

水飞蓟宾葡甲胺的制备与精制

张晶¹, 王巍², 耿新辉¹ (1. 第二军医大学长海医院药学部, 上海 200433; 2. 安徽省滁州市食品药品检验所, 安徽 滁州 239000)

摘要 目的:研究水飞蓟宾葡甲胺的制备与精制。**方法:**先用无水乙醇溶解水飞蓟宾粗品进行重结晶精制, 用精制的水飞蓟宾和葡甲胺结合成复盐。**结果:**实验中合成的产物经紫外分光光度计检测水飞蓟宾葡甲胺含量高于 96%, HPLC 检测水飞蓟宾葡甲胺含量 80%, 总质量得率约为 72.1%。**结论:**实验证明此水飞蓟宾葡甲胺的制备工艺稳定, 各步工艺操作条件易控, 产品质量可靠, 适宜于工业化生产。

关键词 水飞蓟宾葡甲胺; 制备; 精制

中图分类号: R914 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-0111(2008)04-0274-04

The preparation and purification of silybin meglumine

ZHANG Jing¹, WANG Wei², GENG Xin-hui¹ (1. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Chuzhou Institute for Food and Drug, Anhui, Chuzhou, 239000, China)

ABSTRACT Objective: To study the preparation and purification of silybin meglumine. **Methods:** The procedure of the preparation included two steps: first, the crude silybin was recrystallized with absolute alcohol, and activated carbon which was used to adsorb impurity simultaneously. Then, the purificatory product and meglumine were used to preparation silybin meglumine. **Results:** The content of silybin meglumine in preparation products was higher than 96% detected by ultraviolet spectrometer and 80% detected by high performance liquid chromatography (HPLC). The mass rate is approximately 72.1%. **Conclusion:** This experiment proved that the production process of silybin meglumine was stable, each step of operating conditions was easy to control. The product quality was reliable and suitable for industrial production.

KEY WORDS silybin meglumine; preparation, purification

水飞蓟宾可增高肝细胞微粒体酶活性, 加速肝的解毒能力, 降低四氯化碳引起的大鼠血清谷-丙氨基转移酶增高作用, 稳定四氯化碳、鬼笔碱、硫化乙酰胺、猪屎豆碱、肝病毒 FV3 等肝脏毒物引起的各种类型的肝细胞膜损伤, 达到明显的肝脏保护作用^[1]。国内外都有水飞蓟宾的口服制剂上市多年, 对改善肝炎症状, 消退黄疸和降低血清转氨酶有良好效果。但由于水飞蓟宾难溶于水和一般有机溶剂、口服吸收差、生物利用度低, 从而影响了其临床疗效, 国内外积极开发研究其复合物, 或是改善其口服生物利用度, 或是研究其注射剂, 以增加疗效, 扩大应用范围。

水飞蓟宾葡甲胺是水飞蓟宾和葡甲胺的复合物, 相对于水飞蓟宾来说, 具有水溶性好, 吸收好, 生物利用度高等优点, 并可制成冻干注射制剂, 片剂, 包合物等, 用途非常广泛。水飞蓟宾葡甲胺又名西利宾胺, 有直接清除活性氧, 保护肝细胞膜, 促进被损伤肝细胞合成 DNA 和结构蛋白, 免疫调节和抗肝

