

强志怡神胶囊的大孔树脂纯化工艺优选

王建成*

(临沂市食品药品检验检测中心, 山东 临沂 276001)

[摘要] 目的:优选强志怡神胶囊的大孔树脂纯化工艺。方法:以细叶远志皂苷、芍药苷、甘草酸、甘草苷的比吸附量和洗脱率为指标筛选大孔树脂型号。采用单因素试验考察上样液质量浓度、径高比、洗脱剂体积等因素对强志怡神胶囊大孔树脂纯化工艺的影响。结果:选用 HPD-100 型大孔树脂,最佳纯化工艺为上样液质量浓度 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,树脂-生药量(3:1),树脂径高比 1:7.5,上样速度 $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$,加 4 BV 水洗除杂,继加 70% 乙醇 5 BV 洗脱,洗脱速度 $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 。细叶远志皂苷、芍药苷、甘草酸、甘草苷的转移率分别为 78.55%, 88.62%, 82.47%, 83.15%,得膏率 7.52%,干燥时间 0.5 h。结论:该工艺能有效去除远志、白芍、甘草水提液中的淀粉、糖类等杂质,所得纯化物易于制剂成型,可作为强志怡神胶囊的纯化工艺。

[关键词] 强志怡神胶囊; 大孔树脂; 细叶远志皂苷; 芍药苷; 甘草酸; 甘草苷

[中图分类号] R283.6;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)18-0017-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015180017

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150807.0954.004.html>

[网络出版时间] 2015-08-07 9:54

Optimization of Purification Process of Qiangzhi Yishen Capsules with Macroporous Absorptive Resin

WANG Jian-cheng* (Linyi Food and Drug Inspection and Test Center, Linyi 276001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize purification process of Qiangzhi Yishen capsules with macroporous resin. **Method:** Absorption ratio and elution rate of tenuifolin, paeoniflorin, glycyrrhizic acid and liquiritin were taken as indexes to screen out types of macroporous resins. Effects of the concentration of solution, diameter-height ratio and eluent volume on purification process of Qiangzhi Yishen capsules were investigated by single factor tests. **Result:** HPD-100 macroporous resin was selected, optimum purification process was as following: the mass concentration of sample loading solution $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, resin-material drug (3:1), diameter-height ratio of resin 1:7.5, sample loading speed $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$, decontaminated with 4 BV of water, and then eluted with 5 BV of 70% ethanol, elution speed of $3 \text{ BV}\cdot\text{h}^{-1}$. Transport rates of tenuifolin, paeoniflorin, glycyrrhizic acid and liquiritin were 78.55%, 88.62%, 82.47%, 83.15%, with rate of extract of 7.52% and drying time of 0.5 h. **Conclusion:** This process can effectively remove starch, saccharides and other impurities in water extract, these purified substances is easy to use in preparations.

[Key words] Qiangzhi Yishen capsules; macroporous resin; tenuifolin; paeoniflorin; glycyrrhizic acid; liquiritin

强志怡神胶囊是根据临床验方——强志方开发而成的中药复方制剂,由远志、桂枝、白芍、甘草、川贝母组成,具有通阳开郁、强志怡神的作用,临床用于治疗抑郁症。方中远志养心安神、化痰利窍、交通心肾,白芍益阴和营、养血柔肝,炙甘草补中益气,合桂枝为壮心阳之用。为缩小临床服用剂量,提高抑

郁症患者顺应性,处方需尽量精制,但醇沉法^[1]、絮凝法^[2-4]无法满足精制需求。方中远志、白芍、甘草有效成分多为苷类^[5-7],故选择采用大孔吸附树脂进行纯化^[8]。本实验拟通过单因素试验优选强志怡神胶囊中远志、白芍、甘草的大孔树脂纯化工艺,为该制剂的临床应用提供参考。

[收稿日期] 20140212(010)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09103002-015)

[通讯作者] *王建成,硕士,主管中药师,从事中药药物分析及制剂研究, Tel:15553115610, E-mail: gaopenggaopeng@126.com

