

•制剂工艺•

复方中药银黄口服液有效成分膜分离工艺及正交实验研究

孔焕宇^{1*}, 杨丽平¹, 陈玉武², 李克明², 蓝云才³, 张子成⁴

(1. 中国中医研究院骨伤科研究所, 北京 100700; 2. 中日友好医院临床医学研究所, 北京 100029; 3. 三达膜科技厦门有限公司, 福建 厦门 361022; 4. 鲁南制药股份有限公司, 山东 临沂 276005)

[摘要] 目的: 探讨膜分离技术对复方中药有效成分的影响因素。方法: 以有效成分黄芩苷、绿原酸为检测指标, 采用正交实验法优选膜分离工艺条件。结果: 所得口服液与水煎液比较, 绿原酸和黄芩苷膜分离的转移率分别是 96.82%, 92.37%; 正交结果显示加水量、加水点对含量有显著影响。结论: 膜分离技术可用于复方中药银黄口服液的制备; 影响膜分离效果的因素为过滤液的加水量及加水点, 在一定范围内, 加水点偏后及加水量较多时有效成分收率高。

[关键词] 银黄口服液; 膜分离; 黄芩苷; 绿原酸

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)03-0001-03

膜分离技术在制药工业中应用广泛, 在中药制备中能够有效去除做为杂质的悬浮物、蛋白、色素、果胶等大分子物质, 取代醇沉。但是利用膜分离技术, 对中药复方中的有效部位或有效成分进行分离提取, 目前少有研究和报道。本实验以复方中药银黄口服液为研究对象, 通过膜分离技术和正交实验, 了解该技术用于中药复方有效部位或有效成分分离提取的可行性以及在提高中药复方口服液质量方面的优势。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 UF-02 型膜分离设备(三达膜科技厦门有限公司); S-610 型超滤膜(三达膜科技厦门有限公司); 高效液相色谱仪: Waters510 型输液泵 Juk 进样器 Beckman163 型可变波长紫外检测器和杭州普惠 Sepu 3000 工作站。

1.2 试剂 金银花、黄芩(鲁南制药股份有限公司); 黄芩苷对照品购于中国药品生物制品检定所(批号: 715-200010); 绿原酸对照品购于中国药品生物制品检定所(批号: 110753-200212); 甲醇、乙腈为

色谱纯, 水为高纯水, 磷酸为分析纯。

2 方法与结果

2.1 银黄口服液膜分离正交工艺研究

2.1.1 水煎液的制备 称取金银花 1620g, 黄芩 540g, 按 10 倍, 6 倍, 6 倍, 6 倍加水量进行 4 次回流提取, 每次 1 小时, 过滤, 合并水煎液, 均分 9 份。按正交试验表 2 的排列进行实验, 取原液、透析液备用。

2.1.2 正交实验设计 膜分离关键的工艺条件包括温度, 加水点, 加水量, 压力等。同样条件下, 温度越高, 膜通量越大(即单位时间, 单位膜面积通过药液的量)。因为黄芩苷、绿原酸都是热不稳定物质, 所以温度不变, 控制在 40℃。本实验主要考察其它三个因素, 每个因素选择 3 个水平, 因素水平表见表 1。

表 1 膜分离因素水平表

水平	因素		
	A 加水点(倍)	B 加水量(倍)	C 压力(bar)
1	2	0.6	4
2	2.5	0.8	4.5
3	3	1	5

[收稿日期] 2005-10-27

[基金项目] 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项中药研究课题(No: 国中医药科 02-03zq55)

[通讯作者] 孔焕宇, Tel: (010) 86862782; E-mail: konghy@263.net

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱 HypersilBDS C₁₈ (5 μ m, 4.6 \times 250mm); 黄芩苷测定用乙腈-0.025M 磷酸(26:74)为流动相, 流速 1.0mL/min, 检测波长 276nm; 绿原酸测定用乙腈-0.025M 磷酸(15:85)为流动相, 流速 1.0mL/min, 检测波长 328nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 黄芩苷对照品: 精密称取黄芩苷 4.80mg 置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取 1mL 置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 每 1mL 含 48 μ g 黄芩苷。绿原酸对照品: 精密称取绿原酸 6.04mg 置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取 1mL 置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 每 1mL 含 60 μ g 绿原酸。

2.2.3 供试品溶液制备 原液: 精密吸取 0.4mL 置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 得原液的供试品溶液。透析液: 精密吸取 0.8mL 置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 滤过, 得透析液的供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取黄芩苷对照品溶液(0.048mg/mL)和绿原酸对照品溶液(0.060mg/mL) 5、10、15、20、25 μ L 进样, 测定峰面积。以进样量(μ g)对峰面积积分值进行线性回归得回归方程: 黄芩苷 $Y = 3363465X + 16726$, 相关系数 $r = 0.9999$ 。绿原酸 $Y = 3041562X - 2199$, 相关系数 $r = 0.9999$ 。

