

多指标综合评分优选大孔树脂分离纯化三拗缓释片提取液工艺研究

张金花, 刘陶世*, 程建明, 陈冬冬, 钱海峰

南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210000

摘要: 目的 研究三拗缓释片提取液分离纯化工艺。方法 以盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸的吸附率和解析率为考察指标, 采用多指标综合评分法优选三拗缓释片提取液纯化工艺。结果 HPD 300 大孔树脂对三拗缓释片中的 4 种有效成分具有较好的吸附效果, 最佳工艺参数为每毫升树脂吸附 1.67 g 生药, 树脂柱径高比 1:7, 上样液质量浓度为生药 0.6 g/mL, 上样体积流量 4.0 BV/h, 2 BV 去离子水洗涤, 70%乙醇溶液洗脱, 洗脱体积流量 3.0 BV/h, 洗脱量 5 BV。结论 HPD 300 大孔树脂分离纯化三拗缓释片提取液的方法可行。

关键词: 三拗缓释片; 大孔树脂; 分离纯化; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 苦杏仁苷; 甘草酸

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)02-0255-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.02.013

Optimal separation and purification of extract in Sanao Sustained-release Tablets with macroporous resins by multi index comprehensive score

ZHANG Jin-hua, LIU Tao-shi, CHENG Jian-ming, CHEN Dong-dong, QIAN Hai-feng

College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

Abstract: Objective To explore the optimal separation and purification of extract in Sanao Sustained-release Tablets. **Methods** Taking the adsorption ratio and desorption ratio of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, amygdalin, and glycyrrhizinate as evaluation indexes to optimize the purification process of Sanao Sustained-release Tablets by multi index comprehensive score. **Results** Macroporous resin HPD 300 had the best adsorption and desorption properties. In the course of adsorption, the optimum concentration of the sample liquid was 1.67 g crude drugs of per milliliter, the resin column size ratio was 1:7, the concentration of sample solution was 0.6 g/mL crude drug, the sample flow rate was 4.0 BV/h. In the course of elution, 2 BV deionized water was used and the resin column chromatography was eluted with 5 BV of 70% EtOH by flow rate of 3 BV/h. **Conclusion** Macroporous resin HPD 300 is suitable to separate and purify the extract from Sanao Sustained-release Tablets.

Key words: Sanao Sustained-release Tablets; macroporous resins; separation and purification; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; amygdalin; glycyrrhizinate

三拗汤原名“还魂汤”, 出自《金匱要略》, 由麻黄、苦杏仁、甘草 3 味药物组成, 麻黄为君, 杏仁为臣, 甘草为佐使, 系由《伤寒论》麻黄汤去桂枝而成, 主治感冒风邪、鼻塞声重、咳嗽痰多、头痛目眩等外感风寒咳嗽证^[1]。由于传统的汤剂口服剂量大, 服用不方便, 故拟改成新剂型缓释片, 经原方提取后的药液浸膏得率大, 制剂成型困难, 故采用大孔树脂对提取液进行分离纯化^[2-7], 以盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸的吸附率

和解析率为考察指标, 运用多指标综合分析, 构建中药复方多指标成分评价体系方法, 为进一步的制剂成型打下基础。

1 仪器与材料

Waters e2695 高效液相色谱仪, 包括在线脱气机、自动进样器、柱温箱、2998 紫外检测器; 十万分之一电子分析天平, Mettler Toledo 公司; Anke TGL-16G 型离心机, 上海安亭科学仪器厂。

盐酸麻黄碱对照品 (批号 171241-201007, 质

收稿日期: 2015-08-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81403114); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 张金花 (1989—), 女, 硕士在读, 研究方向为药物新技术与新剂型开发。Tel: 15195874749 E-mail: zjh_2012@yeah.net

*通信作者 刘陶世, 男, 博士, 硕士生导师, 研究方向为药物新剂型与新技术开发。Tel: 13611504994 E-mail: tsliur4111@sina.com

量分数 99.8%)、盐酸伪麻黄碱对照品(批号 171238-201207, 质量分数 99.8%)、苦杏仁苷对照品(批号 820-200002, 质量分数 93.4%)、甘草酸铵对照品(批号 110731-200511, 质量分数 93.1%), 均由中国食品药品检定研究院提供; 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 磷酸为分析纯。麻黄、苦杏仁、甘草均由亳州市京皖中药饮片厂提供, 经南京中医药大学刘圣金教授鉴定, 麻黄为麻黄科麻黄属植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf. 的草质茎; 苦杏仁为蔷薇科杏属植物山杏 *Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥成熟种子; 甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎; 大孔

