

尿毒清片提取工艺实验研究

陈路林¹, 周瑞玲¹, 宁德山¹, 彭俊锋¹, 曹玉芬²

(1. 广东省中医研究所, 广东 广州 510095; 2. 新疆哈密市中医院, 新疆 哈密 839000)

摘要:目的: 对尿毒清薄膜片的提取工艺进行研究。方法: 以含量测定和药效学的方法比较了大黄三种工艺的提取效果; 采用正交设计方法优选尿毒清复方超临界 CO₂ 萃取的工艺条件。结果: 大黄采用超临界 CO₂ 萃取工艺, 可提高有效成分的提取率及保证疗效, 超临界 CO₂ 萃取最佳工艺条件为: A₂B₂C₂D₁, 提取工艺路线设计合理, 对大生产有指导意义。

关键词: 工艺路线; 超临界 CO₂ 萃取; 正交试验

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)02-0011-03

Studies on Extraction Process of Niaoduqing Film-tablet

CHEN Lu-lin¹, ZHOU Rui-ling¹, NING De-shan¹, PENG Jun-feng¹, CAO Yu-fen²

(1. Guangdong Province Institute of TCM Guangdong, Guangzhou 510095, China;

2. Xinjiang Hami Hospital of Traditional Chinese Medicine, 839000, China)

Abstract: Objective: To Study the extraction process of Niaoduqing film-tablet. Methods: The extraction effects of three processes on Rhubarb were contrasted used content determination and pharmacodynamics methods. The optimum SFE CO₂ extraction conditions were studied by orthogonal test. Result: It can increase the extraction rate of active principle and ensure curative effect with the SFE CO₂ extraction process on Rhubarb. The optimum SFE CO₂ process condition was A₂B₂C₂D₁, and the extraction process way was designed reasonable and has directive meaning to bigproduction.

Key words: process way; supercritical CO₂ extraction; orthogonal test

尿毒清薄膜片是在原三类新药尿毒清颗粒剂的基础上进行的剂型改革, 由大黄、黄芪、丹参等十多种药组成, 临床上用于治疗慢性肾功能衰竭、氮质血症期和尿毒症早期等症状。本研究对尿毒清的工艺路线进行了重新设计和实验, 通过改变剂型, 重新设计工艺路线, 增加了挥发性成分和脂溶性成分的提取, 不仅有利于提高产品疗效, 而且经过片剂的薄膜包衣, 可减少挥发性成分损失, 提高了产品的稳定性。

1 实验材料

1.1 药品与试剂 丹参酮 II_A、黄芪甲苷、芍药苷及大黄素、大黄酚等对照品, 均由中国药品生物制品检定所提供; 尿毒清片所用药材均由广东省药材公司购得; 所用化学试剂均为分析纯。

1.2 实验仪器 HP-1100 高效液相色谱仪(美国) GAMAG II型薄层扫描仪(瑞士) SXN-500 双效真空浓缩罐(常州) GLP-10 离心干燥机(上海)

2 实验方法

2.1 提取工艺路线的选择 根据对方中各药材所含成分的分析, 取含非极性成分较多的丹参、川芎、柴胡先用超临界 CO₂ 萃取, 药渣再与其余药材水提。而大黄作为方中君药, 在提取过程中, 溶媒对大黄蒽醌类成分影响较大, 因此, 对大黄采用了三种提取工艺方法进行初步比较实验。

2.1.1 大黄三种提取方法比较 A、取大黄药材, 水煎煮二次, 每次 1h, 滤过; B、取大黄药材加 70% 乙醇回流 1h, 水提取 1h; C、取大黄药材, 用超临界 CO₂ 萃取 1h(加乙醇为夹带剂), 药渣再用水提 1h。

