

5 种大孔树脂对舒胸片 6 种成分的吸附-脱吸附性能研究

颜红, 夏新华^{*}, 罗堃, 雷志丹
(湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

[摘要] 目的: 研究舒胸片 6 种成分在 5 种大孔树脂上的吸附-脱吸附性能。方法: 分别以相对比吸附量(RA)、洗脱率为指标, 考察舒胸片提取液中人参皂苷 Rb₁ 等 6 种成分在 HPD-100 等 5 种大孔树脂上的静态吸附和脱吸附性能。并在此基础上比较了综合吸附-脱吸附性能。结果: 6 种有效成分在 5 种树脂上的综合吸附-脱吸附性能以人参皂苷 Rb₁ 最好, 羟基红花黄色素 A 最差; 5 种树脂对 6 种有效成分的综合吸附-脱吸附性能以 HPD-100 和 LSA-30 两种树脂相对为佳。结论: 实验结果为合理确定舒胸片混合提取液的大孔树脂分离纯化工艺条件提供了实验依据。

[关键词] 舒胸片; 大孔树脂; 静态吸附; 脱吸附; 相对比吸附量; 洗脱率

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0005-03

Study on Static Adsorption and Desorption Properties of Five Different Macroporous Resins for Six Kinds of Ingredients in Shuxiong Tablets

YAN Hong, XIA Xin-hua^{*}, LUO Kun, LEI Zhi-dan

(School of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] Objective: To study the adsorption and desorption properties of macroporous resins to the active components of Shuxiong Tablets. **Method:** The relative adsorption ratio and desorption rate were used as the evaluating criteria, the static adsorption and desorption capability of 6 active ingredients 5 kinds of macroporous resins such as LSA-7, D101A, HPD-100 were compared. And on this basis, comprehensive properties of adsorption and desorption were compared. **Result:** Among 6 kinds of ingredients, ginsenoside Rb₁ had the best comprehensive properties. And the worst was hydroxy safflower yellow A. Among the 5 kinds of macroporous resins, HPD-100 and LSA-30 macroporous resins had relatively the optimum comprehensive properties of adsorption and desorption. **Conclusion:** The experimental results will provide an basis for establishing the feasible purification technique of Shuxiong Tablets.

[Key words] Shuxiong Tablets; macroporous resins; static adsorption; desorption; relative adsorption ratio; desorption rate

舒胸片系《中国药典》2005 年版一部收录的复方中药制剂^[1], 由三七、川芎和红花 3 味中药组成,

具有活血、祛瘀、止痛之功效, 临床主要用于冠心病、心绞痛、心律失常、软组织损伤等疾病。目前对这 3 味药材的主要活性成分研究比较明确, 三七含皂苷类成分(人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、三七皂苷 R₁), 川芎含生物碱类成分(川芎)与有机酸类成分(阿魏酸), 红花含黄酮类成分(羟基红花黄色素 A)。本文研究了舒胸片混合提取液中上述 6 种有效成分在 5 种大孔树脂(LSA-7, LSA-10, LSA-30, D101A, HPD-100)上吸附与脱吸附性能, 为优化该制剂大孔树脂吸附纯化工艺提供了实验依据。

[收稿日期] 2009-12-17

[基金项目] 湖南省教育厅重点课题(07A049); 湖南省科技厅科学研究项目(2008sk3068)

[第一作者] 颜红, 硕士, 讲师, 主要从事中药制剂新技术与新剂型的研究, Tel: 0731-88458231, E-mail: yh8632@126.com

[通讯作者] * 夏新华, Tel: 0731-88458305, E-mail: xiaxinhua001@163.com

1 仪器与试药

岛津高效液相色谱仪; SPD-10A vp 型紫外检测器; LC-10AT vp 色谱泵; N3000 色谱工作站; 岛津 AY120 型托盘电子分析天平; 98-1-B 型电热恒温套 (天津市泰斯特仪器有限公司)。

人参皂苷 R_{g_1} (批号 110703-200322)、人参皂苷 R_{b_1} (批号 110704-200318)、三七皂苷 R_1 (批号 110745-200312)、川芎 (批号 110817-200305)、阿魏酸 (批号 07733-9910)、羟基红花黄色素 A 对照品 (批号 111637-200502), 均由中国药品生物制品检定所提供。乙腈为色谱纯 (Caledon Laboratories LTD.), 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。三七、川芎、红花药材由湖南三湘中药饮片有限公司提供, 分别经湖南中医药大学中药鉴定教研室刘塔斯教授鉴定为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎、菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花。LSA-7, LSA-10, LSA-30 型大孔吸附树脂, 由西安蓝深交换吸附材料有限责任公司提供; D101A 大孔吸附树脂由天津市骨胶厂提供; HPD-100 型大孔吸附树脂由沧州宝恩化工有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 舒胸片提取液的制备 按 2005 年版《中国药典》舒胸片处方各药味比例, 取三七细粉, 加 50% 乙醇浸泡 2.5 h, 回流提取 2 次, 加醇量分别为药材的 8 倍、6 倍量, 提取时间分别为 2.5 h, 2.0 h, 收集醇提液, 回收乙醇, 备用; 取川芎, 加 10 倍量水煎煮 2 h, 滤过, 滤液另存, 药渣与红花加 8 倍量水煎煮 2 次, 每次 1 h, 合并煎液, 60 °C 减压浓缩至每 1 mL 含 1 g 生药, 在搅拌下缓缓加入乙醇使含醇量达 70%, 静置 24 h, 滤过, 滤液回收乙醇, 与上述醇提浓缩液合并, 60 °C 减压浓缩至含生药 0.3 g·mL⁻¹, 滤过, 即得。