树脂(D-101、HPD100、HPD300、AB-8、XAD-7、ADS-17、HPD500、HPD600)均由沧州宝恩吸附材料科技有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 HPLC 同时测定盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil 100-5- C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μ L, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷在 208 nm 波长下检测, 甘草酸铵在 250 nm 波长下检测, 色谱图见图 1。

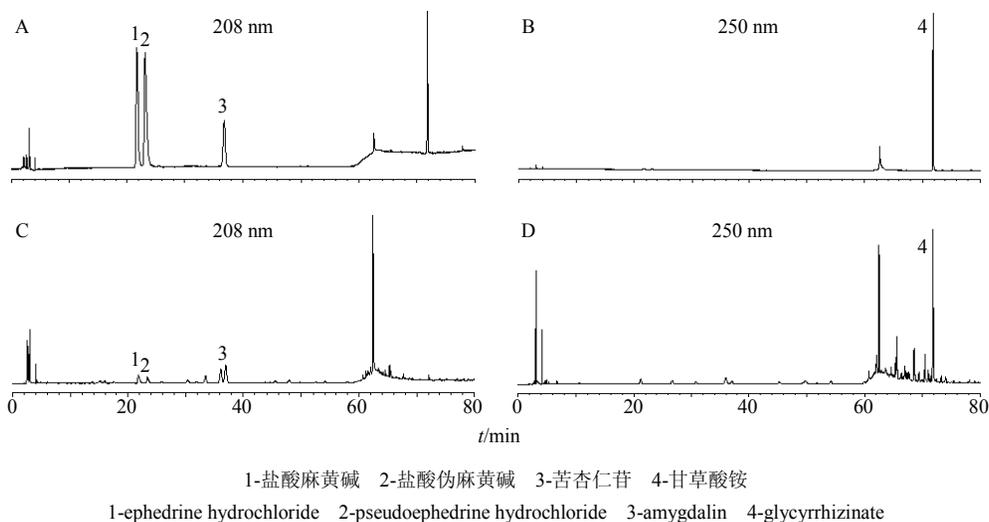


图 1 混合对照品 (A、B) 和样品 (C、D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A and B) and samples (C and D)

2.1.2 标准曲线绘制 取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含盐酸麻黄碱 43.7 μ g/mL、盐酸伪麻黄碱 42.9 μ g/mL、苦杏仁苷 202.1 μ g/mL 和甘草酸铵 203 μ g/mL 的混合对照品溶液, 以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归; 得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵回归方程分别为 $Y=2.4 \times 10^6 X - 9\ 575$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 87.4~874.0 ng; $Y=2.5 \times 10^6 X - 21\ 735$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 85.8~858.0 ng; $Y=4.7 \times 10^6 X + 45\ 295$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 404.2~4\ 042.0 ng; $Y=7.6 \times 10^5 X + 10\ 028$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 0.406~4.060 μ g。

2.1.3 精密度试验 取混合对照品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 连续进样 6 次, 检测盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵峰面

积, 计算得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵的 RSD 分别为 0.61%、0.49%、0.44%、0.22%, 表明精密度良好。

2.1.4 稳定性试验 取“2.2”项下上样溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样, 检测盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵峰面积, 计算得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵的 RSD 分别为 1.48%、0.81%、1.24%、0.96%, 表明供试品在 12 h 内稳定, 可供检测。

2.1.5 重复性试验 平行制备 5 份上样溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 检测盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵峰面积, 计算得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵的 RSD 分别为 1.57%、0.59%、2.04%、1.89%, 表明重复性良好。

2.1.6 加样回收率试验 精密移取已测定的上样溶液 0.5 mL, 平行 6 份, 各精密加入对照品适量, 按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 计算得盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵的平均加样回收率分别为 96.89%、97.67%、98.52%、96.95%, RSD 分别为 1.42%、2.39%、0.78%、1.48%。

