

## 陶瓷膜微滤技术精制复方咽舒宁水提液的研究

罗友华<sup>\*</sup>, 李成付, 杨辉, 黄恺飞, 黄亦琦  
(厦门市医药研究所, 福建 厦门 361003)

[摘要] 目的: 优选复方咽舒宁水提液的陶瓷膜微滤精制工艺。方法: 以复方中有效成分表告依春和哈巴俄苷转移率、除杂率为指标, 采用单因素试验法优选陶瓷膜孔径, 并以体外抑菌活性验证陶瓷膜微滤的精制效果。结果: 最优陶瓷膜孔径为 200 nm, 进口压力为 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。该陶瓷膜微滤液的表告依春和哈巴俄苷转移率分别为 93.77% 和 82.67%、除杂率为 24.64%。复方咽舒宁水提液的陶瓷膜微滤液和原液对 5 种咽炎致病菌的 MIC 和 MBC 无明显差异。结论: 200 nm 陶瓷膜微滤技术合理可行, 可作为复方咽舒宁水提液的精制工艺。

[关键词] 陶瓷膜微滤; 精制; 咽舒宁; 复方水提液; 表告依春; 哈巴俄苷

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0012-05

## Study on Purifying Decoction of Yanshuning Compound by Ceramic Membrane Microfiltration Technology

LUO You-hua<sup>\*</sup>, LI Cheng-fu, YANG Hui, HUANG Kai-fei, HUANG Yi-qi  
(Xiamen Medical Institute, Xiamen 361003, China)

**[Abstract] Objective:** To optimize the ceramic membrane microfiltration purifying technology of the decoction of Yanshuning Compound. **Method:** Single factor test method was used to optimize the ceramic membrane aperture, according to indexes of the transfer rates of epigoitrin and harpagoside and removal ratio of impurity. And the ceramic membrane microfiltration refining effect was verified according to the vitro antibacterial activity. **Result:** The optimal ceramic membrane aperture was 200 nm. The import pressure was 0.2 MPa. When the liquid volume in the reservoir barrel was not enough to circulate, water with equal to the amount of the least circulation volume of the membrane filtration system was added once to the barrel. When the filtration volume was equivalent to the original, the filtration was ended. The transfer rates of epigoitrin, harpagoside and the removal ratio of impurity were 93.77%, 82.67% and 24.64% respectively. There were no significant differences between MIC and MBC of the five kinds of pharyngitis bacteria of the ceramic membrane microfiltration refining fluid and the original fluid. **Conclusion:** The 200 nm ceramic membrane microfiltration technology was reasonable and feasible. It can be used as the purifying technology of the decoction of Yanshuning Compound.

**[Key words]** ceramic membrane microfiltration technology; purifying technology; Yanshuning; compound decoction; epigoitrin; harpagoside

膜分离技术在中药分离中有着独特的优势, 首

先它是以传统的水提液为原液, 其次它根据有效成分相对分子质量特征进行“集群筛选”<sup>[1]</sup>, 物理筛分对原药液影响很小, 能保持水提液的一般特性。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, 可以缩短生产周期, 降低成本, 分离选择性高, 满足中药现代化生产的要求<sup>[2]</sup>。在工业化生

[收稿日期] 20100514(005)

[基金项目] 厦门市科技局项目(Z20084038)

[通讯作者] \* 罗友华, 硕士, 副主任药师, 主要从事中药新药和制剂新技术应用研究 Tel: 0592-2050262(Fax), E-mail: youhualuo@sohu.com

产中,无机膜与有机膜相比,更显示了耐高温、耐化学腐蚀、耐细菌和强度高优点,从而使它在许多方面有着潜在的应用优势<sup>[3]</sup>。

复方咽舒宁是我所临床应用多年的验方,由板蓝根、玄参、桔梗、甘草等组成,能清热解毒、利咽化痰、生津润喉,治疗急慢性咽炎疗效显著。先前的试验研究表明复方咽舒宁的最优水提取工艺为:加 8 倍药材质量的水,提取 3 次,每次 1 h。本试验采用无机陶瓷膜对其水提液进行微滤精制研究,以复方中板蓝根和玄参有效成分表告依春和哈巴俄苷转移率、除杂率为指标,采用单因素试验法优选陶瓷膜孔径,确定复方咽舒宁水提液的陶瓷膜微滤工艺,并以膜滤液的体外抑菌活性对陶瓷膜微滤精制效果进行药效验证。

