

板蓝根水提液的陶瓷膜精制工艺

罗友华*, 李成付, 杨辉, 黄恺飞, 黄亦琦, 许光辉

(厦门市医药研究所, 厦门市天然药物研究与开发重点实验室, 福建 厦门 361008)

[摘要] **目的:**建立板蓝根水提液中(*R,S*)-告依春的含量测定方法,优选板蓝根水提液的陶瓷膜微滤精制工艺。**方法:**采用 HPLC 测定(*R,S*)-告依春含量,流动相甲醇-水-磷酸-三乙胺(14.0:85.3:0.6:0.1),检测波长 245 nm。以板蓝根水提液中有效成分(*R,S*)-告依春转移率、除杂率为指标,采用单因素试验法优选陶瓷膜孔径并测定精制前、后板蓝根水提液的浊度。**结果:**(*R,S*)-告依春在 0.002 5~0.248 μg 与峰面积成良好线性关系($r=0.999\ 9$),平均加样回收率 98.9%,RSD 1.9%。优选的精制工艺为陶瓷膜孔径 200 nm,进口压力 0.2 MPa,当储液桶中药液量无法循环时,加相当于膜滤系统最少循环量的水顶洗 1 次,当膜滤液量等于原液量时结束微滤,该陶瓷膜微滤液的(*R,S*)-告依春转移率(87.8 ± 1.9)%,除杂率(18.7 ± 0.4)%。200 nm 膜滤液,50 nm 膜滤液,10 nm 膜滤液的浊度分别为(1.4 ± 0.3),(1.5 ± 0.2),(0.5 ± 0.2) NTU,截留液的浊度依次为(181.0 ± 2.1),(220.4 ± 2.5),(226.2 ± 2.4) NTU。**结论:**该方法快速、准确,精密度、稳定性、重复性均良好,可测定板蓝根水提液中(*R,S*)-告依春含量。3 种孔径的陶瓷膜均能较好地分离板蓝根水提液体系中不溶性悬浮微粒物质,但各孔径间的澄清效果无差别。

[关键词] 陶瓷膜微滤;精制工艺;板蓝根水提液;(*R,S*)-告依春;高效液相色谱

[中图分类号] R283.6;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0004-04

[doi] 10.11653/syfy2013200004

Optimization of Ceramic Membrane Microfiltration Purification Technology for Decoction of Isatidis Radix

LUO You-hua*, LI Cheng-fu, YANG Hui, HUANG Kai-fei, HUANG Yi-qi, XU Guang-hui
(Xiamen Medicine Research Institute, Xiamen City Key Laboratory of Research and Development of Natural Medicine, Xiamen 361008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of (*R,S*)-epigoitrin in decoction of Isatidis Radix and optimize ceramic membrane microfiltration purification technology for decoction of Isatidis Radix. **Method:** The content of (*R,S*)-epigoitrin was determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: mobile phase of methanol-water-phosphoric acid-triethylamine (14.0:85.3:0.6:0.1), detection wavelength 245 nm. Single factor tests were used to optimize ceramic membrane aperture according to indexes of transfer rate of (*R,S*)-epigoitrin and removal rate of impurity, then turbidity of decoction of Isatidis Radix before and after purified was determined. **Result:** Standard curves of (*R,S*)-epigoitrin was linear in the range of 0.002 5-0.248 μg with $r=0.999\ 9$, the average recovery was 98.9% with RSD of 1.9%. Optimal purification technology was as following: ceramic membrane aperture 200 nm, inlet pressure was 0.2 MPa, When liquid volume in reservoir barrel was not enough to circulate, water with equal to the amount of the least circulation volume of membrane filtration system was added to the barrel once, and when filtration volume was equivalent to the original, microfiltration was ended; Under these conditions, transfer rate of (*R,S*)-epigoitrin was (87.8 ± 1.9)%, removal rate of impurity was (18.7 ± 0.4)%. Turbidity of membrane filtrate with 200, 50, 10 nm

[收稿日期] 20130319(007)

[基金项目] 福建省医学创新课题(2012-CXB-40);厦门市科技局科技计划指导性项目(2011S0554)

[通讯作者] *罗友华,硕士,主任药师,硕士生导师,从事中药新药研究,Tel:0592-2050262,E-mail:youthualuo@163.com

were (1.4 ± 0.3) , (1.5 ± 0.2) , (0.5 ± 0.2) NTU, Turbidity of retentate were (181.0 ± 2.1) , (220.4 ± 2.5) , (226.2 ± 2.4) NTU. **Conclusion:** This determination method was rapid, accurate and stable with fine repeatability, it could be adopted to determined the content of (R, S) -epigoitrin. Ceramic membrane with 3 kinds of aperture could be well separated insoluble suspended particulate matter in aqueous extract of *Isatis Radix*, but clarify effect had no difference among each aperture.

