

峰面积的 RSD 为 1.079%。表明供试品溶液在 5 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批样品 5 份,精密称定,制备供试品溶液。进样 10 μ L,测定腺苷的质量分数,其平均值为 0.076 mg/片, RSD 为 2.41%。

2.8 回收率试验:精密称取含腺苷约 0.16 mg/g 的样品 5 份,约 0.24 g/份,分别精密加入 0.039 2 mg 腺苷对照品,制备供试品溶液,进样测定,结果腺苷的平均回收率为 101.79%, RSD 为 2.77% ($n=5$)。

2.9 样品测定:取样品制备供试品溶液,精密吸取供试品 10 μ L,按上述色谱条件测定,用外标法计算天麻蜜环菌片中腺苷的质量分数,结果见表 1。

表 1 天麻蜜环菌片中腺苷的测定结果 ($n=5$)

Table 1 Determination of adenosine in Tianma Mihuanjun Tablets ($n=5$)

批号	腺苷/(mg·片 ⁻¹)	RSD/%	批号	腺苷/(mg·片 ⁻¹)	RSD/%
20020421	0.076	1.7	20020609	0.076	1.7
20020422	0.075	1.7	1	0.079	1.6
20020423	0.078	1.7	2	0.076	1.7
20020607	0.077	1.1	3	0.074	1.8
20020608	0.074	1.8	4	0.075	1.7

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择:供试品溶液的制备中,考察了 90% 甲醇、60% 乙醇、50% 甲醇和水作为提取溶剂,各超声提取 30 min,结果腺苷的质量分数分别为 0.052、0.081、0.071、0.076 mg/片,表明 60% 乙醇提取效果最好。

3.2 提取时间的选择:以 60% 乙醇为提取溶剂,采用超声方法进行提取,选择提取时间 10、20、30 min,结果腺苷的质量分数分别为 0.076、0.076、0.076 mg/片,表明 10 min 即可提取完全。

3.3 本方法准确灵敏,可作为天麻蜜环菌片中腺苷的定量分析方法,为进一步制定天麻蜜环菌片质量标准提供了依据,并对含有腺苷的其他产品的检测也具有一定的参考价值。

References

- [1] Yang D H. Determination of adenosine in Dongchongxiacao (*Cordyceps sinensis*) and fruit body of *Ganoderma lucidum* (Leyss et Fr.) Karst. by HPLC [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1998, 21 (2): 45-46.
- [2] Pan X Q, Zhang S M, Chen X H. Determination of adenosine in Dongfangshencao Granules by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1994, 16 (10): 12.
- [3] Wu C M, Ye R P. Determination of adenosine in Dongchongxiacao (*Cordyceps sinensis*) by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (9): 658.

欧亚旋覆花中多糖的苯酚-硫酸法测定

付 焱¹, 郭 毅², 张婧群^{1*}, 杨双革¹, 徐力昆¹, 吴一兵¹

(1. 河北医科大学 新药开发研究室, 河北 石家庄 050017; 2. 河北省药品检验所, 河北 石家庄 050011)

旋覆花为菊科植物旋覆花 *Inula japonica* Thunb. 或欧亚旋覆花 *I. britannica* L., 具有降气、消痰, 行水, 止呕的功效, 主治风寒咳嗽, 痰饮蓄结, 胸膈痞满, 喘咳痰多, 呕吐噎气, 心下痞硬等症^[1]。旋覆花含有旋覆花素、大花旋覆花宁、蒲公英甾醇、槲皮素、异槲皮素、绿原酸、咖啡酸等成分^[2]。欧亚旋覆花地上部分的水提物可影响小鼠辅助性 T 细胞 (Helper T cell) Th1 和 Th2 之间平衡, 显示出抑制小鼠肝损伤的免疫学作用^[3]。笔者在进行欧亚旋覆花化学成分研究中, 从中提取出水溶性多糖。初步药理试验表明, 欧亚旋覆花多糖有一定的免疫增强作用。参考文献报道^[4~6], 本实验对欧亚旋覆花多糖的提取

方法及测定进行了研究。

1 仪器与药品

TU—1901 双光束紫外分光光度计 (北京谱析通用仪器有限公司), DHX—9243B 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海福马实验设备有限公司), Laborata 4000 旋转薄膜蒸发器 (德国 Heidolph 集团)。

(+) 葡萄糖、浓硫酸、苯酚、乙醚、丙酮、无水乙醇均为分析纯试剂。试验药材采自山西运城, 经本院药用植物教研室聂凤提教授鉴定为欧亚旋覆花 *I. britannica* L.。

2 方法与结果

2.1 多糖的提取与精制: 欧亚旋覆花地上部分粉碎,

收稿日期: 2005-06-07

基金项目: 河北省自然科学基金项目 (303470)

