

表 2 因素水平
Table 2 Factors and levels

水平	因 素			
	A 基质: 药物/ (g · g ⁻¹)	B 药液的 温度/℃	C 冷却剂的 温度/℃	D 滴口的 温度/℃
1	4:1	80	12	60
2	5:1	85	15	65
3	6:1	90	18	70

表 3 L₉(3⁴)正交试验设计及结果

Table 3 Design and results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	D	滴丸成 型性	丸重变异 系数/%	溶散时 限/min
1	1	1	1	1	差	7.24	11.41
2	1	2	2	2	差	5.79	12.75
3	1	3	3	3	差	7.50	12.06
4	2	1	2	3	较好	6.73	9.15
5	2	2	3	1	较好	4.55	7.96
6	2	3	1	2	较好	4.68	8.71
7	3	1	3	2	好	3.79	5.85
8	3	2	1	3	好	3.95	6.05
9	3	3	2	1	好	4.22	6.44
丸 K ₁	20.53	17.76	15.87	18.18			
重 K ₂	15.96	14.29	16.74	14.26			
变 K ₃	11.96	16.40	15.84	16.10			
异 k ₁	6.843	5.920	5.290	6.060			
系 k ₂	5.320	4.763	5.580	4.753			
数 k ₃	3.987	5.467	5.280	5.367			
R	2.856	1.157	0.300	1.307			
溶 K ₁	36.22	26.41	28.83	25.81			
K ₂	25.82	26.76	28.34	27.31			
散 K ₃	18.34	27.21	25.87	27.26			
k ₁	12.07	8.803	9.610	8.603			
时 k ₂	8.607	8.920	9.447	9.103			
k ₃	6.113	9.070	8.623	9.087			
限 R	5.957	0.267	0.987	0.500			

温度 85℃、滴口的温度 65℃。

2.5 验证试验及结果:按照优选出的工艺条件(基质:药物为 6:1、制冷温度 18℃,药液的温度 85

℃、滴口的温度 65℃)重复制备了 3 批姜滴丸,所得滴丸成型性好,丸重差异限度和溶散时限符合《中国药典》2005 年版附录滴丸剂的质量标准。结果见表 4。

表 4 验证试验结果

Table 4 Results of test

批号	外观	丸重差异限度/%	溶散时限/min
20060201	丸型圆整	4.99	5.66
20060202	丸型圆整	5.26	5.92
20060203	丸型圆整	4.86	5.38

3 讨论

滴丸成品质量受多种因素影响,除了选择适宜的基质与冷却剂、药物与基质的投料比以及药液温度外,冷却液液面的高度、滴速和药液搅拌转速等也是影响滴丸成型的因素。药液温度靠油浴温度影响,油浴加热保温时应采用分段升温方法使油浴达到所需温度,以免使油浴升温过高,造成药液温度随油浴温度而波动,从而影响滴速及滴丸质量。

滴口与冷凝液面的距离大,滴出的液滴与冷凝液面的碰撞力也大,液滴也易被跌散,此距离应控制在 15 cm 以内。本实验固定该距离为 14 cm。

药物提取物浓缩成稠膏后,不必干燥成干膏,既可缩短生产周期,又可提高滴丸质量,但稠膏与基质加热熔混制成药液后,药液的滴罐内加热保温时应适当提高搅拌浆的转速(90~100 r/min)使之充分搅拌均匀,否则会造成滴丸色泽及药物含量不均匀,使剂量不准。

References:

- [1] Zhu R C, Xie Z M, Li S X. Study on moulding technic of Shuxin Dropping Pills [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24 (4): 249-251.
- [2] Wang X, Wang L. Study on moulding technics of Qingyedan Dropping Pills [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (9): 1002-1003.

AB-B 树脂纯化荷叶黄酮苷的研究

赵 骏, 张 杰, 琚 辉

(天津中医药大学中药学院, 天津 300193)

荷叶为睡莲科植物莲 *Nelumbo nuciferea* Gaertn. 的干燥叶,苦平,归肝、脾、胃经,具有清热解暑、升发清阳、凉血止血的作用。荷叶内的生物碱和黄酮类具有调血脂活性,抑制高胆固醇和动脉粥样

硬化,抗有丝分裂、抑菌和止痉挛等作用。本实验利用大孔树脂对荷叶黄酮苷进行分离纯化,为荷叶黄酮苷的深化研究和利用提供参考。

1 实验材料

DU—530 紫外分光光度计(美国 Beckman 公司),UV—2401PC 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),芦丁对照品购于中国药品生物制品检定所,D-101 大孔吸附树脂购于天津农药股份有限公司树脂分公司、D-4020、AB-8、NKA 大孔吸附树脂购于南开大学化工厂,荷叶购于白洋淀,经笔者鉴定。