### 1 材料

高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,1525 泵、2487 紫外检测器、Breeze 色谱工作站);陶瓷膜小试设备(江苏久吾高科技股份有限公司,膜材质  $Al_2O_3$ ,膜孔径 200, 50, 10 nm,膜面积  $0.1 m^2$ );STZ-A24 浊度仪(南京艾赛特科技发展有限公司);LRH 生化培养箱(广东医疗器械厂);BHG 生物安全柜(苏净集团安泰公司)。

药材均购自厦门鹭燕制药有限公司,经本所杨辉主管药师鉴定,板蓝根为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根、玄参为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根、桔梗为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum*(Jacq.) A. DC. 的干燥根、甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎,均符合《中国药典》2005 年版正品要求。表告依春(111753-200601,供含量测定用)、哈巴俄苷(111730-200604,供含量测定用)、金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、甲型溶血性链球菌(ATCC32209)、乙型溶血性链球菌(ATCC32210)、变形杆菌(ATCC49619)、肺炎链球菌(ATCC13315)均购自中国药品生物制品检定所。甲醇、乙腈(Tedia 公司)为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为超纯水。MH 肉汤(青岛海博生物技术公司);琼脂粉(北京奥博星生物技术有限公司);LB 营养琼脂(北京陆桥技术有限责任公司);血平板(厦门中讯达有限公司)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 复方咽舒宁水提液的制备

称取板蓝根 1 350 g,玄参 450 g,桔梗 450 g,甘草 180 g 等,按优选的最优提取工艺用循环煎药机微沸提取,过滤,合并滤液,称重,取样后均分为 3 份,备用。

#### 2.2 复方咽舒宁水提液的陶瓷膜微滤

**2.2.1 膜初始水通量测定** 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,使进口压力为 0.2 MPa,此时的膜通量即为该孔径膜的初始水通量,同法分别测定 50 nm 和 10 nm 的陶瓷膜初始水通量,结果见表 1,可见膜初始水通量随孔径的减小而降低。

**2.2.2 复方咽舒宁水提液的陶瓷膜微滤** 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 22 kg 复方咽舒宁水提液,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,当得到 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结果见表 1。

表 1 不同孔径陶瓷膜不同阶段的膜通量 %

不同阶段	膜通量 / $L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$		
	200 nm	50 nm	10 nm
初始水通量	1 050	750	480
膜滤开始时药液通量	468 (44.6)	180 (24.0)	122 (25.0)
膜滤结束时药液通量	390 (37.1)	158 (21.0)	155 (32.0)
混合碱洗 1 h 后水通量	828 (78.9)	360 (48.0)	300 (62.5)
混合碱洗 2 h 后水通量	1 000 (95.2)	460 (61.3)	370 (77.1)
酸洗 1 h 后水通量	-	680 (90.7)	438 (91.2)

注:括号内为不同阶段膜通量与初始水通量比(表 4 同)。

由表 1 可知:随着膜滤的进行,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 37.1%, 21.0%, 32.0%, 说明膜均被污染,但 200 nm 的药液通量仍达  $390 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ 。

**2.3 膜清洗与再生** 收集完膜滤液后,由于膜的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方法和化学方法,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。直到水通量恢复到膜初始水通量 90% 以上即可结束清洗。

对于复方咽舒宁水提液体系,经预试验清洗后,确定本体系的清洗方法为:先及时用自来水大流量

冲洗,直至循环液澄清;后用 10 kg 混合碱液(含 1% NaOH 和 0.2% NaClO 的混合溶液)清洗 1 ~2 h,然后用自来水洗至中性,用纯水测定混合碱洗后的膜通量;如果膜通量恢复率低于 90%,再用酸液(1% HNO<sub>3</sub> 溶液)清洗 0.5 ~1 h,然后用自来水洗至中性、用纯水测定酸洗后的膜通量,直到膜通量恢复率达 90% 以上,结束清洗。结果见表 1。

