

# 茵黄护肝颗粒水提液不同除杂工艺比较

王萍<sup>1</sup>, 王国栋<sup>1</sup>, 胡学燕<sup>2</sup>, 李茜<sup>1\*</sup>

(1. 新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830054)

**[摘要]** 目的: 比较茵黄护肝颗粒水提液的除杂工艺。方法: 以绿原酸保留率和浸膏得率为评价指标, 采用自然沉降法、醇沉法、离心法、不同澄清剂除杂法等工艺对茵黄护肝颗粒水提液进行除杂。结果: 离心法为最佳除杂工艺。结论: 优选的除杂工艺稳定、可行, 适合工业化大生产。

**[关键词]** 茵黄护肝颗粒; 除杂工艺; 绿原酸

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0068-03

## Comparison of Different Purification Processes for Water Extract of Yinhuang Hupan Granule

WANG Ping<sup>1</sup>, WANG Guo-dong<sup>1</sup>, HU Xue-yan<sup>2</sup>, LI Qian<sup>1\*</sup>

(1. Traditional Medical Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China;  
2. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare purification method for water extract of Yinhuang Hupan granule. **Method:** With retention rate of chlorogenic acid and yield of extract as indexes, impurity removal processes for water extract of Yinhuang Hupan granule were compared, such as natural sedimentation method, ethanol precipitation method, centrifugation method, ZTC1 + 1 II clarifying agent and chitosan clarification purification method. **Result:** Centrifugation method was confirmed as optimum purification method. **Conclusion:** Optimum impurity removal technology was stable, feasible, and suitable for industrial production.

**[Key words]** Yinhuang Hupan granule; impurity removal processes; chlorogenic acid

茵黄护肝颗粒是新疆医科大学附属中医医院临床多年使用的经验方, 具有疏肝扶脾补肾、消导化痰、兼活血消积等功效, 用于治疗酒精性脂肪肝、非

酒精性脂肪肝等疾病, 疗效显著。该方由绵茵陈、黄芪、大黄、苦丁茶等组成。根据方中药材所含有效成分的性质, 拟定绵茵陈、苦丁茶等采用水提取, 以主

**[收稿日期]** 20120308(009)

**[第一作者]** 王萍, 硕士, 主任药师, 从事中药新药研究, Tel: 0991-5814127, E-mail: xjwp123@126.com

**[通讯作者]** \*李茜, 硕士, 主管中药师, 从事中药新药研究, Tel: 0991-5814127, E-mail: reallynana@163.com

艺稳定可行。

### 3 讨论

试验中曾选取甲醇-水或乙腈-水为流动相进行色谱条件考察, 结果发现肉桂酸色谱峰拖尾较明显。而在乙腈-水体系中添加冰乙酸可改善峰形, 随冰乙酸浓度的增加, 色谱峰对称性较好。最终确定乙腈-5%冰乙酸为流动相。正交试验设计时, 考虑到中药复方的协同作用, 在考察君药玄参中有效成分肉桂酸含量的同时, 兼顾了方中其他药味有效成分的提

取, 故总固量作为一项考察指标。本方法试验结果可为扁咽口服液生产提供依据。

### [参考文献]

- [1] 张雪梅, 王瑞, 安睿, 等. HPLC同时测定玄参中5种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 709.
- [2] 王志萍, 钟鸣, 谭珍媛, 等. 壮药解毒抗白颗粒提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 28.

[责任编辑 全燕]

要有效成分绿原酸的保留率和浸膏得率为评价指标,采用自然沉降法、醇沉法、离心法、不同澄清剂除杂法对茵黄护肝颗粒剂的水提取液进行纯化,以得到较优除杂工艺,为茵黄护肝颗粒的工业化大生产提供依据。

## 1 材料

Waters2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),AL204、AG135 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],黄芪、绵茵陈、大黄、苦丁茶等药材(新疆医科大学附属中医医院提供,由该院李玲副主任药师鉴定均符合《中国药典》2010 年版一部各药材项下规定),绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110753-200413),水为超纯水,乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