2 方法与结果

2.1 荷叶总黄酮苷的提取:称取荷叶 200 g 剪碎,按料液比为 1:15 加 70%乙醇,浸泡 30 min,回流提取 2 h,两次,滤过,合并滤液,回收乙醇至基本无醇味,趁热滤过,得滤液(以生药计 0.1 g/mL)。置阴凉处保存备用。

2.2 对照品溶液的制备^[2]:精密称取芦丁对照品 10.0 mg 置 25 mL 量瓶中,加蒸馏水,置水浴上微热使溶解,后加蒸馏水至刻度、摇匀,即得,备用。

2.3 标准曲线的绘制:精密吸取芦丁对照品溶液 0.1、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各加水至 6 mL,加 5%亚硝酸钠 1.0 mL,摇匀,放置 6 min,加入 10%亚硝酸铝 1.0 mL,摇匀,放置 6 min,加 1 mol/L 氢氧化钠 10.0 mL,补水至刻度,摇匀,放置 15 min,在 506 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 0.0017 + 7.4945X$, $r = 0.9999$,表明总黄酮苷在 0.0016~0.0960 mg/mL 与吸光度线性关系良好。

2.4 测定:溶液按标准曲线的绘制项下方法测定吸光度,代入回归方程计算黄酮苷的质量分数。

2.5 树脂的预处理:D-101、D-4020、AB-8、NKA 大孔吸附树脂用 95%乙醇浸泡 24 h 后湿法装柱,用 95%乙醇流动清洗,检查流出的乙醇液至乙醇液与水 1:5 混合不呈白色混浊为止,然后以大量蒸馏水冲洗,至水洗液无醇味为止。

2.6 树脂的筛选^[3]:将荷叶总黄酮苷溶液逐渐加入树脂柱(40 cm×2 cm),边加液边用水洗,并随时用盐酸-镁粉法检测洗出物,到刚有黄酮反应发生,停止上样,记录上柱量,计算总叶黄酮苷的吸附量,把上样体积折合成荷叶生药材量(重复测 3 次),计算比吸附量(每克干树脂吸附荷叶生药材的量)。树脂用水洗至无色,再用 70%乙醇洗脱,洗至无色为止,挥干乙醇,称定质量,计算总黄酮苷的质量,计算样品中荷叶总黄酮苷的洗脱率。结果见表 1。结果表明,AB-8 大孔吸附树脂的比吸附量最大,D-101 次之,NKA 最小。AB-8 树脂解吸能力也最强,因此纯化荷叶黄酮苷选择 AB-8 树脂。

表 1 4 种树脂的吸附和洗脱

Table 1 Adsorption and elution of four kinds of macroporous adsorption resins

型 号	比吸附量/(g·g ⁻¹)	洗脱率/%
D-101	1.75	81.32
D-4020	1.12	81.55
AB-8	2.07	83.00
NKA	0.63	85.64

2.7 AB-8 树脂纯化荷叶黄酮苷的工艺参数选择

2.7.1 药材上样量的确定:将不同质量浓度的荷叶原液分别通过 AB-8 树脂进行动态吸附。用盐酸-镁粉检查流出液,待反应为阳性时停止上样。记录上柱量,计算荷叶总黄酮苷的吸附量,结果见表 2。可见 40 mg 生药/mL 荷叶的吸附量最高。

表 2 上样液质量浓度的测定

Table 2 Determination of sample concentration

上样质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	吸附量/(mg·mL ⁻¹)
10	4.70
20	4.87
40	5.22
60	4.68
80	1.82
100	0.96

2.7.2 吸附流速的确定:将质量浓度为 40 mg/mL 的荷叶样品液通过 AB-8 树脂柱,分别以 2、3、4 mL/min 的流速进行动态吸附至饱和,树脂柱依次用水、70%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,蒸干,称定质量,计算总黄酮苷的质量,计算回收率,结果见表 3。综合考虑树脂的吸附性能及工作效率,确定吸附流速以 3 mL/min 为佳。

表 3 吸附流速的确定

Table 3 Confirmation of adsorption eluting velocity

吸附速率/ (mL·min ⁻¹)	吸附量/ (mg·mL ⁻¹)	总黄酮苷 回收率/%	醇洗脱物中总黄酮 苷的质量分数/%
2	6.32	85.59	35.12
3	5.91	85.54	35.30
4	4.43	80.10	33.78

2.7.3 洗脱剂体积分数的确定:对吸附饱和的树脂,用水洗至无色后,用乙醇洗脱,流速 3 mL/min,从流出液黄酮反应呈阳性开始收集洗脱液,直到无黄酮苷流出为止。比较 20%、40%、50%、70%乙醇洗脱黄酮苷的洗脱率。结果见表 4。

