

方程即为 Higuchi 方程, 所得斜率 K 即为透皮速率常数 J [$Lg/(cm^2 \cdot h)$]。

2.3 黄芩苷渗透 5 种皮肤的吸收行为: 按透皮吸收试验方法, 以乙醇-生理盐水溶液(50:50)为接收液, 分别对黄芩苷贴片透过小鼠皮肤、裸鼠皮肤、家兔皮肤、大鼠皮肤及人体皮肤进行研究。每 2 h 取样 1 次, 连续取样 12 h, 按前法处理, 计算透皮速率常数, 见表 1。

表 1 黄芩苷渗透不同动物皮肤的 Higuchi 方程 (n=5)

Table 1 Higuchi equations of baicalin of transdermal absorption per various skins (n=5)

皮肤种类	Higuchi 方程	$J/(Lg \cdot cm^2 \cdot h^{-1})$	r
小鼠	$Q = 67.31 t^{1/2} + 28.65$	67.31 ± 23.66	0.910
裸鼠	$Q = 78.30 t^{1/2} + 21.07$	78.35 ± 3.29	0.990
家兔	$Q = 117.36 t^{1/2} - 39.40$	117.35 ± 29.48	0.915
大鼠	$Q = 86.25 t^{1/2} + 27.22$	86.25 ± 7.55	0.930
人体	$Q = 84.43 t^{1/2} + 18.70$	84.43 ± 11.27	0.921

可见, 黄芩苷贴片中黄芩苷透过裸鼠和大鼠皮肤的透皮速率常数与透过人体皮肤的透皮速率常数较为接近。从实验的重复性来看, 以裸鼠为最好。

3 讨论

在经皮给药制剂研究中, 由于人体皮肤较难获得, 故选取理想的实验动物皮肤代替人体皮肤进行实验具有重要意义。本研究结果表明, 以 pH 6.8 磷酸缓冲液为接收液, 黄芩苷透过小鼠皮肤、裸鼠皮肤、家兔皮肤、大鼠皮肤、人体皮肤透皮速率常数为家兔 > 大鼠 > 人 > 裸鼠 > 小鼠, 其中透过裸鼠和大鼠的透皮速率常数与透过人体皮肤的透皮速率常数较为接近, 从实验的重复性来看, 以裸鼠为好。结果提示对于黄芩苷的透皮吸收研究, 以裸鼠皮肤为实验屏障较为理想, 为黄芩苷经皮给药制剂的深入研究提供依据。

References:

- [1] Cui G, Yuan J, Wang P Q. Progress of pharmacological study of baicalin [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2000, 20(11): 685.
- [2] Liu Q, Zhou L L, Li R. Study on selection of transdermal enhancer for sinomenine-TDD with spherical symmetric design [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1999, 24(8): 467

D₁₀₁ 大孔吸附树脂纯化苦玄参总皂苷的研究

王力生^{1,2}, 邹节明^{1,2}, 郭亚健^{1X}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004)

摘要:目的 研究 D₁₀₁ 大孔吸附树脂纯化苦玄参总皂苷的工艺条件, 建立苦玄参总皂苷的分析方法。方法 以 TLC 为检测手段, 考察 D₁₀₁ 大孔吸附树脂对苦玄参总皂苷的吸附和洗脱条件, 并采用分光光度法测定提取物中苦玄参皂苷的含量。结果 D₁₀₁ 大孔吸附树脂可以将苦玄参总皂苷含量由浸膏中的 8.7% 提高至 27.3%, 增加 20% 乙醇洗脱操作可进一步提高至 52.1%; 苦玄参总皂苷的最大吸收波长为 261 nm, 与苦玄参苷 E A 一致。苦玄参苷 E A 在 4.56~91.2 Lg/mL 与吸光度呈良好的线性关系, 平均回收率为 96.3%。结论 D₁₀₁ 大孔吸附树脂能有效富集并纯化苦玄参总皂苷; 分光光度法测定苦玄参总皂苷含量具有快捷、准确的特点。