2.2 上样溶液的制备

称取 74 倍处方量(处方: 麻黄 9 g、苦杏仁 9 g、甘草 9 g), 加水煎煮回流提取 3 次, 每次 1 h, 浓缩药液至质量浓度为生药 1.0 g/mL, 离心药液, 取上清液作为上样液; 经 HPLC 检测, 上样液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵的质量浓度分别为 2 542.45、1 357.41、4 863.42、3 767.55 μg/mL, 质量分数分别为 0.76%、0.41%、1.46%、1.13%, 总质量分数为 3.76%, 浸膏得率为 24.19%。

2.3 大孔树脂型号筛选

2.3.1 大孔树脂预处理 取适量大孔树脂用 95%乙醇浸泡 24 h 充分溶胀, 湿法装柱, 再用 95%乙醇洗脱至流出液与水(1:5)不产生白色混浊为止, 最后再用蒸馏水洗至无醇味即可, 备用。

2.3.2 大孔树脂静态吸附与解吸 取预处理过的 8

种型号大孔树脂(D-101、HPD 100、HPD 300、AB-8、XAD-7、ADS-17、HPD 500、HPD 600)各 5 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 分别精密加入上样液 20 mL, 常温下静置 24 h, 测定溶液中 4 种有效成分的质量浓度, 计算 4 种有效成分的静态吸附量和吸附率及其综合评分(综合评分=0.3×盐酸麻黄碱+0.3×盐酸伪麻黄碱+0.2×苦杏仁苷+0.2×甘草酸铵, 因麻黄为君药, 苦杏仁与甘草为臣药, 故给予盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱权重系数为 0.3, 苦杏仁苷和甘草酸铵权重系数为 0.2); 将上述大孔树脂抽滤至干, 放入 100 mL 锥形瓶中, 加 70%乙醇 50 mL, 静置 24 h, 测定溶液中 4 种有效成分的质量浓度, 计算 4 种有效成分的静态解吸量和解吸率及其综合评分, 结果见表 1。

$$\text{静态吸附量} = (C_0 - C_1)V_1/m$$

$$\text{静态吸附率} = (C_0 - C_1)V_1/C_0V_1$$

$$\text{静态解吸量} = C_2V_2/m$$

$$\text{静态解吸率} = C_2V_2/(C_0 - C_1)V_1$$

C_0 为原液质量浓度(μg/mL), C_1 为残液质量浓度(μg/mL), V_1 为原液体积(mL), C_2 为洗脱液质量浓度(μg/mL), V_2 为洗脱液体积(mL), m 为树脂质量(g)

表 1 不同型号大孔树脂对吸附和解析性能的影响

Table 1 Effect of different models on macroporous adsorbing resins on adsorption and desorption properties

树脂型号	盐酸麻黄碱		盐酸伪麻黄碱		苦杏仁苷		甘草酸铵		综合评分	
	吸附率/%	解吸率/%	吸附率/%	解吸率/%	吸附率/%	解吸率/%	吸附率/%	解吸率/%	吸附率/%	解析率/%
D-101	86.20	50.07	88.37	52.93	68.90	30.34	98.69	54.71	85.89	47.91
HPD100	86.76	46.13	88.43	49.34	72.56	42.61	94.29	40.50	85.93	45.26
HPD300	91.52	45.40	92.93	48.02	81.96	43.71	94.40	39.85	90.61	44.74
AB-8	88.18	40.83	90.10	42.87	77.02	34.86	95.07	37.53	87.90	39.59
XAD-7	86.83	47.47	88.31	50.39	70.37	35.38	94.24	49.11	85.46	46.25
ADS-17	60.35	31.20	57.86	32.80	36.15	6.79	70.81	51.96	56.85	30.95
HPD500	77.75	41.63	77.75	42.98	59.77	23.52	89.13	49.24	76.43	39.93
HPD600	73.51	40.30	73.76	40.54	52.69	15.14	85.01	51.29	71.72	37.54

结果表明, D-101、HPD 100、HPD 300、AB-8、XAD-7 对 4 种有效成分的吸附率与解吸率均有较好的效果, 但是其中 XAD-7 为离子型交换树脂, 其成本是其他 4 种树脂成本的 3~4 倍, 在保证纯化效果相差不显著的情况下, 尽可能节约生产成本, 故对 D-101、HPD 100、HPD 300、AB-8 4 种型号的大孔树脂进行进一步考察。