以绿原酸的保留率和浸膏得率的综合评分为考察指标。权重系数为浸膏得率 20,绿原酸的保留率 80,满分 100。

$$\text{综合评分} = \frac{\text{绿原酸保留率}}{\text{最大绿原酸保留率}} \times 80 + \frac{\text{最小浸膏得率}}{\text{浸膏得率}} \times 20。$$

### 2.1 供试品溶液及除杂剂的制备

**2.1.1 供试品溶液的制备** 按本课题组前期优选的最佳提取工艺制备提取液,即加 10 倍量水提取 2 次,每次 1 h。按 1:10 浓缩,即得。

**2.1.2 甲壳素的配制** 取 5.0 g 甲壳素加入少量 1% 乙酸溶液,搅拌成糊状,加 1% 乙酸定容至 500 mL,溶胀 24 h,放置过夜,经双层纱布滤过,即得。

**2.1.3 ZTC 1+1 II 型 A 组分溶液的配制** 取 ZTC-1+1 II 型 A 组分 5.0 g,加少量水搅拌成糊状,加水定容至 500 mL,溶胀 24 h,搅拌,经双层纱布滤过,即得。

**2.1.4 ZTC 1+1 II 型 B 组分溶液的配制** 取 ZTC-1+1 II 型 B 组分 5.0 g,用少量 1% 乙酸搅拌成糊状,加 1% 乙酸定容至 500 mL,溶胀 24 h,搅拌,经双层纱布滤过,即得。

### 2.2 绿原酸含量测定

**2.2.1 色谱条件** SHIMADZU VP-ODS 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),柱温 35 °C,流动相乙腈-0.4% 磷酸(13:87),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 327 nm,进样量 10 μL。

**2.2.2 标准曲线的绘制** 精密称取绿原酸对照品 15.68 mg,置 50 mL 棕色量瓶中,加入适量甲醇,使其溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液(质量浓度

为 313.6 mg·L<sup>-1</sup>);精密吸取贮备液各 1,2,3,4 mL,分别置于 5 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 62.7, 125.4, 188.2, 250.9 mg·L<sup>-1</sup> 的系列对照品溶液,分别进样 10 μL。以进样质量浓度为纵坐标,峰面积积分值为横坐标,得线性回归方程  $Y = 3.617 \times 10^{-5} X + 16.465$  ( $r = 0.9999$ )。结果表明绿原酸在 62.7 ~ 313.6 mg·L<sup>-1</sup> 与峰面积呈良好线性关系。

**2.2.3 供试品溶液测定** 精密吸取待测样品溶液适量,取上清液,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,进样 10 μL, HPLC 测定,按线性回归方程得出绿原酸质量浓度,计算绿原酸保留率。

**2.3 浸膏得率的测定** 取经除杂处理后样品,用干燥滤器迅速滤过,精密量取续滤液 20 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105 °C 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,计算,即可。

**2.4 醇沉法**<sup>[1-2]</sup> 取供试品溶液分别调节乙醇至体积分数分别为 30%, 40%, 50%, 60%, 冷藏放置 24 h,测定绿原酸的含量及浸膏得率,计算综合评分。

**2.5 甲壳素澄清剂法**<sup>[2-4]</sup> 取供试品溶液分别加入 1%, 1.5%, 2%, 2.5% 的甲壳素溶液,冷藏放置 24 h,测定绿原酸的含量及浸膏得率,计算综合评分。

### 2.6 ZTC1+1 II 型天然澄清剂法

**2.6.1 ZTC1+1 II 型澄清剂加入顺序及浓度对水提取液精制的影响** 取供试品溶液分为 2 组,第 1 组分别加入 2%, 4%, 8% 的 A 组分,置 60 °C 水浴中加热 1 h,再分别加入 1%, 2%, 4% 的 B 组分,置 60 °C 水浴中加热 1 h,静置 24 h,备用;第 2 组先分别加入 1%, 2%, 4% 的 B 组分,置 60 °C 水浴中加热 1 h,再分别加入 2%, 4%, 8% 的 A 组分,置 60 °C 水浴中加热 1 h,静置 24 h,测定绿原酸的含量及浸膏得率,计算综合评分。

