70%乙醇回流提取稍差,超声提取率最低,考虑到利于工业化进行,选用 70%乙醇回流作为提取方式。

称取 500 g 青翘药材,用 70%乙醇溶液回流提取 3 次,每次 2 h,合并滤过,浓缩至无醇味,离心,调 pH 值 1~2 后,加水定容至 500 mL,配制成含生药 1 g/mL 的提取液,备用。

2.2 连翘酯苷 A 的 HPLC 法测定^[1]

2.2.1 对照品溶液的配制:精密称取连翘酯苷 A 对照品 10.0 mg,置 25 mL 量瓶中,加 50%乙醇至刻度,配制成质量浓度为 0.4 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:精密称取样品干燥物 10.0 mg,置 25 mL 量瓶中,加 50%乙醇至刻度,配制成供试品溶液。

2.2.3 样品测定:取待测供试品溶液和对照品溶液各 10 μ L,用微孔滤膜滤过,进样测定连翘酯苷 A 的质量浓度,并根据结果计算连翘酯苷 A 的质量分数。

2.3 静态吸附试验^[2,3]:准确称取经预处理的 8 种干树脂 10.0 g,分别放于 250 mL 具塞磨口三角瓶中,精密加入提取液 200 mL,室温下振荡(200 r/min) 24 h,至吸附平衡,吸取上层液体,测定连翘酯苷 A 质量浓度。

将三角瓶中树脂和提取液一起放在滤纸上滤过,用适量的蒸馏水洗去树脂上残留的药液,用 200 mL 乙醇溶液将树脂全部转移至锥形瓶中,室温下振荡(200 r/min) 12 h,至解吸平衡,吸取上层液体,测定连翘酯苷 A 质量浓度,同时计算连翘酯苷 A 的解吸率。结果见表 1。可见综合考虑吸附量与解吸率,AB-8 型大孔树脂对连翘酯苷 A 吸附较好,其静态吸附连翘酯苷 A 的量为 38 mg/g 树脂。

表 1 8 种型号大孔树脂对连翘酯苷 A 的静态吸附的测定

Table 1 State absorption of forsythiaside A with eight types of macroporous resins

树脂	吸附量/mg	解吸量/mg	解吸率/%
DA201	234	193	82.49
AB-8	384	360	93.75
D-101	367	325	88.56
X-5	220	194	88.18
HPD100	363	290	79.89
HPD400	330	253	76.67
HPD600	194	139	71.65
NKA-9	200	133	66.50

2.4 动态吸附法

2.4.1 动态吸附曲线的考察:将提取液以 1 BV/h

通过 AB-8 树脂(100 g)至吸附饱和,流出的连翘酯苷 A 残液用部分收集器收集,测定各部分连翘酯苷 A 的质量浓度,结果见图 1。从动态吸附曲线可以看出,连翘酯苷 A 从 3 BV 起有少量泄露,在 5 BV 处有明显的拐点,达到吸附饱和需要 10 BV 上柱液。

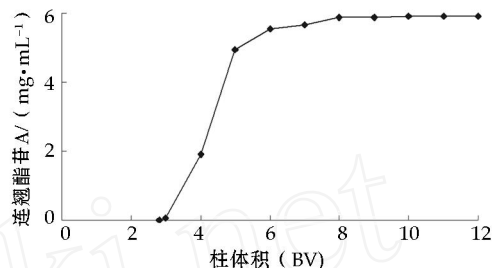


图 1 连翘酯苷 A 动态吸附曲线

Fig 1 Dynamic adsorption curve of forsythiaside A

2.4.2 体积流量对 AB-8 树脂吸附效果的影响:取一定量 2.1 中的连翘酯苷 A 上柱液分别用不同体积流量通过 AB-8 树脂柱,并测定连翘酯苷 A 的质量浓度,结果见表 2。可见体积流量在 0.5~2 BV/h 时吸附量和吸附率随体流量的增大而下降,而以 2 BV/h 上样时,在上样过程中已经出现少量泄露现象,考虑到工作效率和吸附效果,上样体积流量采用 1 BV/h 较为适合。

