

表2 正交试验设计及结果

Table 2 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	黄芩苷/(mg·g ⁻¹)
1	1	1	1	1	3.1
2	1	2	2	2	4.5
3	1	3	3	3	5.4
4	2	1	2	3	4.8
5	2	2	3	1	6.7
6	2	3	1	2	5.5
7	3	1	3	2	6.7
8	3	2	1	3	6.9
9	3	3	2	1	7.1
K ₁	13.0	14.6	15.5	16.9	G=50.7
K ₂	17.0	18.1	16.4	16.7	CT=G ² /9=285.61
K ₃	20.7	18.0	18.8	17.1	
R	7.7	3.5	3.3	0.4	

因素对其黄芩苷得率有影响,结合R值分析,故定为B₂。因素C方差分析结果显示,因素C对黄芩苷得率有一定的影响,结合R值分析,故选定为C₃。综上确定最佳工艺为A₃B₂C₃,即10倍量水,煎煮提取3次,每次1.5h。

表3 方差分析表

Table 3 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	显著性
A	9.9	2	4.95	330.00	P<0.01
B	2.6	2	1.30	86.67	P<0.05
C	1.9	2	0.95	63.33	
D(误差)	0.03	2	0.015		

$$F_{0.05}(2,2)=19.00 \quad F_{0.01}(2,2)=99.00$$

3 讨论

因肝福片所含中药材较多,提取得到的浸膏量多,所以工艺中采用先用水提取后再处理方法减低浸膏量,有利于制成片剂。本实验采用正交设计方法筛选肝福片的较佳水提取工艺,以HPLC法测定黄芩苷确定肝福片的制备工艺,最佳工艺为A₃B₂C₃。即10倍量水,煎煮提取3次,每次1.5h。

Reference:

- [1] Wu W X, Lu Y H, Wang L J, et al. Comparison of baicalin content of Sanhuang Tablets [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 2001, 15(3): 215-216.

骨炎1号提取工艺的正交优选

杨帆^{1,2}, 李靖¹, 严寒静^{1,2}, 宋凤兰², 陈湛², 罗惠灿²

(1. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275; 2. 广东药学院, 广东 广州 510224)

骨炎1号由淫羊藿、补骨脂、当归3味中药组成,具有补益肝肾、强壮筋骨、活血化瘀、通络止痛的作用,用于治疗骨关节炎。其中淫羊藿为君药,补骨脂和当归为臣药。为了探索骨炎1号最佳提取工艺条件,提高有效成分收率,本实验采用乙醇回流法提取,通过正交设计试验考察乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间和提取次数对其有效成分提取的影响,拟筛选出最佳提取工艺条件,达到利于提高骨炎1号制剂疗效的目的。

1 仪器与试药

LC-10AT型高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10AT型紫外-可见检测器(日本岛津),大连依利特色谱工作站(大连物理化学研究所);淫羊藿苷(批号10737-200312)、补骨脂素(批号110739-200310)、异补骨脂素(批号0738-200108)对照品购于中国药品生物制品检定所;淫羊藿、补骨脂、当归

药材购于广州市药材公司,经广东药学院中药系药用植物教研室鉴定;甲醇、乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平的选择:影响乙醇回流法提取骨炎1号有效成分的主要因素有乙醇用量(A)、提取次数(B)、提取时间(C)、乙醇体积分数(D),因素水平见表1。

表1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A/倍	B/次	C/min	D/%
1	8	1	30	60
2	10	2	45	70
3	12	3	60	80

2.2 供试品溶液制备:称取淫羊藿粗粉20g、补骨脂和当归粗粉各10g,置圆底烧瓶中,按试验设计进

收稿日期:2004-08-07

基金项目:广东省中医药局基金资助项目(102082)

作者简介:杨帆(1966—),女,广州人,中山大学在读博士,副教授,从事药物制剂与药物分析工作。

Tel: (020) 39352125 E-mail: gzyangfan@hotmail.com

行乙醇回流提取,提取液冰箱放置过夜。滤过,取适量滤液挥去乙醇,剩余水溶液用醋酸乙酯萃取,然后蒸干醋酸乙酯,残渣用甲醇定容至 10 mL,摇匀,即得。

2.3 对照品溶液的制备:精密称取淫羊藿苷对照品 11.35 mg、补骨脂素 7.35 mg、异补骨脂素 6.65 mg 置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,作为对照品贮备液。

2.4 淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素的测定^[1,2]

2.4.1 色谱条件:色谱柱为 Diamond C₁₈ 柱(250 mm×6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-乙腈-1%醋酸(15:25:60),体积流量为 1.0 mL/min,检测波长为 290 nm,柱温为室温。色谱图见图 1。

