

2.7 被动扩散、含薄荷油的被动扩散、电致孔、电致孔-薄荷油组合对青藤碱透皮给药的累积渗透量和渗透速率的影响;见图 2。可见促进青藤碱透皮给药效果:电致孔-薄荷油>电致孔>薄荷油促透。

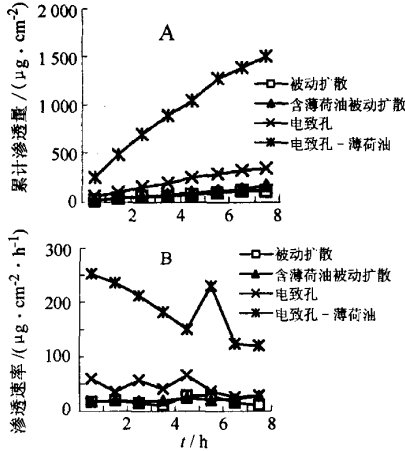


图 2 不同扩散形式对青藤碱累积渗透量(A)和渗透速率(B)的影响

Fig. 2 Effects of various diffusion methods on cumulative permeable amount (A) and transdermal permeability (B) of sinomenine

3 讨论

实验结果经统计学分析,可知电致孔与 5 种促渗剂组合后的促透皮给药效果差异较大,其中电致孔与薄荷油组合>电致孔与氮酮组合>电致孔,以电致孔与薄荷油组合后的促透作用最为显著;电致孔与聚山梨酯 80、丙二醇、PEG400 组合后的促透作用则低于单独电致孔促透作用。实验 8 h 时,电致孔的累积渗透量为被动扩散的 3 倍,而电致孔与氮酮组合的累积渗透量为被动扩散的 6 倍,而电致孔与薄荷油组合的累积渗透量为被动扩散的 12.8 倍;

4 h 时,电致孔的渗透速率为被动扩散的 3.9 倍,而电致孔与氮酮组合的渗透速率为被动扩散的 7.3 倍,而电致孔与薄荷油组合的渗透速率为被动扩散的 17.3 倍。

由实验结果可知,电致孔在大多数情况下前一阶段的渗透速率和累积渗透量大于后一阶段,且前一阶段的渗透速率较大,其在整个实验过程中渗透速率的标准差也就越大;提示电致孔与促渗剂组合后对青藤碱渗透速率的影响与整个实验过程中渗透速率的标准差可能存在某种相关性,且电致孔后皮肤可能在 3~4 h 即可恢复,这与相关报道相符[8]。

本实验将电致孔与促渗剂组合应用于中药透皮给药,从结果可知,电致孔与薄荷油、氮酮组合后具有很强的协同作用,可以显著促进成分的透皮吸收。电致孔与促渗剂组合对透皮给药有良好协同关系,将会很好的应用于中药的给药技术中。

References:

[1] Bao J L, Ping Q N. Studies of transdermal delivery of tetra-caine hydrochloride by electroporation [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35(10): 673-675.

[2] Riviere J E, Rogers R A. Pulsatile transdermal delivery of LHRH using electroporation; Drug delivery and skin toxicology [J]. *J Control Release*, 1995, 36: 229-233.

[3] Rita V, Marie-Ange L. Transdermal permeation of neutral molecules by skin electroporation [J]. *J Control Release*, 1998, 54: 243-250.

[4] Sung K C, Jia Y F. Transdermal delivery of nalbuphine and its prodrugs by electroporation [J]. *J Pharm Sci*, 2003, 18: 63-70.

[5] Arindam S, Yali Z. Enhanced transdermal transport by electroporation using anionic lipids [J]. *J Control Release*, 2002, 82: 399-405.

[6] Murthy S N. Surfactant - enhanced transdermal delivery by electroporation [J]. *J Control Release*, 2004, 98: 307-315.

[7] Brian W B, Ebtessam A E, Michael C B. Electroporation and ultra-deformable liposomes; human skin barrier repair by phospholipid [J]. *J Control Release*, 2003, 92: 163-172.

[8] Vanbever R, Preat V. *In vivo* efficacy and safety of skin electroporation [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 1999, 35(1): 77-88.