将上述三种工艺方法提取的药液分别过滤浓缩、干燥, 称重、测定含量, 结果见表 1。

表 1 不同提取方法对大黄成分的影响 n=3

工艺方法	药材	水提工艺	70% 乙醇 回流	超临界 CO ₂ 萃取 加水提
总蒽醌%	2.188	1.17	1.617	1.96
游离蒽醌%	1.369	0.657	0.625	0.64
结合蒽醌%	0.819	0.513	0.992	1.32

实验结果表明: 超临界 CO₂ 工艺由于萃取压力

高,萃取温度低,大黄及其衍生物水解发生率相对较低,因此结合葱醌的保留率较其它工艺方法高。

2.1.2 大黄三种提取工艺对小鼠排便的影响 取 NIH 小鼠 70 只,雄雌各半,随机分为 7 组,每组 10 只。组别分别为对照组、超微粉高、低剂量组、醇提物高、低剂量组、温浸物高、低剂量组。高、低剂量分别为 2.6、0.65g 生药/kg 相当于临床用量 20、25g 生药/日。实验小鼠禁食不禁水 20~24h,实验时各组分别灌服含 10% 炭末混悬药液,0.5ml/只。各鼠分别置于铺有滤纸的不锈钢网笼内进行观察,连续观察 5h,记录小鼠排出的墨便性状和数目,以对照组数值为基数计算排便增加率,结果见表 2。

表 2 大黄超临界 CO₂ 萃取、醇提物、温浸物对小鼠

排便的影响($\bar{x} \pm s; n=10$)			
组别	剂量 (g 生药/kg)	5h 内排便数 (粒)	排便增加率 (%)
对照组	—	3.4 ± 2.9	—
超临界	2.6	7.0 ± 3.0*	105.9
超临界	0.65	6.8 ± 3.3*	100
醇提物	2.6	4.5 ± 2.8	32.4
醇提物	0.65	6.9 ± 4.4*	102.9
水提物	2.6	6.2 ± 3.5	82.4
水提物	0.65	3.0 ± 1.1	-11.8

与对照组比较* $P < 0.05$

表 2 结果表明,大黄超临界萃取工艺 2.6、0.65g 生药/kg 二剂量组小鼠 5h 内排便量数值均显著性增高;大黄醇提物 0.65g 生药/kg 数值亦出现显著性差异,而醇提物 2.6g 生药/kg 数值却未见显著性增高;水提物 2.6、0.65g 生药/kg 二剂量组数值与对照相比上下有所变化,但均无显著性差异。大黄三种制剂对比分析,由排便增加率可见,三种工艺浸膏的功效由高到低顺序为:超临界萃取工艺 > 醇提工艺 > 水提取。

从初步实验证明,大黄采用超临界 CO₂ 萃取工艺,可提高有效成分的溶出率及保证疗效,因此,将大黄也作为采用超临界 CO₂ 萃取的药材之一。

2.1.3 经上述试验,将尿毒清片的提取工艺路线定为:大黄、丹参、川芎、柴胡等四味采用超临界萃取,黄芪等其余药材水提两次(超临界萃取后的药渣在第二次水提时加入),药液经分离纯化、浓缩、干燥,最后加入经过包埋处理的超临界 CO₂ 萃取液,制剂成型。

2.2 超临界 CO₂ 工艺条件考察 以萃取压力、萃取

温度、CO₂ 流量及夹带剂浓度为考察因素进行正交实验,并以萃取量及丹参酮 II_A 总收率为评价指标,筛选最佳工艺条件。

实验方法:按处方比例称取大黄、丹参、川芎、柴胡药材,打成粗粉,均分为 9 份,每份实验药材为 840g,其中丹参药材 400g。按正交实验表 L₉(3)⁴ 设计安排,进行超临界 CO₂ 萃取实验。分别收集萃取液,并测定丹参酮含量(考虑到后续工序及生产成本等因素,实验中夹带剂的用量固定为 300ml)。

实验结果计算:

$$\text{丹参酮 II}_A \text{ 提取率} = \frac{\text{萃取液体积} \times \text{萃取液含量}}{\text{药材中丹参酮 II}_A \text{ 总量}} \times 100\%$$