1 材料

LC-2010A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), AB135-S 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), BT300-2J 型恒流泵(保定兰格恒流泵有限公司), TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。远志、白芍、甘草药材购自山东宏济堂医药有限公司, 经山东中医药大学中药教研室石俊英教授鉴定分别为远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* 的干燥根、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根和根茎。D101, AB-8, X-5, S-8 型大孔树脂均购自天津波鸿; HPD-100 型大孔树脂(沧州宝恩化工有限公司), 细叶远志皂苷对照品(上海源叶生物科技有限公司, 批号 20121026), 芍药苷、甘草酸铵和甘草苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110736-201337, 110731-200614, 111610-200604), 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为纯净水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取液的制备 按处方比例取远志、白芍、甘草药材饮片, 加 8 倍量水煎煮 3 次, 每次 1.5 h, 静置放冷, 双层纱布粗滤, 滤液定容至生药质量浓度 0.05 g·mL⁻¹, 离心(3 000 r·min⁻¹, 10 min, 下同), 取上清液, 备用。

2.2 树脂的预处理 取适量 D101, AB-8, HPD-100, X-5, S-8 型大孔树脂, 用 95% 乙醇充分溶胀 24 h 后湿法装柱, 加 95% 乙醇动态洗至流出液-水(1:2)混合不呈白色浑浊, 加水洗至无醇味。

2.3 指标成分的含量测定^[9]

2.3.1 细叶远志皂苷 精密称取细叶远志皂苷对照品适量, 加甲醇制成 1 g·L⁻¹ 的对照品溶液。收集上样液、洗脱液等待测溶液, 分别测定体积, 精密吸取待测溶液适量置蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣充分转移至圆底烧瓶中, 加入 10% 氢氧化钠溶液 50 mL, 加热回流 2 h, 放冷, 用盐酸调节 pH 4~5, 用水饱和的正丁醇振荡提取 3 次, 每次 50 mL, 合并正丁醇液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解并充分转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 得供试品溶液。色谱条件为进样量 10 μL, 流动相甲醇-0.05% 磷酸溶液(70:30), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 210 nm。

2.3.2 芍药苷 精密称取芍药苷对照品适量, 加甲醇制成 60 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。精密吸取待测溶液适量, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 得供试品溶液。色谱条件为进样量 10

μL, 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 230 nm。

2.3.3 甘草酸、甘草苷 精密称取甘草苷、甘草酸铵对照品适量, 加 70% 乙醇分别制成质量浓度分别为 20, 200 mg·L⁻¹ 的对照品溶液(甘草酸质量 = 甘草酸铵质量/1.0207)。供试品溶液的制备同 2.3.2 项。色谱条件为进样量 10 μL, 流动相乙腈(A)-0.05% 磷酸(B)梯度洗脱(0~25 min, 11%~19% A; 25~60 min, 19%~30% A), 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 237 nm。

2.4 大孔树脂型号选择

2.4.1 静态比吸附量考察 将提取液浓缩至 0.2 g·mL⁻¹, 离心, 取上清液。取已预处理好 的 5 种湿树脂各 10 mL, 分别置于 250 mL 锥形瓶中, 为保证吸附饱和, 各精密加入上清液 100 mL, 磁力搅拌 2 h, 放置 24 h 至充分吸附, 滤过, 按 2.3 项下方法测定原上清液和滤液中各指标成分的含量, 见表 1。结果显示 D101, AB-8, HPD-100 型大孔树脂对 4 种指标性成分的静态比吸附量优于 X-5, S-8 型大孔树脂。

表 1 不同大孔树脂对强志怡神胶囊提取液的静态比吸附量

Table 1 Static adsorption ratio of Qiangzhi Yishen capsules extract by different macroporous resin

大孔树脂	比吸附量/g·L ⁻¹			
	细叶远志皂苷	芍药苷	甘草酸	甘草苷
D101	5.42	2.05	4.65	4.93
AB-8	13.12	2.85	5.05	4.14
HPD-100	12.26	5.22	7.95	7.49
X-5	4.38	2.36	3.29	3.02
S-8	2.15	1.07	2.92	1.44

