

· 工艺与制剂 ·

黄连解毒汤水溶液体系化学成分与 树脂吸附-筛分原理关联的初步研究

朱华旭*, 邱碧菡, 李欢, 郭立玮, 潘林梅

(南京中医药大学中药复方分离工程重点实验室, 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨中药复方水溶液体系下黄连解毒汤中主要药效成分与树脂吸附和筛分原理之间的内在关联,为黄连解毒汤的剂型改进奠定实验基础。**方法:**选择目前市售的 11 种不同类型大孔树脂进行静态吸附和解析实验。RP-HPLC 比较各组水溶液体系精制前后生物碱、黄酮、环烯醚萜苷三大类药效中指标性成分含量的动态变化。**结果:**不同类型大孔树脂对黄连解毒汤中三大类药效成分的吸附率、解析率差异均较大。极性较小、平均孔径较大的 X-5, AB-8 型树脂对生物碱类的吸附率、解析率均较高;表面积和平均孔径较大的 X-5, ADS-17, ADS-7, NKA-9, D151 型树脂对黄酮类成分的富集作用较好;平均孔径较大的 X-5, S-8, NKA-II 型树脂和极性较大的 ADS-7, D151 型树脂对环烯醚萜苷类成分的富集作用较高。**结论:**在中药复方水溶液体系下,采用树脂组合的方式,可以优化目标产物的分离工艺。

[关键词] 黄连解毒汤;不同极性大孔树脂;三类药效成分;吸附-解析动力学

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0001-05

Preliminary Study on Relevance between Chemical Components in Huanglian Jiedu Decoction and Adsorption and Screen Separation Theory of Macroporous Resin

ZHU Hua-xu*, QIU Bi-han, LI Huan, GUO Li-wei, PAN Lin-mei

(Key Laboratory of Separation Engineering of Chinese Traditional Medicine Compound,
Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate inherent relevance between primary effective ingredients in Huanglian Jiedu decoction and theory of adsorption and screen separation about macroporous resins under aqueous solution system of Chinese herbal compound, and to lay experimental basis for improvement of dosage forms about Huanglian Jiedu decoction. **Method:** 11 type of commercially available macroporous resins were selected to carry out static adsorption and desorption experiments. The dynamic contents change of three categories of index ingredients including alkaloids, flavonoids and iridoid glycoside were compared before and after purification by RP-HPLC. **Result:** Both adsorption and desorption rates of three categories of primary effective ingredients in Huanglian Jiedu decoction by different macroporous resins had remarkable differences. X-5 and AB-8 resin had both higher adsorption and desorption rates for alkaloids with weaker polarity and bigger particle size; X-5, ADS-17, NKA-9 and D151 resin had a better enrichment effect for flavonoids with bigger surface area and pore size; X-5, S-8 and NKA-II resin had better enrichment effect for iridoid glycoside with bigger average pore size, while ADS-7 and D151 resin had the same effect with stronger polarity. **Conclusion:** In aqueous solution system of Chinese medicine compound, using resin combination could optimize separation process of target products.

[Key words] Huanglian Jiedu decoction; macroporous resins with different polarity; three categories of effective ingredients; adsorption-desorption dynamics

[收稿日期] 20111110(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873450);江苏省教育厅‘青蓝工程’项目(2008)

[通讯作者] *朱华旭,博士,副研究员, E-mail: huaxu72@yahoo.com.cn

传统中药制剂是历代医药学家以严谨的治学态度和高度的责任心从长期的医药实践中形成的经验积累,而中药剂型改进是在中医药基本理论指导下,在发扬传统中药剂型经验的基础上,研究制剂制备的新工艺、新品种或新剂型。中药剂型改进的目的之一就是改进制剂制备工艺,充分提取和合理利用药物成分的多效性和复合成分的综合利用,提高药剂疗效^[1]。

