

对于以上两种方法,当 β -榄香烯的量过高时,脂质双分子层的分子排列遭到破坏,不利于脂质体的形成,产生絮状物,从而降低 β -榄香烯的包封率。

脂质体在高压作用下通过狭小的通道后,产生强大的剪切、冲击及空化撞击作用,脂质膜分子重新规整排列,形成预期的粒径极为均一的脂质体。对于本实验的 β -榄香烯脂质体,由逆相蒸发法制备的包封率较低且粒径分布较宽的 β -榄香烯脂质体,在 120 MPa 的压力下经过 3 次的高压挤压作用后,其粒径明显降低而包封率显著增加;同时脂质体的载药量也得到相应的提高。但若继续挤压,则起到相反的效果,可能施加的能量过高,破坏了脂质双分子层。

3.2 胆固醇对 β -榄香烯脂质体形成的影响:在形成脂质体时,胆固醇分子中的羟基与磷脂分子中的羰基以氢键形成复合物。胆固醇对磷脂的相变具有双向调节作用,在相变温度以上时,它能抑制磷脂分子中脂肪酰链的旋转异构化运动,降低膜的流动性;在相变温度以下时,膜脂处于晶态排列,它又可诱发脂肪酰链的歪扭构象的产生,从而阻止晶态的出现。胆固醇的用量对 β -榄香烯的包封率有影响,当卵磷脂与胆固醇质量比 10:1 时得到较高包封率的 β -榄香烯脂质体。胆固醇的量过高时,会使膜结构过于僵固,不利于药物的包封,而且在外观上不易形成均一相;胆固醇的量过低时,卵磷脂与 β -榄香烯可能易于形成胶束结构而不利于形成脂质体,从而也降低 β -榄香烯的包封率。

3.3 缓冲溶液离子强度对 β -榄香烯包封率的影响:脂质体中极性的偶极子卵磷脂 PC 的磷酸酯酰基团居膜面外层,胆碱基团朝内,这种取向使中性的卵磷脂 PC 脂质体膜表面诱导了负电荷^[7]。离子强度对脂质体粒子的表面电势有显著的影响作用^[10],离子

强度过高会有更多的反离子进入紧密层(Ster 层),导致扩散层被压缩,从而易于引起脂质囊泡之间的聚合。离子强度过高将影响 β -榄香烯脂质体的形成,明显降低 β -榄香烯的包封率和引起 β -榄香烯脂质体的存储不稳定。

可见,逆相蒸发结合压力挤压的方法是较易于实现批量生产 β -榄香烯脂质体的方法:卵磷脂与胆固醇的质量比为 10:1,采用较低离子强度的缓冲溶液有利于 β -榄香烯脂质体的制备。以上工艺方法也可以为其他脂溶性药物的脂质体制备及包封率的测定提供参考。

References:

- [1] Barenholz Y. Liposome application: problems and prospects [J]. *Curr Opin Coll Int Sci*, 2001, 15 (6):66-77.
- [2] Chen Y R, Wu X Y. Beta-elemene, method to prepare the same and uses thereof [P]. US: 402744US, 1998-10-22.
- [3] Guo T, Zhang H R. The determination of distribution of β -elemene in rabbit eyes by gas chromatography [J]. *Chin Ophthal Res* (眼科研究), 2000, 18(4): 333-335.
- [4] Wei F X, Deng X L, Chen X. Determination of element in essential oil from *curcuma* by GC [J]. *Hebei Univ Sci Technol* (河北科技大学学报), 2005, 26(3):119-222.
- [5] Yu Y H, Li X C, Wu T. Study on liposome preparation technique of *Bupleurum chinense* volatile oil for injection [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(6): 251-255.
- [6] Bangham A D, Standish M M, Watkins J C. Diffusion of univalent ions across the Lamellar of Swollen phospholipids [J]. *J Molecul Biol*, 1965, 13: 238-252.
- [7] Deamer D, Bangham A D. Large volume liposomes by an ether vaporization method [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1976, 443(3):629-634.
- [8] Kremer J M H. Vesicles of variacle diameter by a modified injection method [J]. *Biochemistry*, 1997, 16 (17): 3932-3935.
- [9] Bloomfield V A, *Dynamic Light Scattering Application of Photon Correlation Spectroscopy* [M]. New York: Plenum, 1985.
- [10] Tong H, Yao S N. Effect of different type electrolyte on surface potential of liposome of PC and PC-cholesterol [J]. *Acta Physico Chim Sin* (物理化学学报), 1998, 14(9): 1043-1047.