注: 静态比吸附量 = (吸附前质量 - 吸附后质量)/树脂体积。

2.4.2 动态吸附-洗脱考察 取已预处理的 HPD-100, AB-8, D101 型大孔树脂各 20 mL, 湿法装柱(1.5 cm × 11 cm), 取 0.2 g·mL⁻¹ 上样液 4 份, 每份 100 mL, 均以 1.5 mL·min⁻¹ 通过树脂柱, 收集流出液。加水 100 mL 洗脱, 继加 70% 乙醇 100 mL 洗脱, 洗脱速度均为 1.5 mL·min⁻¹, 分别收集水洗脱液及乙醇洗脱液, 按 2.3 项下方法测定 4 种指标成分的含量, 见表 2。综合考虑 4 种指标性成分的保留率, 确定采用 HPD-100 型大孔树脂。

2.5 纯化工艺考察

2.5.1 上样液质量浓度 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 4 份, 每份 20 mL, 湿法装柱(1.5 cm ×

表 2 强志怡神胶囊提取液中不同成分的动力学吸附量和洗脱率
Table 2 Kinetic adsorption and elution rates of different components from Qiangzhi Yishen capsules extract

指标成分	比吸附量/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			洗脱率/%		
	D101	AB-8	HPD-100	D101	AB-8	HPD-100
细叶远志皂苷	4.96	12.02	11.74	90.47	92.58	94.27
芍药苷	1.37	2.18	5.14	92.32	93.74	96.66
甘草酸	4.41	5.78	7.58	85.27	87.16	93.41
甘草苷	4.32	4.09	7.02	90.13	88.20	95.85

注:动力学比吸附量 = (上样液中质量 - 流出液中质量 - 水洗脱液中质量) / 树脂体积; 洗脱率 = [醇洗脱液中质量 / (上样液中质量 - 流出液中质量 - 水洗脱液中质量)] $\times 100\%$ 。

11 cm), 取 $0.05 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上样液 200 mL, 共 4 份, 取其中 3 份分别浓缩至 $0.1, 0.2, 0.5 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 4 份上样液均以 $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 通过树脂柱进行动态吸附, 收集流出液, 分别测定上样液和流出液中各指标成分的含量, 结果见表 3。综合考虑, 选择上样液质量浓度 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表 3 强志怡神胶囊提取液纯化工艺的上样液质量浓度考察
Table 3 Investigation of sample solution concentration in purification process of Qiangzhi Yishen capsules extract

质量浓度 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	比吸附量/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			
	细叶远志皂苷	芍药苷	甘草酸	甘草苷
0.05	11.74	5.14	7.58	7.02
0.10	11.98	5.07	7.60	6.84
0.20	10.82	4.65	7.03	6.40
0.50	9.96	4.08	5.91	3.44

2.5.2 树脂径高比 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 3 份, 每份 20 mL, 湿法装柱, 树脂径高比分别为 $1:3 (2 \text{ cm}\times 6 \text{ cm}), 1:7.5 (1.5 \text{ cm}\times 11 \text{ cm}), 1:25 (1 \text{ cm}\times 25 \text{ cm})$, 取 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上样液 3 份, 每份 200 mL, 以 $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 通过树脂柱进行动态吸附, 收集流出液, 测定上样液和流出液中 4 种指标成分的含量, 结果见表 4。考虑径高比太大会影响洗脱速度, 且实际工业大生产中过大的径高比会压碎树脂, 故选择树脂柱径高比 $1:7.5$ 。

2.5.3 上样量 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 20 mL, 湿法装柱 ($1.5 \text{ cm}\times 11 \text{ cm}$), 取 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上样液 100 mL 以 $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 通过树脂柱, 收集流出液, 每 5 mL 收集 1 次, 共收集 20 份, 分别测定上样液和流出液中 4 种指标成分的含量, 绘制动态吸附曲线, 见图 1。结果显示从第 15 份开始细叶远志皂苷出现泄露, 从第 17 份开始芍药苷出现泄露, 此时甘草酸、甘草苷还未出现泄露, 可能是上样

表 4 强志怡神胶囊提取液纯化工艺的树脂径高比考察
Table 4 Investigation of diameter-height ratio in purification process of Qiangzhi Yishen capsules extract

径高比	比吸附量/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			
	细叶远志皂苷	芍药苷	甘草酸	甘草苷
1:3	9.21	4.05	4.99	5.16
1:7.5	11.74	5.14	7.58	7.02
1:25	12.26	6.27	7.80	7.19