2.3.3 大孔树脂静态吸附动力学考察 精密称取 D-101、HPD 100、HPD 300、AB-8 4 种型号大孔树

脂各 5 g, 置于 100 mL 锥形瓶中, 分别精密加入上样液 40 mL, 常温下静置 24 h, 分别于 1、2、3、4、5、6、12、24 h 测定溶液中 4 种有效成分的质量浓度, 计算树脂在不同时间内对 4 种有效成分的吸附量, 以吸附量对吸附时间作图, 得到各树脂的吸附动力学曲线, 结果见图 2。

将上述 4 种静态吸附完的大孔树脂抽干, 精密加入 70%乙醇 50 mL 进行解吸附, 常温下静置 24 h, 分别于 1、2、3、4、5、6、12、24 h 测定溶液中 4

种有效成分的质量浓度，计算树脂在不同时间对 4 种有效成分的解吸量，以解吸量对解吸时间作图，得到各树脂的解吸动力学曲线，结果见图 3。

结果表明，D-101、HPD 100、HPD 300、AB-8 对 4 种有效成分的吸附均为快速平衡吸附，在 1 h 左右达到吸附平衡，在 4 h 左右解析达到完全，且 HPD 300 对 4 种有效成分的解吸优于其他 3 种大孔树脂，综合考虑，选择 HPD 300 为最佳大孔树脂。

2.4 HPD 300 大孔树脂泄漏曲线的绘制及上样量的确定

取预处理好的 HPD 300 大孔吸附树脂 30 mL，湿法装入玻璃柱（内径为 1.8 cm、高 30 cm，径高比 1:7）中，上样，上样体积流量为 1.0 BV/h，每 10 mL 收集 1 份，共收集 15 份，测定每份泄漏液中 4 种有效成分的质量浓度；以 4 种有效成分的质量浓度为纵坐标，上样液体积为横坐标绘制泄漏曲线，