[**Key words**] ceramic membrane microfiltration; purification technology; decoction of *Isatis Radix*; (R, S) -epigoitrin; HPLC

板蓝根能清热解毒、凉血利咽,用于温毒发斑、舌绛紫暗、疔腮、喉痹、烂喉丹痧、大头瘟疫、丹毒、痈肿,具有抗菌、抗病毒、抗内毒素和增强免疫的作用。现代研究表明 (R, S) -告依春为板蓝根抗病毒的代 表性有效成分之一,是反映板蓝根药材及其制剂质量的一个重要指标^[1-2]。按《中国药典》2010年版一部规定^[3],现有剂型板蓝根茶、板蓝根颗粒均采用水提醇沉法制备,但醇沉法具有生产成本低、周期长、安全性差等缺点。因此,本实验采用无机陶瓷膜微滤板蓝根水提液,以 (R, S) -告依春转移率、除杂率为指标,考察3种孔径陶瓷膜对板蓝根水提液的微滤精制情况,并测定精制前、后板蓝根水提液的浊度,探讨陶瓷膜微滤技术精制板蓝根水提液的可行性。

1 材料

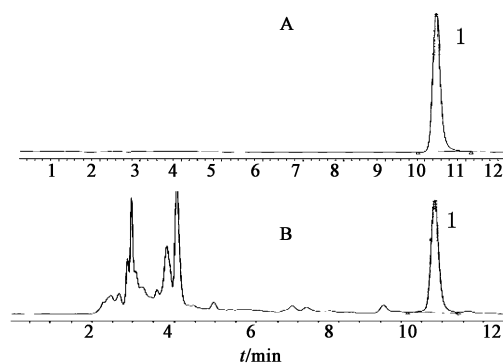
2487型高效液相色谱仪(美国Waters公司),0.1 m²型陶瓷膜小试设备(江苏久吾高科技股份有限公司,膜材质Al₂O₃,膜面积0.1 m²),STZ-A24型浊度仪(南京艾赛特科技发展有限公司)。板蓝根(购自厦门燕来福制药有限公司,经本所杨辉副主任药师鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort.的干燥根), (R, S) -告依春对照品(中国食品药品检定研究院,批号111753-200601),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 (R, S) -告依春的含量测定

2.1.1 色谱条件^[5] Symmetry-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水-磷酸-三乙胺(14.0:85.3:0.6:0.1),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长245 nm,进样量10 μL,柱温室温,见图1。

2.1.2 溶液的配制方法 精密称取 (R, S) -告依春对照品2.48 mg,置于25 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,得99.20 mg·L⁻¹的对照品溶液。精密称取板蓝根药材粉末约1 g,置50 mL锥形瓶中,精密加入40 mL水,称定质量,超声处理10 min,放冷,称定质量,用水补足减失的质量,摇



A. 对照品; B. 供试品; 1. (R, S) -告依春

图1 板蓝根水提液 HPLC

匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.3 标准曲线绘制 将99.20 mg·L⁻¹ (R, S) -告依春对照品溶液稀释4倍,得对照品储备液,精密吸取该储备液0.10, 1.67, 3.33, 5.00, 10.00 mL,分别置于10 mL量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,得到质量浓度分别为0.25, 0.41, 0.83, 12.40, 24.80 mg·L⁻¹的对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 156\,836.68X + 7\,027.35$ ($r = 0.999\,9$),说明 (R, S) -告依春在0.002 5 ~ 0.248 μg与峰面积呈良好线性关系。

2.1.4 重复性试验 精密称取板蓝根药材粉末约1 g,共6份,分别按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下方法测定,结果峰面积的RSD 1.82%,表明该方法重复性良好。

2.1.5 精密度考察 精密吸取 (R, S) -告依春对照品溶液10 μL,连续进样6次,结果峰面积的RSD 1.14%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性考察 取板蓝根水提液供试液,于0, 2, 6, 8, 12 h分别进样,记录峰面积,结果RSD 1.99%,表明供试液在12 h内稳定性良好。

2.1.7 加样回收率试验 精密称取已知 (R, S) -告依春含量(0.091 3 mg·g⁻¹)的板蓝根药材粉末6

份,每份约 1 g,分别置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 (R,S)-告依春对照品溶液 (1.65 mg · L⁻¹) 各 30 mL,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,进样,记录峰面积,计算回收率,结果见表 1。

