

2.8 粒径的测定:用激光散射粒度测定仪测定猪苓多糖长循环脂质体的平均粒径为 (100 ± 40) nm。

2.9 稳定性试验:4批猪苓多糖长循环脂质体在 (6 ± 2) °C存放6个月,于0、1、3、6个月末考察外观、含量和包封率。结果外观没有发生明显改变,0、1、3、6个月的猪苓多糖质量分数分别为0.78、0.77、0.75、0.73 mg/mL,包封率分别为55.3%、56.8%、54.6%、55.1%。

3 讨论

根据文献报道^[10],猪苓多糖含量测定方法一般为分光光度法,本法建立的紫外-Sephadex 测定脂质体中猪苓多糖的含量条件简单,结果可靠。

本实验在对 Sephadex G-50 柱分离猪苓多糖长循环脂质体最佳柱色谱分离条件进行探讨中发现,乳白色脂质体完全流出后,开始的2 mL 流出液无吸光度,说明脂质体与游离多糖完全分离。在过 Sephadex 柱时,洗脱速度及上样量均对分离效果产生影响。上样量大,脂质体有拖尾现象,选取1.0 mL 可避免拖尾。洗脱速度太快,凝胶微孔内外猪苓多糖来不及平衡,提前出峰,造成分离不好,故控制流速不大于1 mL/min。

Sephadex G-50 紫外法测定猪苓多糖长循环脂质体包封率准确性高、重现性好。药物脂质体的包封率测定方法很多,有超滤膜法、超速离心法、分子筛法等。本实验根据猪苓多糖长循环脂质体直径大小及猪苓多糖的吸收特征图谱,设计了紫外-Sephadex

法测定猪苓多糖长循环脂质体包封率及含量。另外,在测定脂质体中猪苓多糖含量时,用空白脂质体作空白可以消除脂质体膜材成分对测定的干扰。

References:

- [1] Xu H W, Li B, Tian J X, *et al.* Study on cytotoxicity of PUPS and IL-2 activated PBMC on tumor cells [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 1998, 14(2): 109-111.
- [2] Tardi P G, Boman N L, Cullis P R. Liposomal doxorubicin [J]. *J Drug Target*, 1996, 4(3): 129-131.
- [3] Zhang J M, Yang H, Hou X P. Study on liposomes with prolonged circulation times [J]. *Chin Biochem J* (生物化学杂志), 1995, 11(5): 615-618.
- [4] Ren T C, Zhao X Y, Kang Y L. Study on compound polysaccharides injection [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(6): 258-259.
- [5] Shu D L, Shi H B, Pei F C, *et al.* Evaluation of the extraction technique of PUPS with orthogonal design [J]. *Primary Chin Mater Med J* (基层中药杂志), 2002, 16(1): 27-29.
- [6] Zhang J D, Yi D D, Luo G Q. Extraction of *Angelica sinensis* polysaccharides and preparation of granule [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 1998, 18(5): 220-221.
- [7] Duan Y S, Yu B T, Zhang Z R. Preparation and pharmacokinetics of long circulating mitoxantrone liposomes [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(6): 465-468.
- [8] Anderson P M, Katsanis E, Leonard A S, *et al.* Increased local antitumor effects of interleukin-2 liposomes in mice with MCA-106 sarcoma pulmonary metastases [J]. *Cancer Res*, 1990, 50(6): 1853-1856.
- [9] Chang G M, Duan F L, Yang S Y, *et al.* Studies on preparation and characteristics of liposomal adriamycin [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 1999, 19(6): 328-331.
- [10] Hayakawa E, Nakakura M, Kato Y, *et al.* Encapsulation of doxorubicin into liposome by a freeze-thawing method using buffer solution [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(3): 773-776.

正交优选法筛选荆芥炭炮制的最佳工艺

张 丽,包贝华,孙 磊,丁安伟

(南京中医药大学药学院,江苏 南京 210029)

摘 要:目的 筛选荆芥炭炮制的最佳工艺。方法 采用分光光度法,测定不同工艺炮制的荆芥炭中总黄酮的含量。结果 荆芥炭炮制的最佳条件是210 °C、加热10 min。结论 重复试验表明,所选的最佳炮制工艺较为合理。

关键词:荆芥炭;炮制;总黄酮

中图分类号:R283.1; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)03-0370-03

Optimum processing technique of *Herba Schizonepetae Carbonisatus* by orthogonal design

ZHANG Li, BAO Bei-hua, SUN Lei, Ding An-wei

(College of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Key words: *Herba Schizonepetae Carbonisatus* (HSC); processing; total flavonoids

收稿日期:2004-07-16

基金项目:国家“十五”攻关项目(2001BA701A11)