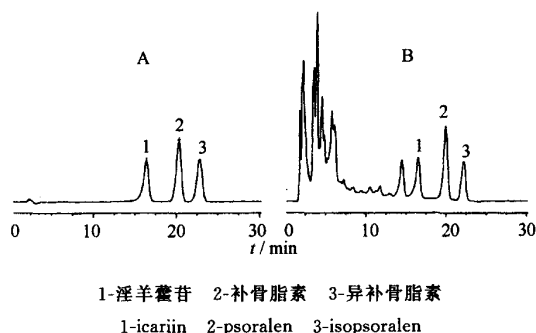


图 1 混合对照品溶液(A)和样品(B)的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and samples (B)

2.4.2 标准曲线的制备:分别吸取一定量的淫羊藿苷、补骨脂素和异补骨脂素对照品贮备液,加甲醇稀释,得淫羊藿苷质量浓度为 18.16、45.4、72.64、99.88、127.12 μg/mL 的溶液;补骨脂素质量浓度为 11.76、29.4、47.04、64.68、82.32 μg/mL 的溶液;异补骨脂素质量浓度为 10.64、29.26、47.88、66.5、85.12 μg/mL 的溶液。依次进样 20 μL,每个质量浓度测定 2 次。采用外标法定量,以峰面积(A)对质量(C)进行线性回归,结果淫羊藿苷、补骨脂素、异补骨脂素的回归方程分别是: $A=21.338 C-1.133 8$, $r=0.999 7$; $A=42.626 C-0.150 2$, $r=1.000 0$; $A=31.974 C-0.259 7$, $r=0.999 9$ 。表明淫羊藿苷在 18.16~127.12 μg/mL,补骨脂素在 11.76~82.32 μg/mL,异补骨脂素在 10.64~85.12 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.4.3 测定:分别取上述对照品溶液(淫羊藿苷质量浓度为 454 μg/mL,补骨脂素质量浓度为 294 μg/mL,异补骨脂素质量浓度为 266 μg/mL)和供试品溶液 20 μL 注入色谱仪。

2.5 结果与方差分析:综合评分为 3 种主要有效成

分的和,各成分的权重系数均为 1。结果见表 2、3。由方差分析结果可知:回流次数对有效成分的提取结果有极显著影响($P<0.01$),回流时间对提取结果有较显著影响,各因素对提取效果的影响顺序是 $D>C>A>B$,即提取次数、回流时间、乙醇体积分数、乙醇用量。各因素中各水平的影响顺序是 $A_3>A_2>A_1$, $B_2>B_3>B_1$, $C_2>C_3>C_1$, $D_3>D_2>D_1$ 。因此,以总质量分数为指标,乙醇回流提取的最佳提取条件是 $A_3B_2C_2D_3$,即用 10 倍药材量的 80%乙醇提取药材 3 次,每次 45 min。

表 2 L₉(3⁴)正交试验设计及结果

Table 2 Design and results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	D	淫羊藿苷/%	补骨脂素/%	异补骨脂素/%	总质量分数/%
1	1	1	1	1	9.46	6.29	5.63	21.38
2	1	2	2	2	11.98	10.12	8.95	31.05
3	1	3	3	3	17.89	10.50	9.20	37.59
4	2	1	2	3	18.11	11.14	9.81	39.07
5	2	2	3	1	11.70	7.88	7.03	26.61
6	2	3	1	2	14.13	8.33	7.32	29.78
7	3	1	3	2	13.85	9.86	8.53	32.24
8	3	2	1	3	16.76	10.92	9.54	37.23
9	3	3	2	1	11.88	8.27	7.31	27.46
K ₁	30.007	30.897	29.463	25.150				
K ₂	31.820	31.630	32.527	31.023				
K ₃	32.310	31.610	32.147	37.963				
R	2.303	0.733	3.064	12.813				

表 3 以总提取率为指标的方差分析

Table 3 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	8.83	2	4.42	8.44	
B(误差)	1.05	2	0.53	1.00	
C	16.73	2	8.37	15.98	
D	246.84	2	123.42	235.76	$P<0.01$

$$F_{0.05}(2,2)=19.00 \quad F_{0.01}(2,2)=99.00$$

2.6 验证试验:称取淫羊藿粗粉 20 g,补骨脂和当归粗粉各 10 g 置于圆底烧瓶中,按优选出的最佳工艺条件进行乙醇回流提取,结果 3 种成分质量分数之和为 42.60%,RSD 为 2.13% ($n=6$),表明本工艺条件对提取骨炎 1 号是比较稳定的。

3 讨论

抗骨关节炎天然药物中的活性成分为植物雌激素,这些植物激素成分无论是以苷或以苷元存在,都能在中等体积分数的乙醇中有较好溶解性^[3]。因此,对骨炎 1 号中药材采用乙醇回流提取,并通过正交试验得出了最佳提取工艺。

乙醇回流法提取骨炎 1 号有效成分的最佳提取条件是用 10 倍药材量的 80%乙醇提取药材 3 次,每次 45 min。但是,因乙醇体积分数、乙醇用量对有

效成分的提取效果影响较小,采用 8 倍量的 60%乙醇提取 3 次,每次 45 min 的工艺条件更适合工业生产情况,可节省乙醇用量,大大地减少了生产成本。

References:

[1] Fu D N, Li X Y. Determination of icariin in Yijing Pill by HPLC [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药),

2004, 15 (10): 649-650.