2.2 不同大孔树脂的静态吸附实验 称取 LSA-7, LSA-10, LSA-30, D101A, HPD-100 5 种预处理好的大孔吸附树脂各 2 g (湿重), 置于具塞锥形瓶中, 分别加入质量浓度为 0.3 g 生药·mL⁻¹ 的舒胸片提取液 (pH 4.0) 50 mL, 密封置于 25 °C 恒温水浴中并定时振摇, 24 h 后精密吸取上清液各 2 mL, 分别用 HPLC 法测定三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、川芎、阿魏酸及羟基红花黄色素 A 的含量, 同时测定原液 (未经吸附的舒胸片提取液) 中上述各有效

成分的含量, 并按下式计算各有效成分在大孔树脂上的相对比吸附量 (RA, relative adsorption ratio)。结果见表 1。

$$RA = A/M_1 V$$

$$A = (M_1 V - M_2 V) / W$$

式中: RA 为相对比吸附量 (g⁻¹), A 为比吸附量, M_1 为起始浓度 (g·L⁻¹); M_2 为剩余浓度 (g·L⁻¹); V 为溶液体积 (mL); W 为干树脂重量 (g), 可根据树脂的含水量由湿树脂质量折算得到。

表 1 舒胸片 6 种有效成分在 5 种树脂上的相对比吸附量

No.	成分	相对比吸附量 RA/g ⁻¹					平均值 /g
		LSA-7	LSA-10	LSA-30	D101A	HPD-100	
1	三七皂苷 R_1	1.06	0.95	1.00	1.05	1.02	1.02
2	人参皂苷 R_{g_1}	1.05	0.96	1.03	1.02	1.05	1.02
3	人参皂苷 R_{b_1}	1.36	1.37	1.09	1.35	1.33	1.30
4	羟基红花黄色素 A	0.34	0.21	0.26	0.19	0.20	0.24
5	阿魏酸	1.09	1.01	1.01	0.99	1.06	1.03
6	川芎	0.86	0.91	1.07	1.04	1.09	0.99
	平均值/g	0.96	0.90	0.91	0.94	0.95	

采用 Excel 中的数据分析工具对表 1 中的数据进行双因素无重复的方差分析 (ANOVA), 见表 2。

表 2 相对比吸附量方差分析

变异来源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
成分间	3.216 3	5	0.643 3	110.863 0	7.09E-14	2.710 9
树脂间	0.017 6	4	0.004 4	0.756 3	0.565 7	2.866 1
误差	0.116 0	20	0.005 8			
总计	3.349 9	29				

2.3 不同大孔树脂的静态脱吸附实验 将上述静态吸附试验中已吸附饱和的 5 种大孔树脂 (LSA-7, LSA-10, A-30, D101A, HPD-100) 滤出, 于滤纸上吸干样液, 分别加入 50% 乙醇各 10 mL, 置于 60 °C 水浴中, 振摇, 静置 24 h 后, 分别取上清液 1 mL 稀释至 10 mL, 测定三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、川芎、阿魏酸及羟基红花黄色素 A 的含量^[2], 并按下式计算脱吸附量与洗脱率。见表 3。

$$\text{脱吸附量 (mg)} = M \times V$$

$$\text{洗脱率 (\%)} = (\text{脱吸附量} / \text{树脂吸附量}) \times 100\%$$

式中: M 为上清液中成分浓度 (g·L⁻¹), V 为上清液的体积 (mL)。

采用 Excel 中的数据分析工具对表 3 中的数据进行双因素无重复的方差分析 (ANOVA), 见表 4。

2.4 综合吸附-脱吸附性能考察 结合以上大孔树脂的静态吸附实验、静态脱吸附实验的结果, 以相对比吸附量与洗脱率的乘积为指标考察综合吸附-脱吸附性能。

表 3 舒胸片 6 种有效成分静态脱吸附性能的考察 %

No.	成分	50% 乙醇的洗脱率 <i>E</i>					平均值
		LSA-7	LSA-10	LSA-30	D101A	HPD-100	
1	三七皂苷 R_1	36.61	43.87	72.62	46.56	65.26	52.98
2	人参皂苷 R_{g_1}	36.35	45.88	63.27	44.69	57.80	49.60
3	人参皂苷 R_{b_1}	72.88	65.57	54.71	71.86	68.85	66.77
4	羟基红花黄色素 A	14.60	31.54	25.71	31.10	34.65	27.52
5	阿魏酸	69.32	75.09	65.30	71.86	78.45	72.00
6	川芎	59.57	65.42	63.08	59.42	70.81	63.66
	平均值/g	48.22	54.56	57.45	54.25	62.64	