大孔吸附树脂分离纯化金银花中总有机酸的研究

刘恩荔,李青山\*

(山西医科大学药学院,山西 太原 030001)

摘要:目的 研究大孔吸附树脂富集、纯化金银花中总有机酸的工艺条件参数。方法 以静态饱和和吸附量、静态洗脱率为考察指标,比较了 6 种大孔吸附树脂分离、纯化金银花总有机酸的工艺。以总有机酸收率和质量分数为指标,对最佳树脂吸附工艺条件进行了筛选。结果 在考察的 6 种树脂中,HPD100 型树脂具有最佳的吸附及洗脱参

收稿日期:2006-03-23

作者简介:刘恩荔(1977—),女,山西洪洞人,讲师,硕士,研究方向:天然药物化学。

Tel: (0351) 6600429/4135243 E-mail: liuenli77@yahoo.com.cn

\* 通讯作者 李青山 Tel: (0351) 4690322 Fax: (0351) 4690114 E-mail: qingshanl@yahoo.com

数。结论 本实验所筛选出的 HPD100 型树脂综合性能较好,适于金银花总有机酸的分离纯化。

关键词:金银花;总有机酸;大孔吸附树脂

中图分类号:R284.2;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)12-1792-05

## Separation and purification of total organic acids from immature flower of *Lonicera japonica* by macroporous resin

LIU En-li, LI Qing-shan

(School of Pharmaceutical Science, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**Abstract: Objective** To investigate the technological parameters in the purification process of total organic acids from the immature flower of *Lonicera japonica* with macroporous resins. **Methods** Taking static saturated capacity of adsorption and static elution ratio as indexes, six types of macroporous adsorption resins were studied and compared to select the optimum macroporous resins. The technical process for purification of total organic acids from the immature flower of *L. japonica* with the optimum macroporous resin was screened by the yield and purity of total organic acids. **Results** The HPD100-type macroporous resin had the optimum adsorption and elution parameters. **Conclusion** The HPD100-type macroporous resin shows better comprehensive property and can be used to isolate and purify the total organic acids from the immature flower of *L. japonica*

**Key words:** the immature flower of *Lonicera japonica* Thunb.; total organic acids; macroporous adsorption resin

金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或带初开的花,为常用中药。具有清热解毒,凉散风热之功效,主治痈肿、喉痹、丹毒、热毒血痢、风热感冒、温病发热等症。金银花中活性成分绿原酸具有一定的抗病毒作用,对呼吸道最常见、最主要的合胞病毒、柯萨奇 B 组 3 型病毒具明显的抑制作用,一定浓度下可抑制腺病毒 3 型、7 型,柯萨奇病毒 5 型体外生长<sup>[1]</sup>,同时具有体外抗豚鼠巨细胞病毒的作用<sup>[2]</sup>。金银花中绿原酸的提取目前常用的方法主要为石硫醇法、异戊醇法、醋酸乙酯法等<sup>[3]</sup>,这些方法存在不同程度的欠缺,如收率低、有机溶剂残留多、成本高等,从而在一定程度上限制了金银花的进一步开发利用。近年来广泛应用于有机化合物分离纯化的大孔吸附树脂法成为许多成分纯化的有效手段。金银花中的总有机酸具有一定的极性和水溶性,这一特点使得选用大孔吸附树脂对其进行分离成为可能。为此,本实验对 6 种不同极性的大孔吸附树脂进行了筛选,确定了非极性大孔吸附树脂 HPD100 是一种对金银花总有机酸吸附解吸附性能优良的吸附剂。

### 1 材料、仪器与试剂

752 型紫外分光光度计(山东高密彩虹分析仪器有限公司),760CRT 双光束紫外可见分光光度计。绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110753-200212),HPD100A 型(非极性)、HPD100 型(非极性)、AB-8 型(弱极性)、HPD400 型(弱极

性)、HPD600 型(极性)、S-8 型(极性)大孔吸附树脂,购自河北沧州保恩化工有限公司。

### 2 方法与结果

2.1 树脂的预处理:以 95%乙醇浸泡 24 h,充分溶胀,乙醇洗至流出液加适量水无白色浑浊现象,再用蒸馏水洗至无醇味,即得。

2.2 金银花提取液的制备:称取金银花粗粉约 20 g,置 1 000 mL 圆底烧瓶中,75%乙醇适量浸泡过夜,次日以 12 倍 75%乙醇回流提取 3 次,每次 30 min。合并提取液,滤过,滤液浓缩至适量,备用。