由表 1 可见:混合碱液的清洗效果从高到低的顺序为 200 nm D 10 nm D 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的 95.2%,而 50 nm 和 10 nm 必须用酸洗才能恢复到初始水通量的 90.7% 和 91.2%。说明对于复方咽舒宁水提

液体系,200 nm 膜比 50 nm 和 10 nm 膜污染轻,易清洗,从工业批量生产角度考虑,200 nm 膜较适于复方咽舒宁水提液体系。

#### 2.4 陶瓷膜微滤液中表告依春、哈巴俄苷转移率和除杂率测定

**2.4.1 表告依春含量测定方法** 采用高效液相色谱法,色谱条件参考文献方法[4],经预试验后确定为:Symmetry-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-磷酸-三乙胺(14.0 85.3 0.6 0.1),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 245 nm,进样量 10 μL,柱温为室温。经方法学考察符合要求,色谱图见图 1,表告依春转移率计算结果见表 2。

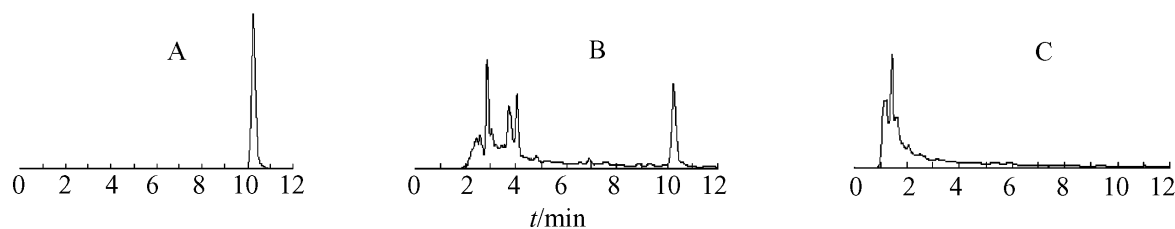


图 1 表告依春和样品的高效液相色谱图

A. 表告依春对照品; B. 供试品; C. 阴性供试品

表 2 3 种孔径陶瓷膜表告依春、哈巴俄苷转移率和除杂率

膜孔径/mm	表告依春转移率/%	哈巴俄苷转移率/%	除杂率/%
200	93.20	93.31	24.98
50	92.38	93.12	27.23
10	90.44	86.06	27.17

注:成分转移率 = (陶瓷膜微滤液成分含量/原液成分含量) × 100%;除杂率 = 1 - (陶瓷膜微滤液干膏量/原液干膏量) × 100%。表 5 同。

**2.4.2 哈巴俄苷含量测定方法** 按《中国药典》<sup>[5]</sup> 收载的高效液相色谱法测定。色谱条件为: Nova-Pak-C<sub>18</sub> 色谱柱(3.9 mm ×250 mm, 4 μm),流动相为乙腈-1% ( ) 醋酸溶液二元梯度洗脱:0 ~20 min,体积分数乙腈 20% 50%,体积分数 1% ( ) 醋酸溶液 80% 50%,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 278 nm,进样量 10 μL,柱温为室温。经方法学考察符合要求,色谱图见图 2,哈巴俄苷转移率计算结果见表 2。