关键词: 苦玄参; 苦玄参苷 E A; 总皂苷; D₁₀₁ 大孔吸附树脂; 分光光度法

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)05-0515-03

Study on purification of total saponins in *Picria fel-terrae* with D₁₀₁ macroporous resin

WANG Li-sheng^{1,2}, ZOU Jie-ming^{1,2}, GUO Ya-jian¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 2. Guilin Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541004, China)

Key words: *Picria fel-terrae* Lour.; picfeltarraenin E A; total saponins; D₁₀₁ macroporous resin; spectrophotometry

大孔吸附树脂技术应用于药物的纯化开始于 20 世纪 70 年代。目前已较多地应用于天然成分的

分离和纯化。D₁₀₁ 大孔吸附树脂是一种聚苯乙烯型非极性树脂, 在皂苷的纯化方面已有较多的报道。苦

X 收稿日期: 2003-09-06

作者简介: 王力生(1968—), 男, 高级工程师, 主要从事中药新药开发和中药生产技术应用研究。

Tel: (0773) 5849548 E-mail: Wlsheng2840@sina.com

皂苷最先从苦玄参具有抑菌和抗癌活性的部分中分离得到^[1]。药理实验表明,苦玄参皂苷 A 具有中枢抑制作用^[2],部分苦玄参皂苷还具有较强的抗补体作用,该作用可能与苦玄参具有抗炎作用的临床表现相关^[3]。本实验对 D₁₀₁大孔吸附树脂吸附和解吸苦玄参总皂苷进行研究,并建立了苦玄参总皂苷的分析方法,为苦玄参的开发应用奠定了一定的基础。

1 仪器与材料

UV—2401PC 型紫外-可见分光光度仪(日本岛津)。

D₁₀₁大孔吸附树脂(天津农药股份有限公司树脂分公司);苦玄参皂苷 A 对照品(桂林三金药业股份有限公司提供,纯度为 98.46%)。所用试剂均为分析纯。

苦玄参经桂林三金药业股份有限公司郑耀年高级工程师鉴定,为玄参科植物苦玄参 *Picria fel-terrae* Lour. 的干燥全草。

2 方法与结果

2.1 苦玄参药液的制备:取苦玄参药材,破碎,称取 33 kg,加水煎煮 2 次,每次 1 h,第一次加水 10 倍量,第二次加水 8 倍量。合并煎煮液,高速离心,离心液冷却至室温,备用(药液含生药 0.082 g/mL)。

2.2 吸附容量的测定:取大孔树脂 4 份,每份 60 mL,各加乙醇 100 mL,浸泡 24 h,分别装入同样规格的玻璃柱(40 cm×2 cm),再用乙醇洗脱至流出液与水混合后不呈混浊,继续用蒸馏水洗至流出液中的乙醇浓度低于 10%,备用。洗脱流速为 5 mL/min(下同)。

取 386, 488, 610, 732 mL 苦玄参药液,分别过上述大孔树脂柱,再用水 200 mL 洗脱,收集流出液,蒸干,加甲醇溶解,滤过。滤液置 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度。各吸取滤液 4 mL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(4:1:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 80℃ 加热至斑点显色清晰。结果表明:药液与树脂的体积比为 6.4 和 8.1 时,未见明显的紫红色斑点;为 10.2 时,隐约出现紫红色斑点;为 12.2 时,斑点明显。因此,本实验采用药液与树脂的体积比为 8.1。

2.3 洗脱条件的研究:依次用 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 乙醇各 100 mL,洗脱药液与树脂的体积比为 8.1 的树脂柱,分别收集各洗脱液,TLC 法检识,乙醇浓度达到 30% 时,苦玄参总皂苷开始被洗脱,60% 乙醇洗脱液的斑点最