液中细叶远志皂苷含量最高, 芍药苷其次, 这 2 种成分达平衡吸附最快。故确定最大上样量 7 g, 树脂与生药量的比例 $3:1$ 。

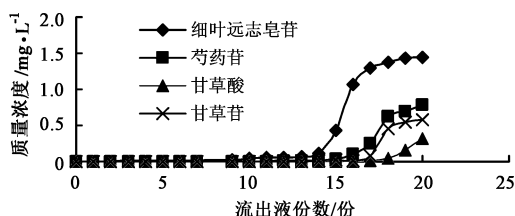


图 1 强志怡神胶囊提取液纯化工艺的泄露曲线
Fig.1 Leakage curve in purification process of Qiangzhi Yishen capsules extract

2.5.4 上样速度 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 3 份, 每份 20 mL, 湿法装柱 ($1.5 \text{ cm}\times 11 \text{ cm}$), 取 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上样液 3 份, 每份 100 mL, 分别以 2, 3, 4 $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 的流速上柱, 收集流出液, 测定上样液和流出液中 4 种指标成分的含量。结果发现上样速度为 2, 3 $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 时, 细叶远志皂苷、芍药苷的比吸附量几乎相当, 甘草酸、甘草苷的比吸附量略小; 上样速度为 4 $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 时, 4 种指标成分的比吸附量均显著下降。综合考虑, 选择上样速度 3 $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

2.5.5 洗脱剂浓度 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 3 份, 每份 20 mL, 湿法装柱 ($1.5 \text{ cm}\times 11 \text{ cm}$), 取 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上样液 3 份, 每份 100 mL, 以 3 $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 的流速通过树脂柱。加水 100 mL 洗脱, 分别用体积分数 30%, 50%, 70% 的乙醇溶液各 100 mL 洗脱, 收集乙醇洗脱液, 结果见表 5。综合考虑, 选择 70% 乙醇为洗脱剂。

2.5.6 洗脱剂用量 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 20 mL, 湿法装柱 ($1.5 \text{ cm}\times 11 \text{ cm}$), 取 $0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上样液 100 mL, 以 3 $\text{BV}\cdot\text{h}^{-1}$ 的流速通过树脂柱, 收集流出液, 加水 5 BV (100 mL) 洗脱, 继以 70% 乙醇 8 BV 洗脱, 洗脱速度均为 $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 洗脱液每 1 BV 收集 1 次。计算 5 份水洗脱液的得膏率分别为 2.48%, 3.49%, 3.32%, 1.04%, 0.75%; Molish 反应前 3 份呈阳性, 后 2 份呈阴性。

表 5 强志怡神胶囊提取液纯化工艺的洗脱剂浓度考察

Table 5 Investigation of eluent concentration in purification process of Qiangzhi Yishen capsules extract %

乙醇体积 分数	洗脱率			
	细叶远志皂苷	芍药苷	甘草酸	甘草苷
30	29.63	91.02	30.15	73.47
50	63.98	91.34	71.89	93.13
70	91.77	93.36	88.93	94.25
90	92.25	94.74	91.81	93.47

测定乙醇洗脱液中 4 种指标成分的含量及得膏率, 绘制动态吸附曲线, 见图 2。结果显示水洗量达 4 BV 时, 水洗液中固形物已较少, Molish 反应呈阴性, 说明糖类、淀粉等杂质已洗脱完全, 故确定加水 4 BV 洗脱除杂。70% 乙醇用量达 3 BV 时, 芍药苷、甘草苷洗脱率均 > 90%, 70% 乙醇用量达到 5 BV 时, 4 种成分的洗脱率均 > 95%, 醇洗液中固形物含量趋于稳定, 说明已将吸附的有效成分洗脱完全, 故确定加 70% 乙醇 5 BV 洗脱。

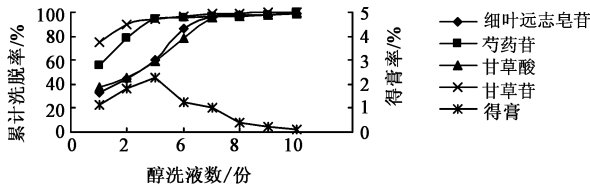


图 2 强志怡神胶囊提取液纯化工艺的洗脱剂用量考察

Fig. 2 Investigation of eluent amount in purification process of Qiangzhi Yishen capsules extract