作者简介:张 丽(1971—),女,南京中医药大学药学院药物分析教研室副主任,现攻读南京中医药大学中药炮制学博士。

Tel: (025) 51998192

荆芥为唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenuifolia* Briq. 的干燥地上部分,味辛微苦、性微温,归肺、肝经。该药是传统的辛温解表药,为历版《中华人民共和国药典》所收载。具有祛风解表、宣毒透疹之功效^[1]。荆芥炒炭后辛散作用极弱,具有止血功效,用于便血等出血症和产后血晕。但目前荆芥炭炮制工艺各地各法,评价指标亦为外观特征描述等主观指标,故急需建立统一、规范的荆芥炭炮制工艺及客观、量化的评价指标。以往通过药效学实验筛选,发现荆芥炭的总黄酮部位是其止血作用的有效活性部位。故本实验以总黄酮为指标,采用分光光度法,结合正交设计对荆芥炭饮片的炮制工艺进行了研究,以期筛选出荆芥炭饮片炮制的最佳条件。

1 仪器与材料

TM902C 数字式温度计(深圳市海地实业有限公司),PT—02 热电偶(南京市热工仪表厂),FA—1004 电子分析天平(上海天平仪器厂),UV—2401 紫外可见分光光度计(日本岛津),752 分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

荆芥药材购自河北省,经我校中药鉴定教研室吴启南教授鉴定为唇形科植物荆芥 *S. tenuifolia* Briq. 的干燥地上部分;芦丁对照品购自中国药品生物制品检定所,批号:0080-9705;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试验设计:荆芥炒炭工艺中的影响因素有锅的品质,如铁锅、铜锅还有铝锅^[2],炒制温度与炒制时间等。在实验设计时考虑到荆芥炒炭传统工艺中常用铁锅,且铁元素对人体影响较小,又适合工厂生产,且成本较低,故确定锅的品质为铁锅;因此选择炒制温度与炒制时间为考察因素,各因素相应安排了 3 个水平,选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,因素水平的安排见表 1。

表 1 因素及水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素	
	A 炒制温度/℃	B 炒制时间/min
1	180	10
2	210	20
3	240	30

2.2 炒制荆芥炭的性状:药材投料量为 120 g,铁锅炒制,以数字式温度计测量温度,调整液化气火力大小控制温度,按照正交试验安排进行,共炒制得 9 份荆芥炭样品,各样品性状见表 2。

2.3 总黄酮的测定

表 2 样品性状

Table 2 Characters of samples

样品	性状
1	长约 0.5 cm,不规则小段,外部浅黄色,内部浅黄色
2	长约 0.5 cm,不规则小段,外部焦黄色,内部浅黄色
3	长约 0.5 cm,不规则小段,外部焦褐色,内部深黄色
4	长约 0.5 cm,不规则小段,外部焦褐色,内部深黄色
5	长约 0.5 cm,不规则小段,外部焦黑色,内部焦黄色
6	长约 0.5 cm,不规则小段,外部黑褐色,内部黑褐色
7	长约 0.5 cm,不规则小段,外部黑褐色,内部淡黄色
8	长约 0.5 cm,不规则小段,外部黑褐色,内部黑褐色
9	长约 0.5 cm,不规则小段,外部黑褐色,内部黑褐色

2.3.1 对照品溶液的制备:取 120 ℃减压干燥至恒重的芦丁对照品 20 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得含芦丁 0.206 4 mg/mL^[3]。

2.3.2 供试品溶液的制备:取样品粉末(过 20 目筛)约 2 g,精密称定,置索氏提取器中,加石油醚适量,加热回流至提取液无色,放冷,弃去石油醚液。再加甲醇适量,加热回流至提取液无色,移置 50 mL 量瓶中,用少量甲醇洗涤容器,洗液并入量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.3.3 标准曲线的绘制:精密量取芦丁对照品 0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,加水至 10 mL,加 50%亚硝酸钠溶液 1 mL,使混匀,放置 6 min(不断振摇),加 10%硝酸铝溶液 1 mL,使混匀,放置 6 min(不断振摇),加 1 mol/L 氢氧化钠试液 10 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min,照分光光度法,在 500 nm 波长处测定吸光度(A)值。以 A 为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得标准曲线: $C = -0.0184 + 11.7A$, $r = 0.9994$,线性范围为 0.016 51~0.082 56 mg/mL。

2.3.4 测定法:精密量取供试品溶液 1 mL 置 25 mL 量瓶中,照标准曲线的绘制项下的方法,自“加水至 10 mL”起依法测定 A 值,从标准曲线上读出供试品溶液中总黄酮的量,计算,即得。

