

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 ℃, 检测波长: 360 nm。结果 蒲黄炭炮制的最佳工艺为控制温度 210 ℃, 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 ℃, detection wavelength: 360 nm. **Results** The optimum processing method was skir-baked for 8 min at 210 ℃. **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

年版仅收载有生蒲黄和蒲黄炭两种饮片,且蒲黄炭无检测标准<sup>[1]</sup>。本课题组通过药效学实验筛选得出蒲黄炭中总黄酮是其止血作用的主要活性部位。故本实验以总黄酮为指标,采用高效液相色谱测定水解后总黄酮的方法,结合正交设计对蒲黄炭的炮制工艺进行了研究,筛选出蒲黄炭炮制的最佳条件。

### 1 仪器与材料

Model 8868 红外线温度测温器(台湾衡欣科技股份有限公司);FA—1004 电子分析天平(上海天平仪器厂);日本岛津—10A 高效液相色谱系统;SPD—10A 紫外检测器;HW2000 工作站。

蒲黄药材购自江苏南京,经本校中药鉴定教研室吴启南教授鉴定为香蒲科植物水烛香蒲 *T. angustifolia* L. 的干燥花粉。异鼠李素(批号 110860-200205)、槲皮素(批号 10081-9905)、山柰素(批号 100861-200303)对照品购自中国药品生物制品检定所;其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 炒制蒲黄炭的因素水平的确定:根据文献,蒲黄炭制备工艺中的影响因素有锅的品质,如铁锅、铜锅还有铝锅,炒制温度与炒制时间。在实验设计时考虑到蒲黄炭传统工艺中常用铁锅,且铁元素对人体影响较小,又适合工厂生产,且成本较低,故确定锅的品质为铁锅;因此选择炒制温度与炒制时间为考察因素,各因素相应安排了 3 个水平进行试验(表 1),选用  $L_9(3^4)$  正交表安排试验。

表 1 因素及水平

Table 1 Factors and levels

水平	因素	
	A 温度/℃	B 时间/min
1	210	4
2	240	8
3	270	12

2.2 炒制蒲黄炭的工艺:药材投料量为 100 g,铁锅炒制,以数字式红外线测温仪测定铁锅温度,调整液化气火力大小控制温度。共炒制得 9 份蒲黄炭样品,各样品性状见表 2。

#### 2.3 总黄酮的测定

2.3.1 色谱条件:Waters Nove-Park 色谱柱(150 mm × 3.9 mm, 4 μm),流动相为甲醇-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。

2.3.2 对照品溶液的制备:取 120 °C 减压干燥至恒重的槲皮素、山柰素、异鼠李素对照品适量,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,得分别

表 2 样品性状

Table 2 Characters of samples

样品	成品性状
1	浅褐色粉末,气焦香,味微涩
2	棕褐色粉末,气焦香,味微涩
3	深褐色粉末,气焦香,味微涩
4	棕褐色粉末,气焦香,味微涩
5	黑褐色粉末,气焦香,味微涩
6	黑褐色粉末,气焦香,味微涩
7	黑褐色粉末,气焦香,味微涩
8	黑色粉末,气焦香,味微涩
9	黑色粉末,气焦香,味微涩

含约槲皮素、山柰素、异鼠李素 10、15、60 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备:精密称取样品约 0.5 g (同时另取本品按《中国药典》2005 年版一部附录 IX H 第一法测定水分),置 250 mL 烧瓶中,精密加入甲醇-25%盐酸(4 : 1)混合液 100 mL,密塞,称质量,回流 1 h,取出,放冷,称质量,以甲醇补足损失的质量,摇匀,滤过,取续滤液用 0.45 μm 滤膜滤过,作为供试品溶液。

2.3.4 标准曲线的绘制:分别精密吸取槲皮素、异鼠李素、山柰素对照品适量,加甲醇制成含 0.178、0.992、0.266 mg/mL 的溶液作为混合对照品储备液。分别吸取混合对照品储备液 0.3、0.6、1.2、2.4、4.8、9.6 mL 稀释定容至 10 mL,摇匀,分别精密吸取上述溶液 20 μL,注入高效液相色谱仪,以进样质量对峰面积进行线性回归,计算回归方程。槲皮素:  $Y = 1.242 \times 10^7 X - 9.884 \times 10^3$ ,  $r = 0.999\ 93$ ,线性范围:0.106 8 ~ 3.417 6 μg;异鼠李素:  $Y = 8.472 \times 10^6 X - 1.672 \times 10^4$ ,  $r = 0.999\ 83$ ,线性范围:0.595 2 ~ 19.046 4 μg;山柰素:  $Y = 1.493 \times 10^7 X - 2.659 \times 10^4$ ,  $r = 0.999\ 83$ ,线性范围:0.159 6 ~ 5.107 2 μg。

2.3.5 精密度试验:精密吸取混合对照品溶液,按上述条件进样,连续 6 次,结果槲皮素、异鼠李素、山柰素峰面积的 RSD 依次为 0.31%、0.38%、0.45%。

2.3.6 稳定性试验:同一份供试品溶液连续测定了 24 h,结果表明,3 种黄酮苷元在 24 h 内稳定,槲皮素、异鼠李素、山柰素峰面积的 RSD 依次为 1.50%、0.57%、1.97%。

2.3.7 重现性试验:取同一样品 6 份,制得供试品溶液,测定,计算得槲皮素、异鼠李素、山柰素质量分数的 RSD 依次为 2.07%、0.90%、2.57%。

2.3.8 回收率试验:精密称取含槲皮素 0.76 mg/g、异鼠李素 4.06 mg/g、山柰素 1.14 mg/g 的样品

约 0.25 g, 加入混合对照品储备液(槲皮素 0.178 mg/mL、异鼠李素 0.992 mg/mL、山柰素 0.266 mg/mL)1.2、1.0、0.8 mL, 制备供试品溶液, 测定, 计算回收率。结果槲皮素的平均加样回收率为 98.53%, RSD 为 2.10%; 异鼠李素的平均加样回收率为 101.38%, RSD 为 1.86%; 山柰素的平均加样回收率为 98.51%, RSD 为 1.37%。