大孔树脂是当前反应性高分子技术领域发展最活跃的一个分支。实践应用表明,基于吸附和筛分原理的大孔吸附树脂技术适用于中药复方水溶液体系中有有效成分与大分子无效成分或药用性较差成分的分 离^[2]。但中药水提液是极其复杂的体系,其高分子物质组成、物理化学参数、各分离技术工程特征量等的几个表征体系之间存在大量非线性、高噪声、多因子的复杂关系。因此,从本质上研究中药水提液体系可用于分离的“性质”,特别是可用于现代高新分离技术的一些重要性质,是中药制药工业必须解决的重要问题^[3]。

黄连解毒汤为临床应用广泛的传统中药代表方,其中蕴含的生物碱、黄酮、环烯醚萜苷三大类水溶性化学成分具有改善脑缺血、益智作用^[4]。黄连解毒汤的传统用药剂型为水煎煮汤剂,应用大孔树脂分离技术从其水溶液体系中有选择地吸附其中的三大类有效成分,是高效去除无效成分、改善提取物物理特性的一种有效手段^[5]。本论文通过比较研究目前市售的 11 种不同极性的大孔树脂对黄连解毒汤水溶液体系的吸附-解析动力学特征,探讨在中药复方水溶液复杂体系下,化学结构与树脂吸附和筛分原理之间的内在关联,为该方的剂型改进奠定基础。

1 材料

SHZ-B 型水浴恒温振荡器(上海跃进医疗器械厂),Agilent 1100 高效液相色谱(Agilent 1100 四元泵,VWD 检测器,自动进样器,Agilent 1100 LC 色谱工作站)。

X-5, AB-8, S-8, NKA-Ⅱ, NKA-9, ADS-17, ADS-21, ADS-7 型药用级大孔吸附树脂购自天津南开和成科技有限公司;HPD100, D101 型药用级大孔吸附树脂购自沧州宝恩化工有限公司。对照品购自中国药品与生物制品检定所,供含量测定用,批号分别为盐酸小檗碱 110713-200208、盐酸巴马汀 0732-200005、黄芩苷 110715-200815、黄芩素 111595-200604、汉黄芩素 111514-200403、栀子苷 110749-200309;乙腈为色谱纯(MERCK)、水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯(江苏淮安汉邦公司);药材购自安徽亳州市中药饮片厂,经本校生药学教研室吴启南教授鉴定,符合 2010 年版《中国药典》规定。

2 方法

2.1 水溶液体系的制备 按 9:6:6:9 的比例称取黄连解毒汤组方药材共 11 份,每份 240 g,水煎煮制备复方水溶液含生药 0.1 g·mL⁻¹,备用^[6]。

2.2 树脂型号的选择 黄连解毒汤水溶液体系中的主要药效成分共有 3 种结构类型:生物碱类、黄酮类和环烯醚萜类。根据大孔树脂的吸附与筛分的原理,我们选用了 11 种不同极性的树脂,见表 1。通过 HPLC 测定树脂精制前后水溶液中生物碱类(以盐酸小檗碱、盐酸巴马汀计);黄酮类(以黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素计);环烯醚萜苷类(以栀子苷计)的含量变化,初步阐明在复方溶液状态下,不同成分的分 离富集与树脂类型之间的关系。

表 1 11 种树脂的性质参数

树脂型号	聚合类型	极性	粒径/mm	比表面积/m ² ·g ⁻¹	平均孔径/Å
HPD100	聚苯乙烯	非极性	0.35 ~ 1.25	650 ~ 700	85 ~ 90
X-5		非极性	0.35 ~ 1.25	500 ~ 600	290 ~ 300
AB-8		弱极性	0.35 ~ 1.25	480 ~ 520	130 ~ 140
D101		弱极性	0.25 ~ 0.84	500 ~ 550	90 ~ 100
ADS-17		中极性	0.35 ~ 1.25	90 ~ 150	25 ~ 30
S-8		中极性	0.35 ~ 1.25	100 ~ 120	280 ~ 300
ADS-21		极性	0.35 ~ 1.25	80 ~ 100	15 ~ 20
NKA-Ⅱ		极性	0.35 ~ 1.25	160 ~ 200	200 ~ 220
NKA-9		强极性	0.35 ~ 1.25	250 ~ 290	155 ~ 165
ADS-7		强极性	0.35 ~ 1.25	≥100	25 ~ 30
D151	丙烯酸系阳离子	弱酸性(-COOH)	0.315 ~ 1.25	-	-

