

空干燥后拌入 2 g 硅藻土,置研钵研匀,移至具塞锥形瓶中,精密加入 20 mL 甲醇,超声提取 1 h,滤过,续滤液作为供试品溶液。

5.2.2 层析条件的选择^[2]: 醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水 (5∶3∶1∶1)为展开剂,展距 5 cm,紫外灯下观察。在此薄层条件下,黄芩苷能与方中其他成分很好地分离。

5.2.3 扫描条件的选择: 吸取一定量对照品溶液,点样,层析,扫描,黄芩苷在 310 nm 处有最大吸收,在 210 nm 处吸光度值最小。故扫描条件为双波长锯齿型扫描, $\lambda_s=310\text{ nm}$, $\lambda_R=210\text{ nm}$, $S_x=3$,狭缝 1.2 mm×1.2 mm

5.2.4 标准曲线的制备: 精密称取黄芩苷对照品 1.1 mg,加甲醇溶解并定容至 2 mL,使对照品溶液

浓度为 0.55 mg/mL。吸取对照品溶液 1,2,4,6,8,10 μL ,点样,层析,扫描测定峰面积,计算回归方程为 $Y=101\,410.2X+2\,140.77$, $r=0.999\,6$,表明黄芩苷在 0.55~4.4 μg 线性关系良好。

6 试验结果

吸取一定量的黄芩苷对照品溶液和供试品溶液,点样,层析,扫描,计算即得 (表 3)。

根据表 3 可知,影响干膏得率因素主要为提取次数,其次是醇浓度和提取时间,影响黄芩苷的因素主要为提取次数,其次是提取时间和加醇量。试验号 A₁B₃C₃D₃ 得膏率最高,黄芩苷含量也最高,因此综合考虑,选择 A₁B₃C₃D₃ 为最合适的提取条件,即用含醇量为 50% 的乙醇提取 3 次,每次 60 min,每次加醇量为生药量的 10 倍。

表 3 正交试验表

试验号	A	B	C	D	干膏得率 (%)		黄芩苷含 量 (mg/g)	
1	1	1	1	1	14.47		22.195	
2	1	2	2	2	19.91		23.993	
3	1	3	3	3	21.34		32.917	
4	2	1	2	3	16.14		27.365	
5	2	2	3	1	18.99		29.067	
6	2	3	1	2	14.21		25.178	
7	3	1	3	2	16.75		24.928	
8	3	2	1	3	12.93		25.326	
9	3	3	2	1	15.92		26.108	
K ₁	55.72	47.36	41.61	49.38	79.105	74.488	72.699	77.370
K ₂	49.34	51.83	51.97	50.87	81.610	78.386	77.466	74.099
K ₃	45.60	51.47	57.08	50.41	76.362	84.203	86.912	85.608
R	3.37	1.49	5.16	0.50	1.749	3.239	4.738	3.836

验证试验: 按筛选得到的最佳工艺,分别试验 3 次,测定干膏得率和黄芩苷含量,结果干膏得率为 21.2%,黄芩苷含量为 32.271 mg/g

7 讨论

7.1 清肝颗粒原工艺为水提醇沉法,得膏率很低,TLC 鉴别不出柴胡皂苷及白术挥发油,为提高药

效,提高颗粒剂的质量,选择醇提水沉法。

7.2 利用方中白术、柴胡的 TLC 鉴别试验对清肝颗粒的质量鉴别起到辅助作用。

参考文献:

- [1] 周怀悟. 医药应用数理统计 [M]. 济南: 山东教育出版社, 1986.
[2] 中国药典 [S]. 2000 年版. 一部.

山慈菇中秋水仙碱醇提工艺的优选

田素英¹,陈周全^{2*}

(1. 新兴中药学校,广东 新兴 527400; 2. 三九医药股份有限公司研发部,广东 深圳 518026)

目前,全国各地使用的山慈菇商品较混乱,它们不仅在性状、组织结构、粉末特征上存在差异^[1],而

* 收稿日期: 2002-01-11
作者简介: 田素英,女,讲师,学士,1992年毕业于河南中医学院中药系,主要从事中草药和中成药的鉴定工作,在国家级刊物发表过数篇学术论文。 Tel: 0766-2951363

且所含有效成分也不同^[2~4]。本实验选用的百合科丽江山慈菇 *Iphigenia indica* kunth et Benth. 具有解毒散结、消肿止痛的功效。其所含秋水仙碱能抑制粒细胞浸润和乳酸的生成,有抗炎、止痛作用,对急性痛风性关节炎有特异的诊断治疗作用,是治疗痛风急性发作的有效成分。本实验结合药材中秋水仙碱的理化性质,以其为考察指标,以乙醇为溶剂,采用回流法来提取其中的秋水仙碱。