表 4 洗脱率方差分析

变异来源	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
成分间	6 450.398 0	5	1 290.080 0	18.527 9	6.79E-07	2.710 89
树脂间	660.719 4	4	165.179 9	2.372 3	0.086 9	2.866 08
误差	1 392.583 0	20	69.629 1			
总计	8 503.700 4	29				

2.4.1 6 种有效成分在 5 种树脂上的综合吸附-脱吸附性能比较 对比舒胸片 6 种有效成分在 5 种大孔树脂上的综合吸附-脱吸附性能, 结果见表 5。

表 5 6 种有效成分在 5 种大孔树脂上的综合吸附-脱吸附性能

No.	成分	相对比吸附量 RA/g^{-1}	50% 乙醇 的洗脱率 $E/\%$	综合吸附- 脱吸附性能 $RA \times E$
1	三七皂苷 R_1	1.02	52.98	54.04
2	人参皂苷 R_{g_1}	1.02	49.60	50.59
3	人参皂苷 R_{b_1}	1.30	66.77	86.80
4	羟基红花黄色素 A	0.24	27.52	6.60
5	阿魏酸	1.03	72.00	74.16
6	川芎	0.99	63.66	63.02

2.4.2 5 种树脂对 6 种有效成分的综合吸附-脱吸附性能比较 对比 5 种大孔树脂对舒胸片 6 种有效成分的综合吸附-脱吸附性能, 结果见表 6。

表 6 五种大孔树脂对 6 种有效成分的综合吸附-脱吸附性能

No.	树脂	相对比吸附量 RA/g^{-1}	50% 乙醇的 洗脱率 $E/\%$	综合吸附- 脱吸附性能 $RA \times E$
1	LSA-7	0.96	48.22	46.29
2	LSA-10	0.90	54.56	49.10
3	LSA-30	0.91	57.45	52.28
4	D101A	0.94	54.25	51.00
5	HPD-100	0.95	62.64	59.51

3 小结与讨论

前期研究表明, 对于复方提取液, 不同组分在大孔树脂上的比吸附量存在较大的差异, 它与各组分在药液中的初始浓度关系密切。不同初始浓度的同一组分在同一树脂上其比吸附量有较大差异。比吸

附量难以直观地评价大孔树脂对同一复方提取液中浓度不同的多种成分的吸附性能。为此, 本文提出了相对比吸附量 (RA , relative absorption ratio, g) 的概念, 即某组分的比吸附量相对于初始药液中该成分总量的比率, 它可在一定程度上消除复方提取液中各组分由于初始浓度不同而引起的比吸附量差异, 从而对不同组分在树脂上吸附能力的大小作出较为合理的评价。

由表 1 可知, 舒胸片混合提取液中 6 种有效成分分别在 LSA-7, LSA-10, LSA-30, D101A, HPD-100 5 种树脂上的相对比吸附量有不同程度的差异, 可能与成分、树脂的性质有关。吸附能力的大小依次为: 人参皂苷 R_{b_1} > 阿魏酸、三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 、川芎 > 羟基红花黄色素 A。对表 1 进行双因素无重复的方差分析(表 2)表明, 5 种树脂的 RA 之间未见显著性差异, 而 6 种有效成分的 RA 之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

由表 3 可知, 以 50% 乙醇为洗脱剂时, 三七皂苷 R_1 在 LSA-30, HPD-100 树脂上的脱吸附性能较好(洗脱率达 65% 以上), 其次是 D101, LSA-10 树脂, 而在 LSA-7 树脂上的脱吸附性能较差(洗脱率不到 40%)。人参皂苷 R_{g_1} 脱吸附与三七皂苷 R_1 类似。人参皂苷 R_{b_1} 、川芎、阿魏酸 3 种成分在 5 种树脂上的脱吸附性能相差不大, 其洗脱率大多接近或在 60% 以上。而羟基红花黄色素 A 在 5 种树脂上的脱吸附性能均很差, 其洗脱率均低于 40%。对表 3 进行双因素无重复的方差分析(表 4)表明, 5 种树脂的洗脱率之间未见显著性差异, 而 6 种有效成分的洗脱率之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

由表 5、表 6 可见, 6 种有效成分在 5 种树脂上的综合吸附-脱吸附性能以人参皂苷 R_{b_1} 最好, 羟基红花黄色素 A 最差; 5 种树脂对 6 种有效成分的综合吸附-脱吸附性能以 HPD-100 和 LSA-30 2 种树脂相对为佳。上述实验为合理确定该制剂混合提取液的大孔树脂分离纯化工艺条件提供了试验依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 636.
- [2] 何丽, 夏新华. 川芎提取液中川芎与阿魏酸在 HPD-100 型大孔树脂上吸附-脱吸附动力学研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(3): 29.

[责任编辑 仝燕]