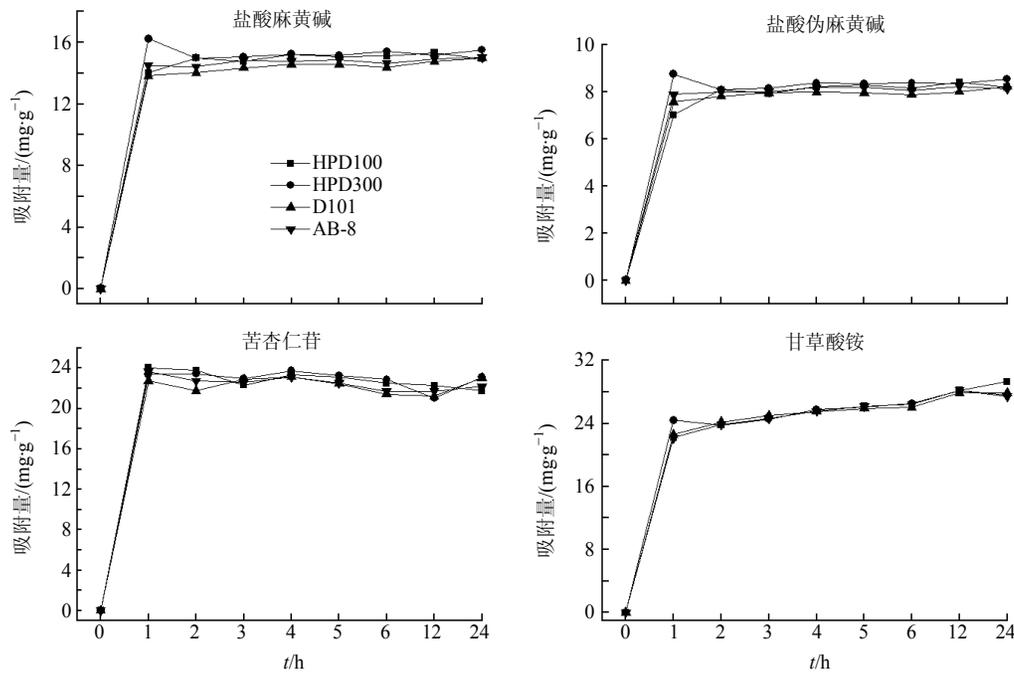


图 2 静态吸附动力学曲线

Fig. 2 Kinetic curves of static adsorption

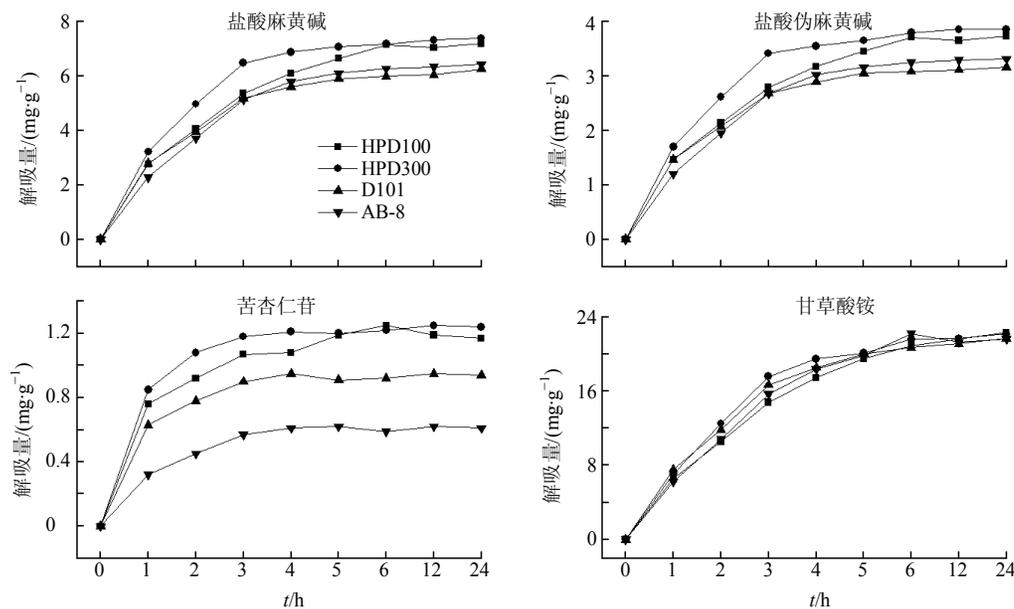


图 3 静态解吸动力学曲线

Fig. 3 Kinetic curves of static resolution

结果见图 4。苦杏仁苷在上样量为 60 mL 时开始出现泄漏, 100 mL 时吸附达到饱和; 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱在 90 mL 时开始出现泄漏, 120 mL 时吸附达到饱和; 甘草酸铵在 100 mL 时开始出现泄漏, 130 mL 时吸附达到饱和; 综合以上分析, 上样量为 50 mL 时 4 种有效成分不会出现泄漏, 故 50 mL 为最大上样量, 此时上样量为 50 g, 相当于每毫升树脂吸附生药 1.67 g。

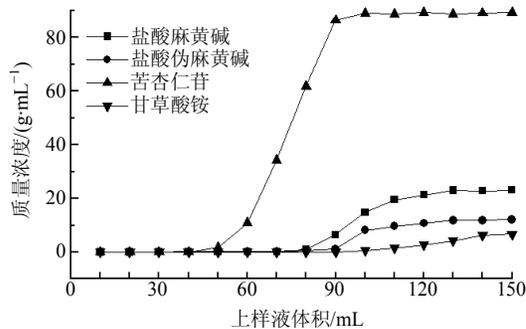


图 4 泄露曲线

Fig. 4 Leak curves

2.5 径高比考察

取预处理好的 HPD 300 大孔树脂按径高比为 1:3、1:5、1:7、1:9 湿法装入 4 根型号相同的玻璃柱 (内径 1.8 cm、高 30 cm) 中, 分别精密加入提取液 (生药 1.0 g/mL) 30 mL 上样, 上样体积流量均为 1.0 BV/h, 待充分吸附后, 分别用 2 BV 去离子水洗涤, 将残留液与水洗液合并, 测定 4 种有效成分的质量浓度, 计算 4 种有效成分的吸附率, 结果见表 2。结果表明: 随着径高比的增大, 4 种有效成分的吸附率不断增加, 当增加至径高比为 1:9 时, 大孔树脂对 4 种有效成分的吸附率都为 100%, 但是径高比 1:7 对 4 种有效成分的吸附率与径高比 1:9 相近, 没有显著性差异, 考虑到生产成本以及后续工业生产的条件, 故选择最佳径高比为 1:7。

表 2 不同径高比对吸附率的影响

Table 2 Effect of different diameter height ratios on adsorption rate

径高比	吸附率/%				综合评分
	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱	苦杏仁苷	甘草酸铵	
1:3	86.53	83.63	18.78	92.85	73.37
1:5	94.25	96.05	63.41	99.25	89.62
1:7	100.00	100.00	96.38	99.92	99.26
1:9	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

