

中总黄酮提取率(总黄酮提取率=总黄酮质量/金莲花质量×100%)。

2.4 正交试验结果及方差分析:结果见表 2,方差分析见表 3。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	总黄酮提取率/%
1	1	1	1	1	2.20
2	1	2	2	2	5.31
3	1	3	3	3	5.60
4	2	1	2	3	4.24
5	2	2	3	1	5.68
6	2	3	1	2	5.83
7	3	1	3	2	3.53
8	3	2	1	3	5.07
9	3	3	2	1	6.41
$K_1$	13.11	9.97	13.10	14.29	
$K_2$	15.75	16.06	15.96	14.67	
$K_3$	15.01	17.84	14.81	14.91	
R	2.64	7.78	2.86	0.62	

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	1.24	2	0.62	17.71	
B	11.35	2	5.68	162.14	$P < 0.01$
C	1.38	2	0.69	19.71	$P < 0.05$
D(误差)	0.07	2	0.035		

$$F_{0.05}(2,2)=19.0 \quad F_{0.01}(2,2)=99.0$$

从直观分析可知,极差最大的为 B 因素,其次为 C 因素和 A 因素。说明 B 因素即温度的改变对金莲花总黄酮的提取影响最大,其次为提取时间和加

水量。由于金莲花为花类药材,其体积较大,相对用水量较大才能浸泡完全。根据正交试验结果,提取工艺最佳组合条件为  $A_2B_3C_2$ ,即提取溶剂为金莲花药材的 30 倍量,提取温度为 100 ℃,提取时间为 30 min。

2.5 验证试验:按优选的最佳提取工艺制备 4 批样品,测定样品中总黄酮,结果提取出的总黄酮吸光度最高,药材中总黄酮提取率平均高达 6.49%。

### 3 讨论

金莲花除主要含有黄酮类化合物以外,还含有挥发油成分,长时间加热包括提取和浓缩时的加热,将不利于这些成分的稳定<sup>[5]</sup>。试验也证明,即 100 ℃ 提取时间为 60 min 时的总黄酮提取率比提取 30 min 低 11.03%。

### References:

- [1] Li Y L. Antiviral activities of flavonoids and organic acid from *Trollius chinensis* Bunge [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79: 356-368.
- [2] Gao Y, Li W M, Wu S H, et al. Comparative application of uniform design and orthogonal design on study of extractive technology of *Trollius chinensis* Bunge [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2002, 8 (1): 1-3.
- [3] Su L J, Liu L J. Comprehensive study on the different sections of *Trollius macropetalus* Fr. Schmidt [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 1996 (2): 49-50.
- [4] Bai Y E, Qi X M, Gao Y L. Determination of the content of total flavonoids [J]. *J Shanxi Med Univ* (山西医科大学学报), 2000, 31 (6): 502-504.
- [5] Feng X F. Analysis on compositions of the volatile oil in *Trollius chinensis* Bunge [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29 (9): 587-588.

## 板蓝根水提物的 HPLC 指纹图谱

赵艳玲<sup>1,2</sup>, 曹琳<sup>1,3</sup>, 王伽伯<sup>1,3</sup>, 金城<sup>1</sup>, 肖小河<sup>1\*</sup>

(1. 解放军第三〇二医院,北京 100039; 2. 军事医学科学院,北京 100850; 3. 成都中医药大学,四川 成都 610075)

板蓝根来源于十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根,是常用中药,具有清热解毒、凉血利咽的功效,广泛应用于流行性腮腺炎、流行性乙型脑炎、流行性感、乙肝等病毒性疾病的防治。现代药理研究表明板蓝根具有抗菌、抗病毒、抗内毒素、调节免疫等作用<sup>[1]</sup>。板蓝根中有效成分有靛蓝、靛玉红<sup>[2]</sup>、喹唑酮<sup>[3]</sup>、水杨酸<sup>[4]</sup>、氨基酸<sup>[5]</sup>等,

但这些成分或不溶于水、或量太低、或无特异性作用,作为板蓝根质量控制指标均不合适。本实验建立板蓝根水提物的指纹图谱条件,旨在为板蓝根的质量控制提供依据和方法。

### 1 仪器和材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,包括四元泵、在线脱气机、手动进样器、DAD 检测器;旋转蒸发

收稿日期:2005-05-06

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371724);国家中医药管理局基金资助项目(04-05ZP70)