纤维化等药理学作用, 是一种有良好应用前景的肝病治疗药物^[2]。本文主要阐述水飞蓟宾葡甲胺的制备及精制。

1 材料

1.1 原料 水飞蓟宾(规格: 80%, 西安天一生物技术有限公司), 葡甲胺(规格: >99%, 西安力邦制药有限公司)。

1.2 试剂 丙酮、甲醇、醋酸乙酯(中国医药集团上海化学试剂公司), 无水乙醇(分析纯, 江都祥和工贸有限公司)。

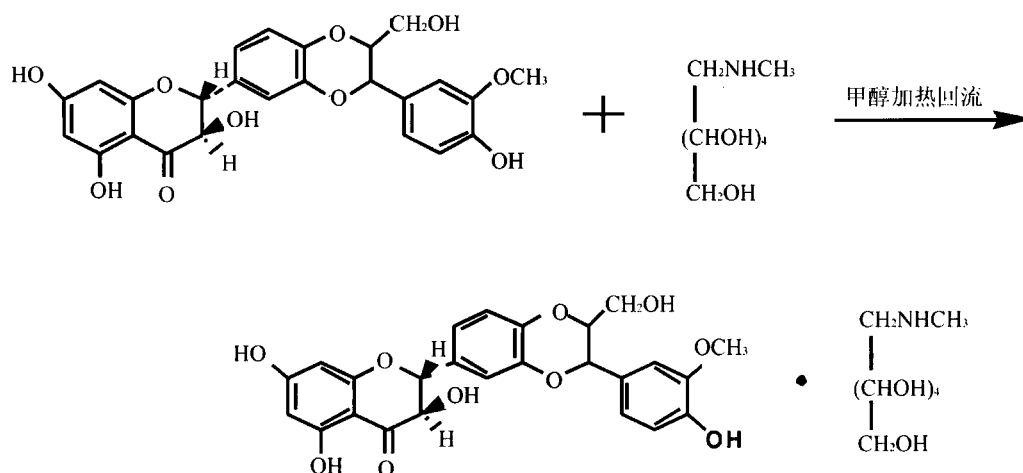
1.3 仪器 HP6890 型气相色谱仪(美国惠普(Hewlett-Packard)公司), FA1104N 电子天平(上海民桥医疗器械有限公司), UV-9100 紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器厂), RE52CS 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), SHZ-D(III) 循环水式真空泵(巩义市予华有限责任公司)。

2 方法

2.1 文献报道的合成路线 水飞蓟宾葡甲胺是由

水飞蓟宾和葡甲胺结合而成的复盐,经过文献检索,报道的合成路线主要有 2 条,反应式如下:路线 1^[3]

与路线 2^[4] 线两者的差别就是反应溶剂不同。路线 1 用甲醇加热回流,路线 2 用无水乙醇做溶剂。



2.2 水飞蓟宾葡甲胺的制备工艺研究

2.2.1 水飞蓟宾精制 市售水飞蓟宾其水飞蓟宾的含量只有 80%,不能作为原料药来用。因此我们对其进行了精制,将水飞蓟宾粗品溶于无水乙醇进行重结晶,精制为含量高的水飞蓟宾。精制后的水飞蓟宾含量为 99%。

2.2.2 反应溶剂的选择 按照文献报道的两种路线来做,路线 1 采用甲醇做溶剂毒性较大,不适于工业化生产,因此不采用此方法。路线 2 采用无水乙醇做溶剂回收率较好,但无水乙醇溶解葡甲胺对温度的要求很苛刻。温度稍微降低,葡甲胺就会析出,导致产品不合格。因此无水乙醇并不是一种好的反应溶剂。经过反复实验,后来我们采用丙酮做溶剂,水飞蓟宾在丙酮中溶解较好。但葡甲胺在丙酮中很难溶解,6 g 加 600 mL 丙酮加热回流也不能完全溶解,未溶解的葡甲胺不能与水飞蓟宾充分反应,所得反应液浑浊,得到产品量较少。经过思考后,我们将葡甲胺溶解在少量水中,再和水飞蓟宾的无水乙醇溶液反应,所得产品收率较高,而且工艺操作条件易控。

2.2.3 水飞蓟宾与葡甲胺投料比的选择 取 3 个 250 mL 三口烧瓶,分别加入:

- 1#: 155 mL 无水乙醇和 15.5 g 水飞蓟宾;
- 2#: 163 mL 无水乙醇和 16.3 g 水飞蓟宾;
- 3#: 178 mL 无水乙醇和 17.8 g 水飞蓟宾。

加热回流使其溶解,稍降温,保持 80 °C 备用。另取三份 6.0 mL 蒸馏水,分别加入 6.0 g 葡甲胺,加热至 80 °C 溶解,慢慢加入上述水飞蓟宾溶液中,加热至回流,保持 30 min。停止加热搅拌,溶液冷至

室温,移入 -10 °C 冰箱中放置过夜,过滤,滤饼分别以 30 mL 无水乙醇打浆搅拌 0.5 h,过滤,以 10 mL 无水乙醇洗涤 1 次,于 40 °C 真空干燥 12 h。结果见表 1。