作者简介: 付 焱 (1965—), 女, 山东烟台人, 副教授, 博士研究生, 从事药物有效成分的分离制备研究与教学。

Tel.: (0311) 86266335 E-mail: hbsypjys@hotmail.com

* 通讯作者 张婧群

粉末经95%乙醇浸提3次,去除脂溶性杂质与色素。药渣置室温干燥。取干燥粉末25g,加水250mL煎煮提取2h,滤过,滤渣再用水250mL煎煮提取2h,滤过,残渣用热水洗涤,合并提取液、洗涤液及滤液,加热浓缩至约50mL,离心,分取上清液,加入4倍体积的无水乙醇,静置过夜。抽滤,沉淀经无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,置60℃真空干燥箱中干燥,得粗多糖。

将粗多糖溶于水,加1%活性炭脱色,抽滤,滤液加入4倍体积的无水乙醇。静置过夜,抽滤,所得沉淀用无水乙醇、丙酮、乙醚数次洗涤,置60℃真空干燥箱中干燥,即得多糖精制品。

2.2 溶液的配制

2.2.1 葡萄糖对照品溶液的配制:精密称取105℃干燥至恒重的葡萄糖100mg,置100mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,备用。

2.2.2 苯酚液的配制:取苯酚100g,加入0.1g铝片和0.05g碳酸氢钠,加热蒸馏,收集182℃馏份。精密称取该馏份6g,置100mL棕色量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,密封备用。

2.3 显色条件考察

2.3.1 显色温度选择:精密量取1mg/mL葡萄糖对照品溶液2mL,置50mL量瓶中,加水稀释至刻度,照标准曲线项下方法操作,于室温、25℃、50℃、90℃显色后分别测定吸光度值,结果分别为0.451、0.448、0.451、0.453。可以看出,葡萄糖溶液显色后在不同温度条件下放置显色,其吸光度值变化不大。故本实验采用室温放置。

2.3.2 显色时间的考察:取1mg/mL葡萄糖对照品溶液,照标准曲线的制备项下方法操作,在室温条件下分别放置25、30、45、60min显色,结果吸光度值分别为0.439、0.451、0.450、0.451。可见,其吸光度值在30min后趋于稳定,30~60min显色稳定。因此,显色时间采用30min为宜,对照品溶液应在60min内测定完成。

2.3.3 取多糖精制品溶液,照标准曲线的制备项下方法操作,分别于显色后30、60min测定吸光度值,结果分别为0.443、0.440。表明供试品溶液与对照品溶液显色时间一致,采用30min为宜。

2.4 吸收波长选择:取葡萄糖对照品溶液及欧亚旋覆花多糖供试品溶液,在280~650nm波长扫描,比较显色前后的光谱图。结果,葡萄糖溶液未显色时,在300~600nm几乎无吸收,显色后在490nm波长处有最大吸收。供试品溶液未显色时,在490nm处几乎无吸收,显色后在490nm波长处有最大吸收。说

明在490nm波长处供试品溶液中其他成分对多糖的显色与吸收无干扰。故选定490nm为测定波长。

2.5 标准曲线的制备:精密量取葡萄糖对照品溶液适量,加水稀释制成20、30、40、50、60μg/mL的溶液,摇匀。分别精密量取1mL分置5支具塞试管中,另精密量取1mL水为空白。各管中分别加入1.0mL苯酚溶液摇匀,分别迅速加入浓硫酸5.0mL,立即摇匀,室温放置30min,在490nm波长处测定吸光度值,计算得回归方程: $A=0.01185C-0.0141$, $r=0.9993$ 。结果表明,葡萄糖溶液在20~60μg/mL与吸光度值呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验:分别精密吸取多糖精制品稀释液1mL,显色,测定,结果吸光度值的RSD为1.52% ($n=6$)。

2.7 回收率试验:取已知多糖质量分数的欧亚旋覆花干燥粉末,精密加入多糖精制品适量,照2.5项下方法操作,显色,测定,计算回收率。结果平均回收率为101.7%,RSD为1.32% ($n=6$)。

2.8 多糖换算因子的测定:精密称取干燥至恒重的欧亚旋覆花多糖精制品35mg,置25mL量瓶中加水溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取5.00mL置25mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,精密量取1.00mL,照标准曲线的制备项下方法操作,测定吸光度值,根据线性回归方程求出质量浓度,再代入下式计算换算因子,求得 $f=7.419$, ($n=6$)。

$$f=W/(C \times D)$$

式中 W 为多糖质量, C 为多糖质量浓度, D 为多糖稀释因素

2.9 多糖提取次数考察:分别称取95%乙醇脱脂干燥后的欧亚旋覆花干燥粉末25g,分别加水提取1、2、3次,每次提取用水为250mL,煎煮提取2h。趁热滤过,残渣用热水洗涤,合并提取液、洗涤液与滤液,放冷,置1000mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。精密量取5.00mL置100mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。照2.8项下方法操作、测定,计算,结果多糖质量分数分别为16.46%、20.33%、21.08% ($n=3$)。结果表明提取2次与提取3次差别不大,故提取2次即可。

2.10 欧亚旋覆花多糖的测定:取欧亚旋覆花粉末3份,提取,合并提取液、洗涤液与滤液,显色,测定。结果多糖的质量分数分别为20.36%、20.43%、20.21%。以生药计粗多糖得率分别为2.76%、2.81%和2.63%。