2.3 总有机酸测定:采用以绿原酸为对照品的差示紫外分光光度法测定<sup>[4]</sup>。

2.3.1 对照品溶液的制备:取绿原酸对照品适量,精密称定,加磷酸盐缓冲液制成 0.548 mg/mL 的溶液,即得。

2.3.2 标准曲线的制备:精密量取绿原酸对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL 各两份,其中一份直接置 10 mL 量瓶中,缓冲液稀释至刻度;另一份均加入配制好的钨酸钠水溶液、硝酸钠水溶液各 1 mL,摇匀,以缓冲液稀释至刻度,即得。前一一份置参比池,后者置样品池,依法测定。以绿原酸量为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程  $Y=36.1551X-0.182$ ,  $r=0.9998$ ,线性范围为 2.152~10.760  $\mu\text{g/mL}$ 。

### 2.4 静态吸附与洗脱试验考察

2.4.1 静态饱和吸附量的测定:准确量取已预先处

理的树脂各 3 mL,分别置 100 mL 具塞磨口三角瓶中,精密加入金银花提取液 3 mL,置电动振荡器上震荡,震荡频率为 1 500 次/min,吸附过夜,滤过,滤液转移至 25 mL 量瓶中,蒸馏水定容至刻度。测定滤液中剩余总有机酸的质量浓度,计算室温下各树脂的静态饱和和吸附量[静态饱和和吸附量=(上柱液中总有机酸质量-过柱流出液中总有机酸质量)/树脂体积],结果见表 1。

表 1 大孔吸附树脂对金银花总有机酸的静态吸附性能  
Table 1 Static adsorption property on total organic acids from immature flower of *L. japonica* with macroporous adsorption resins

树脂类型	静态饱和和吸附量/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	树脂类型	静态饱和和吸附量/ (mg · mL <sup>-1</sup> )
HPD100A	51.00	AB-8	61.54
HPD400	65.61	HPD600	7.85
HPD100	54.46	S-8	61.54

结果表明,除 HPD600 型树脂对总有机酸的静态饱和和吸附量较小外,其余 5 种树脂对总有机酸的吸附能力相近,故进一步对其余 5 种大孔吸附树脂的比洗脱量进行平行考察。

2.4.2 比洗脱量的测定:取充分吸附后的树脂等量,分别精密加入 95%乙醇 6 mL,浸泡震荡 10 h,滤过,测定滤液中总有机酸质量浓度,计算比洗脱量(比洗脱量=洗脱液体积×总有机酸的质量浓度/树脂体积),结果见表 2。

表 2 大孔吸附树脂对金银花总有机酸的比洗脱量考察  
Table 2 Static eluation ratio on total organic acids from immature flower of *L. japonica* with macroporous adsorption resins

树脂类型	比洗脱量/ (mg · mL <sup>-1</sup> )	树脂类型	比洗脱量/ (mg · mL <sup>-1</sup> )
HPD100A	18.37	HPD100	47.92
AB-8	21.37	S-8	26.44
HPD400	19.84		

结果表明,95%乙醇仅对 HPD100 型树脂具有较高的解吸率,达 80%以上,解吸量达 47.92 mg/mL,其他树脂解吸率均在 40%左右。由此认为:HPD100 型树脂是一种对于金银花总有机酸有良好吸附和解吸性能的理想树脂。

2.5 动态吸附与洗脱考察

2.5.1 动态吸附曲线与最大吸附容量考察:大孔吸附树脂的吸附作用主要是通过表面吸附、表面电性或氢键等作用,有一定吸附容量。当吸附容量达到饱和时,其对化学物质的吸附减弱甚至消失,此时化学成分即泄露流出,故需要考察树脂的泄露曲线,为计