表 2 不同体积流量对吸附率的影响

Table 2 Effects of eluting speed on absorption rate

体积流量/(BV·h ⁻¹)	吸附量/(mg·g ⁻¹)	吸附率/%
0.5	21.65	96.6
1.0	21.31	95.1
2.0	21.13	94.3

2.4.3 pH 值对 AB-8 树脂吸附效果的影响:不同 pH 值的连翘酯苷 A 提取液通过树脂柱,测定连翘酯苷 A 的质量浓度,结果见表 3。上柱液的 pH 值越大,吸附率就越低,而上柱液 pH 值为 0.5 和 1 时,吸附率很接近,考虑到生产成本及操作方便,上柱液的 pH 值调到 pH 1 较为合适。

表 3 不同 pH 值对吸附率的影响

Table 3 Effects of pH values on absorption rate

pH 值	吸附量/(mg·g ⁻¹)	吸附率/%
0.5	22.41	96.3
1.0	22.36	96.1
2.0	18.05	84.3
3.0	17.56	80.6

2.4.4 提取液质量浓度对 AB-8 树脂吸附效果的影响:不同质量浓度的提取液通过树脂柱,测定连翘酯苷 A 的质量浓度,结果见表 4。低质量浓度不利于连翘酯苷 A 的吸附,随上柱液质量浓度的增大,吸附量也随着增大,但是当上柱液质量浓度大于

0.3 g/mL 时,吸附率反而降低,说明较高的上柱液质量浓度虽然能够提高上样量,但过高时,反而降低了树脂柱的吸附效率。因此,连翘酯苷 A 上柱液的最佳质量浓度应该为含生药量 0.3 g/mL。

表 4 不同质量浓度对吸附率的影响

Table 4 Effects of various concentration on absorption rate

含生药量/(g·mL ⁻¹)	吸附量/(mg·g ⁻¹)	吸附率/%
0.1	23.28	94.5
0.2	27.23	96.3
0.3	29.99	98.5
0.4	33.48	95.4
0.5	36.18	94.3

2.5 AB-8 树脂的洗脱性能

2.5.1 洗脱剂的选择:树脂吸附连翘酯苷 A 后,用蒸馏水洗涤至流出液澄清状态,然后用 10 BV 不同体积分数的乙醇溶液以 2 BV/h 体积流量洗脱,测定连翘酯苷 A 的质量浓度,计算各指标,结果见表 5。

表 5 不同体积分数乙醇的洗脱效果的考察

Table 5 Effects of various ethanol concentration on elution

洗脱剂	洗脱率/%	质量分数/%
10%乙醇	46.02	35.06
30%乙醇	98.31	50.94
50%乙醇	98.58	43.15

2.5.2 动态解吸曲线:3种乙醇的洗脱过程可见图 2。可见 10%乙醇的洗脱效率太低,30%乙醇和 50%乙醇的洗脱效率都很高,都能在 6 倍柱体积以内将连翘酯苷 A 全部洗脱,由表 5 可见 30%乙醇洗脱液中连翘酯苷 A 的质量分数较高,因此,取 30%乙醇作为洗脱剂为最佳。

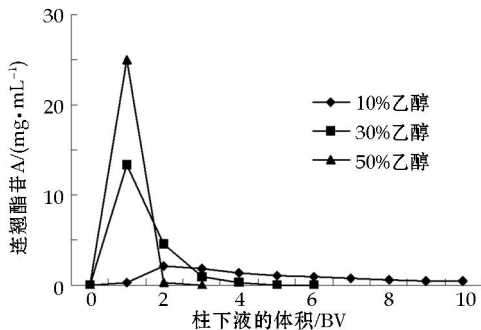


图 2 不同体积分数乙醇的动态解吸曲线
Fig 2 Dynamic desorption curve of various ethanol concentration