2.6 上样液质量浓度考察

取预处理好的 HPD 300 大孔树脂 30 mL, 按径高比 1:7 湿法装入玻璃柱 (内径 1.8 cm、高 30 cm) 中, 平行 5 份, 取提取液 (生药 1.0 g/mL) 10、20、30、40、50 mL, 加水稀释至 50 mL, 使药液质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g/mL, 上样体积流量 1.0 BV/h, 待充分吸附后, 用 2 BV 去离子水洗涤, 将残留液与水洗液合并, 测定 4 种有效成分的质量浓度, 计算吸附率, 结果见表 3。

表 3 不同上样液质量浓度对吸附率的影响

Table 3 Effect of different sample concentration on adsorption rate

质量浓度/ (g·mL ⁻¹)	吸附率/%				综合评分
	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱	苦杏仁苷	甘草酸铵	
0.2	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
0.4	100.00	99.52	99.39	99.83	99.70
0.6	99.74	98.87	94.42	99.62	98.39
0.8	99.10	97.63	82.65	99.28	95.40
1.0	98.51	96.31	67.15	98.92	91.66

结果表明, 随着上样液质量浓度的增大, 4 种有效成分的吸附率不断下降, 可能是因为药液质量浓度高导致有效成分不能完全被大孔树脂吸附, 此时大孔树脂的吸附逐渐达到饱和状态, 无法再吸附更多的有效成分, 致使部分有效成分流出; 上样质量浓度为 0.2 g/mL 时 4 种有效成分的吸附率最大, 但是浓度太稀导致上样工作量大, 费力耗时, 故选择上样液最佳质量浓度为 0.6 g/mL。

2.7 上样体积流量考察

取预处理好的 HPD 300 大孔树脂 30 mL, 按径高比 1:7 湿法装入玻璃柱 (内径 1.8 cm、高 30 cm) 中, 平行 5 份, 分别精密加入提取液 (生药 0.6 g/mL) 83 mL 上样, 上样体积流量分别为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 BV/h, 待充分吸附后, 用 2 BV 去离子水洗涤, 将残留液与水洗液合并, 测定 4 种有效成分的质量浓度, 计算吸附率, 结果见表 4。结果表明, 随着上样体积流量的不断加快, 4 种有效成分的吸附率在下降, 但是下降幅度不明显, 可能是因为大孔树脂对 4 种有效成分的吸附为快速吸附, 所以体积流量对其吸附率影响不显著; 为了提高工作效率, 同时能够使有效成分被高效吸附, 故选择最佳上样体积流量为 4.0 BV/h。

表 4 不同上样体积流量对吸附率的影响

Table 4 Effect of different flow rates on adsorption rate

体积流量/ (BV·h ⁻¹)	吸附率/%				综合评分
	盐酸麻 黄碱	盐酸伪 麻黄碱	苦杏仁苷	甘草 酸铵	
0.5	99.45	99.09	99.82	99.95	99.19
1.0	99.44	98.96	99.45	99.92	98.99
2.0	99.43	98.72	99.39	99.90	98.84
3.0	99.39	98.71	98.73	99.88	98.58
4.0	99.28	98.61	98.42	99.69	98.32

2.8 水洗用量考察

取预处理好的 HPD 300 大孔树脂 30 mL, 按径高比 1 : 7 湿法装入玻璃柱 (内径 1.8 cm、高 30 cm) 中, 加入提取液 (生药 0.6 g/mL) 83 mL, 上样体积流量 4.0 BV/h, 待充分吸附后, 用去离子水洗涤, 每 10 mL 收集 1 份, 共收集 13 份, 测定洗涤液中 4 种有效成分的质量浓度, 以洗脱量为横坐标, 4 种有效成分的质量浓度为纵坐标, 绘制水洗用量洗脱曲线, 结果见图 5。结果表明, 随着水洗用量的增加, 盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱从 70 mL 开始会随着水洗液被逐步洗脱下来, 为了能够有效地去除杂质又能保证减少有效成分的损失, 故选择 60 mL (2 BV) 水洗量。