算树脂用量与可上柱药液量提供依据。

取 HPD100 型大孔吸附树脂 10 mL 置柱中,处理好后加入金银花提取液,并控制药液上样体积流量为 0.7 mL/min,径高比为 1:10,每 2 mL 收集一份,聚酰氨薄膜检测后,选择不同馏份定量测定药液中总有机酸的质量浓度,动态吸附曲线见图 1。

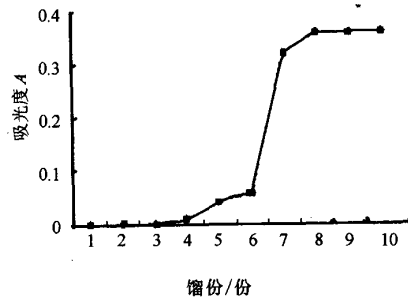


图 1 动态吸附曲线

Fig. 1 Dynamic adsorption curve

结果表明,第 7 份馏份中总有机酸的量高于第 6 份的 6 倍之多,明显表现出泄露现象,按每份 2.0 mL 计算,总上样体积为 12.0 mL。按树脂吸附容量=泄露点前上柱体积×样品中有有机酸质量浓度,得金银花提取液的吸附容量为 19.9 mg/mL。

2.5.2 上样药液 pH 值的考察:上样药液的 pH 值对吸附和分离效果至关重要,根据化合物的结构特点,灵活改变溶液的 pH 值,可达到理想的提纯效果。

取 HPD100 型大孔吸附树脂 10 mL(3 份),湿法装柱,取金银花提取液 3 份,分别滴加定量浓盐酸调节 pH 值至 1.0、3.0、7.0,上样,控制药液上样体积流量为 0.7 mL/min、径高比为 1:10,计算比吸附量。结果见表 3。结果表明,pH 值为 1 时,大孔吸附树脂对总有机酸的比吸附量最大。

表 3 不同 pH 值条件下树脂对金银花总有机酸比吸附量(n=3)

Table 3 Adsorption ratio of resin on total organic acids from immature flower of *L. japonica* with different pH values (n=3).

吸附液 pH 值	比吸附量/(mg · mL <sup>-1</sup> )
7.0	264.13
3.0	264.13
1.0	399.80

2.5.3 吸附树脂柱径高比考察:取 HPD100 型大孔吸附树脂 10 mL(3 份),湿法装柱,径高比分别为 1:10、1:20、1:30,取金银花提取液 3 份,滴加定量浓盐酸调节 pH 值至 1.0,分别上样,控制药液上样体积流量为 0.7 mL/min,收集 95%乙醇洗脱液,

浓缩、干燥,称量,记录出膏量,同时测定干膏中总有机酸的质量分数。结果见表 4。结果表明,吸附树脂柱径高比对总有机酸量影响不显著(RSD 为 2.6%),故本工艺确定径高比为 1:10 为宜。

表 4 不同径高比下树脂对金银花总有机酸的比吸附量和质量分数(n=3)

Table 4 Adsorption ratio and purity on total organic acids from immature flower of *L. japonica* with various proportions between diameter and height (n=3)

径高比	比吸附量/(mg·mL <sup>-1</sup> )	干膏中有机酸/(mg·g <sup>-1</sup> )
1:10	390.92	616
1:20	393.60	660
1:30	398.81	663

2.5.4 洗脱溶剂考察:本实验先以水洗脱除去极性较大杂质成分,继而改用 10%、30%、75%、95%乙醇分别洗脱,以浸膏中总有机酸的质量分数、溶剂用量、转移率和出膏量为指标,结合聚酰胺薄膜色谱检测,确定洗脱溶剂,记录结果见表 5。结果表明,10%、30%乙醇洗脱均可获得有效部位质量分数达 50%以上浸膏;但所需洗脱剂用量大,另外,乙醇体积分数过低,浓缩耗时长,所需温度较高,对有机酸特别是绿原酸不利;选择 95%乙醇作为洗脱剂时总有机酸收率高、洗脱速度明显加快,节省时间,同时可增加柱的使用次数、使树脂的再生变得更容易。综合考虑,确定分别以适量水、95%乙醇作为洗脱剂,但须严格控制洗脱剂的用量,确定各自的洗脱终点。