2.3.9 样品测定: 取 9 份样品, 制备供试品溶液, 进样测定, 用标准曲线分别计算出样品中槲皮素、异鼠李素、山柰素的量, 再按总黄酮量 = (槲皮素 + 异鼠李素 + 山柰素) × 2.51 计算, 即得总黄酮的量, 色谱图见图 1。

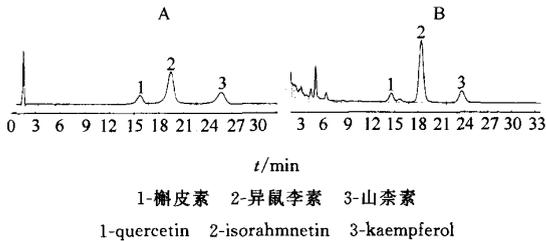


图 1 混合对照品(A)和蒲黄炭(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substance (A) and *Pollen Typhae Carbonisatus* (B)

2.4 正交试验设计及结果: 见表 3。有关试验数据及其计算分析结果见表 4。

表 3 正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	总黄酮/ (mg · g <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	12.702 480
2	1	2	2	2	12.986 240
3	1	3	3	3	9.280 529
4	2	1	2	3	10.936 960
5	2	2	3	1	13.088 890
6	2	3	1	2	7.331 279
7	3	1	3	2	3.361 273
8	3	2	1	3	2.155 887
9	3	3	2	1	0.095 255
K <sub>1</sub>	34.969 25	27.000 71	22.189 64	25.886 63	
K <sub>2</sub>	31.357 14	28.231 02	24.018 46	23.678 79	
K <sub>3</sub>	5.612 41	16.707 06	25.730 70	22.373 38	
R	29.356 83	11.523 96	3.541 05	3.513 25	

表 4 方差分析

Table 4 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	170.851 30	2	85.425 650	81.493 78	P < 0.01
B	26.697 17	2	13.348 590	12.734 19	P < 0.05
误差(C+D)	4.192 99	4	1.048 248		

$F_{0.05}(2,4) = 6.94$   $F_{0.01}(2,4) = 18.00$

可见, 因素 A 和 B 对试验结果有显著的影响,  $K_1 > K_2 > K_3$ , 故因素 A 选择水平 1, 即选择加热温

度为 210 °C;  $K_2 > K_1 > K_3$ , 故因素 B 选择水平 2, 即选择炒制时间为 8 min。

2.5 验证试验: 蒲黄炭炮制的最佳工艺为炒制温度控制在 210 °C, 炒制时间为 8 min。重复最佳工艺, 得到蒲黄炭样品中总黄酮的量为 12.18 mg/g。

### 3 讨论

目前蒲黄炭的炮制并无统一、规范的工艺要求, 其火候掌握完全依药工技术而定, 质量评价亦多是依靠外观性状指标。由此导致目前炮制工艺无统一规范质量标准, 各地差异较大。因此急需通过实验, 逐步统一规范。本课题组通过药理筛选及定量测定相结合的方法提出了蒲黄炭炮制的最佳工艺, 所提供的实验方法可靠, 测定结果能反映客观实际, 是对蒲黄炭炮制条件和规范的可贵探索, 也为蒲黄炭饮片的质量控制做了初步探索。

总黄酮的测定方式一般有紫外分光光度法和高效液相色谱法<sup>[2]</sup>。紫外全波长扫描显示芦丁与蒲黄总黄酮的甲醇溶液紫外光谱吻合性不好, 因此考虑加显色剂显色后测定其吸光度值。紫外分光光度法测定总黄酮一般用的显色剂是  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$  系统或  $\text{AlCl}_3\text{-NaAc}(\text{KAc})$  系统。蒲黄总黄酮甲醇提取液加入  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$  试剂后即产生絮状沉淀, 颜色由淡黄转为橙黄, 换成甲醇定容后浑浊度减轻, 但仍然随时间和供试品浓度的增加而增加。芦丁对照品加入试剂后颜色由淡黄转为樱红色, 且非常澄清。若使用  $\text{AlCl}_3\text{-NaAc}$  试剂, 则颜色由淡黄转为亮黄, 但仍发现有浑浊现象, 而芦丁对照品加入试剂后颜色由淡黄转为金黄色, 澄清。因此, 鉴于紫外分光光度法测定总黄酮有较大误差, 未予采用。

鉴于蒲黄中的黄酮类化合物分别是槲皮素、山柰素、异鼠李素的单糖、双糖、三糖及糖分子上接有桂皮酰基的苷, 其苷元基本是异鼠李素及少量的山柰素和槲皮素, 所以采用将黄酮苷水解, 得到的苷元以 HPLC 法检测, 测得苷元量的总和乘上平均转化因子 2.51, 计算总黄酮苷的量。

通过实验比较表明, 水解法测定蒲黄炭总黄酮较为准确。本炮制工艺, 将为制定系统合理的蒲黄炭饮片质量标准奠定基础, 为提高中药饮片的质量, 保证临床用药的安全性和有效性提供保障。

### References:

[1] Ch P (中国药典)[S]. Vol 1. 2005.  
 [2] Ju J M, Duan J A, Qian D W, et al. A study on the changing rules for total flavonoids and total terpene lactones in *Ginkgo biloba* leaves in different planting models and growing seasons [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(3): 195-198.