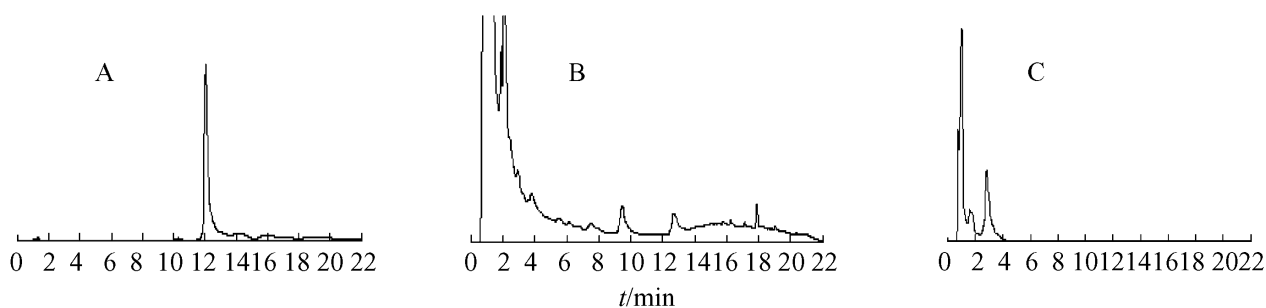


图 2 哈巴俄苷和样品的高效液相色谱图

A. 哈巴俄苷对照品; B. 供试品; C. 阴性供试品

**2.4.3 干膏量测定** 分别精密吸取样品液 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,结果见表 2。

由表 2 可见:3 种孔径陶瓷膜微滤液的表告依春、哈巴俄苷转移率均较高,除杂率达 24.98% 以上,但其转移率和除杂率的差别不显著。

**2.5 浊度测定** 用浊度计测定各样品液浊度。结果见表 3。

由表 3 可见:复方咽舒宁水提液分别经 3 种孔径陶瓷膜膜滤后,各样品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复方咽舒宁水提液体系中的不溶性悬浮微粒物质,但各孔径间的澄清效果无差别。

表 3 各样品液浊度

各样品液	浊度 /NTU	
	膜滤液	截留液
复方咽舒宁水提原液	78.2	
200 nm 液	1.0	183.0
50 nm 液	0.6	257.0
10 nm 液	1.0	217.0

根据表 1 ~3 的结果, 综合分析陶瓷膜药液膜通量、有效成分表告依春和哈巴俄苷转移率、除杂率、药

表 4 200 nm 陶瓷膜膜通量验证结果

不同阶段的膜通量	膜通量 /L·m <sup>-2</sup> ·h <sup>-1</sup> (%)			
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值
初始水通量	1 000	980	1 040	1 006
膜滤开始时药液通量	480(48.0)	510(52.0)	480(46.0)	490(48.7)
膜滤结束时药液通量	336(33.6)	348(35.0)	240(23.0)	308(30.5)
混合碱洗 1 h 后水通量	720(72.0)	780(79.0)	860(82.0)	787(77.7)
混合碱洗 2 h 后水通量	980(98.0)	970(98.0)	1 010(97.0)	987(97.7)

表 5 200 nm 陶瓷膜有效成分转移率和除杂率验证 %

样品编号	表告依春转移率	哈巴俄苷转移率	除杂率
1	93.38	80.61	25.93
2	93.08	82.90	24.19
3	94.84	84.51	23.81
平均值	93.77	82.67	24.64

从表 4, 5 结果表明所优选的陶瓷膜微滤工艺稳定、可行。

## 2.7 抑菌药效验证试验

**2.7.1 最低抑菌浓度(MIC)的测定** 取无菌试管 12 支, 排成 1 排, 除第 1 管加入 1.5 mL MH 肉汤外,

液浊度、膜清洗的难易程度等因素, 最终确定复方咽舒宁水提液体系的最优陶瓷膜孔径为 200 nm, 陶瓷膜微滤工艺为: 进口压力为 0.2 MPa, 当储液桶中药液量无法循环时, 加相当于膜滤系统中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。

**2.6 最优陶瓷膜精制工艺验证** 为进一步考察所优选陶瓷膜精制工艺条件的可靠性及稳定性, 对 200 nm 陶瓷膜精制工艺进行 3 次验证试验, 操作方法同前, 结果见表 4, 5。

其余每管加入 MH 肉汤 1 mL, 在第 1 管加入样品液 0.4 mL 混匀, 然后吸取 1 mL 至第 2 管, 混匀后再吸取 1 mL 至第 3 管, 如此连续倍比稀释至第 10 管, 并从第 10 管中吸取 1 mL 弃去, 第 11 管为不含药物的生长对照, 第 12 管为不含药物和菌的空白对照。然后在 1 ~11 管每管内分别加入已标化的试验菌液各 0.1 mL。将接种好的稀释管塞好塞子, 置 37 °C 普通空气培养箱培养 24 h 后观察空白对照, 以确定其是否污染, 同时肉眼观察, 以无细菌生长的药物最低浓度管为受试菌的 MIC, 结果见表 6。