2.5.3 解吸液的高效液相图谱分析:将 30%乙醇洗下的柱下液在 60 的真空环境中浓缩至干,精密称取 10.0 mg,用 50%乙醇定容于 25 mL 量瓶中,同样方法处理连翘酯苷 A 对照品,将配制好样品和对照品溶液进样,利用高效液相图谱分析。由图 3

可见,连翘酯苷 A 提取物中杂质已经很少,并分布成几个相互分开的主要杂质峰,非常利于进一步分离和纯化。

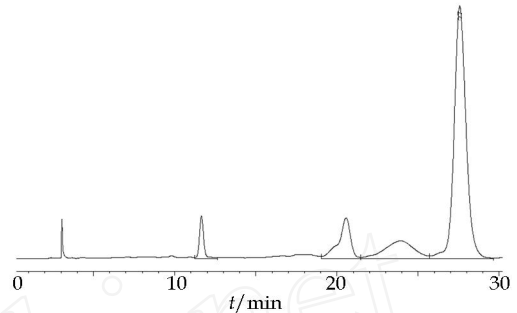


图 3 30%乙醇洗脱液的高效液相色谱图

Fig 3 HPLC Chromatogram of 30% ethanol concentration

2.6 验证试验:通过对 AB-8 等 8 种不同极性的大孔吸附树脂的比较,最后确定 AB-8 型大孔吸附树脂为分离纯化连翘酯苷 A 的最佳大孔吸附树脂,最佳工艺为:上样质量浓度为生药 0.3 g/mL,最大上样量为树脂的 2 倍体积,洗脱剂为 30%乙醇,洗脱剂的用量为 6 倍量树脂柱体积。在最佳的吸附和解吸条件下,重复试验 3 次,结果见表 6。可以看出,在最佳实验条件下,连翘酯苷 A 在 AB-8 树脂上的吸附和解吸可重复性非常好,说明此实验条件稳定,结果可靠。

表 6 最佳工艺验证试验

Table 6 Experimental validation of optimum technology

试验次数	吸附量/(mg·g ⁻¹)	吸附率/%	洗脱率/%	质量分数/%	得率/(mg·g ⁻¹)
1	30.15	98.74	98.55	51.13	28.32
2	29.98	98.97	98.33	50.01	28.15
3	30.01	99.01	98.31	50.56	28.12
均值	30.05	98.91	98.40	50.57	28.20

3 讨论

连翘提取液经过 AB-8 树脂处理一次,即可以把上柱前连翘酯苷 A 为 1.02% 纯化到 50% 以上,除去了大部分杂质,纯化效果显著。

在图 3 中可以看到纯化后提取物只有 4 个主要的峰,其他杂质基本都除去了,而除了连翘酯苷 A 的色谱峰外(第 4 号峰),另外 3 个杂质峰中第 1 号峰和第 3 号峰,可以用树脂 A 完全除去,而剩余的 2 号杂质峰也可以用树脂 B 完全除去,最后可以得到质量分数在 95% 以上的单体成分。该单体成分 FAB-MS 显示准分子离子峰 625 [M + H]⁺, 推测分子式为 C₂₉H₃₆O₁₅, 经过碳氢信号的归属,认定为连翘酯苷 A。纵观整个分离纯化过程,AB-8 大孔吸附树脂的分离纯化过程是最为关键的一环,正是这

一极为显著的除杂质过程,才确保了树脂更好地发挥作用。

AB-8 树脂对连翘酯苷 A 的分离纯化,是一个简单、环保且高效的纯化过程,非常适合于大生产操作,再加上树脂 A 和 B 后续除杂,形成了一条很好的连翘酯苷 A 的工艺开发路线,具有广阔的工业生产应用前景。

参考文献:

- [1] 张 炜,张汉明,郭美丽,等. HPLC 法测定感冒退热颗粒(冲剂)中连翘酯苷 A 的含量[J]. 中草药, 1999, 30(4): 268-270.
- [2] 张亚梅,张小娟,简 晖,等. 大孔吸附树脂纯化山蜡梅叶中总黄酮的研究[J]. 中草药, 2009, 40(8): 1226-1229.
- [3] 乔五忠,王艳辉,李美粉,等. 利用大孔吸附树脂精制甘草酸的研究[J]. 中成药, 2006, 28(6): 794-796.