2.2.5 空白试验 取去黄芩的提取物样品溶液检测, 无黄芩苷峰。取去金银花的提取物样品溶液检测, 无绿原酸峰, 空白无干扰。

2.2.6 样品测定 分别精密吸取上述供试品溶液、对照品溶液 10 μ L 进样分析, 按外标法以峰面积计算, 得山供试液中黄芩苷、绿原酸的含量。计算透析液中两个成分转移率(转移率=透析液中黄芩苷(绿原酸)总量/原液中黄芩苷(绿原酸)总量), 结果见表 2, 方差分析见表 3、表 4。

2.3 结果分析

2.3.1 直观分析 黄芩苷转移率影响因素大小顺序为 B>A>C, 主要因素是加水量, 其次是加水点, 转移率最高的组合为 A₃B₃C₂。绿原酸转移率各因素间差异不显著。

2.3.2 方差分析 结果表明 C 因素对转移率无显著影响, 合并到误差项中, A, B 因素有显著性意义。根据实验结果, 确定 A₃B₃C₂ 为最佳工艺, 即压力是 4.5bar, 浓缩到 3 倍时开始加水, 加 1 倍量水, 绿原酸和黄芩苷的转移率分别为 96.82% 和 92.37%。

表 2 正交设计及统计分析表

列号	因素				黄芩苷转移率(%)	绿原酸转移率(%)
	A	B	C	D(空列)		
1	1	1	1	1	69.55	75.85
2	1	2	2	2	74.44	81.24
3	1	3	3	3	80.28	85.15
4	2	1	2	3	65.67	68.58
5	2	2	3	1	76.12	90.10
6	2	3	1	2	76.36	83.13
7	3	1	3	2	74.74	80.82
8	3	2	1	3	80.29	92.46
9	3	3	2	1	92.36	96.83
k1	2.2427	2.0996	2.262	2.3803		
k2	2.1815	2.3085	2.3247	2.2554		
k3	2.4739	2.49	2.3114	2.2624		
j1	2.4224	2.2525	2.5144	2.6278		
j2	2.4181	2.638	2.4665	2.4519		
j3	2.7011	2.6511	2.5607	2.4619		
R1	0.097467	0.130133	0.0209	0.041633		
R2	0.867878	0.840322	0.8466	0.806756		

表 3 黄芩苷转移率方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	0.016	2	0.008	7.906	$P < 0.05$
B	0.025	2	0.013	12.687	$P < 0.05$
D(误差)	0.004	4	0.001		

$$F_{0.05(2,4)} = 6.944$$

表 4 绿原酸转移率方差分析表

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	0.018	2	0.009	4.390	$P > 0.05$
B	0.034	2	0.017	8.561	$P < 0.05$
D(误差)	0.008	4	0.002		

$$F_{0.05(2,4)} = 6.944$$

3 讨论

本实验研究了膜分离技术用于分离中药复方有效成分的可行性以及通过工艺优化获得最高转移率。银黄水煎液是采用传统的水煎方法, 通过膜分离技术最后得到含有绿原酸和黄芩苷的口服液。转移率分别为 96.82% 和 92.37%。较高的转移率表明生药中有效成分大部分可通过膜分离得到。有文献报道, 适宜的浓缩倍数^[1,2]和加水量可以得到最佳的转移率。本实验结果表明最佳的加水点(药液浓缩到某一倍数时开始加水, 该浓缩倍数为加水点)是药液浓缩到 3 倍, 即余留 1/3 药液时加水。最适宜的

加水量为进料液的 1 倍。

中药及其复方的物质基础实质上是一个特殊的化学药物整体。而构成这个化学药物整体的是每个有特定结构和分子量的成分。膜分离技术的原理是利用具有选择透过性的膜组件,以外界能量和位差为推动力,对多组分体系进行分离、分级、提纯或富集。据此原理可选择不同孔径和截留不同分子量的膜对中药复方提取物进行分子量分段分离,达到成分分离的目的。本研究通过膜分离技术对有效成分进行提取、分离就是利用此技术原理,可以避免有机溶剂带入生产工艺。

膜分离技术节能环保,工艺简单,低温操作,药液无污染,根据本实验结果,可见复方中药水煎液中有效成分的分离提取能够通过膜分离技术实现,且通过正交实验进一步优化工艺也十分可行,较其它方法更具明显优势。

[参考文献]

- [1] 杨张渭,张善政,邓丽仪,等. 人参精采用超滤工艺的中试研究[J]. 中成药, 1994, 16(1): 4.
- [2] 李淑莉,陈斌,欧兴长. 药液种类和浓度对超滤影响的初步研究[J]. 膜科学与技术, 1999, 19(3): 41.