表 3 因素水平表

因素水平	A 萃取温度 (°C)	B 萃取压力 (MPa)	C 夹带剂(乙醇) 浓度(%)	D CO ₂ 流量 (L/h)
1	40	20	75	12
2	50	25	85	16
3	60	30	95	20

表 4 正交设计实验结果

组别	A 萃取温度 (°C)	B 萃取压力 (MPa)	C 夹带剂 (%)	D CO ₂ 流量 (L/h)	萃取液 体积 (ml)	丹参酮 II _A 含量 (mg/ml)	丹参酮 II _A 提取率 (%)
1	40	20	75	12	195	1.83	89.21
2	40	25	85	16	220	1.59	87.45
3	40	30	95	20	267	1.25	83.44
4	45	20	85	20	201	1.74	87.44
5	45	25	95	12	249	1.34	83.42
6	45	30	75	16	195	1.6	78.0
7	50	20	95	16	249	1.32	82.17
8	50	25	75	20	183	1.94	88.76
9	50	30	85	12	220	1.75	96.25
K ₁	260.10	258.82	255.97	268.88			
K ₂	248.86	259.63	271.14	247.62			
K ₃	267.18	257.69	249.03	259.64			
R	6.11	0.643	7.37	7.09			
SS	56.89	0.623	85.23	75.75			

$$\sum Y = 776.14/9 = 86.24$$

$$GT = 66932.6$$

实验结果表明,在尿毒清复方超临界 CO₂ 萃取工艺的正交试验中,影响提取效果的主要因素依次为 C > D > A > B,夹带剂的浓度为影响丹参酮提取效果的最大因素,其次为 CO₂ 流量、萃取温度。而萃取压力在 20~30MPa 之间对丹参酮 II_A 的萃取效果相对影响较小。因此确定最佳工艺条件为:

A₂B₃C₂D₁ 即: 萃取温度: 50℃、萃取压力: 30MPa、乙醇浓度: 85%、CO₂ 流量: 12L/h。

按上述工艺条件进行三批超临界 CO₂ 萃取验证实验, 结果表明, 该工艺条件基本合理。

2.3 水提工艺方法的确定 本品原尿毒清颗粒的工艺为水提三次, 现工艺由于增加了超临界 CO₂ 提取, 并且从成本和提取效率考虑拟改为水提取二次, 第一次 2h, 第二次为 1.5h, 总的水提提取时间比以前减少 0.5h, 分析提取效果不会因此降低。为了验证新提取方法的合理性, 以芍药苷和黄芪甲苷含量, 浸膏收率为考察指标, 进行三批测试, 与原工艺进行比较。结果见表 5。

表 5 两种水提取工艺结果比较

工艺	出膏率%	芍药苷(mg/g)	黄芪甲苷(mg/g)
原工艺 1	22.5	1.83	0.151
原工艺 2	23.6	1.77	0.148
新工艺 1	21.5	1.96	0.153
新工艺 2	20.9	1.93	0.155
新工艺 3	21.3	1.89	0.149

实验表明: 原工艺比新工艺浸膏收率稍高, 但两种工艺芍药苷、黄芪甲苷的总收率无明显差异。

3 结果与讨论

新工艺与原工艺相比增加了挥发性成分和脂溶性成分的提取, 丹参酮等脂溶性成分的提取率也从 10% 左右提高到 80% 以上, 不仅提高了工艺水平, 而且保证了产品疗效。

采用超临界 CO₂ 萃取新工艺后, 大黄中的结合蒽醌含量提高较多, 但由于大黄中主要成分极性较大, 单纯采用超临界 CO₂ 萃取工艺, 有效成分提取率较低, 因此, 在采用超临界 CO₂ 萃取工艺时, 除了要考虑选择有一定极性的夹带剂外, 萃取后的药渣, 仍需再用水提取, 才能保证较好的提取效果。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 249.
- [2] 阴健. 中药现代研究与临床应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1993. 16.