2.4 数据处理与分析:有关试验数据及其计算分析结果见表 3、4。

可见空白列 C、D 项 R 值小,合并为误差项,计算可知因素 A 和 B 对试验结果有显著的影响。对于 A, $k_2 > k_1 > k_3$,故因素 A 选择水平 2,即选择加热温度为 210 ℃;对于 B, $k_1 > k_2 > k_3$,故因素 B 选择水平 1,即选择炒制时间为 10 min。

3 讨论

3.1 目前荆芥炭的炮制,并无统一、规范的工艺要求,其火候掌握完全依药工技术而定,质量评价亦多

表 3 荆芥炭炮制正交试验设计结果

Table 3 Results of orthogonal test on HSC processsing

实验号	A	B	C	D	总黄酮/(mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	19.09
2	1	2	2	2	18.67
3	1	3	3	3	17.31
4	2	1	2	3	20.06
5	2	2	3	1	19.32
6	2	3	1	2	18.26
7	3	1	3	2	18.69
8	3	2	1	3	17.13
9	3	3	2	1	15.31
k ₁	55.07	57.84	54.48	53.72	
k ₂	57.64	55.12	54.04	55.62	
k ₃	51.13	50.88	55.32	54.5	
R	6.51	4.24	1.28	1.90	

表 4 结果的方差分析

Table 4 Result of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	7.167 622	2	3.583 811	16.106 21	P<0.05
B	8.201 956	2	4.100 978	18.430 44	P<0.01
误差	0.890 044	4	0.222 511		

$F_{0.05}(2,4)=6.94$ $F_{0.01}(2,4)=18.00$

是外观描述等指标。故导致目前炮制工艺各地各法及质量标准差异较大的现状。因此急需通过实验,逐步统一规范。本实验通过药理筛选及含量测定相结合的方法提出了荆芥炭炮制的最佳工艺,所提供的实验方法可靠,测定结果能反映客观实际,是对实现荆芥炭炮制条件统一和规范的可贵探索,也为荆芥炭饮片的质量控制做了初步探索。

3.2 荆芥炭中总黄酮的提取方式有:冷浸、超声提取、索氏提取等,通过实验比较索氏提取法提取最完全。

3.3 重复最佳工艺,得到样品中总黄酮平均质量分数为 20.20 mg/g ($n=3$),可知最佳工艺选择合理。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
[2] Yang Z L, Gao R Z, Li X S. Optimum condition of preparing *Herba Schizonepetae Charcoal* with orthogonal design [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1994, 17(9): 26-27.
[3] Shan M Q, Zhang L, Zhou C Y, et al. Quantitative analysis of flavonoid in different sections of *Schizonepeta tenuifolia* Briq. and from different areas [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2002, 13(3): 138-139.

高效液相色谱法-蒸发光散射检测器和二极管阵列检测器测定红车轴草提取物中鹰嘴豆芽素 A 和芒柄花素的含量

马 强¹, 周玉新², 雷海民³, 王长海¹

(1. 大连理工大学环境与生命学院 生物科学与工程系, 辽宁 大连 116024; 2. 北京美德森医药技术开发有限公司, 北京 100029; 3. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘 要:目的 建立以蒸发光散射检测器(ELSD)和二极管阵列检测器(DAD)测定红车轴草提取物中鹰嘴豆芽素 A 和芒柄花素的高效液相色谱分析方法。方法 色谱柱:Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水梯度洗脱;检测波长:254 nm;柱温:25 ℃;体积流量:1.0 mL/min;检测器:Agilent 1100 二极管阵列检测器, SEDEX 55 型蒸发光散射检测器。结果 鹰嘴豆芽素 A 和芒柄花素分别在 1.275~3.315 μg 和 0.965~2.509 μg 与峰面积线性关系良好。鹰嘴豆芽素 A 和芒柄花素在以 ELSD 检测时的加样回收率分别为 99.54%、100.84%, RSD 分别为 2.03%、2.15%, 在以 DAD 检测时的加样回收率分别为 101.26%、101.59%, RSD 分别为 1.84%、1.91%。结论 本方法准确、快速、重现性好
关键词:红车轴草;鹰嘴豆芽素 A;芒柄花素;高效液相色谱;蒸发光散射检测器;二极管阵列检测器
中图分类号:R286.02 文献标识码:B 文章编号:0253-2670(2005)03-0372-04

Determination of biochanin A and formononetin in *Trifolium pratense* extract by HPLC-ELSD and DAD

MA Qiang¹, ZHOU Yu-xin², LEI Hai-min³, WANG Chang-hai¹

(1. Department of Bioscience and Bioengineering, School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China; 2. Beijing MedSun Pharmaceutical Technology Development Co., Ltd., Beijing 100029, China; 3. College of Chinese Materia Medica, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)