大,90% 乙醇洗脱液中未见明显苦玄参皂苷斑点。

另取苦玄参药液 2 份,每份 488 mL,分别过 60 mL 大孔树脂柱,先以水 200 mL 洗脱,再分别用 0.5% NaOH 溶液和 0.5% NaOH-20% 乙醇溶液各 200 mL 洗脱,洗脱液用稀盐酸中和,TLC 检识,均未发现明显的苦玄参皂苷斑点。继续用水将树脂柱洗至中性,分别用 70% 乙醇和 80% 乙醇洗脱,各收集 8 份,每份 100 mL,TLC 法检识,结果用 70% 乙醇洗脱 8 BV 能将苦玄参总皂苷完全洗脱,而用 80% 乙醇只需 4 BV。因此,选用 80% 乙醇为洗脱溶剂,用量为 4 BV。

2.4 苦玄参总皂苷供试品的制备:取苦玄参药液 2 份,每份 122 L,分别过 15 L 的大孔树脂柱,一份依次用 4 BV 水、4 BV 80% 乙醇洗脱,另一份依次以 4 BV 水、4 BV 20% 乙醇、4 BV 80% 乙醇洗脱,分别收集 80% 乙醇洗脱液,回收乙醇,喷雾干燥,得苦玄参总皂苷粗品 ε、ê。

剩余苦玄参药液 128 L,浓缩成浸膏,喷雾干燥,作为苦玄参水煎干浸膏。

2.5 分光光度法测定苦玄参总皂苷

2.5.1 预处理方法和最大吸收波长的选择:取苦玄参水煎干浸膏 4 份,每份 0.200 g,编号为 A~D。A 份加甲醇溶解,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇溶解,定量转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度。B、C、D 以 20% 乙醇 10 mL 溶解,分别过 D₁₀₁大孔吸附树脂,B 份依次以 100 mL 20% 乙醇、100 mL 80% 乙醇洗脱,C 份依次以 100 mL 0.5% NaOH 溶液、水洗至中性、100 mL 80% 乙醇洗脱,D 份依次以 100 mL 0.5% NaOH-20% 乙醇溶液、水洗至中性、100 mL 80% 乙醇洗脱。3 份样品均收集 80% 乙醇洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解,分别定量转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,作为供试品溶液。

将上述 4 份供试品溶液与苦玄参皂苷 A 对照品溶液于分光光度仪上 190~500 nm 进行扫描,结果,供试品 A 和 B 的曲线相似,在 200~400 nm 波长,A 的吸光度明显大于 B;C 的曲线稍高于 D,二者的最大吸收波长与苦玄参皂苷对照品 A 的最大吸收波长一致,均为 261 nm。因此,选用 261 nm 作为测定波长。为减少浪费,样品的预处理方法采用供试品溶液 C 的处理方法。

2.5.2 线性关系的考察:称取苦玄参皂苷 A 对照品 22.8 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,作为对照品溶液。精密量取 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.75, 1.0 mL 分别置 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度。以甲

醇为空白,在 261 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为: $Y = 0.0131X + 0.0151$, $r = 0.9995$, 线性范围: 4.56~91.2 Lg/mL。

2.5.3 精密性试验:精密量取苦玄参苷 A 对照品溶液 0.2 mL,加甲醇至 5 mL,进样 5 次,测定吸光度,计算得 RSD 为 2.4%。

2.5.4 稳定性试验:取苦玄参苷 A 对照品溶液和供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 测定吸光度。结果表明,吸光度值的 RSD 分别为 1.6% 和 1.8%。

2.5.5 回收率试验:取苦玄参药液 5 份,每份 1.2 mL,除第 1 份外,分别加入苦玄参苷 A 对照品溶液 4 mL,依含量测定方法预处理操作制成供试品溶液,测定吸光度,对照工作曲线求出苦玄参总皂苷含量。结果平均加样回收率为 96.3%,RSD 为 2.3%。