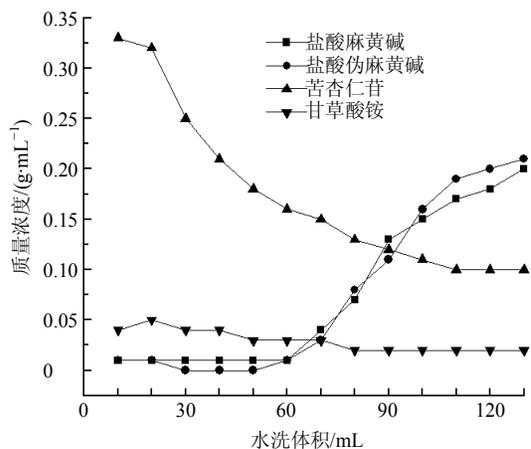


图 5 水洗脱曲线

Fig. 5 Water elution curves

2.9 洗脱剂考察

取预处理好的 HPD 300 大孔树脂 30 mL, 按径高比 1 : 7 湿法装入玻璃柱 (内径 1.8 cm、高 30 cm) 中, 平行 4 份, 分别精密加入提取液 (生药 0.6 g/mL) 83 mL, 上样体积流量 4.0 BV/h, 待充分吸附后, 用 2 BV 去离子水洗涤, 将残留液与水洗液合并,

再分别用 7 BV 的 30%、50%、70%、95%乙醇以 4.0 BV/h 流速洗脱, 收集洗脱液, 测定 4 种有效成分的质量浓度, 计算解析率, 结果见表 5。结果表明, 30%乙醇对 4 种有效成分的解吸效果最差, 70%乙醇对 4 种有效成分的解吸效果比较好, 故选择洗脱剂为 70%乙醇。

表 5 不同洗脱剂对解吸率的影响

Table 5 Effect of different eluent concentration on desorption rate

洗脱剂	解吸率/%				综合评分
	盐酸麻 黄碱	盐酸伪 麻黄碱	苦杏仁苷	甘草 酸铵	
30%乙醇	55.34	59.60	78.38	16.61	53.48
50%乙醇	81.57	79.90	80.21	81.51	80.79
70%乙醇	81.36	78.25	85.24	88.33	82.60
95%乙醇	79.13	73.57	39.17	82.67	70.18

2.10 洗脱体积流量考察

取预处理好的 HPD 300 大孔树脂 30 mL, 按径高比 1 : 7 湿法装入玻璃柱 (内径 1.8 cm、高 30 cm) 中, 平行 5 份, 分别精密加入提取液 (生药 0.6 g/mL) 83 mL, 上样体积流量 4.0 BV/h, 待充分吸附后, 用 2 BV 去离子水洗涤, 将残留液与水洗液合并, 再加入 7 BV 的 70%乙醇分别以 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 BV/h 体积流量洗脱, 收集洗脱液, 测定 4 种有效成分的质量浓度, 计算解吸率, 结果见表 6。结果表明, 随着洗脱体积流量的不断加大, 大孔树脂对 4 种有效成分的解吸率在不断减小, 因 2 BV/h 与 3 BV/h 对洗脱效果相差并不显著, 为了提高洗脱效率节约时间, 故选择最佳洗脱体积流量为 3.0 BV/h。

2.11 洗脱剂用量考察

取预处理好的 HPD 300 大孔树脂 30 mL, 按径

表 6 洗脱剂不同体积流量对解吸率的影响

Table 6 Effect of different eluent flow rates on desorption rate

体积流量/ (BV·h ⁻¹)	解吸率/%				综合评分
	盐酸麻 黄碱	盐酸伪 麻黄碱	苦杏仁苷	甘草 酸铵	
2	89.23	87.57	84.26	94.96	88.88
3	89.12	87.61	84.14	94.90	88.83
4	88.68	86.51	86.24	94.58	88.72
5	86.24	84.40	78.93	91.63	85.31
6	83.33	81.77	82.03	88.20	83.57

高比 1 : 7 湿法装入玻璃柱(内径 1.8 cm、高 30 cm)中,加入提取液(生药 0.6 g/mL) 83 mL,上样体积流量 4.0 BV/h,待充分吸附后,用 2 BV 去离子水洗涤,将残留液与水洗液合并,再加入 70%乙醇,以 3.0 BV/h 体积流量洗脱,每 1 BV 收集 1 份,共收集 20 份,测定 4 种有效成分的质量浓度,以洗脱量为横坐标,4 种有效成分的质量浓度为纵坐标,绘制洗脱曲线,结果见图 6。结果表明,洗脱量达到 5 BV 时,4 种有效成分已被洗脱完全,故选择最佳洗脱量为 5 BV。

