

尿毒清片提取液分离与纯化工艺研究

陈路林¹, 孙冬梅¹, 杨友宝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: 对尿毒清薄膜片的纯化工艺进行研究。方法: 以薄层鉴别和含量测定为指标, 采用正交设计方法优先尿毒清提取液的分离与纯化工艺条件。结果: 采用澄清剂方法纯化效果理想, 影响分离纯化效果的最大影响因素为药液浓度, 其次为药液温度和澄清剂用量。

关键词: ZTC1+ 1; 分离与纯化; 正交试验

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)03-0004-03

Studies on Separation and Purification Process of Niaoduqing Tablet

CHEN Lu-lin¹, SUN Dong-mei¹, YANG You-bao¹, CAO Yufen²

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

2. Xinjiang Hami Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hami 83900, China)

Abstract: Objective: To Study the purification process of Niaoduqing film-tablet. Methods: The Optimum separation and purification process conditions were studied by the orthogonal test with TLC identification and content determination as markers. Result: The purification effect was perfect with clarifier. The most important factor influencing the separation and purification was concentration of medication solution and then were the temperature of medication solution and the dosage of clarifier.

Key words: ZTC1+ 1; separation and purification; 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, 提取工艺由单纯水提取, 改为先用超临界 CO₂ 萃取脂溶性成分, 再用水提取极性大的成分。本品种由颗粒剂改为片剂, 日剂量从 20g 减为 8g, 但总生药量不变。研究的关键是: 既要提高药物的浓度, 缩小体积, 又要保证制剂的稳定性和临床疗效。因此, 需要在工艺过程中将提取液中的杂质——无效成分、微粒、药渣碎片尽可能除去, 最大限度地保留有效成分, 并且操作要简便, 成本需低廉。根据有关文献资料及报道, 选择了以下实验方法进行比较研究。

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, 均由中国生物制品检定所提供; 澄清剂 ZTC1+ 1(天津正天成澄清技术有限公司); 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)。

2 实验方法

2.1 除杂方法选择 按比例称取处方中药材 500g(大黄、丹参等 4 味取超临界提取后的药渣), 按工艺条件提取两次, 药液过滤(200 目筛), 滤液浓缩至 3000ml, (药材: 药液 = 1: 6), 平均分为三份, 分别进行以下三种分离与纯化研究。

A: 药液浓缩至 500ml, 离心过滤(2000r/min), 收集沉淀, 置真空干燥箱中干燥, 上清液继续浓缩, 制成干浸膏。

B: 药液移入恒温水浴中, 搅拌, 加入 ZTC1+ 1 的澄清剂 30ml(II 型 B 组份, 加 1% 醋酸配成 1% 的浓度), 60℃保温, 每隔 30min 搅拌一次, 2h 后加入 A 组分(配成 1% 的水溶液)澄清剂 15ml, 每隔 30min 搅拌一次, 2h 后取出, 放冷, 离心过滤(2000r/min), 收集沉淀, 置真空干燥箱中干燥, 上清液继续浓缩, 制成干浸膏。

C: 药液浓缩至 400ml, 加入乙醇, 调节含醇量达 60%, 搅拌均匀, 静置 48h, 离心过滤(2000r/min), 收

集沉淀,置真空干燥箱中干燥,上清液继续浓缩,制成干浸膏。

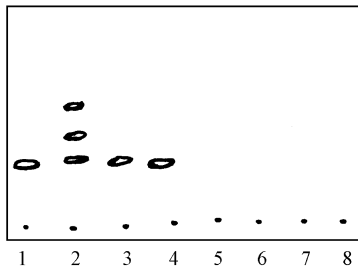
分别将上述三种工艺的沉淀物和干浸膏称重、测定芍药苷含量并进行薄层色谱鉴别比较:

2.1.1 浸膏收率比较

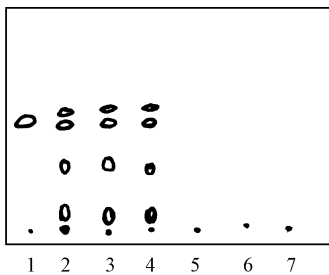
表1 三种纯化方法实验结果

工艺	沉淀量 (g)	出膏率 (%)	芍药苷含量 (mg/g)	芍药苷收率 (%)
A	2.30	20.53	1.908	78.34
B	4.55	17.16	2.273	78.01
C	5.15	16.32	2.330	76.05

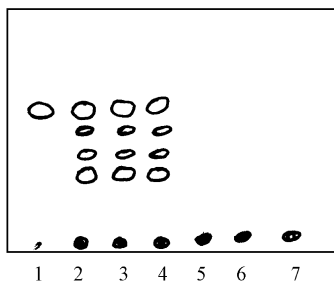
2.1.2 薄层鉴别比较 分别称取相同重量的三种纯化工艺浸膏及沉淀物,分别进行黄芪、苦参及丹参、大黄的薄层鉴别比较,结果见以下薄层鉴别图:



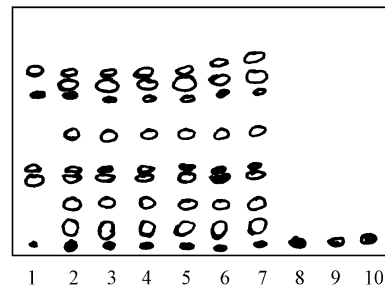
1. 黄芪甲苷对照品; 2. 黄芪对照药材; 3~ 5: A、B、C 三种工艺浸膏; 6~ 8: A、B、C 三种工艺沉淀;
(1) 黄芪



1. 苦参碱对照品; 2~ 4: A、B、C 三种工艺浸膏;
5~ 7: A、B、C 三种工艺沉淀;
(2) 苦参



1. 原儿茶醛对照品; 2, 3, 4, A、B、C 三种工艺浸膏; 5~ 7: A、B、C 三种工艺沉淀;
(3) 丹参



1. 大黄素、大黄酚、大黄素甲醚; 大黄酸、芦荟大黄素对照品
2~ 3: A 工艺浸膏; 4~ 5: B 工艺浸膏; 6~ 7: C 工艺浸膏;
8~ 10: A、B、C 三种工艺沉淀
(4) 大黄

实验结果表明:水提液、加澄清剂液、醇沉液的供试品三种斑点基本一致,在与对照品相当位置上均显示相同的斑点,三种工艺的沉淀物均无显著斑点。芍药苷的含量测定也说明:醇沉法和加入 ZTC1 + 1 澄清剂法均能够有效保留中药水提液中大部分成分,三种纯化方法中以醇沉法除杂效果较好,但芍药苷的提取收率有偏低趋势(实验无显著性差异),但综合生产成本、操作简便和节能等因素考虑,采用加澄清剂的方法更适宜。

2.2 澄清加入方法与条件考察 采用正交设计法,以芍药苷总收率为指标,对提取液温度、澄清剂用量、提取液浓度三个可能影响分离效果的因素进行考察,选择较优的工艺条件。

实验方法:按处方比例称取药材 203.6g(其中大黄等取 4 味超临界萃取后的药渣),按工艺条件水提两次,滤过,药液浓缩至规定浓度,分别加入澄清剂,按以下 $L_9(3)^4$ 正交表的设计安排进行澄清实验,澄清后的药液继续浓缩,干燥,收集九组实验的浸膏干粉,分别称重,测定含量。正交表设计和实验结果见表 2、表 3。

正交实验结果表明:影响分离纯化效果的因素大小依次为 $C > A > B$,最大影响因素为药液浓度,其次为药液温度和澄清剂用量。根据实验结果,选择较好的分离纯化条件为药液浓度:药材:药液 = 1:6,澄清剂用量为 200:400ppm,药液温度为 60℃。

表2 因素水平表

	A 提取液温度	B 澄清剂用量 (A: B)	C 药液(浓度) (药材:药液)
1	40℃	100: 200(ppm)	1: 4
2	60℃	200: 400(ppm)	1: 5
3	80℃	300: 600(ppm)	1: 6

(下转第8页)

表3 正交实验结果

	A	B	C	D	沉淀量 (g)	出膏量 (g)	芍药苷含 量(mg/g)	芍药苷得 量(mg)
1	40℃	100:200	1:4	1	5.03	48.06	1.73	83.14
2	40℃	200:400	1:5	2	3.82	49.16	1.90	93.40
3	40℃	300:600	1:6	3	5.54	48.04	2.01	96.56
4	60℃	100:200	1:5	3	3.36	48.64	1.97	95.82
5	60℃	200:400	1:6	1	4.07	47.42	1.96	93.80
6	60℃	300:600	1:4	2	7.25	49.86	1.71	85.63
7	80℃	100:200	1:6	2	3.83	47.46	2.09	99.19
8	80℃	200:400	1:4	3	6.49	48.36	1.88	90.92
9	80℃	300:600	1:5	1	5.70	45.58	2.09	95.26
K_1	273.1	278.15	259.69	272.2				
K_2	275.25	278.12	284.48	278.2	$\Sigma\bar{Y}=833.72/9=92.63$			
K_3	285.37	277.45	289.55	283.3	$CT=77232.12$			
R	4.09	0.7	9.96	3.70				

3 实验小结

3.1 目前生产上多采用醇沉法除去杂质,但该方法存在耗醇量大、成本高、生产周期长等缺陷,而采用吸附澄清剂的工艺方法可更有效的除去杂质,有效成

分损耗更小,不仅操作简单,还缩短了生产周期,降低了生产成本。

表4 方差分析表

变异来源	离差平方和	自由度	方差	F	P
A	28.62	2	14.31	1.7	> 0.05
B	0.1	2	0.05	0.01	> 0.05
C	170.2	2	85.1	10.13	< 0.1
误差	16.87	2	8.43		

3.2 实验发现,加入澄清剂后,如果即刻有大量细小颗粒状沉淀产生,表示分散效果较好,如果为片状或丝状,则效果较差。关键是掌握好药液的浓度和温度。

3.3 采用吸附澄清方法如果能与管式高速离心机配合使用,不仅可以实现连续化生产,分离纯化效果也为最理想。

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,2000.18,57,68,161,249.
- [2] 崔元璐,沈锋,姚康德,等.吸附澄清-高速离心-微滤法制备菖蒲口服液[J].中草药,1999,30(10):11.