表 1 投料比对水飞蓟宾葡甲胺制备的影响

实验编号	水飞蓟宾与葡甲胺的摩尔比	产品量 (g)	外观	水溶性	收率 (%)
1	1.05 : 1	15.6	黄色粉末	澄清	72.1
2	1.10 : 1	16.0	黄色粉末	澄清	71.7
3	1.20 : 1	17.3	黄色粉末	澄清	72.7

综合实验结果,确定水飞蓟宾与葡甲胺的投料摩尔比为 1.05 : 1

2.2.4 反应温度的选择 取 3 个 250 mL 三口烧瓶,分别加入 155 mL 无水乙醇和 15.5 g 水飞蓟宾,加热回流使其溶解,分别降至不同的温度备用。另取三份 6.0 mL 蒸馏水,分别加入 6.0 g 葡甲胺,加热至 80 °C 溶解,分别降至与水飞蓟宾相应的温度,慢慢加入水飞蓟宾溶液中

1#: 水飞蓟宾与葡甲胺体系都降至 60 °C 再混合,并于 60 °C 保持 30 min。

2#: 水飞蓟宾与葡甲胺体系都在 80 °C 混合,并于 80 °C 保持 30 min。

3#: 水飞蓟宾与葡甲胺体系都在 80 °C 混合,升温至 86 °C 回流,保持 30 min。

反应完成后,冷至室温,移入 -10 °C 冰箱中放置过夜,过滤,滤饼分别以 30 mL 无水乙醇打浆搅拌 0.5 h,过滤,以 10 mL 无水乙醇洗涤 1 次,于 40 °C 真空干燥 12 h。结果见表 2。

表2 反应温度对水飞蓟宾葡甲胺制备的影响

实验编号	反应温度/℃	产品量(g)	外观	水溶性	收率(%)
1	60	13.2	黄色粉末	浑浊	56
2	80	15.9	黄色粉末	澄清	73.1
3	86	16.1	黄色粉末	澄清	75.1

结合产品的收率、质量、操作的简便性等方面,选取反应温度为86℃。

2.2.5 反应时间的选择 取3个500 mL三口烧瓶,分别加入155 mL无水乙醇和15.5 g水飞蓟宾,加热回流使其溶解,降温至80℃备用。另取三份8.0 mL蒸馏水,分别加入8.0 g葡甲胺,加热至80℃溶解,慢慢加入水飞蓟宾溶液中,分别保持不同的时间:

1#:保持5 min。

2#:保持10 min。

3#:保持30 min。

反应完成后冷至室温,移入-10℃并向中放置15 h,过滤,滤饼分别以30 mL无水乙醇打浆搅拌0.5 h,过滤,以10 mL无水乙醇洗涤1次,于40℃真空干燥12 h。结果见表3。

表3 反应时间对水飞蓟宾葡甲胺制备的影响

实验编号	反应时间/min	产品量(g)	外观	水溶性	收率(%)
1	5	21.2	黄色粉末	不非常澄清	74.1
2	10	21.7	黄色粉末	澄清	75.0
3	30	22.0	黄色粉末	澄清	76.9

结果表明,在30 min内反应时间对产品的收率和质量的影响不大,从生产的稳定性考虑,选取反应时间为10 min。

2.2.6 反应的终点控制方法 水飞蓟宾葡甲胺复盐在水、乙醇、甲醇、醋酸乙酯等各种溶剂中均有微量水飞蓟宾和葡甲胺分解出来,水飞蓟宾葡甲胺复盐兼有水飞蓟宾和葡甲胺的各种鉴别反应,无法用高效液相、薄层色谱等方法判断成盐反应的终点。因此我们采用不同反应时间的水飞蓟宾葡甲胺产物的溶解性来判断反应的终点(反应终点时,产物的水溶液澄清透明),最终发现水飞蓟宾和葡甲胺在乙醇中回流10 min即达到反应的终点。

2.3 操作步骤 在250 mL的圆底烧瓶中加入水飞蓟宾15 g,再加入无水乙醇155 mL,加热至80℃,使水飞蓟宾溶解,并保持在80℃温备用;另称取葡甲胺6.0 g,置于烧杯中,加6 mL水,加热至80℃溶解,将葡甲胺溶液加入水飞蓟宾无水乙醇中,加热回流10 min,反应完成后,移入-10℃冰箱中放置15 h,过滤,滤饼分别以30 mL无水乙醇打浆搅拌0.5 h,过滤,以10 mL无水乙醇洗涤1次,于40℃真空