1 材料、仪器和试剂

丽江山慈菇药材(购自云南,经广东药学院王焕星副教授鉴定),秋水仙碱对照品(购自上海华美公司,面积归一化法测得含量为 98.34%)。高效液相色谱仪 HP1100(美国惠普公司),甲醇(HPLC级)。

2 实验与结果

2.1 秋水仙碱含量的测定^[4]

2.1.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil ODS柱(250 mm× 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 50% 甲醇-0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(1: 1, pH= 4.5); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 室温。

2.1.2 标准曲线的建立: 取秋水仙碱对照品,加甲醇溶液配制 0.25 mg/mL 的对照品贮备液,精密吸取该贮备液,依次配制浓度为 0.20, 0.15, 0.10, 0.05, 0.01, 0.005 mg/mL 的对照品溶液,分别吸取 10 μL,按上述色谱条件进行测定,以峰面积积分值为纵坐标,秋水仙碱对照品浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $Y = 3157.11X + 66.61$, $r = 0.9998$,线性范围: 0.005~ 0.20 mg/mL。

2.1.3 精密度试验: 精密吸取 0.20, 0.10, 0.005 mg/mL 的对照品溶液 10 μL 各进样 5 次,计算得峰面积的 RSD 依次为 1.28%, 0.84%, 2.71%, 证明精密度良好。

2.1.4 稳定性试验: 取 0.25, 0.10, 0.005 mg/mL 的对照品溶液,按上述方法在 24 h 内每隔 6 h 测定 1 次,计算峰面积的 RSD 依次为 0.83%, 0.57%, 1.25%。取以上对照品溶液在 1 周内每隔 1 d 测定 1 次,计算峰面积的 RSD 依次为 0.74%, 1.36%, 0.99%。

2.1.5 加样回收率试验: 含秋水仙碱量分别为 0.50, 0.43, 0.29, 0.21, 0.12 mg 的样品溶液中分别精密加入秋水仙碱 0.52, 0.41, 0.30, 0.20, 0.13 mg,按上述测定方法测定秋水仙碱含量,计算平均回收率为 101.3%, RSD 为 0.94% ($n = 5$)。

2.1.6 重现性试验: 取按试验方法配制的 5 份浓度相等的样品溶液各 10 μL 进行测定,测定峰面积,日

内日间测定的 RSD 分别为 0.53%、0.61%。结果证明重现性良好。

2.2 提取工艺的优选

2.2.1 药粉粒度的选择: 精确称取分别过 40 目、24 目筛的山慈菇药粉 100 g,根据文献^[4]每次用浓度为 75% 的乙醇 400 mL 回流提取 4 h,回流 4 次,合并提取液,适当处理后采用 HPLC 法测定提取液中秋水仙碱的含量,结果分别为 294.25 mg(40 目粉)、263.94 mg(40 目筛截留,过 24 目筛粉)、258.74 mg(24 目筛截留药粉)。结果表明,在一定的粒度范围内,山慈菇药粉的粒度越小,提取效果越好。

2.2.2 提取时间的选择: 精确称取过 40 目筛的山慈菇药材粉末 3 份各 100 g,分别以每次 2, 4, 6 h 的时间,用 75% 的乙醇 400 mL 回流提取 4 次,按上法处理,测得提取液中秋水仙碱的含量依次为 213.74, 298.36, 300.10 mg,综合多方面因素考虑,本试验认为选用 4 h 较适宜。

2.2.3 其他提取条件的优选: 在确定了药粉粒度(40 目)和提取时间(4 h)的基础上,本试验对影响醇提取的其他主要因素即醇浓度、醇用量、回流次数进行正交试验优选。每次试验所用药粉 30 g,先用乙醇浸泡 1 h 后再加热回流提取。见表 1~ 3。

表 1 因素水平表

水 平	因 素		
	A 醇浓度 (%)	B 用量 (倍)	C 提取次数
1	55	4	3
2	75	6	4
3	95	8	5

表 2 正交试验及试验结果

试验号	A	B	C	D (误差)	秋水仙碱量 (mg)
1	1	1	1	1	78.81
2	1	2	2	2	95.46
3	1	3	3	3	97.91
4	2	1	2	3	98.94
5	2	2	3	1	85.36
6	2	3	1	2	87.58
7	3	1	3	2	61.38
8	3	2	1	3	25.92
9	3	3	2	1	49.68
K_1	272.26	239.13	192.31	213.85	
K_2	271.88	206.74	244.08	244.42	
K_3	136.98	235.25	244.73	222.85	
R	135.28	32.39	52.42	31.57	