膨润土纯化黄芩水提液的研究

张建伟¹, 王中原¹, 肖 斌²

(1. 沈阳化工学院, 辽宁 沈阳 110142; 2. 辽河石油勘探局油田建设二公司, 辽宁 盘锦 124120)

絮凝澄清法处理中药水提液比醇沉法具有成本低,有效成分损失小等优点。但目前所应用的絮凝剂仍会造成有效成分的损失。膨润土是天然纳米材料,

能吸附有机物,是一种具有选择性絮凝中药水提液中杂质的絮凝剂^[1],本实验采用膨润土对黄芩水提液进行除杂净化。

收稿日期:2006-03-05

基金项目:辽宁省教育厅科学研究计划(05L331)

作者简介:张建伟(1964—),男(满),辽宁省义县人,博士,教授,硕士研究生导师,沈阳化工学院机械工程学院院长,一直从事固液分离和高效率节能过程装备的科学研究工作。 Tel:(024)89383279 E-mail:zhangjianwei64@163.com

1 仪器与材料

722 型可见分光光度计;UV-2550 型紫外-可见分光光度计;LD4-2 型医用离心机。

黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 磨成粉末,产地山西,经沈阳化工学院制药教研室鉴定;膨润土(化学纯,上海试四赫维化工有限公司);芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200306)。

2 方法与结果

2.1 黄芩水提液的制备:将黄芩粉末适量加入 10 倍量的水煎煮,从沸腾开始计时,煎煮 1 h,用纱布滤过滤液,挤干滤渣,滤渣再用 8 倍量水煎煮 1 h,合并两次滤液,浓缩至以生药计 0.1 g/mL。

2.2 黄芩总黄酮的测定^[2]

2.2.1 标准曲线的绘制:精密称取芦丁对照品 20 mg 放入 100 mL 量瓶中,加 60%乙醇适量,置水浴上加热溶解,放冷,用 60%乙醇稀释至刻度,摇匀,用移液管精确量取 25 mL 放入 50 mL 量瓶中,用蒸馏水稀释到刻度。用移液管准确吸取两组 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加 30%乙醇使成 5 mL。一组以蒸馏水定容,作为参比备用,一组分别加入 5%亚硝酸钠溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,再加 10%硝酸铝溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 4%氢氧化钠溶液 4 mL,后用水定容到 10 mL,静置 15 min,分别以同质量浓度药液为参比在 510、900 nm 测吸光度(测前摇匀),两者相减,绘制吸光度与质量浓度间的关系曲线。曲线经拟合后方程为 $Y = -0.14383 + 9.21479X, r = 0.99993$ 。

2.2.2 测定:用移液管精密吸取药液 2.5 mL 放入 10 mL 量瓶中,用 67%乙醇定容,摇匀。之后在 60~75 °C 水浴中加热 5 min 以使黄酮类化合物充分溶解,冷却,摇匀,滤过除杂。用移液管精密吸取滤液 2 mL 置于 50 mL 量瓶中,用 30%乙醇定容,摇匀。分别吸取 5 mL 稀释后的溶液置于两个 10 mL 量瓶中,其一以水定容作为参比待用,向另外一个加入 5%亚硝酸钠溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,再加 10%硝酸铝溶液 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,加 4%氢氧化钠溶液 4 mL,后用水定容到 10 mL,静置 15 min。用分光光度计分别测定 510、900 nm 时的吸光度(测前摇匀),两者相减,然后根据标准曲线方程换算成总黄酮质量浓度。总黄酮损失率=(澄清前总黄酮质量-澄清后总黄酮质量)/澄清前总黄酮质量×100%。计算总黄酮损失率时需按膨润土的加入量进行修正。