2.3 静态吸附试验 准确量取预处理后的树脂(每份 10 g),置具塞锥形瓶中,精密加入已处理好的上述的水溶液 50 mL,室温下振荡($180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),定时取样,至吸附平衡。采用 RP-HPLC 同时测定吸附前后水溶液体系中的三类药效成分的含量变化,按式(1)计算吸附率^[7],以吸附率来考察树脂对药液中药效成分的吸附效果^[3]。

$$\text{吸附率 } A_1 = (C_{o1} - C_{e1}) / C_{o1} \times 100\% \quad \text{式(1)}$$

式中 C_o 和 C_{e1} 分别为上样药液和吸附后药液中指示性成分的质量浓度。

2.4 静态解析试验 将静态饱和和吸附后的树脂 10 g 滤出,吸干表面水分,精密加入 70% 乙醇 70 mL,室温下振荡($180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 24 h 至解析完全。采用 RP-HPLC 同时测定洗脱液中三类药效成分的含量,按式(2)计算解析率,以解析率来考察树脂对药液中药效成分的解析效果^[3]。

$$\text{解析率 } A_2 = C_{e2} / C_{o2} \times 100\% \quad \text{式(2)}$$

式中 C_{o2} 和 C_{e2} 分别为上样药液和解析后药液中指示性成分的质量浓度。

2.5 样品液化学成分的含量测定 采用 RP-HPLC^[7],检测成分选择君药黄连和佐药黄柏中的生物碱成分小檗碱、巴马汀,臣药黄芩中的黄酮类成分黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素,使药栀子中的环烯醚萜苷类成分栀子苷。色谱条件为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.05% 三乙胺水溶液(B)(磷酸调 pH 3.1),梯度洗脱程序见表 2;柱温 30 ℃,流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 238 nm, 276 nm。理论塔板数以盐酸小檗碱、黄芩苷、栀子苷分别计算均不低于 5 000^[8],见图 1。

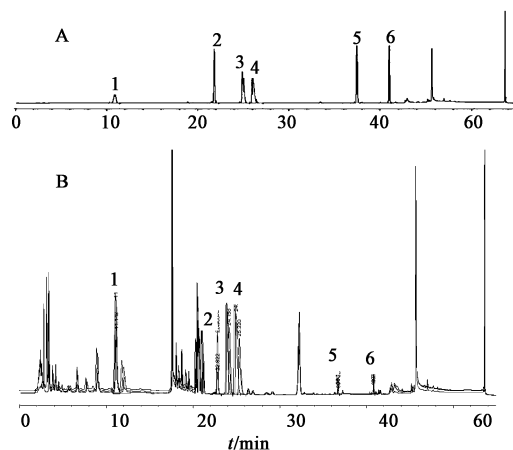
表 2 梯度洗脱程序

t/min	A/%	B/%
0 ~ 13	12	88
13 ~ 15	12 ~ 26	88 ~ 74
15 ~ 28	26	74
28 ~ 35	26 ~ 45	74 ~ 55
35 ~ 45	45 ~ 100	55 ~ 0
45 ~ 50	100	0
50 ~ 53	100 ~ 12	0 ~ 88
53 ~ 55	12	88