2.6 苦玄参总皂苷的测定:取苦玄参总皂苷粗品 E₁, E₂ 和水煎干浸膏各 0.100 g,加 20% 乙醇溶解,分别过大孔树脂柱,依次以 0.5% NaOH 溶液、水、80% 乙醇各 200 mL 洗脱,收集 80% 乙醇洗脱液,水浴蒸干,加甲醇溶解,滤过,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,于 261 nm 处测定吸光度,对照工作曲线计算苦玄参总皂苷的含量,结果见表 1。

由表 1 可见,经过大孔树脂纯化处理,苦玄参干浸膏中苦玄参总皂苷含量由 8.7% 提高到 27.3%。干浸膏得率由 18.50% 下降至 5.65%,说明大孔树脂对苦玄参总皂苷纯化效果较好。如果在 80% 乙醇洗脱前,增加 20% 乙醇洗脱操作以除去部分非皂苷部分,苦玄参总皂苷含量可进一步提高到 52.1%,从而为新药开发提供更多的选择。

表 1 苦玄参总皂苷的分析结果 (n= 3)

Table 1 Analysis result of total saponin of *P. fel-terrae* (n= 3)

样品	质量/g	得率/%	苦玄参总皂苷/%	RSD/%
水煎干浸膏	1 940	18.50	8.7	2.5
粗品 E ₁	565	5.65	27.3	3.2
粗品 E ₂	276	2.76	52.1	2.3

3 讨论

测定树脂的吸附容量和研究洗脱条件时,一般测定指标成分的变化^[4]。但本实验以苦玄参总皂苷为指标,如果将各样品直接采用分光光度法测定,干扰较大;若精制后测定,又比较繁琐,所以选用简单直观的 TLC 法。

采用较常用的高氯酸-香草醛-冰醋酸法^[5]测定苦玄参总皂苷含量,虽然该显色方法的吸光度值比直接测定法高 1.5 倍左右,但最大吸收波长偏差较大(553±5 nm)、供试品稳定性差(放置 1 h 后吸光度下降了 12%)。故本实验直接测定。

References:

[1] Cheng G R, Jin J L, Wen Y X, et al. Study on the chemical constituents of *Picria fel-tarrae* E₁ [J]. Acta Chem Sin (化学学报), 1982, 40(8): 737-746.

[2] Zhang Y D, Liu X H, Shen J P. Centrum-inhibiting effect of picfeltarraenin [J]. J Nanjing Med Coll (南京医学院学报), 1990, 10(1): 17-19.

[3] Huang Y, Tess D B, Sandra A, et al. Complement-inhibiting cucurbitacin glycosides from *Picria fel-tarrae* [J]. J Nat Prod, 1998, 61: 757-761.

[4] Zou J M, Lu H, He B, et al. Study on extracting purified active components of *Picria fel-terrae*, *Scutellaria baicalensis*, and *Phellodendron chinense* with macroporous resins [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2003, 34(3): 222-226.

[5] Du J, Ding X, Jia X S. Applied study on the extract of honey-suckle saponin with macroporous resin [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2001, 26(10): 685-687.

灯盏花素骨架缓释微丸释药机制的研究

张彦青¹, 解军波¹, 陈大为^{2X}

(1. 天津商学院 制药工程系, 天津 300134; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

灯盏花素是从灯盏花中提取的黄酮类有效部位, 主要为灯盏花乙素和灯盏花甲素的混合物, 其中灯盏花乙素含量占 95% 以上。灯盏花素在治疗心脑血管疾病方面具有独特的疗效。目前在临床上应用的只有灯盏花素的片剂和注射液, 存在诸多不便: 片剂服用次数多, 生物利用度低; 注射剂使用又受到一

定限制, 不适于长期给药。本实验对挤出滚圆法制备的骨架缓释微丸的药物释放动力学过程进行常用模型拟合, 并观察溶出前后微丸微观结构的改变, 以探讨其释药机制。

1 药品与仪器

灯盏花素缓释微丸^[1](自制); 乙基纤维素