

ZTC1 + 1 天然澄清剂在赤芍药材除杂工艺中应用研究

刘卫红<sup>1</sup>, 吴冬梅<sup>2</sup>, 张娜娜<sup>1</sup>, 张振巍<sup>3</sup>

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000;  
2. 河南省中医院, 郑州 450002; 3. 甘肃中医学院, 兰州 730030)

[摘要] 目的:研究 ZTC1 + 1 天然澄清剂用于赤芍药材除杂方法。方法:采用单因素实验设计方法对 ZTC1 + 1 天然澄清剂的影响因素进行考察,并得出最佳因素组合与醇沉方法进行对比。结果:ZTC1 + 1 天然澄清剂的除杂效果要比醇沉好。结论:采用 ZTC1 + 1 天然澄清剂对中药水提液除杂是一个较好的方法,该方法有方便、经济、除杂效果好、安全等优点。

[关键词] 赤芍;ZTC1 + 1 天然澄清剂;除杂

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)06-0045-03

Research ZTC1 + 1 Natural Clarifying Agent for Removal of Extraneous Materials in *Paeonia lactiflora* Medicine

LIU Wei-hong<sup>1</sup>, WU Dong-mei<sup>2</sup>, ZHANG Na-na<sup>1</sup>, ZHANG Zhen-wei<sup>3</sup>

(1. First Affiliated Hospital of Henan college of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;  
2. Hospital of Henan Province of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China;  
3. Gansu University of Traditional Chinese Medicine Traditimal Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China)

[Abstract] **Objective:** Research the method of ZTC1 + 1 natural clarifying agent for the removal of extraneous materials in *Paeonia Lactiflora* medicine. **Method:** Single factor design method was used for investigating ZTC1 + 1 natural clarifying agent of the relevant factors and the optimum combination of factors and alcohol precipitation methods were compared. **Result:** The effect of ZTC1 + 1 natural clarifying agent of impurity was better than alcohol precipitation. **Conclusion:** Natural clarifying agents with ZTC1 + 1 for aqueous extract of Chinese medicine is a better way to impurity. The method is convenient, economical and safe with the effect of imparity removal.

[Key words] *Paeonia Lactiflora*; ZTC1 + 1 natural clarifying agent; impurity

中药复方水提液是一个十分复杂的混合体系,在成品制剂中,采取一系列措施,尽量消除体系中不稳定因素,保持成品的稳定。但是具体工艺过程中,为除去大分子杂质,使固液迅速而完全分离,就要设法破坏混合体系的稳定性。作为近年来发展的一项新型除杂技术,吸附澄清技术是利用凝聚和絮凝作用,以澄清剂吸附除去中药提取液中的粗粒子以及淀粉、鞣质、黏液质等大分子杂质,破坏中药水提液的稳定性,以达到精制和提高成品制剂质量的目的。其最大的优点就是成本低,对有效成分的影响随澄清剂的种类有所不同。本文选用 ZTC1 + 1 型天然澄清剂对赤芍水提浓缩液进行纯化研究,并对传统的醇沉除杂方法进行对比。

**1 材料**

**1.1 试药** 赤芍饮片由本院提供,经本院药行鉴定为芍药科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根<sup>[1]</sup>;芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110736-200934,供含量测定用,以 95.7% 计算)。

[收稿日期] 2010-08-31

[第一作者] 刘卫红,副主任药师,从事中药学研究,Tel:0371-66233478, E-mail:lw\_h\_c@163.com

[通讯作者] \* 吴冬梅,副主任药师,从事中药制剂研究,Tel:037160908833, E-mail:wdm. z@163.com

甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其余试剂均为分析纯。

**1.2 仪器** 高效液相色谱仪(Waters2695、四元泵、在线脱气系统、自动进样系统、Waters 2996 型二极管阵列检测器、Empower Pro 工作站);BS201 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 瑞士 SPHERIGEL ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm);流动相甲醇-水,梯度洗脱(0~4 min,20%~24% 甲醇;4~20 min,24%~30% 甲醇);检测波长 260.5 nm;柱温 30℃。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品 0.021 6 g 于 25 mL 量瓶中,定容,即得对照品溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取赤芍药材饮片 100 g,加入 12 倍量水,提取 2 次,每次 2 h,浓缩药液至药材重(g)-提取液体积(mL)为 1:16,即得赤芍样品浓缩液,放置备用。

2.4 方法学考察

**2.4.1 工作曲线的绘制** 精密吸取已配制好的芍药苷对照品溶液 0.0,1.0,3.0,5.0,7.0,10.0 mL 于 10 mL 量瓶中,室温下定容即配得质量浓度为 0,0.082 7,0.248 1,0.413 5,0.578 9,0.827 g·L<sup>-1</sup>的芍药苷对照品溶液,分别精密吸取上述芍药苷对照品稀释溶液各 10 μL,注入液相色谱仪中,测定芍药苷峰面积,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,标准曲线方程为  $Y = 8.17 \times 10^5 X + 5.86 \times 10^3$  ( $r = 0.999\ 8$ ),线性范围为 0~0.827 mg。