3 结果与分析

3.1 静态吸附试验 对上述 RP-HPLC 测出的图谱数据整理,计算出 11 种大孔树脂对黄连解毒汤各指示性成分的静态吸附率,见表 3。

由表 3 可以看出,不同极性树脂对不同类型化



A. 对照品; B. 样品; 1. 栀子苷; 2. 黄芩苷; 3. 盐酸巴马汀; 4. 盐酸小檗碱; 5. 黄芩素; 6. 汉黄芩素

图 1 AB-8 大孔树脂吸附-解析样品色谱

学成分的吸附率差异较大。在复方水溶液体系下,非极性与弱极性树脂对生物碱类及黄酮类成分的选择性吸附较强,对环烯醚萜苷类成分的吸附较弱。

3.2 静态解析试验 对上述 RP-HPLC 测出的图谱数据整理,计算出 11 种大孔树脂对黄连解毒汤各指示性成分的静态解析率,结果见表 4。

由表 4 可以看出,不同极性树脂对不同类型化学成分的解析率的差异较大。

由表 3, 4 可以看出,平均粒径较大的非极性与弱极性树脂 X-5, AB-8 型树脂对生物碱类的吸附率、解析率均较高。X-5, ADS-17, ADS-7, NKA-9, D151 型树脂对黄酮类成分的富集作用较好,但对苷和苷元的富集存在明显的差异;以 ADS-17, ADS-7 型树脂为例,两者比表面积、粒径相似,但极性小对苷类的富集作用较强,极性大对苷元的富集作用较强,且两者的富集作用均弱于表面积较大、平均孔径较大的 NKA-9 型树脂;初步推测表面积和平均孔径可能是影响黄酮类成分富集的因素。平均孔径较大的 X-5, S-8, NKA-II 型树脂对环烯醚萜苷类成分的吸附富集作用较其他类型树脂较好,表面积和平均孔径均较小的 ADS-7, D151 型树脂,由于其极性较大,对环烯醚萜苷类成分的吸附富集作用也较强。

综上所述,在本实验所使用的 11 种树脂中,黄连解毒汤复方水溶液体系中化学成分与 11 种树脂的吸附-筛分作用具有一定的关联性:表面积较大、平均粒径较大的树脂对生物碱类和黄酮类成分的吸附富集作用较强;平均粒径较大或极性较大的树脂对环烯醚萜苷类成分的吸附富集作用较强。因此,在中药复方水溶液体系下,采用树脂组合的方式,可以优化目标产物的分离工艺^[9]。

表 3 6 种指标性成分的静态吸附 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

%

树脂型号	吸附率					
	小檗碱	巴马汀	黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	栀子苷
HPD100	100.00 ± 0.09	100.00 ± 0.13	100.00 ± 0.21	100.00 ± 0.02	100.00 ± 0.18	96.96 ± 1.04
X-5	100.00 ± 0.05	100.00 ± 0.22	100.00 ± 0.13	100.00 ± 0.09	100.00 ± 0.13	98.22 ± 1.32
AB-8	100.00 ± 0.10	100.00 ± 0.04	100.00 ± 0.39	100.00 ± 0.28	100.00 ± 0.04	99.80 ± 1.54
D101	100.00 ± 0.04	100.00 ± 0.11	100.00 ± 0.26	100.00 ± 0.11	100.00 ± 0.09	99.17 ± 0.09
ADS-17	98.29 ± 0.21	97.65 ± 0.98	99.33 ± 0.88	100.00 ± 0.13	100.00 ± 0.10	90.07 ± 2.05
S-8	99.51 ± 0.32	99.54 ± 0.52	100.00 ± 0.79	100.00 ± 0.07	100.00 ± 0.12	96.10 ± 0.11
ADS-21	94.53 ± 0.19	97.52 ± 1.34	98.00 ± 1.35	98.84 ± 0.29	100.00 ± 0.08	94.67 ± 0.29
NKA-II	100.00 ± 0.17	100.00 ± 0.47	100.00 ± 1.25	100.00 ± 1.05	100.00 ± 0.21	99.54 ± 1.41
NKA-9	98.27 ± 1.24	98.10 ± 1.20	99.57 ± 0.79	99.18 ± 0.99	100.00 ± 0.13	90.29 ± 0.48
ADS-7	92.33 ± 0.94	91.59 ± 0.38	100.00 ± 0.43	100.00 ± 0.17	100.00 ± 0.16	88.12 ± 0.35
D151	99.86 ± 0.65	99.68 ± 0.49	91.37 ± 1.23	99.86 ± 0.88	98.82 ± 0.07	90.71 ± 0.94