2.5.7 洗脱速度 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 3 份, 每份 20 mL, 湿法装柱 (1.5 cm × 11 cm), 取 0.1 g · mL⁻¹ 上样液 3 份, 每份 100 mL, 按优选的工艺条件进行吸附, 加水 100 mL 洗脱, 分别以 2, 3, 4 BV · h⁻¹ 的流速加 70% 乙醇各 100 mL 洗脱, 收集乙醇洗脱液。结果发现洗脱速度为 2 BV · h⁻¹ 时, 4 种成分洗脱率最高, 但洗脱速度慢、效率低; 洗脱速度为 3 BV · h⁻¹ 时, 4 种成分洗脱率与洗脱速度为 2 BV · h⁻¹ 时相差不大; 洗脱速度为 4 BV · h⁻¹ 时, 4 种成分洗脱率显著减小。故选择洗脱速度 3 BV · h⁻¹。

2.6 验证试验 取已预处理的 HPD-100 型大孔树脂 20 mL, 湿法装柱, 按优选的工艺条件进行动态吸附和洗脱, 计算细叶远志皂苷、芍药苷、甘草酸、甘草苷的转移率分别为 79.57%, 86.19%, 83.42%, 82.74%, 表明优选的纯化工艺稳定可行。

2.7 纯化物性质考察 取远志、白芍、甘草提取液 2 份, 每份 100 mL, 1 份直接浓缩、干燥, 另一份按优

选的工艺纯化后浓缩、干燥, 分别收集 2 份干膏, 按 2.3 项下方法测定, 结果转移率分别为细叶远志皂苷 82.83%, 78.55%, 芍药苷 91.28%, 88.62%, 甘草酸 85.38%, 82.47%, 甘草苷 87.26%, 83.15%, 得膏率 34.27%, 7.52%。干燥时间 2.0, 0.5 h。

3 讨论

大孔树脂对单味药的纯化研究较多^[11], 关于复方制剂的研究较少, 本文选择多指标成分对 HPD-100 型大孔吸附树脂纯化强志怡神胶囊中远志、白芍、甘草水提液的工艺进行了较系统的研究。结果发现远志、白芍、甘草提取液经 HPD-100 型大孔树脂纯化后, 得膏率下降了近 5 倍, 细叶远志皂苷、芍药苷、甘草酸、甘草苷 4 种指标成分的转移率与纯化前相比无显著性差异, 且干燥时间显著下降, 所得干膏不易吸湿、易于制剂, 可大大降低临床服用量, 说明该工艺可达到本方的精制要求, 适合工业大生产。

[参考文献]

- [1] 董洁, 方玉婷, 郭立玮. 不同提取分离方法对芍药甘草汤物质组成影响的初步研究[J]. 中成药, 2010, 32(12): 2170-2172.
- [2] 张萍, 吴月国, 刘骅. ZTC1 + 1-II 澄清剂用于中药水提液澄清[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(2): 113-115.
- [3] 唐安福, 崔恩忠, 汤昊. ZTC1 + 1-III 型澄清剂用于白芍提取液澄清工艺的研究[J]. 中国药业, 2013, 22(8): 59-61.
- [4] 刘卫红, 吴冬梅, 张娜娜, 等. ZTC1 + 1 天然澄清剂在赤芍药材除杂工艺中应用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 45-47.
- [5] 谭菁菁, 赵庆春, 杨琳, 等. 白芍化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(8): 1245-1248.
- [6] 姜勇, 屠鹏飞. 远志研究进展[J]. 中草药, 2001, 32(8): 759-761.
- [7] 陶晔, 刘晓清, 屈振刚. 甘草化学成分研究进展[J]. 河北农业科学, 2009, 13(3): 77-79.
- [8] 李文兰, 赵稷, 徐栋, 等. 大孔树脂纯化复方中总苷类成分的吸附特征[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2007, 23(6): 651-656, 693.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 81, 97, 146.
- [10] 孙磊. 灵智胶囊制剂工艺及质量标准研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2006.
- [11] 史秀峰, 杨骏, 黄孝春, 等. 连翘中连翘酯苷的大孔树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 14-18.

[责任编辑 刘德文]