表 1 (R,S)-告依春 HPLC 测定的加样回收率试验

| 样品质量 /g | 样品中含量/mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|---------|----------|---------|--------|--------|--------|
| 0.549 1 | 0.050 1 | 0.098 8 | 98.06 | 99.52 | 1.71 |
| 0.554 2 | 0.050 6 | 0.099 9 | 99.49 | | |
| 0.542 7 | 0.049 5 | 0.098 6 | 98.83 | | |
| 0.541 3 | 0.049 4 | 0.099 9 | 101.77 | | |
| 0.543 8 | 0.049 6 | 0.098 1 | 97.66 | | |
| 0.548 4 | 0.050 1 | 0.100 3 | 101.33 | | |

2.2 板蓝根水提液的制备 称取板蓝根 4 500 g,加 6 倍量水用循环煎药机微沸提取 3 次,每次 1 h,过滤,合并滤液,称定质量,取样后均分为 3 份,备用。

2.3 板蓝根水提液的陶瓷膜微滤 将 200 nm 陶瓷膜装入膜分离小试设备中,加入纯水 10 L,接通电源,调节阀门,使进口压力 0.2 MPa,此时膜通量即为该孔径膜的初始水通量,同法分别测定 50,10 nm 的陶瓷膜初始水通量,结果见表 2,发现膜初始水通量随孔径的减小而降低。

表 2 不同孔径陶瓷膜不同阶段的膜通量测定

| 不同阶段 | 膜通量/L · m ⁻² · h ⁻¹ | | |
|---------------|---|------------|------------|
| | 200 nm | 50 nm | 10 nm |
| 初始水通量 | 948 | 930 | 570 |
| 膜滤开始时药液通量 | 528(55.7%) | 444(47.7%) | 252(44.2%) |
| 膜滤结束时药液通量 | 330(34.8%) | 158(17.0%) | 79(13.9%) |
| 混合碱洗 1 h 后水通量 | 780(82.3%) | 510(54.8%) | 147(25.8%) |
| 混合碱洗 2 h 后水通量 | 910(96.0%) | 580(62.4%) | 360(63.2%) |
| 酸洗 1 h 后水通量 | - | 840(90.3%) | 517(90.7%) |

注:括号内数值为不同阶段膜通量与初始水通量比。

测完初始水通量后,向装有 200 nm 陶瓷膜小试设备储液桶内加入板蓝根水提液 22 kg,直接膜滤,同时每 10 min 记录 1 次药液膜通量,当滤液达 15 kg 时,向储液桶内加 7 kg 纯水继续膜滤,得到 22 kg 膜滤液时结束膜滤,取样备用。同法分别制备 50,10 nm 孔径的膜滤液,共得到 3 份膜滤精制液样品,3 种孔径膜的通量变化情况见表 2。结果表明随膜滤的进行,200,50,10 nm 孔径膜的药液通量均迅

速下降,结束时的药液通量仅为初始水通量的 34.8%,17.0%,13.9%,说明膜均被污染,但 200 nm 陶瓷膜的药液通量仍达 330 L · m⁻² · h⁻¹。

2.4 膜清洗 收集完膜滤液后,由于膜污染导致膜通量下降,必须对膜及时进行清洗。一般地,膜清洗方法可分为物理法和化学法,常规化学清洗程序为水洗、碱洗(酸洗)、水洗到中性、测水通量、酸洗(碱洗)、水洗到中性、测水通量,直至水通量恢复到膜初始水通量 >90% 即可结束清洗。预试验确定板蓝根水提液体系的清洗方法为及时用自来水大流量冲洗,直至循环液澄清,用 10 kg 混合碱液(含 1% NaOH 和 0.2% NaClO 的混合溶液)清洗 1~2 h,用自来水洗至中性,用纯水测定混合碱洗后的膜通量。如果膜通量恢复率 <90%,再用酸液(1% HNO₃ 溶液)清洗 0.5~1 h,用自来水洗至中性,用纯水测定酸洗后的膜通量,直到膜通量恢复率 >90%,结束清洗,结果见表 2。表明混合碱液的清洗效果从高到低的顺序为 200 nm > 10 nm ≈ 50 nm,其中 200 nm 膜通量仅用混合碱洗即可恢复到初始水通量 96.0%,而 50,10 nm 必须再用酸洗才能恢复到初始水通量的 90.3% 和 90.7%。说明对于板蓝根水提液体系,200 nm 膜比 50,10 nm 膜污染轻,易清洗,从工业批量生产角度考虑,选择 200 nm 膜。