表 4 6 种指标性成分的静态解析 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

%

树脂型号	解析率					
	小檗碱	巴马汀	黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	栀子苷
HPD100	79.54 ± 0.56	66.60 ± 0.44	44.78 ± 0.67	12.83 ± 0.21	2.67 ± 0.13	62.27 ± 1.20
X-5	93.16 ± 1.27	94.16 ± 0.29	66.42 ± 0.78	36.91 ± 0.72	21.33 ± 0.61	72.59 ± 1.67
AB-8	98.94 ± 0.95	95.44 ± 1.61	40.31 ± 0.50	0.00 ± 0.00	5.04 ± 0.22	60.35 ± 1.89
D101	94.72 ± 0.43	93.08 ± 0.33	46.71 ± 0.39	18.66 ± 0.38	4.27 ± 0.12	68.49 ± 0.97
ADS-17	64.86 ± 0.77	64.97 ± 1.08	67.63 ± 1.22	23.92 ± 1.09	7.12 ± 0.32	25.98 ± 0.88
S-8	96.23 ± 0.73	97.94 ± 0.27	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	6.60 ± 0.11	68.96 ± 0.80
ADS-21	61.42 ± 1.25	60.49 ± 0.84	1.38 ± 0.03	21.01 ± 0.97	32.21 ± 0.39	66.20 ± 1.33
NKA-II	93.43 ± 0.27	92.41 ± 1.17	29.72 ± 0.31	4.63 ± 0.16	1.20 ± 0.02	66.55 ± 1.85
NKA-9	94.64 ± 0.69	93.86 ± 1.65	64.32 ± 1.24	26.94 ± 0.48	20.17 ± 0.18	52.96 ± 1.32
ADS-7	73.17 ± 1.45	74.69 ± 0.33	1.38 ± 0.02	36.06 ± 0.75	26.47 ± 0.59	71.49 ± 1.47
D151	0.43 ± 0.02	1.11 ± 0.01	63.54 ± 1.03	6.33 ± 0.19	100.00 ± 0.09	74.10 ± 0.91

4 讨论

在天然有机化合物分离与精制工作中,吸附现象利用十分广泛,其中以固-液吸附用得最多,并有物理吸附、化学吸附及半化学吸附之分。大孔吸附树脂是吸附性和分子筛性原理相结合的材料,对中药提取液中化学成分之间的吸附作用介于物理吸附与半化学吸附之间,为范德华引力或产生氢键的结果^[10]。由于同一化合物在不同类型大孔树脂的吸附动力学特性具有显著差异,基于动态平衡的中药复方多组分共存时的吸附规律是十分复杂的^[11]。

本课题组在前期研究中,尝试采用中药复方水溶液模拟体系用于基于筛分机制的超滤技术,探讨中药膜分离技术的优化设计^[11]。依据“复杂系统的预测可以通过模型模拟进行研究”的原理^[12],本课题

组在后期的树脂工艺筛选中,采用树脂组合的方式,实现多成分的群集最优分离,进而采用上述黄连解毒汤水溶液模拟体系研究的方法,寻找模拟体系中化学成分与树脂吸附和筛分原理之间的内在关联,在中医整体观指导下,探索现代分离技术对中药复杂体系的适宜性,实现中药复方的等效分离。

[参考文献]

- [1] 杨基森. 中药制剂设计学[M]. 贵阳:贵州科技出版社,1992:8.
- [2] 郭立玮. 中药分离原理与技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:80.
- [3] 屠鹏飞,贾存勤,张洪全. 大孔吸附树脂在中药新药研究和生产中的应用[J]. 世界科学技术——中医药现代化,2004,6(3):22.