2.3 黄芩水提液的性质:对黄芩水提液进行重力沉

降和 3 000 r/min 离心 20 min 的离心沉淀,结果对比见表 1。

表 1 黄芩水提液的相关性质

Table 1 Correlative characters of *S. baicalensis* water extract

处 理	混浊度	澄清率/%	总黄酮质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	总黄酮损失率/%
水提液	1.015	—	2.716	—
重力沉降	0.521	48.7	2.790	-2.7
离心沉降	0.069	93.2	2.753	-1.4

可以看出,黄芩中的黄酮类物质(主要是黄芩苷)和杂质在水提液中形成了稳定的胶体溶液,离心沉降只能部分去除大分子杂质而对黄酮类物质没有影响,这些大分子杂质引起黄芩水提液的混浊。所以,在黄芩水提液中,有效成分能形成比杂质更稳定胶体溶液,能和水提液中的杂质胶体共存,而且并没有和杂质胶体结合或镶嵌在一起,为实现絮凝和选择性絮凝提供了条件。黄芩水提液在 600 nm 以后就没有吸收现象(图 1),所测的吸光度是由于水提液中的大分子杂质散射引起的。当质量浓度较低时,杂质散射引起的吸光度与杂质质量浓度近似成正比(图 2)。

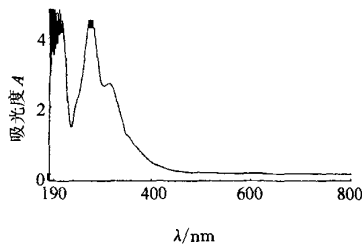


图 1 黄芩水提液紫外光谱

Fig. 1 UV Spectrum of *S. baicalensis* water extract

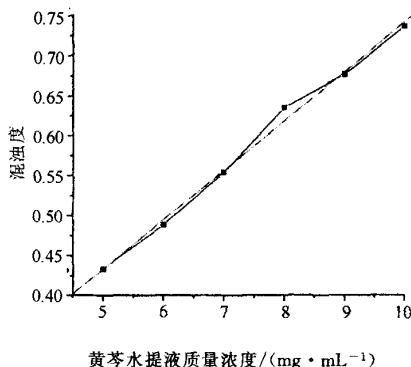


图 2 黄芩水提液混浊度与质量浓度关系

Fig. 2 Relationship of turbidness degree and concentration of *S. baicalensis* water extract

2.4 黄芩水提液随 pH 值的变化考察:以药液(稀释 10 倍)在 700 nm 的吸光度(以水为参比)作为其混浊程度指标(称为混浊度),黄芩水提液在不同 pH

值静置 12 h 后,上清液的混浊度和总黄酮质量浓度与 pH 值关系见图 3、4。结果表明黄芩水提液有自澄清现象。这些现象也能反映出黄芩水提液中杂质和有效成分在不同 pH 值时的存在状态。