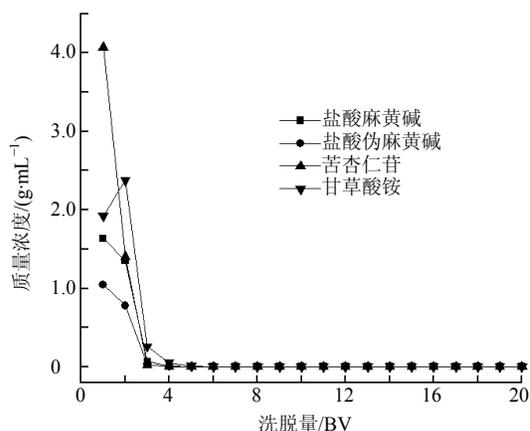


图 6 洗脱量曲线

Fig. 6 Eluted amount curves

2.12 大孔吸附树脂纯化工工艺验证

取 83 mL 质量浓度为生药量 0.6 g/mL 的提取液,通过已处理好的 HPD 300 大孔树脂,树脂柱径高比 1 : 7,上样体积流量 4.0 BV/h,水洗用量 2 BV,70%乙醇溶液洗脱,洗脱体积流量 3.0 BV/h,洗脱量 5 BV;平行 3 份,测定 4 种有效成分的转移率(转移率=吸附率×解析率),结果见表 7。结果表明,HPD 300 大孔树脂能够有效纯化指标性成分且转移率高、稳定性好,说明该工艺条件合理可行。

3 讨论

中药复方成分复杂,药效物质不仅仅是某个单一的成分,而是一类或者几类成分群的共同作用,故本实验同时考察了盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵 4 种有效成分,经过大孔树脂静态吸附与解析试验从 8 种型号大孔树脂中筛选出 4 种型号的树脂,继而对这 4 种型号的树脂进行静态吸附动力学实验,最终筛选出 HPD 300 为最佳大

表 7 纯化工艺验证结果

Table 7 Results of purified process validation

序号	转移率/%				综合评分
	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱	苦杏仁苷	甘草酸铵	
1	88.77	86.65	81.18	94.65	87.79
2	88.92	86.76	82.35	93.98	87.97
3	88.03	86.07	81.67	94.85	87.53

孔树脂。

HPD 300 大孔树脂对指标性成分具有较好的吸附率与解析率,并用多指标综合评分法对其吸附解吸过程进行了考察,并结合单因素考察最终确定最佳纯化条件为每毫升树脂吸附 1.67 g 生药,树脂柱径高比 1 : 7,上样药液质量浓度为生药 0.6 g/mL,上样体积流量 4.0 BV/h,2 BV 去离子水洗涤,70%乙醇溶液洗脱,洗脱体积流量 3.0 BV/h,洗脱量 5 BV;三拗缓释片提取液经大孔树脂纯化后,盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、苦杏仁苷和甘草酸铵的总质量分数从 3.76%提高到了 22.62%,是纯化前的 6 倍;浸膏得率从原来的 24.19%降到了 5.10%,浸膏得率降低,但是有效成分未损失,工艺条件基本可行。

参考文献

- [1] 刘景源. 太平惠民和剂局方 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [2] 易海燕, 何桂霞, 欧阳文, 等. 大孔吸附树脂分离纯化藤茶总黄酮的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 74-77.
- [3] 李晨, 狄留庆, 赵晓莉, 等. 大孔吸附树脂分离纯化消癥丸提取液工艺研究 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3266-3270.
- [4] 周秋月, 李琪, 李慧敏, 等. 大孔树脂分离复方黑骨藤药物有效成分工艺的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3098-3104.
- [5] 李晓静, 李岩, 程雪梅, 等. 大孔树脂分离纯化秋水仙总生物碱的研究 [J]. 四川中医, 2013, 35(8): 1667-1671.
- [6] 聂犇, 房海灵, 黄宝祥, 等. 大孔树脂分离纯化广东紫珠中苯乙醇苷的工艺研究 [J]. 中草药, 2013, 44(18): 2547-2550.
- [7] 马丽娜, 张铁军, 田成旺, 等. 大孔树脂分离纯化川西獐牙菜中环烯醚萜苷类和酮类成分的工艺研究 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 227-231.