**2.6.2 温度对 ZTC 1+1 II 型澄清剂的影响** 取供试品溶液先加入 4% 的 B 组分,分别置 40, 50, 60, 70 °C 水浴中加热 1 h,加入 8% 的 A 组分,分别置 40, 50, 60, 70 °C 水浴中加热 1 h,静置 24 h,测定绿原酸的含量及浸膏得率,计算综合评分。

### 2.7 离心法

**2.7.1 转速的影响** 取供试品溶液,固定离心时间为 20 min,选取转速分别为 2 000, 3 000, 4 000 r·min<sup>-1</sup>,静置,测定绿原酸的含量及浸膏得率,计算综合评分。

**2.7.2 离心时间的影响** 取供试品溶液,固定转速

为  $4\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 对提取液分别离心 10, 15, 20, 30 min, 静置, 测定绿原酸的含量及浸膏得率, 计算综合评分。

**2.8 自然沉降法**<sup>[5]</sup> 取供试品溶液, 冷藏放置 24 h, 测定绿原酸的含量及浸膏得率, 计算综合评分。

各种除杂方法结果见表 1。

表 1 不同除杂方法对供试品溶液除杂效果的影响

除杂方法	主要参数	绿原酸的 保留率/ %	浸膏得率 /%	综合评分 /分
醇沉法	30% 乙醇	70.28	15.12	90.28
	40% 乙醇	75.80	15.78	94.96
	50% 乙醇	66.31	16.72	84.40
	60% 乙醇	60.38	18.30	76.90
甲壳素法	1.0% 甲壳素溶液	74.43	17.39	91.82
	1.5% 甲壳素溶液	78.58	17.35	96.01
	2.0% 甲壳素溶液	75.17	17.04	92.92
	2.5% 甲壳素溶液	73.05	18.65	89.26
ZTC1 + 1 II 型天然 澄清剂法	2% A + 1% B	76.99	16.23	95.62
澄清剂法	4% A + 2% B	74.88	16.90	92.77
	8% A + 4% B	70.59	17.83	87.55
	1% B + 2% A	76.40	16.46	94.77
	2% B + 4% A	76.28	16.90	94.17
	4% B + 8% A	76.65	17.47	93.96
	40 ℃	69.54	19.06	85.41
	50 ℃	70.03	18.81	86.11
	60 ℃	76.65	17.47	93.96
离心法	70 ℃	70.56	20.00	85.68
	2 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	78.74	16.94	96.59
	3 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	79.62	16.83	97.59
	4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	80.00	16.21	98.66
	10 min	75.62	15.64	94.96
	15 min	77.74	16.83	95.71
	20 min	80.00	16.21	98.66
30 min	77.99	15.64	97.33	

表 1 结果表明, 转速  $4\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  时离心 20 min 对茵黄护肝颗粒剂的水提取液有较好的除杂效果。采用 1.5% 甲壳素溶液和 2% A + 1% B ZTC 1 + 1 II 型澄清剂法也有较好的除杂效果, 但结合工业化大生产, 从节约成本角度考虑, 确定茵黄护肝颗粒剂的水提取液的最佳除杂工艺为采用离心法, 转速为  $4\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 20 min。

### 3 讨论

现代中药制剂一般采用水提醇沉、澄清剂、大孔树脂、膜分离、离心等方法进行除杂<sup>[1-6]</sup>。

离心法工艺简单、分离效果好、成本低、适合大生产。

### [参考文献]

- [1] 潘娅, 周莉玲. 两种除杂工艺对九分散水提液除杂效果的比较[J]. 中药材, 2009, 32(1): 136.
- [2] 吕定刚. 玉屏风口服液澄清工艺的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3): 1.
- [3] 盛华刚, 朱立俏, 林桂涛. 壳聚糖澄清剂对枳实薤白桂枝汤颗粒提取液的纯化工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 15.
- [4] 蒋敏, 夏新华. 壳聚糖用于湘 A22 号颗粒的絮凝工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6): 33.
- [5] 徐芳, 黄毅, 闫明, 等. 祖卡木颗粒剂的除杂工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(1): 71.
- [6] 李希, 谢守德, 罗先本, 等. 茛菊防感颗粒水提液澄清工艺研究[J]. 中成药, 2005, 27(7): 825.

[责任编辑 仝燕]