2.5 干膏量测定 分别精密吸取(200,50,10 nm)样品液 15 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105 ℃ 烘箱中干燥 3 h,移置干燥器中,放置 30 min,迅速精密称定质量,得各样品液干膏量,计算除杂率(n=3)分别为(18.7 ± 0.4)%,(19.6 ± 0.6)%,(19.9 ± 0.3)%,(R,S)-告依春转移率分别为(87.8 ± 1.9)%,(85.5 ± 2.0)%,(87.1 ± 1.7)%,说明 3 种孔径陶瓷膜的差别不显著。

$$(R,S)\text{-告依春转移率} = [\text{陶瓷膜微滤液}(R,S)\text{-告依春含量} / \text{原液}(R,S)\text{-告依春含量}] \times 100\%$$

$$\text{除杂率} = [1 - (\text{陶瓷膜微滤液干膏量} / \text{原液干膏量})] \times 100\%$$

2.6 浊度的测定 取板蓝根水提液适量,等分为 3 份,分别经 3 种孔径陶瓷膜膜滤后,用浊度计测定(n=3)水提原液的浊度(92.5 ± 0.2) NTU,200 nm 膜滤液,50 nm 膜滤液,10 nm 膜滤液的浊度分别为(1.4 ± 0.3),(1.5 ± 0.2),(0.5 ± 0.2) NTU,截留液的浊度依次为(181.0 ± 2.1),(220.4 ± 2.5),(226.2 ± 2.4) NTU,说明各膜滤液的浊度均显著降低,而截留液的浊度却显著升高;液体外观性状由混

浊变澄清,颜色由深变浅。说明3种孔径的陶瓷膜均能很好分离掉板蓝根水提液体系中不溶性悬浮微粒物质,但各孔径间的澄清效果无差别。

3 讨论

膜分离技术在中药分离中具有独特的优势,以传统水提液为原液,根据有效成分相对分子质量特征进行“集群筛选”,物理筛分对原药液影响很小,能保持水提液的一般特性^[4]。同时分离过程简便,适用于热敏性物质的分离,不消耗有机溶剂,可缩短生产周期,降低成本,分离选择性高,满足中药现代化生产的要求^[5]。在工业化生产中,无机膜与有机膜相比,显示出耐高温、耐化学腐蚀、耐细菌和强度高优点,在许多方面具有潜在的应用优势^[6-7]。

建立的(*R,S*)-告依春含量测定方法快速、准确,精密度、稳定性、重复性均良好,可测定板蓝根水提液中(*R,S*)-告依春含量。100,50 nm孔径的陶瓷膜膜通量恢复率用混合碱洗后还须用酸洗才能恢复到>90%,总体清洗时间比200 nm孔径陶瓷膜增加33%。确定板蓝根水提液的陶瓷膜微滤精制工艺条件为采用200 nm孔径的Al₂O₃陶瓷膜,进口压力0.2 MPa,当储液桶中药液量无法循环时,加相当于膜滤系统最少循环量的水顶洗1次,当膜滤液体积

等于原液体积时结束微滤。

[致谢] 南京中医药大学郭立玮教授对陶瓷膜微滤技术的帮助指导。

[参考文献]

- [1] 徐丽华,黄芳,陈婷,等. 板蓝根中的抗病毒活性成分[J]. 中国天然药物,2005,3(6):359.
- [2] 安益强,贾晓斌,袁海建,等. HPLC测定板蓝根药材及其制剂中表告依春的含量[J]. 中国中药杂志,2008,33(18):2074.
- [3] 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,2010:800.
- [4] 郭立玮. 中药膜分离领域的科学与技术问题[J]. 膜科学与技术,2003,23(4):209.
- [5] 岑琴,周丽莉,礼彤. 膜分离技术及其在中药领域中的应用[J]. 沈阳药科大学学报,2008,25(1):77.
- [6] 黄敏燕,潘林梅,郭立玮. ZrO₂陶瓷膜精制增液汤复方水提液的膜过程研究[J]. 中成药,2010,32(3):495.
- [7] 潘林梅,黄敏燕,郭立玮. ZrO₂无机陶瓷膜精制黄芩水提液的污染和防治研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(21):3229.

[责任编辑 仝燕]

欢迎订阅 2014 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于1995年10月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药理学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16开本,350页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价35元,全年840元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街16号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。