克感利咽口服液的超声提取工艺研究

秦春梅,廖晓嘉

(广州王老吉药业股份有限公司,广东 广州 510450)

摘 要:目的 研究克感利咽口服液处方药材的超声提取方法。方法 分别以黄芩苷、栀子苷、色谱图相似度、总固体得率作为指标,采用均匀设计试验,结合药理学指标,研究克感利咽口服液超声提取工艺。结果 优选最佳超声提取工艺为:8 mm 药材粒度,9 倍量 40%乙醇,超声温度 60℃,超声功率 1 200 W,提取 2 次,每次 30 min。结论 克感利咽口服液采用超声提取工艺切实可行,具有节能、省时、提高提取效率等优势。

关键词:克感利咽口服液;均匀设计;超声提取

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)05-0735-04

克感利咽口服液由黄芩、金银花、栀子等 14 味药材组成。原工艺中采用乙醇回流提取或水煎煮等传统提取工艺,整个工艺能耗较大,工艺流程长、成本较高。随着现代制剂提取工艺的飞速发展,超声提取技术作为一门药物提取的现代新技术,由于其省时、节能、提取效率高等特点和优势,在中药领域的应用已经受到了广泛关注和研究,并且具有广阔的应用前景和开发价值^[1-3]。本实验将在原工艺基础上,采用均匀设计法,确立克感利咽口服液超声提取的最佳工艺参数,以化学评价和生物活性评价指标,进行原工艺与超声提取工艺的对比研究,力求科学、客观地评价新工艺的可行性和适用性。

1 仪器、试剂与材料

Waters 600 高效液相色谱仪(600 四元梯度泵,2996 DAD 检测器,717 自动进样器,柱温箱);Empower 工作站;Mettler AE 240 型电子天平(十万分之一,瑞士梅特勒-托利多公司)。SCQ—2400 型超声波提取设备(25 kHz、40 kHz,2 400 W,上海声浦超声波设备厂)。

栀子苷(批号 110749-200410)、黄芩苷(批号

110715-200514)、木犀草苷(批号 111720-200501)、升麻苷(批号 522-200203)、绿原酸(批号 110753-200413)、黄芩素(批号 111595-200402)、连翘苷(批号 110821-200406)、甘草酸铵(批号 110731-200409)对照品由中国药品生物制品检定所提供。黄芩(批号 0601037)、金银花(批号 0601042)、荆芥(批号 0601040)、薄荷(批号 0602002)、防风(批号 0601039)、栀子(批号 0601032)、连翘(批号 0601003)、甘草(批号 0601031)、僵蚕(批号 0601034)、桔梗(批号 0601015)、蝉蜕(批号 0602009)、射干(批号 051102)、地黄(批号 0601038)、玄参(批号 051101)药材均由广州王老吉药业股份有限公司提供,经中心检验室药材组鉴定,符合《中国药典》2005 年版各药材项下的相关要求。

大耳白家兔,雌雄各半,体质量为(1.5 ± 0.25) kg,由北京市海淀区天旺实验动物养殖场提供,许可证编号:SCXK(京)2006-006。昆明种小鼠,清洁级,体质量 21~23 g,雌雄各半,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,合格证号 SCX-(军)2002-001。

收稿日期:2009-08-06

基金项目:广东省关键领域重点突破项目(2003A30907)

作者简介:秦春梅(1979—),女,湖南娄底人,工程师,硕士,主要从事中药新药研究。

Tel:(020)86200716 Fax:(020)86601051 E-mail:chunmeiqin@hotmail.com