2.7.4 洗脱流速的考察:按上述确定的吸附条件进行动态吸附后,用 40%乙醇洗脱,分别以 2、3、4 mL/min 的流速进行洗脱,其洗脱率见表 5。可知,洗脱速度为 2 mL/min 最佳,但用时较长,为了提高工作效率,确定洗脱速度为 3 mL/min。

2.8 解吸曲线的制备:按上述所确定的条件,取荷

叶样品液上柱吸附洗脱,每个树脂湿体积收集 1 份,共收集 15 份。分别计算,洗脱曲线见图 1。可知,洗脱剂用量为 7 倍树脂体积时,荷叶总黄酮苷基本洗脱完全。

表 4 洗脱剂的选择

Table 4 Selection of eluents

洗脱剂	洗脱率/%	醇洗物中总黄酮苷质量分数/%
20%乙醇	66.57	12.00
40%乙醇	89.54	45.35
50%乙醇	87.10	45.12
70%乙醇	85.64	35.30

表 5 洗脱流速的考察

Table 5 Investigation of elution velocity

洗脱速率/(mL · min ⁻¹)	洗脱剂用量/mL	总黄酮苷回收率/%
2	200	89.84
3	220	89.52
4	300	85.21

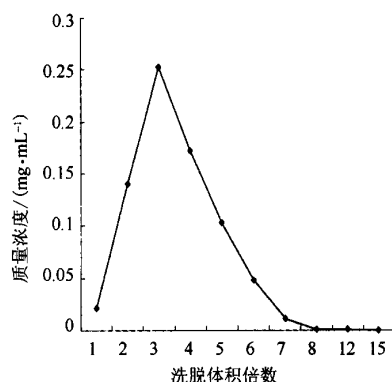


图 2 洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve

2.9 树脂的重复性利用:对吸附饱和的树脂用 40%乙醇洗脱后,再用 95%乙醇洗至流出液澄清,然后再用蒸馏水洗至无醇味,重复上述操作,测定 4 次的吸附量,结果见表 6。可见树脂重复使用 3 次

表 6 大孔吸附树脂重复性吸附的测定

Table 6 Determination of repeated adsorption of macroporous adsorption resin

次数/次	吸附量/mL	次数/次	吸附量/mL
1	40	3	34
2	37	4	23

后,需再生方可继续使用。

3 讨论

本实验中各种树脂的比吸附量比较可知,AB-8 型树脂对荷叶黄酮苷的比吸附量最大应首选。本实验所用的树脂是苯乙烯型,有中极性、弱极性、非极性 3 种类型,从吸附量试验可以看出,吸附量大的为弱极性树脂。

AB-8 树脂对荷叶黄酮苷具有良好的吸附性能,其分离纯化条件是上样质量浓度为 40 mg/mL,最大比吸附量(树脂干重)为 2.07 g/g,吸附流速为 3 mL/min,洗脱剂为 40%乙醇,洗脱剂用量为 7 倍量的树脂体积,树脂可以重复使用 3 次。

本实验确定了药材与 AB-8 树脂干重比吸附量为 2.07 g/g,但由于药材的产地不同,其荷叶总黄酮苷的含量不同,应根据实际调整药材与树脂的比吸附量。

References:

- [1] Du L J, Sun H, Ji M, et al. Studies on the active components in the leaf of *Nelumbo nucifera* and black soybean and their mixture with blood lipid regulating effect [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (7): 526-528.
- [2] Wang Y J, Gao C, Liu G L, et al. Study on enrichment process of total flavones from *Semen cuscatae* with macroporous resin [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2004, 27 (11): 861-862.
- [3] Liu B, Shi R B, Yu C, et al. Preparation of puhuang (pollen of *Typha angustifolia* or *Typha orientalis*) total flavone by the adsorption and separation of macroporous adsorption resin [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2002, 25 (4): 25.

第一届“系统生物医学上海论坛”

——代谢组学(metabonomics)与中医药国际化研讨会在上海召开

由上海系统生物医学研究中心主办,上海交通大学系统生物医学研究院、上海中医药大学中医方证与系统生物学研究中心承办的第一届“系统生物医学上海论坛——代谢组学与中医药国际化研讨会”于 2006 年 6 月 22 日在上海交通大学召开。会议特邀了代谢组学创始人、英国帝国理工大学生化系主任 Jeremy Nicholson 教授做主题报告,中国科学院副院长陈竺院士、刘昌孝院士、杨胜利院士做重要讲话和报告;我国中医药学科著名学者和活跃在代谢组学、系统生物学等新兴学科的学者会聚一堂,深入探讨中医药国际化和现代化的新方向与新思路。本次论坛的主要议题是如何综合运用代谢组学中多种仪器分析和生物信息学的技术方法,并结合蛋白质组学等组学研究,对传统中医理论和治疗方法的一些关键问题开展研究并取得突破,从而使我国医药事业借重西方生命科学的前沿技术和东方传统医学的历史积淀进入自主创新的新时代。

(聂荣海)