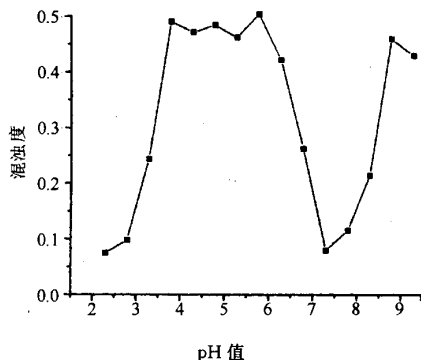


图 3 药液混浊度与 pH 值关系

Fig. 3 Relationship between turbidness degree and pH values

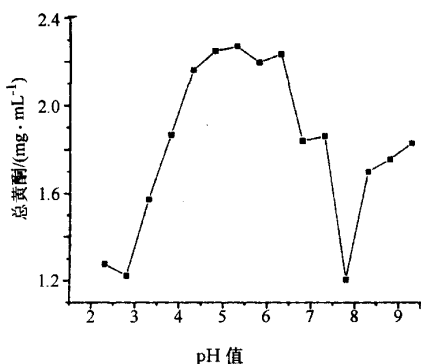


图 4 药液总黄酮质量浓度与 pH 值关系

Fig. 4 Relationship between total flavones and pH values

2.5 膨润土溶液的配制:配制含 10%膨润土的悬浮液,搅拌后静置,充分溶胀 24 h。

2.6 絮凝过程:取一定量的膨润土悬浮液加入量瓶中,用适当 pH 值的黄芩水提液定容,摇匀,倒入试管中静置 12~18 h。

2.7 絮凝效果的测定:按絮凝(澄清)率=(澄清前混浊度-澄清后混浊度)/澄清前混浊度×100%计算,计算絮凝率时需按膨润土的加入量进行修正。

2.8 膨润土对黄芩水提液的絮凝澄清:以调 pH 值后重力沉降的药液作为澄清前药液计算的絮凝率称为相对絮凝率。它考察膨润土在絮凝澄清过程中所起作用,去除了药液自身絮凝和沉降的影响。以未调 pH 值重力沉降的药液作为澄清前的药液计算的絮凝率称为绝对絮凝率。它考察药液自澄清和膨润土澄清的总澄清效果。

影响絮凝澄清的因素有絮凝剂用量、pH 值、絮凝温度、搅拌、药液质量浓度等。根据絮凝理论和经验可知絮凝剂用量和 pH 值对中药水提液絮凝澄清的影响最大,所以对这两个因素进行考察,得到的数据绘成图。

2.8.1 絮凝率与膨润土加入量的关系:随着膨润土加入量的增加,絮凝率提高(图 5、6),两者的关系基本符合絮凝吸附曲线(图 7)。受药液自澄清的影响,在 pH 7.3 和 pH 3.3 时,曲线规律性较差。

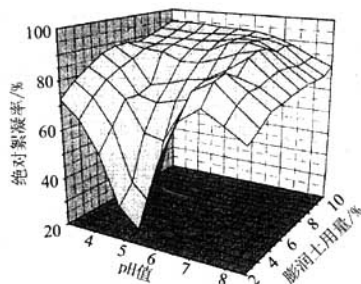


图 5 pH 值、膨润土用量与绝对絮凝率的关系曲面图

Fig. 5 Correlative profile of pH values, bentonite use level, and absolute flocculation rate

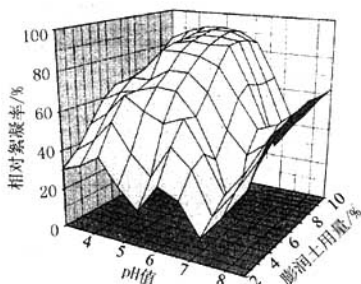


图 6 pH 值、膨润土用量与相对絮凝率的关系曲面图

Fig. 6 Correlative profile of pH values, bentonite use level, and relative flocculation rate

当药液较澄清时(混浊度在 0.1 以下),膨润土加入量的增加不再对药液有明显的澄清作用,绝对絮凝率 93%成为最大值,说明膨润土具有选择性。

2.8.2 絮凝率与 pH 值的关系:由于受药液自澄清和膨润土絮凝选择性的影响,无法通过相对絮凝率来明确了解 pH 值对膨润土絮凝的影响规律。因此观察在吸附饱和时的绝对絮凝率(图 8)。在碱性条件下,絮凝效果有所下降,随着 pH 值增大降低更明显。

2.9 膨润土对黄芩水提液的絮凝澄清时的有效成分的损失研究:以调 pH 值后重力沉降的药液作为澄清前药液计算总黄酮损失率称为相对总黄酮损失率,以未调 pH 值重力沉降的药液作为澄清前药液计算的总黄酮损失率称为绝对总黄酮损失率。

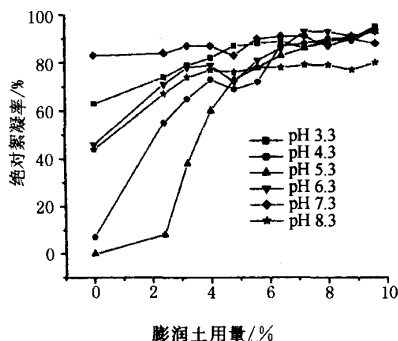


图 7 不同 pH 值时绝对絮凝率与膨润土用量的关系
Fig. 7 Relationship between absolute flocculation rate and bentonite use level at different pH values