表 6 复方咽舒宁抗急性咽炎致病菌的 MIC 和 MBC 验证结果

标准菌株	水提原液 /g·mL <sup>-1</sup>		200 nm 陶瓷膜滤液 /g·mL <sup>-1</sup>	
	MIC	MBC	MIC	MBC
金黄色葡萄球菌(ATCC25923)	0.125	0.250	0.125	0.250
甲型溶血性链球菌(ATCC32209)	0.031	0.062	0.031	0.062
乙型溶血性链球菌(ATCC32210)	0.062	0.125	0.062	0.125
变形杆菌(ATCC49619)	0.062	0.125	0.062	0.125
肺炎链球菌(ATCC13315)	0.125	0.500	0.125	0.500

**2.7.2 最低杀菌浓度(MBC)的测定** 测出 MIC 后, 在未见细菌生长各管的培养物涡旋混匀后, 分别吸取培养物 0.1 mL 涂布于普通平板或血平板上, 37 °C 再培养 18 h, 用活菌计数法检查平皿上菌落, 平均数小于 5 个的最小稀释度的药物浓度即为

MBC, 结果见表 6。

由表 6 可见: 复方咽舒宁陶瓷膜微滤液和原液抗五种急性咽炎致病菌的 MIC 和 MBC 无明显差异, 其中对甲型溶血性链球菌的抑制效果最好, 说明复方咽舒宁水提原液在微滤除杂后仍保留相同的抑菌

效果。

### 3 讨论

通过本试验表明:复方咽舒宁水提液用 200 nm 孔径的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  陶瓷膜具有较好的分离除杂效果,复方中的表告依春和哈巴俄苷 2 种有效成分的平均转移率分别为 93.77% 和 82.67%,除杂率平均 24.64%,膜滤结束时药液的平均膜通量  $308 \text{ L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ,该孔径陶瓷膜的膜通量恢复率仅用混合碱洗即可恢复到 90% 以上,而 100 nm, 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% 以上。

200 nm 陶瓷膜微滤液和原液抗 5 种急性咽炎致病菌的 MIC 和 MBC 药效验证试验结果表明:复方咽舒宁水提液经 200 nm 陶瓷膜微滤精制后仍能很好保留其抑菌药效成分。

因此,复方咽舒宁水提液的陶瓷膜微滤精制工艺条件确定为:采用 200 nm 孔径的  $\text{Al}_2\text{O}_3$  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。

本陶瓷膜微滤工艺条件为实验室工艺条件,为工业化批量精制工艺条件提供参考。本试验发现,在验证试验时哈巴俄苷的平均转移率为 82.67%,相对降低的原因可能与较复杂的膜滤影响因素有关。本体系的膜清洗再生时间为 1 ~2 h,相对较长,相应较优的膜清洗工艺条件尚需进一步研究。

[致谢] 南京中医药大学郭立玮教授对本文陶瓷膜微滤技术的帮助和指导。

### [参考文献]

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 黄敏燕, 潘林梅, 郭立玮.  $\text{ZrO}_2$  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.
- [4] 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.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2005: 76.

[责任编辑 仝燕]

## 本刊欢迎网上投稿

《中国实验方剂学杂志》2010 年正式施行网上投稿, 请登录本刊网站 [www. syfjxzz. com](http://www.syfjxzz.com) 注册会员, 登陆采编系统之后按照提示在线投稿。本刊对网上来稿免收稿件处理费。编辑部对来稿有修改权。经审后, 如录用, 请按通知要求交纳论文发表费(见本刊稿约 7 投稿及缴费)。