星点设计-效应面法优化天山雪莲传递体制备处方

马晓莉¹, 邢建国^{2*}, 王新春^{1,3}, 樊鑫梅¹, 连文元¹, 谢敏¹

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004;
3. 石河子大学医学院一附院 新疆 石河子 832008)

[摘要] 目的: 优化天山雪莲传递体的处方。方法: 注入-高剪切分散法制备天山雪莲传递体, 以绿原酸和芦丁包封率、载药量、传递体平均粒径及归一化值为评价指标, 以磷脂浓度、药脂比(质量比)、油水相体积比为考察因素, 星点设计-效应面法优化处方, 实验结果进行多元线性 and 二项式非线性方程拟合, 效应面法确定最佳处方配比。结果: 二项式是描述各指标与因素之间的最佳模型。以绿原酸为指标的包封率 83.44%, 载药量 4.65%; 以芦丁为指标的包封率 70.69%, 载药量 3.94%, 载药传递体平均粒径 154.6 nm, 理论预测值与实测值偏差较小, 模型具有良好的预测性。结论: 星点设计-效应面优化法筛选天山雪莲传递体是一种简便、可行的实验设计方法。

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)07-0005-04

Optimization of Preparation Formulation of *Saussurea involucrata* Transfersomes by Central Composite Design/Response Surface Methodology

MA Xiao-li¹, XING Jian-guo^{2*}, WANG Xin-chun^{1,3}, FAN Xin-mei¹, LIAN Wen-yuan¹, XIE Min¹

(1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China;

2. Xinjiang Institute of Meteria Medica, Urumchi 830004, China;

3. First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi 832008, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize formulation of *Saussurea involucrata* transfersomes. **Method:** *S. involucrata* transfersomes was prepared by combining injection technique with high shear scattered method, effects of three independent variables including the concentration of phospholipid, ratio of drug-lipid and volume ratio of oil phase-water phase were investigated, with entrapment efficiency and drug loading of chlorogenic acid and rutin,

[收稿日期] 20111113(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30960528)

[第一作者] 马晓莉, 硕士研究生, Tel: 0991-2300682

[通讯作者] *邢建国, 研究员, 硕士生导师, 从事中药民族药新制剂与新剂型研究, Tel: 0991-2300682, E-mail: xjguodd@163.com

- [4] 吴彦, 孙建宁, 于绍坤. 黄连解毒汤有效部位对培养大鼠皮层神经元缺糖缺氧损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(8): 936.
- [5] 冯孝庭. 吸附分离技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 3.
- [6] 朱华旭, 李欢, 顾晓莹, 等. 基于药效学试验的黄连解毒汤大孔树脂精制工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 1.
- [7] 朱华旭, 潘林梅, 刘小辉, 等. 大孔树脂精制6种含黄连复方水提液体系的吸附动力学比较研究[J]. 离子交换与吸附, 2009, 25(6): 502.
- [8] 李欢, 朱华旭, 潘林梅, 等. 黄连解毒汤全方和不同极性部位的活性筛选研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 124.
- [9] 邱碧菡, 李欢, 潘林梅, 等. 不同大孔树脂组合精制黄连解毒汤复方水提液的吸附-解析动力学比较研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(15): 2056.
- [10] 吴立军. 天然药物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 27.
- [11] J D Seader. 分离过程原理[M]. 朱开宏, 吴俊生译. 上海: 华东理工大学出版社, 2007: 556, 837.
- [12] 董洁, 朱华旭, 郭立玮. 黄连解毒汤模拟体系的超滤膜过程研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(19): 2458.
- [13] 刘兴堂, 梁炳成, 刘力, 等. 复杂系统建模理论、方法与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 120.

[责任编辑 全燕]