**2.4.2 精密度试验** 精密吸取同一对照品溶液,连续进样 6 次,测定芍药苷峰面积,计算其 RSD 0.12%,说明仪器精密度良好。

**2.4.3 重复性试验** 按照含量测定方法,取同一批赤芍样品,按照 2.3 项下方法平行制备 6 个供试品溶液,依次进样测定芍药苷含量,计算其 RSD 0.84%。表明该方法的重复性良好。

**2.4.4 稳定性试验** 取同一批样品制得的供试品溶液,分别于 0,4,10,24,36,48 h 各进样 10 μL,记录色谱图,测得芍药苷峰面积响应值的 RSD 0.3%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

**2.4.5 加样回收率试验** 取已知含量的赤芍药材粗粉 9 份,每份约 0.25 g,精密称定,分别加入芍药苷对照品适量(2.48~8.27 mg),按 2.3 项下方法制备供试溶液。精密吸取各供试溶液 10 μL,进样测定,结果见表 1。

表 1 芍药苷加样回收率实验

| No. | 称样量<br>/g | 样品中<br>量/mg | 加入量<br>/mg | 测得量<br>/mg | 回收率<br>/% | 平均值<br>/% | RSD<br>/% |
|-----|-----------|-------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 1   | 0.250 1   | 7.087       | 2.48       | 9.527      | 98.4      | 97.4      |           |
| 2   | 0.249 9   | 7.113       | 2.48       | 9.519      | 96.9      |           |           |
| 3   | 0.250 2   | 7.138       | 2.48       | 9.542      | 96.9      |           |           |
| 4   | 0.249 8   | 6.988       | 5.79       | 12.592     | 96.8      | 97.5      |           |
| 5   | 0.250 0   | 7.100       | 5.79       | 12.856     | 99.4      |           | 1.20      |
| 6   | 0.250 1   | 7.075       | 5.79       | 12.645     | 96.2      |           |           |
| 7   | 0.250 0   | 7.050       | 8.27       | 15.000     | 96.1      | 97.0      |           |
| 8   | 0.249 9   | 7.100       | 8.27       | 15.075     | 96.4      |           |           |
| 9   | 0.249 8   | 6.987       | 8.27       | 15.125     | 98.4      |           |           |

2.5 天然澄清剂的除杂研究<sup>[2]</sup>

**2.5.1 澄清剂的配制** 按照澄清剂说明书配制其溶液,称取 A 组份 5 g,先用少量水搅成糊状,再加水至 500 mL,充分溶胀 24 h。搅拌,双层纱布过滤,即得 1% A 黏胶液;称取 B 组份 5 g,用少量 1% 醋酸溶液溶解并搅拌成糊状,然后加入 1% 醋酸溶液至 500 mL,充分溶胀 24 h。搅拌,双层纱布过滤,即得 1% B 黏胶液。

**2.5.2 澄清剂用量的考察** 取 2.2 项下供试品溶液 50 mL 6 份,水浴加热至 70℃,按 2%,4%,6%,8%,10% 量分别依次加入 ZTC1+1 澄清剂 B 组分和 A 组分,边加边搅拌。水浴静置 30 min 后,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 15 min,精密吸取上清液 1 mL 于 25 mL 量瓶中,加入甲醇定容,利用 HPLC 测定芍药苷含量变化,并观察澄清情况。

表 2 不同澄清剂用量除杂效果比较

| 用量/% | 芍药苷/% | 澄清情况 | 絮凝状况 | 颜色变化情况 |
|------|-------|------|------|--------|
| 2    | 81.51 | 澄清   | 疏松片状 | 颜色重    |
| 4    | 60.98 | 较浑浊  | 大块片状 | 颜色较轻   |
| 6    | 72.51 | 浑浊   | 大团块状 | 颜色较重   |
| 8    | 66.57 | 较澄清  | 小片状  | 颜色较轻   |
| 10   | 74.12 | 较澄清  | 较小片状 | 颜色轻    |

根据上表可以看出澄清剂加入量在 2% 时芍药苷保留量最多,药液澄清;用量在 8% 以上时药液较为澄清,但是芍药苷保留量降低,在 6% 时药液出现浑浊现象,有较大的团块出现,溶液颜色较重,但芍药苷含量不是很高,考虑到实际情况,选用 2% 加入量更为合适。

**2.5.3 澄清剂加入次序的确定** 根据 ZTC1+1 澄清剂使用说明,对澄清剂 A,B 组分的加入次序进行筛选。分别取前述浓缩液 50 mL 2 份,水浴加热至

70 ℃,以加入量 2% 进行筛选,其他条件同上。样品液 1 先加入 B 组分,后加入 A 组分;样品液 2 则相反。考察 2 种加入次序对澄清效果的影响。结果显示样品液 1 溶液较为澄清,芍药苷含量为 81.51%,加入絮凝剂后沉淀状态为疏松片状;而样品液 2 溶液浑浊,其芍药苷含量为 28.75%,沉淀为细小片状;综合实验结果可以看出澄清剂的加入次序对溶液有较大的影响,先加入 B 组分比先加入 A 组分好,溶液的各种情况都有较大的差别,故最终确定加入次序定为先加入 B 组分再加入 A 组分。