表 5 不同体积分数乙醇洗脱对金银花中总有机酸收率和质量分数的影响

Table 5 Effect of different concentrations of ethanol elution on yield and purity of total organic acids from immature flower of *L. japonica*

乙醇体积分数/%	溶剂用量/BV	出膏量/g	总有机酸量/mg	总有机酸质量分数/%	收率/%
10	21.0	0.0818	72.30	88.4	45.26
30	16.4	0.1348	80.90	60.0	50.65
75	10.5	0.1850	112.30	60.5	70.32
95	2.5	0.2385	150.72	63.2	94.36

2.5.5 洗脱终点的考察(洗脱溶剂用量):由于用过量的水洗脱除去极性较大杂质成分的同时部分有机酸成分即可被解吸下来,故本实验分两部分进行,其一为水洗终点的判断,其二为 95%乙醇洗脱终点的确认。

水洗终点的判断:取 HPD100 型大孔吸附树脂 40 mL 置柱中,处理好后加入含生药 1 g/mL 的金银花提取液 50 mL,并控制药液上样体积流量为 0.7

mL/min,径高比为 1:10。每 2 BV(柱体积)收集一份,分别检测总有机酸,以总有机酸的质量、出膏量和浸膏中总有机酸的质量分数为指标,确定洗脱水用量,结果见表 6。结果表明,2 BV(柱体积)的水即可将大部分的水溶性杂质与目标成分总有机酸类物质分离,故可确定洗脱剂水的最佳用量为 2 BV。

表 6 洗脱溶剂水用量考察

Table 6 Eluent quantity with water

馏份序号	总有机酸量/mg	浸膏量/g	总有机酸/%
1	204.875	5.0183	4.08
2	106.285	0.1764	60.25
3	47.382	0.0801	59.18

解吸终点的判断:以 95%乙醇洗脱,结合聚酰胺薄膜色谱检测,至无绿原酸斑点为止,收集液体积为 2.5 BV。

2.6 最佳工艺条件验证:选用 HPD100 型大孔吸附树脂;金银花提取液上样质量浓度 1:1(g/mL);上样体积流量为 0.7 mL/min;径高比为 1:10;洗脱剂由水、95%乙醇两部分组成,水洗脱体积 2 BV、95%乙醇洗脱体积 2.5 BV;收集 95%乙醇部位,备用。

按照前述所定参数制备 5 批金银花有效部位。称取约 10 mg,分别精密称定。少量甲醇溶液溶解,用磷酸缓冲液洗涤容器,并转移至 10 mL 量瓶中,并稀释至刻度,备用。按已定的总有机酸测定方法,记录吸光度值,按外标法计算总有机酸量,测定结果见表 7。结果表明,金银花提取中间体中总有机酸的平均质量分数为 64.26%,可知所定工艺稳定,同时满足中药 5 类新药中有关有效部位质量分数应高于 50%之规定。

表 7 金银花中总有机酸的测定(n=5)

Table 7 Determination of total organic acids from immature flower of *L. japonica* (n=5)

批号	总有机酸质量分数/%	总有机酸得率/%
1	63.2	94.36
2	60.5	95.22
3	67.8	96.12
4	68.7	96.41
5	61.1	95.37

2.7 转移率考察:取 HPD100 型大孔吸附树脂 25 mL 置柱中,处理好后加入金银花提取液 20 mL,按照最佳制备工艺参数进行,根据总有机酸测得量计算转移率(转移率=过柱流出液中总有机酸量/上柱前药液总有机酸量×100%),见表 8。结果表明,药液经大孔吸附树脂富集后总有机酸平均转移率为 84.2%。

### 3 讨论

传统中药制剂中,金银花中有效成分的提取制

表 8 转移率试验结果 (n=3)  
Table 8 Transferring rate (n=3)

上柱前药液总有机 酸量/mg	过柱流出液中总有机 酸量/mg	转移率 /%
338.3	297.9	88.1
312.2	251.4	80.5
320.0	268.4	83.9