正交试验方差分析表明: 醇浓度(A)对秋水仙碱的提取有显著影响,而醇用量(B)、提取次数(C)对秋水仙碱的提取无显著影响。结合极差 R 的大小,各因素对秋水仙碱的提取影响大小顺序为 A>

C> B

表 3 方差分析表

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F值	P
A	4055.426	2	2027.713	20.88	<0.05
B	193.417	2	96.709	0.990	
C	588.020	2	294.010	3.020	
D(误差)	194.806	2	97.403		

$F_{0.05}(2, 2) = 19$ $F_{0.01}(2, 2) = 99$

从表中直观得出的结论是各因素最佳水平为 A₁B₁C₃,但综合试验过程中所出现的问题(5%的乙醇提取液色泽混暗,过滤困难,而 75%的乙醇色泽纯清,过滤容易)和节约资源考虑,以及结合 4号试验的结果分析,认为可选用 A₂B₁C₂,即醇浓度为 75%,醇用量为 4倍,回流次数 4次

2.2.4 工艺验证试验:称取 5份山慈菇药粉,每份 30 g,按正交试验选择的最佳工艺进行提取,将提取液适当处理后进行测定含量,计算秋水仙碱的量,秋

水仙碱的平均含量为 97.39 mg 结果说明,由正交试验筛选的回流工艺条件是可靠的。

3 讨论

3.1 由方法学考察结果可见,采用 HPLC 检测秋水仙碱,精密度高,重现性及线性关系好,故认为本法简便、灵敏、准确,可用于山慈菇中提取物的质控。

3.2 通过与其他提取方法比较,认为选用乙醇回流法提取丽江山慈菇中秋水仙碱较为合适,通过正交试验,对提取工艺进行了筛选。验证试验表明筛选的工艺稳定可靠。

参考文献:

[1] 王盛民,张英.实用中药材鉴别检索手册[M].北京:学苑出版社,1992.

[2] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1975.

[3] 崔树得.中药大全[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1989.

[4] 姜继祖,叶开润,廖周坤,等.超临界 CO₂流体萃取光菇中秋水仙碱的研究[J].中草药,1997,28(3):147-149.

海狗温肾丸质量标准的研究

索菲娅¹,陈世忠^{2*}

(1. 新疆大学 生物系,新疆 乌鲁木齐 830046 2. 北京大学药学院 中药研究室,北京 100083)

海狗温肾丸是由海马、狗肾、鹿茸、淫羊藿、人参、补骨脂、肉桂等 11味中药组成,主要用于身体虚弱、精神疲乏、腰腿酸软、肾亏精冷、性欲减退、失眠健忘等症。为了控制该制剂的质量,本实验采用显微鉴别法对海马、鹿茸、人参进行鉴别,利用薄层色谱法对人参、补骨脂、肉桂进行了鉴别,用 HPLC法测定了该制剂中淫羊藿苷的含量^[1-4]。

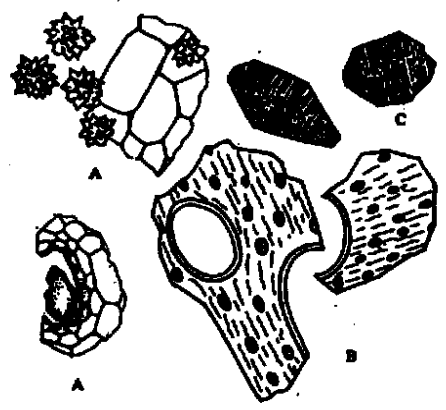
1 仪器与试剂

日本岛津 LC-3A型高效液相色谱仪,SPD-2A型紫外可见波长检测器,精瑞 GS2010型色谱工作站。淫羊藿苷(含量测定用,批号:0737-9910),肉桂醛(供鉴别用,批号:0786-9001)购于中国药品生物制品检定所;补骨脂 *Psoralea corylifolia* L对照药材、人参 *Panax ginseng* C. A. Mey.对照药材均购于北京同仁堂药店。硅胶 G(青岛海洋化工厂);水为重蒸水;其他试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 显微鉴别:取本品置显微镜下观察。草酸钙簇晶直径 20~68μm,棱角锐尖;树脂道碎片内含黄色

分泌物;网纹及梯纹导管直径 8~48μm;其中以草酸钙结晶的特征明显(人参)。未骨化的骨组织淡灰色或近无色,边缘及表面均不整齐,具不规则的块状突起物,其间隐约可见条状纹理(鹿茸)。横纹肌纤维近无色或淡黄色,有细密横纹,横纹平直或微波纹(海马)。见图 1。



A-人参 B鹿茸 C海马

图 1 海狗温肾丸的显微鉴别

* 收稿日期: 2001-12-27