3 讨论

3.1 苯酚-硫酸比色法是多糖测定的经典方法。本实

验考察了室温、25、50、90℃恒温条件对显色效果的影响。结果证实,在室温条件下,利用硫酸加入后大量放热这一客观现象,即可取得良好显色效果,并可大大简化实验条件,使操作更为简便。

3.2 多糖的干燥,文献多采用真空干燥或低温烘干。实验证实对欧亚旋覆花多糖采用低温干燥和真空干燥均能得到满意的产品,但低温干燥有时会出现少量样品溶解而使样品变黏稠,极难干燥彻底。60℃真空干燥方法则不会有这种现象出现,故本实验采用后一种方法。

3.3 实验中发现,多糖固体的收率与多糖提取液测定结果有一定差距,可能是多糖的组成较复杂。苯酚-硫酸法测定多糖都是以葡萄糖为对照品,这对含有多糖、双糖等成分的天然多糖来说就造成测定值与实际值不符的现象,加之单糖、双糖等低分子糖在水中有较好的溶解性,当浓缩多糖提取液制备多糖固体时,这些糖极易随水溶性溶剂流失,从而使提取液多

糖测定值与获得的多糖固体有一定的差距。这一问题有待今后做进一步的研究。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Study of Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与应用) [M]. Vol V. Beijing: Xueyuan Press, 1998.
- [3] Song Q H, Kobayashi T, Iijima K, et al. Hepatoprotective effects *Inula britannica* on hepatic injury in mice [J]. *Phytother Res*, 2000, 14 (3): 31-33.
- [4] Dong Q, Zheng Y L, Fang J N. Modified phenol-sulfuric acid method for determination of the content of oligo-and polysaccharides [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1996, 31 (9): 550-553.
- [5] Zhou C J, Wang J, Guo Y E, et al. Phenol-sulfuric acid method for the determination of polysaccharide in Shenshixiao Capsule [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29 (1): 15-16.
- [6] Yang H, Jia X, Yi H. Determination of polysaccharide in root of Tibetan medicine *Potentilla anserine* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (1): 29-30.

皮炎颗粒剂辅料的筛选

王 莘, 丛向梅

(天津市长征医院, 天津 300021)

皮炎颗粒是我院制剂, 主要由地黄、知母、防风、金银花等 10 味中药组成, 具有清热凉血、祛热利水作用, 临床用于治疗各种湿疹、皮炎、荨麻疹, 并取得很好疗效。该方药材具有一定引湿性, 辅料对颗粒成型工艺及颗粒性状有直接影响, 若选择不当颗粒成型后会吸湿、结块, 严重影响产品质量及贮存。本实验对以不同辅料制备颗粒剂的成型率、吸湿率、溶化性进行考察, 对辅料进行筛选, 并确定其最佳配比。

1 仪器与试药

YSEI 药品稳定性试验箱 (重庆永生实验仪器厂), AR 1140/C 电子分析天平 (美国 OHAUS), DPL 30/60 多功能制粒/包衣机 (重庆精工制药机械有限公司)。浸膏 (自制, 批号 20030517)、微晶纤维素 (常熟市药用辅料厂)、淀粉 (廊坊淀粉厂)、糊精 (廊坊淀粉厂)、羟丙基甲基纤维素 (湖州展望化学药业公司)、羧甲基淀粉钠 (金珠江化学有限公司)。

2 方法与结果

2.1 单一辅料与浸膏配伍: 适合的辅料与浸膏配伍

可减少颗粒剂的吸湿性, 因此先进行单一辅料与浸膏配伍试验考察其吸湿性与成型性。药材按规定方法煎煮, 滤过, 滤液浓缩至规定的相对密度, 即得浸膏 (煎煮浓缩后的浸膏相对密度 1.20, 无焦屑等异物), 各单一辅料与浸膏 1:5 比例, 以多功能干燥制粒机, 喷雾干燥制粒, 干燥、整粒, 即得。

2.1.1 成型率的测定: 取制得的颗粒, 称质量, 依次过一号筛与四号筛, 收集通过一号筛与不能通过四号筛的颗粒, 称质量, 计算成型率。结果见表 1。

成型率 = $\frac{\text{通过一号筛与不通过四号筛的颗粒质量}}{\text{颗粒总质量}} \times 100\%$

2.1.2 吸湿率的测定: 将底部盛有氯化钠过饱和溶液的玻璃干燥器在室温放置 48 h, 使其达到平衡, 其相对湿度为 75%。取制得颗粒, 称质量, 置于其中, 将干燥器置入药品稳定性试验箱, 温度 35℃, 相对湿度 60%, 2 h 取样称质量, 计算吸湿率 I, 记录外观 I。吸湿率 = $\frac{\text{吸湿后质量} - \text{吸湿前质量}}{\text{吸湿前质量}} \times 100\%$ 。另取制得颗粒, 药用铝薄纸装袋, 3 g/袋, 同上