作者简介:赵艳玲(1965—),女,河北饶阳人,副主任药师,军事医学科学院在读博士,研究方向为中药化学与中药药理。

\*通讯作者 肖小河 Tel: (010) 65933322 E-mail: pharmacy302@sohu.com.cn

仪。乙腈为色谱纯,水为高纯水,甲醇、磷酸为分析纯。板蓝根药材由解放军三〇二医院药物研究中心肖小河研究员鉴定。药材来源见表 1。

表 1 板蓝根的来源

Table 1 Sources of *Radix Isatis*

样品号	产地	来源
1~6	安徽亳州	亳州永刚饮片厂
7	安徽阜阳	阜阳 GAP 基地
8	吉林省	安国药材市场
9	河北省	安国药材市场
10	内蒙古	天津市药材公司

2 方法与结果

2.1 流动相及梯度洗脱条件的选择:比较了甲醇-水、乙腈-水系统,发现乙腈-水系统分离效果更好,且柱压较甲醇-水系统低,可以通过提高体流量的方法缩短分析时间;另外,板蓝根提取物中有部分酸性成分,在流动相中加入磷酸可以有效改善图谱中极性较大成分的分度。因此,最后确定用乙腈-0.01%磷酸水溶液作为流动相。板蓝根水提取物非常复杂,定比例流动相很难在较短的时间内实现主要化合物的分离,采用梯度洗脱可以兼顾强极性和相对弱极性成分的分析,得到的信息量较丰富,各成分峰形尖锐且分离度较好。

2.2 检测波长的选择:以 DAD 检测器进行全波长扫描,比较板蓝根水提物在 200~400 nm 的吸收图谱,发现板蓝根水提物在 222 nm 处得到的色谱峰信息最多,且各峰分离良好。

2.3 色谱条件:色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 分析柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);检测波长:222 nm;体积流量:1.5 mL/min;柱温:室温;流动相:A 相为 0.1% 磷酸水溶液,B 相为乙腈,线性梯度洗脱,0~10 min A-B (95 : 5),10~20 min 线性至 A-B (90 : 10),20~55 min 线性至 A-B (50 : 50),55~60 min 保持 A-B (50 : 50),60~65 min 线性至 A-B (95 : 5)。

2.4 供试品溶液的制备:板蓝根药材粗粉,水煎煮 2 次,合并煎煮液,减压浓缩制成干膏,备用。临测前称取干膏 500 mg 加水溶解,定容至 100 mL,过 0.45 μm 滤膜,取续滤液,即得。

2.5 数据处理方法:使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 版(国家药典委员会)进行数据处理,从各样本图谱中综合比较生成对照模式色谱图,并计算每个色谱图与对照模式色谱图的相似度。本实验采用相关系数(均值)进行评价。

2.6 精密度试验:取同一批样品,制备供试品溶液,连续进样 5 次,检测指纹图谱,以“中药色谱指纹图

谱相似度评价系统”评价,结果相似度都在 0.98 以上,表明仪器的精密度良好。

2.7 稳定性试验:取同一批样品,制备供试品溶液,分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样,检测指纹图谱,以“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”评价,结果相似度都在 0.98 以上,表明供试品溶液的稳定性良好。

2.8 重现性试验:取同一批供试品 5 份,分别精密称定,制备供试品溶液,分别进样,检测指纹图谱,以“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”评价,结果相似度都在 0.98 以上,表明样品的重现性良好。

2.9 样品分析:精密吸取供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,采集 65 min 的图谱,其主要色谱峰的保留时间见表 2,不同来源的板蓝根指纹图谱见图 1。以“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”进行数据处理,结果见表 3。

表 2 板蓝根 HPLC 指纹图谱特征峰的保留时间  
Table 2 Retention time of characteristic peak in HPLC fingerprint of *Radix Isatis*

峰号	保留时间/min	峰号	保留时间/min
1	2.7	16	34.9
2	3.7	17	36.3
3	12.2	18	37.8
4	14.1	19	39.2
5	17.2	20	40.8
6	18.1	21	42.5
7	19.6	22	44.6
8	20.3	23	46.1
9	21.5	24	47.5
10	25.6	25	49.5
11	26.9	26	51.4
12	28.4	27	52.4
13	31.2	28	53.9
14	32.8	29	55.9
15	33.9	30	59.5

表 3 不同来源板蓝根的相似度评价结果

Table 3 Similarities of *Radix Isatis* from different sources

样品号	相似度	样品号	相似度
1	0.94	6	0.90
2	0.93	7	0.87
3	0.94	8	0.84
4	0.92	9	0.79
5	0.93	10	0.75