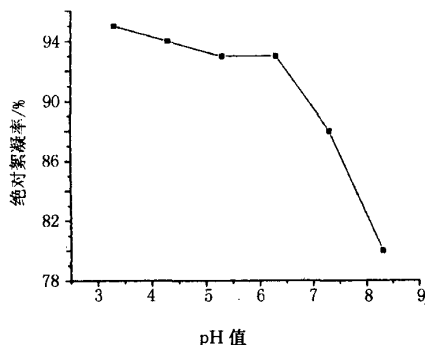


图 8 吸附饱和后的绝对絮凝率与 pH 值的关系
Fig. 8 Relationship between absolute flocculation rate and pH values under adsorption saturation

2.9.1 总黄酮损失率与膨润土用量的关系:总黄酮损失率与膨润土用量之间没有明显的规律(图 9),这说明总黄酮损失率与膨润土用量无关。这个现象从侧面说明了膨润土对黄酮类物质不起絮凝作用。

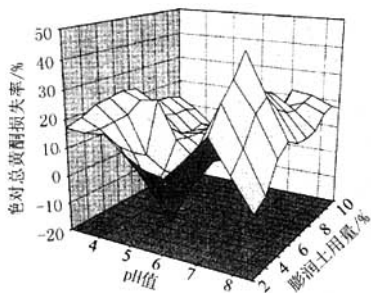


图 9 绝对总黄酮损失率随 pH 值和膨润土用量的变化曲面图
Fig. 9 Varied profile of absolute losing rate of total flavones changes followed by bentonite use level and pH values

2.9.2 总黄酮损失率与 pH 值的关系:由于总黄酮损失率与膨润土用量无关,所以以平均总黄酮损失率来考察两者的关系,见表 2。

表 2 总黄酮损失率与 pH 值的关系
Table 2 Relationship between losing rate of total flavones and pH values

pH 值	绝对总黄酮损失率/%	不加膨润土时总黄酮损失率/%	相对总黄酮损失率/%
3.3	16.29	27.0	-14.67
4.3	7.80	5.0	2.95
5.3	1.95	0.0	1.95
6.3	2.71	9.5	-7.50
7.3	30.50	18.0	15.24
8.3	15.00	25.0	-26.67

不同 pH 值时的绝对总黄酮损失率各不相同,这与药液自澄清引起的总黄酮损失密切相关。绝对总黄酮损失率考察药液自澄清和膨润土澄清的总损失率。相对总黄酮损失率表现了膨润土对黄酮类物质的絮凝作用,去除了药液自澄清的影响,能够说明膨润土的絮凝选择性。在 pH 4.3 和 pH 5.3 处,相对总黄酮损失率很小,接近于零,说明此时膨润土对黄酮类物质没有絮凝吸附作用,少量的有效成分损失是由于夹杂效应^[1]造成的。在 pH 3.3、6.3、8.3 时,相对损失率出现负值,说明膨润土不仅对黄酮类有效成分没有絮凝吸附作用,而且还能够降低药液自澄清引起的总黄酮损失,其原因与膨润土的絮凝吸附机制有关。

3 讨论

膨润土是三层晶格结构的黏土类矿物,在水中以薄片状存在,具有较大的表面积,其薄片表面带负电^[3],这些特点使得膨润土能够利用范德华力絮凝吸附中药水提液中的大分子杂质,而由于静电作用不吸附小分子的有效成分,从而达到选择性絮凝中药水提液的目的,因此膨润土作为中药的絮凝剂有广阔的应用前景。

References:

- [1] Zhang J W, Wang Z Y. The method and mechanism of selective flocculation (I): method of increasing or decreasing active sites of particles [J]. *J Filtr Separ* (过滤与分离), 2005, 15 (1): 1-4.
- [2] Sa S Y, Xu L S. *Analytical Method of Chinese Herbs Effective Components* (中草药有效成分分析法) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982.
- [3] Ju J Y, Shen D X. *Exploitation and Application of Bentonite in Engineering* (膨润土在工程中的开发与应用) [M]. Beijing: China Architecture Material Press, 2003.