[2] Wang R Y, Jiang H Z, Che H Y. Determination of psoralen and isopsoralen in Zhibao Sanbian Medicated Wine by HPLC [J]. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2004, 18 (2): 116-117.

[3] Tao J Y, Xu S X, Li Z X, et al. Study on extraction process of *Epimedium* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2004, 15 (1): 11-12.

茶多酚脂质体制备的研究

陈荣义¹, 张新申¹, 谢 君²

(1. 四川大学轻纺与食品学院, 四川 成都 610065; 2. 华南农业大学测试中心, 广东 广州 510642)

茶多酚(tea polyphenol, TP),是茶叶中 30 余种多酚类化合物的总称,约占茶叶干重的 30%^[1,2]。茶多酚是一种天然的高效、无毒抗氧化剂,同时也是一种十分理想的天然药物^[3,4]。但茶多酚脂溶性较差,生物利用度低^[5,6],限制了其在医药和食品等行业的应用,同时也给从分子水平上研究茶多酚的药理学机制带来很多困难^[7]。目前,茶多酚的改性主要是使用化学合成的方法,改性后的茶多酚分子脂溶性虽然增强,但茶多酚在改性的过程中往往会损失部分酚羟基,导致茶多酚的生物活性大大降低。脂质体作为药物载体,具有有效保护被包裹药物、提高被包裹药物生物利用度、使被包裹药物具有靶向性和脂质体本身对人体无毒性及免疫抑制作用等优点^[8]。本实验采用脂质体包覆的方法,对茶多酚进行物理改性的研究。

1 材料和方法

1.1 药品与试剂:TP(成都辰龙绿色产业有限公司友情提供,质量分数大于 99%);大豆卵磷脂(上海聚源生物科技有限公司,生化试剂);胆固醇(上海伯奥生物科技有限公司,生化试剂);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器:旋转蒸发仪(上海申胜生物技术有限公司);KQ2200 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);LG10—2.4A 离心机(北京医用离心机厂);722S 分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.3 脂质体的制备:用薄膜分散法制备。取适量磷脂和胆固醇,加入 30 mL 氯仿使之溶解,置于圆形烧瓶中,在 30℃下,减压蒸发,使脂质体在瓶内壁均匀成膜,抽干;配制含 TP 磷酸盐缓冲液 30 mL;将含 TP 的缓冲液加入圆形烧瓶中,轻轻振荡,充分溶

胀水合后(放置 3 d),超声波超声处理 10 min,即得脂质体。

1.4 脂质体与游离茶多酚的分离:采用离心法。

1.5 脂质体包封率的测定:将与脂质体分离后的游离 TP 上清液,用蒸馏水定容至 100 mL,采用分光光度法测定游离 TP 的量,按下式计算包封率。

包封率=(投入 TP 量-游离 TP 量)/投入 TP 量×100%

2 结果

2.1 标准曲线的制备:精确称取 TP 500 mg,溶于 100 mL 蒸馏水中,作为母液。分别吸取 2、4、6、8、10 mL 于 20 mL 量瓶中,加蒸馏水至刻度,得一系列对照品溶液。准确吸取各对照品溶液 1 mL 和酒石酸铁试剂 5 mL,置 25 mL 量瓶中,加 pH 7.5 的缓冲液至刻度。用水代替茶多酚作对照,在 540 nm 处测定吸光度(A)。用 A 与对应的质量浓度进行线性回归,得标准曲线方程 $A=0.3368C-0.0032$, $r=0.99996$,线性范围:0~2.5 mg/mL。

2.2 脂质体的处方设计:通过预试验分析确定,影响脂质体包封率的主要因素为卵磷脂与胆固醇质量比(A)、磷酸盐缓冲液 pH 值(B)和脂质体膜与 TP 质量(C)比等。采用正交试验来确定 TP 脂质体制备的最佳条件,因素与水平见表 1。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A/(mg : mg)	B	C/(mg : mg)
1	500 : 400	6.0	180 : 900
2	600 : 300	6.5	112.5 : 900
3	675 : 225	7.0	90 : 900

2.3 正交试验方案与结果:按 $L_9(3^4)$ 安排试验,制