**2.5.4 搅拌速度的考察** 取浓缩液 50 mL 4 份,水浴加热至 70 ℃,以加入量 2% 进行筛选,其他条件同上。

表 4 搅拌速度对澄清效果的影响

| No. | 搅拌速度<br>/r·min <sup>-1</sup> | 芍药苷<br>/% | 絮体状态   | 沉降情况 | 澄清情况 |
|-----|------------------------------|-----------|--------|------|------|
| 1   | 50                           | 57.68     | 疏松片状   | 逐渐沉降 | 澄清   |
| 2   | 100                          | 70.32     | 大团块状   | 很快沉降 | 澄清   |
| 3   | 150                          | 81.51     | 较小片状   | 沉降   | 较澄清  |
| 4   | 200                          | 75.18     | 小片状、分散 | 逐渐沉降 | 澄清   |

由上表可以看出,加入澄清剂时搅拌速度在 150 r·min<sup>-1</sup>时溶液中芍药苷保留量最大,溶液状态较好,在 100 r·min<sup>-1</sup>时溶液沉淀沉降速度很快,但是絮体为大团块状,可能是大团块包藏了溶液中的芍药苷,导致溶液中芍药苷含量降低。结合上表情况,选择搅拌速度为 150 r·min<sup>-1</sup>较合适。

**2.5.5 提取液浓度的考察**<sup>[3]</sup> 取浓缩液再浓缩至 1:2,1:5,1:10(药材质量:提取液体积)3 个不同浓度,按照上述方法加入 2% 澄清剂,搅拌速度为 150 r·min<sup>-1</sup>,观察澄清效果。结果见表 5。

表 5 提取液浓度对澄清效果的影响

| 浓缩液  | 芍药苷/% | 沉淀描述      | 澄清情况 |
|------|-------|-----------|------|
| 1:2  | 64.42 | 大团块状、量多   | 浑浊   |
| 1:5  | 68.30 | 片状、液面浮有小片 | 澄清   |
| 1:10 | 78.48 | 大块片状、量多   | 较澄清  |
| 1:16 | 81.51 | 片状、量多     | 较澄清  |

从表 5 看出,溶液浓缩程度越大,药液中芍药苷含量越少,溶液的澄清情况越差,浓缩量为 1:10 和 1:16 的两种情况,芍药苷含量相差不大,但是由于浓度为 1:16 的浓缩液体积较多,结合实际情况,浓缩

药液浓度定为 1:10。

**2.5.6 工艺验证试验** 取浓缩液(浓度为 1:10)50 mL 3 份,水浴加热至 70 ℃,按照 2% 加入量依次加入 B 组分和 A 组分,边加边以 150 r·min<sup>-1</sup>的速度搅拌,水浴放置 30 min 后,观察溶液絮凝状态,然后以 3 000 r·min<sup>-1</sup>的速度离心,取上清液以相当于 0.5 g 赤芍药材量的体积于 25 mL 量瓶中,甲醇定容,再用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,注入 HPLC 中,测定芍药苷含量。验证结果显示芍药苷平均质量分数为 87.98%,RSD 0.64%,说明该实验方法稳定、可行性好。

**2.6 醇沉除杂工艺研究** 取赤芍浓缩液(1:5)50 mL 4 份,加入 95% 乙醇使溶液含醇量分别达到 50%,60%,70%,80%。边加入边按一个方向进行搅拌,静置 48 h。醇沉液以 3 000 r·min<sup>-1</sup>,离心 15 min,取相当于 0.5 g 赤芍药材的上清液体积于 25 mL 量瓶中,甲醇定容,用 HPLC 测定其芍药苷含量。实验结果显示在乙醇体积分数为 70% 时醇沉液中芍药苷含量最高(含量为 78.4%),醇沉效果较好。

**2.7 2 种除杂工艺的对比** 分别按照 2 种除杂最优方案进行除杂效果对比。结果显示赤芍浓缩液在经 ZTC 吸附澄清技术除杂后效果要优于采用醇沉法除杂的方法。

3 讨论

醇沉是中药制剂中最常用的除杂方法,随着乙醇体积分数的变化,沉淀大分子成分达到澄清的目的。ZTC1+1 澄清剂作为一种天然高分子,其作用机制是利用电荷和大分子的架桥作用,去除溶液中的鞣质、蛋白质、树胶等杂质,得到稳定、澄清的溶液。本实验就 2 种除杂效果进行了对比,结果显示,天然澄清剂的除杂效果要好于醇沉效果。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010:147.  
[2] 李汉保,谢虞升,李岩,等,天然澄清剂在中药口服液澄清过程中对芍药甙含量的影响[J].中国中药杂志,1998,23(10):612.  
[3] 吕武清,郑海华,葛新.101 果汁澄清剂用于玉屏风口服液澄清的工艺探讨[J].中成药,1996,18(7):1.

[责任编辑 蔡仲德]