干燥12 h。

经紫外分光计检测得到水飞蓟素葡甲胺含量高于96%、高效液相检测水飞蓟宾葡甲胺含量89%。总质量得率约为72.1%。得水飞蓟宾葡甲胺15.5 g。

2.4 含量测定方法

2.4.1 紫外测定^[5] 取本品15 mg,精密称定,置100 mL量瓶中,加甲醇适量,超声处理20 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,精密量取5 mL,置50 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按照分光光度法(中国药典2000年版二部附录IV A),在288 nm的波长处测定吸收度,另取经105℃干燥至恒重的水飞蓟宾对照品适量,加甲醇定量稀释制成每1 mL中约含10 μg的溶液,同法测定,计算,结果乘以1.405,即得。

2.4.2 高效液相含量测定^[6] 按照高效液相色谱法(中国药典2000年版二部附录V D)测定。

色谱条件与系统适用性试验:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂。以甲醇-水-0.5 mol/L磷酸二氢钾(10:10:1)为流动相(用0.2 mol/L磷酸调节pH值至4.0),检测波长288 nm。理论塔板数按水飞蓟宾峰计算应不低于3 000。测定法:取本品15 mg,精密称定,置50 mL量瓶中,加甲醇适量,超声处理20 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,精密量取5 mL,至25 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取20 μL注入液相色谱仪,记录色谱图;另取经105℃干燥至恒重的水飞蓟宾对照品10 mg,同法测定,按外标法以峰面积计算,计算乘以1.405,即得。

2.5 粗品精制 水飞蓟宾葡甲胺为天然药物水飞蓟宾与葡甲胺在乙醇中回流合成的复盐,反应中水飞蓟宾过量(水飞蓟宾:葡甲胺=1.05:1),反应后水飞蓟宾葡甲胺从母液中析出,形成的沉淀中会有少量未反应的游离水飞蓟宾,采用无水乙醇打浆洗涤即可除去,否则水飞蓟宾葡甲胺溶于水后将显浑浊。但仅除去过量的水飞蓟宾是不够的,因为原料中除含水飞蓟宾外,还有少量的异水飞蓟宾,水飞蓟丹,水飞蓟宁等物质,这些物质的存在会影响水飞蓟宾葡甲胺的纯度。

由于文献关于水飞蓟宾葡甲胺的精制报道较少,所以我们只能通过实验进行摸索,来寻找精制的方法。实验中用了不同浓度的醋酸乙酯、丙酮、无水乙醇、饱和的氯化钠、水等为溶剂对水飞蓟宾葡甲胺进行精制。

最后发现,先将水飞蓟宾葡甲胺用少量的水溶解,在搅拌下慢慢滴加饱和的氯化钠溶液,会析出很细的水飞蓟宾葡甲胺固体,然后抽滤,得黄色粉末。该粉末用一定量的无水乙醇溶解,氯化钠固体析出,

抽滤,滤液旋干,得纯度达 99% 的水飞蓟宾葡甲胺。

3 结果

实验合成的产物经紫外分光光度计检测水飞蓟宾葡甲胺含量高于 96%,经 HPLC 检测水飞蓟宾葡甲胺含量 80%,总质量得率约为 72.1%。

4 讨论

4.1 水飞蓟宾葡甲胺的制备 在制备过程中对溶剂的选择,由于甲醇毒性较大,不适于药物生产;无水乙醇毒性较小,但反应要求较高。通过分析文献,选用丙酮作为溶剂,水飞蓟宾易于溶解,而葡甲胺难溶于丙酮,产物较少。通过实验,将葡甲胺溶于少量水中,在与水飞蓟宾的无水乙醇溶液反应,得到稳定产物。

4.2 水飞蓟宾葡甲胺的精制 由于文献关于水飞蓟宾葡甲胺的精制报道较少,所以我们只能通过实验进行摸索,来寻找精制的方法。实验中用了不同浓度的醋酸乙酯、丙酮、无水乙醇、饱和的氯化钠、水等为溶剂对水飞蓟宾葡甲胺进行精制。