3 讨论

3.1 样品 1~6 为同一来源样品的不同批次,7~10 分别来源于不同产地,由相似度可见,同一来源样品的不同批次间差别较小,不同来源的样品间相似度相差较大。

3.2 板蓝根水提物的色谱峰非常复杂,但 DAD 扫描表明其中很大一部分峰在各波长下均很小,色谱

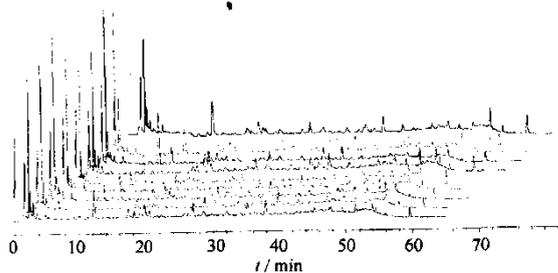


图1 不同来源的板蓝根指纹图谱  
Fig. 1 Fingerprint of *Radix Isatis* from different sources

相似度分析亦显示这部分峰对相似度影响不大,按本实验条件,主要的色谱峰得到良好的分离,可作为与药理药效试验相关分析的分选方法。板蓝根不同极性萃取物的指纹图谱与药理药效学试验相关分析结果另文报道。

3.3 以体积流量 1 mL/min 分析时间过长,考虑到乙腈-水流动相系统的压力较小,故将体积流量提高

至 1.5 mL/min,分析时间可大大缩短至 65 min;若以甲醇-水系统分析,则柱压过高而无法在较高体积流量下分析。

References:

[1] Xiao S S, Jin Y, Sun Y Q. Recent progress in the studies of chemical constituents, pharmacological effects and quality control methods on the roots of *Isatis indigotica* [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20 (6): 455-459.  
[2] Chen F K. *Determinations of Effective Ingredients of Commonly Used Chinese Traditional and Herbal Drugs* (常用中草药有效成分含量测定) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.  
[3] Li L, Dong T Y, Li X L, et al. Study on the quality control methods of *Folium Isatidis* and its preparations [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1994, 29 (2): 128-131.  
[4] You S, Yao X S, Cheng Y J, et al. Ingredients which can invigorate the circulation of blood of *Isatis indigotica* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1988, 13 (2): 31-32.  
[5] Zhao X X. *Studies of Chinese Herbal Injections* (中药注射液) [M]. Guangzhou: Guangdong Scientific and Technical Publishing House, 2000.

## 正交设计法研究通脉颗粒中β-环糊精包合物的制备工艺

赵慧萍<sup>1</sup>, 王浩<sup>2</sup>

(1. 天津中医学院第一附属医院 制剂室, 天津 300193; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

通脉颗粒是我院研制的中药新药第6类复方制剂,主要由当归、片姜黄、降香等药味组成,具有活血化瘀、养血通脉的作用,用于治疗小儿病毒性心肌炎。方中当归、片姜黄、降香均含挥发油,具有一定的药理活性。为减少挥发油成分的损失,故将其制成β-环糊精包合物。本实验采用超声法正交试验优选,以油利用率为优选指标,并采用薄层色谱法和差示扫描量热法对包合前后挥发油的质量进行研究。

### 1 材料

当归、片姜黄、降香购于天津市津祁药材供应站。β-环糊精(β-CD,质量分数≥98%),陕西省佳县生物化学工业公司产品。以上原辅料均按《中国药典》2000年版规定由本实验室自行检测,所用对照品均购自中国药品生物制品检定所。将当归、片姜黄、降香混合,用挥发油提取器按照《中国药典》2000年版一部附录挥发油测定法提取挥发油。

### 2 预试验

2.1 饱和水溶液法:取适量β-CD置于具塞三角瓶中,加入适量纯化水,振摇制成β-CD饱和液,加入适量挥发油搅拌均匀 30 min,滤过、低温干燥,即得。

2.2 超声法:取适量β-CD置于具塞三角瓶中,加入适量纯化水,振摇制成β-CD饱和溶液,加入适量挥发油超声处理 30 min,将制得的包合物冷藏,滤过,低温干燥,即得。

2.3 研磨法:取适量β-CD置于具塞三角瓶中,加入适量纯化水研匀,加入适量挥发油,充分研磨至糊状,低温干燥,即得。

以上3种方法经实验结果表明超声法最佳,因此采用超声法进行包合。

### 3 包合物的制备方法

称取适量β-CD置于具塞三角瓶中,加入适量纯化水,振摇制成β-CD饱和溶液。量取适量挥发油,加入上述饱和溶液中,混合后用超声波清洗机按试验方案进行超声处理。