备多采用水提法、水醇法、稀醇提取法、石硫法、异戊醇萃取法、醋酸乙酯萃取法等,这些方法都存在着不同程度的缺点。本实验通过大孔吸附树脂法对金银花中总有机酸分离纯化进行了研究,结果表明,本法具有经济、简单、安全、适合工业大生产等优点,同时总有机酸转移率高,所得干浸膏中以绿原酸计总有机酸的量高达 64.26%,满足中药 5 类新药中有关

有效部位的量应高于 50% 的规定,为金银花以有效部位为基础的单方制剂的研究和开发提供参考。

#### References:

- [1] Hu K J, Sun K X. Study of chlorogenic acid antivirus *in vitro* [J]. *J Harbin Med Univ* (哈尔滨医科大学学报), 2001, 35 (6): 430-432.
- [2] Wang X R, Chen S H, Qiao F Y, et al. Experimental study of honeysuckle flower against guinea pig cytomegalovirus *in vitro* [J]. *Matern Child Health Care China*, 2005, 20(10): 2241-2243.
- [3] Zhang F J, Zhang X Y. Advances in application, extracting technology and chemical composition study of *Lonicera japonica* Thunb. [J]. *J Xuchang Coll* (许昌学院学报), 2003, 22 (2): 112-114.
- [4] Lin L M. Determination of the total chlorogenic acids in *Lonicera japonica* Thunb. and Yinqiaojiadu Tablet by differential coefficient spectroscopic method [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1991, 16(5): 282-284.

## 蒲黄炭饮片炮制工艺的规范化研究

严 辉, 陈佩东, 丁安伟

(南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046)

**摘要:**目的 确定蒲黄炭饮片的最佳炮制工艺。方法 采用高效液相色谱法定量总黄酮,结合正交设计对蒲黄炭的炮制工艺进行研究。总黄酮测定的色谱条件为 Waters Nove-Park C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×3.9 mm, 4 μm); 流动相: 甲醇-四氢呋喃-0.05% 三氟乙酸水溶液(16:24:60); 体积流量: 0.8 mL/min; 柱温: 30 °C, 检测波长: 360 nm。结果 蒲黄炭炮制的最佳工艺为控制温度 210 °C, 炒制 8 min。结论 选择的最佳炮制工艺对于蒲黄炭的制备较为合理。

**关键词:**蒲黄炭; 总黄酮; 炮制; 正交试验

**中图分类号:**R284.2; R286.02

**文献标识码:**B

**文章编号:**0253-2670(2006)12-1796-03

### Standardization of processing method for *Pollen Typhae Carbonisatus*

YAN Hui, CHEN Pei-dong, DING An-wei

(School of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**Abstract: Objective** To establish optimum processing method for *Pollen Typhae Carbonisatus*.

**Method** Processing method was studied by orthogonal test and the total flavones were determined by HPLC. Conditions of HPLC used to determine the total flavones were: Waters Nove-Park C<sub>18</sub> (150 mm×3.9 mm, 4 μm), mobile phase: MeOH-THF-0.05%TFT (16:24:60), flow rate: 0.8 mL/min, column temperature: 30 °C, detection wavelength: 360 nm. **Results** The optimum processing method was skir-baked for 8 min at 210 °C. **Conclusion** The optimized processing method is available for the processing of *Pollen Typhae Carbonisatus*.

**Key words:** *Pollen Typhae Carbonisatus*; total flavones; processing method; orthogonal test

蒲黄为香蒲科植物水烛香蒲 *Typha angustifolia* L.、东方香蒲 *T. orientalis* Presl 或同属植物的干燥花粉。《神农本草经》将其列为上品,味甘、微辛,性凉,有凉血止血、活血祛瘀、止痛、利尿等功效,主

治血瘀所致经闭、痛经,产后瘀滞腹痛,跌打损伤和各种出血证。蒲黄的炮制方法有蒸、焙、炒黄、纸包炒、炒黑等,其中以炒黄、炒炭为主。现代对蒲黄的炮制方法有炒炭、炒黄、酒炒、醋炒等。《中国药典》2005

收稿日期:2006-03-23

基金项目:科技部“十五”攻关课题(2001BA701A55-27)

作者简介:严 辉(1980—),男,江苏扬中人,助教,硕士,主要研究方向为中药资源开发及质量标准研究。

Tel:13512537853 E-mail:aplus6798@163.com