醋酸乙酯作为精制溶剂,由于其极性太低,用大量的醋酸乙酯也不能使水飞蓟宾葡甲胺溶解,达不到重结晶精制的目的。

丙酮在加热回流下能完全溶解水飞蓟宾葡甲胺,但溶解后的水飞蓟宾葡甲胺无法从丙酮溶剂中析出。因此丙酮不能作为其重结晶溶剂。后来降低加热温度,使水飞蓟宾葡甲胺在丙酮中,在 30℃ 的

温度下搅拌 30~60 min,所得水飞蓟宾葡甲胺固体水溶性有所改善。但达不到较好的效果。

用无水乙醇作为溶剂,将所得粗品加入圆底烧瓶中,加入精制过的无水乙醇,80℃ 加热回流 30 min,抽滤,滤液室温下放置到完全析出沉淀,真空干燥。再重复操作两次,得到 99% 纯度的产品。此方法可以得到纯度较高的水飞蓟宾葡甲胺,但需要重复操作多次,有些烦琐。最后,先将水飞蓟宾葡甲胺用少量的水溶解,在搅拌下慢慢滴加饱和的氯化钠溶液,会析出很细的水飞蓟宾葡甲胺固体,然后抽滤,得黄色粉末。该粉末用一定量的无水乙醇溶解,氯化钠固体析出,抽滤,滤液旋干,得纯度达 99% 的水飞蓟宾葡甲胺。

参考文献:

- [1] 孔慧珍. 病毒性肝炎的治疗[J]. 浙江预防医学,1995,7(1):6.
- [2] Madaus Rolf Hermann Heinrich, Halbach Gunter, Trost Wilfried. Polyhydroxyphenylchromanone salts and therapeutic composition[P]. US4061765,1976.
- [3] 张时行,吴知行. 水溶性水飞蓟宾及其制剂的制备和质量标准[J]. 药学通报,1984,19(1):7.
- [4] 刑为藩,龚明涛. 一种水飞蓟提取物葡甲胺盐的新制备方法[P]. 中华人民共和国国家知识产权局发明专利申请公开说明书;200410041363.6
- [5] 化学药品地方标准上升国家标准(第十册)10~52.
- [6] 姚水宝. 梯度高效液相色谱法分离测定了利加隆片(德国)中水飞蓟宾的含量[J]. 中国药业,2001,10(8):13.

收稿日期:2008-04-28

(上接第 263 页)

3 讨论

硬脂酸镁能够增加颗粒的流动性,但因其疏水物用量过多会影响分散片的崩解和溶出。而微粉硅胶则不仅能增加颗粒的流动性,而且其表面的硅醇基吸附药物后,能显著提高难溶性药物的崩解和溶出速率^[2]。故本实验选用了微粉硅胶作为分散片的助流剂。

由于本品易引湿而潮解,因此考虑亲水性包衣液,进行薄膜包衣。采用白色欧巴代 YS-1-7000-E 和 YS-1-18202-A 两种型号,以一定比例进行薄膜包衣,试验表明,包衣后的崩解效果以包衣材料混合比例 1:1 为好,衣膜细腻,表面平滑,能在规定的时间内全部崩解。此外,为了进一步防潮降解,增加制剂的稳定性,最后的成型因素增加了适当的川蜡进行抛光,用量为 1% 重量比,抛光 30

min,即可。

经实验测得本品的解离常数 pKa 为 4.60,且本品难溶于水,为保证漏槽条件,故选用 pH4.6 磷酸盐缓冲液(含 0.5% 十二烷基硫酸钠)为溶出介质。

本品 3 批样品溶出度试验结果 3min 平均溶出量为标示量的 80% 以上,符合溶出限量的常规要求,说明本方法用于测定甲磺酸地拉韦啉分散片的溶出度切实可行。试验结果表明,甲磺酸地拉韦啉分散片崩解迅速,溶出度高,且制备工艺简单稳定,适合工业化大生产,具有良好的开发应用前景。

参考文献:

- [1] Clercq ED. Antiviral drugs: current state of the art[J]. Journal of Clinical Virology,2001,22:73.
- [2] 陈燕军,臧琛,赵小妹,等. 几种常用填充剂与崩解剂在中药分散片应用中的性能比较[J]. 中国中药杂志,2002,27(8):580.

收稿日期:2007-04-09