

2.11 样品测定:精密吸取各供试品溶液 10 μL , 进样分析, 每个样品测定 3 次峰面积, 根据回归方程计算样品中土的宁、脂蟾毒配基和华蟾酥毒基的质量分数, 结果见表 1。

表1 仙蟾胶囊中土的宁、脂蟾毒配基与华蟾酥毒基的测定

Table 1 Determination of strychnine, bufogenin, and cinobufogenin in Xianchan Capsula

批号	土的宁/ ($\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$)	脂蟾毒配基/ ($\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$)	华蟾酥毒基/ ($\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$)	脂蟾毒配基+ 华蟾酥毒基/ ($\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$)
040802	0.293	0.319	0.283	0.602
040805	0.285	0.317	0.293	0.610
040808	0.274	0.329	0.308	0.637

《中国药典》2005 年版一部规定, 蟾酥药材中脂蟾毒配基与华蟾酥毒基总量不得少于 6.0%, 仙蟾制剂中蟾酥药材为粉末直接入药, 如果按生产时药材粉碎和制剂过程中蟾酥损失率不超过 10%, 并综合考虑蟾酥药材的来源、加工炮制、制剂生产、储藏等因素及本实验的测定结果, 建议仙蟾胶囊的质量规格下限暂定为脂蟾毒配基与华蟾酥毒基总量不少于 0.54 $\text{mg}/\text{粒}$ 。

3 讨论

由土的宁、脂蟾毒配基、华蟾酥毒基对照品溶液

紫外扫描图谱, 可见各成分最大吸收波长分别为 254、298、294 nm , 从检测灵敏度和分离度考虑, 选取 254 nm 作为土的宁的定量检测波长, 296 nm 作为脂蟾毒配基与华蟾酥毒基的定量检测波长。

原仙蟾片质量标准中采用薄层扫描法测定土的宁, 供试品溶液的制备采用多次萃取法, 方法操作繁琐、重现性差、准确度较低。本研究参照《中国药典》2005 年版一部马钱子项下土的宁的测定法, 采用反相离子对色谱法测定, 并且供试品溶液的制备采用碱化后加热回流法, 操作简便, 杂质干扰少, 分离度佳, 结果准确, 重现性好。此外, 流动相以十二烷基磺酸钠代替《中国药典》2005 年版马钱子药材中土的宁测定法采用的价格昂贵的庚烷磺酸钠。

参考文献

- [1] 国家中成药标准汇编 [S]. 口腔肿瘤儿科分册, 2002.
- [2] 中国药典 [S]. 一部, 2005.
- [3] 黄喜茹, 曹东. 马钱子研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(1): 62-64.
- [4] 程国华. 蟾酥质量研究及其药理临床应用进展[J]. 中草药, 2001, 32(2): 184-186.
- [5] 赵一强, 孟凡静, 刘安西. 蟾酥的研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(10): j004-j007.
- [6] 赵珍东, 黄兆胜. 马钱子毒副作用研究进展[J]. 国医论坛, 2003, 18(1): 50-51.
- [7] 梁秀兰, 许廷生, 黄新, 等. 蟾酥及其成方制剂的合理应用[J]. 中国药物与临床, 2004, 4(3): 217.

野菊花中绿原酸的微波辅助萃取研究

凌仁怡¹, 王娟², 沈平^{2*}

(1. 华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237; 2. 国家中药制药工程技术研究中心, 上海 201203)

摘要:目的 研究微波辅助萃取野菊花中绿原酸的提取工艺。方法 以产品得率和绿原酸质量分数为指标, 均匀设计 4.0 软件设计的 $U_{10}(10^8)$ 均匀试验表对野菊花的微波辅助萃取工艺参数进行优化。结果 优化出的最佳工艺: 微波功率 340 W、辐射时间 20 min、溶剂乙醇体积分数 60%、乙醇用量为 9 倍, 浸泡时间 30 min。与传统加热回流野菊花产品得率和绿原酸质量分数(分别为 16.8%、0.889%)比较, 优化的微波辅助萃取野菊花所得相应指标分别为 18.3%、1.212%。**结论** 微波辅助萃取野菊花中绿原酸具有萃取时间短、溶剂用量少、目标组分得率高等优点。

关键词: 野菊花; 微波辅助萃取; 绿原酸; 均匀设计

中图分类号: R 286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)01-0060-03

野菊花又名山菊花、苦蕒、疟疾草, 为菊科植物野菊 *Chrysanthemum indicum* L. 的干燥头状花序, 具有清热解毒、疏风平肝的功效。野菊花具有广谱抗菌、抗病毒等作用^[1], 其中绿原酸是主要活性成分。由于传统的加热回流方式存在提取时间长、溶剂用

量多、能耗大、生产成本高等缺陷, 一些新型的提取工艺应运而生, 如超临界萃取、微波辅助萃取、超声萃取等, 其中微波辅助萃取工艺在中药制药领域中的应用研究越趋活跃。因此本实验采用微波辅助萃取方法, 借助微波“体加热”的方式对野菊花中的绿

* 收稿日期: 2007-05-19

基金项目: “十五”国家科技攻关项目(2004BA721A-40)

作者简介: 凌仁怡(1981—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药研究与开发。Tel: (021) 50805522 E-mail: lzy.1981@hotmail.com

原酸进行萃取研究,以绿原酸的量为指标,通过均匀设计方法,对其萃取参数进行优化,确定出最佳工艺条件。

1 材料与仪器

微波萃取器由V IP272 惠而浦家用微波炉改造而成;美国W aters 510 高效液相色谱仪, PDA 检测器, M illennium 32 色谱工作站; SA GA - 50D Y 实验室级超纯水器。

野菊花由上海养和堂中药饮片有限公司提供,经上海中药研究所鉴定,属菊科植物野菊 *C. indicum* L. 的干燥头状花序;乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯;绿原酸对照品(批号 0753—200111)购自中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 绿原酸的HPLC 法测定^[2]

2.1.1 色谱条件: YMC 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸(10 : 90); 体积流量: 1.0 mL /m in; 检测波长: 327 nm; 柱温: 25℃。

2.1.2 线性关系考察: 精密称取绿原酸对照品3.98 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 用 50% 甲醇溶解, 并加至刻度, 摇匀, 得39.8 μg/mL 对照品溶液。分别进样 2、4、10、16、20 μL 测定峰面积。以进样量对相应峰面积进行线性回归, 回归方程为 $Y = 117\,490 X - 5\,286.6$, $r = 0.999\,9$, 线性范围: 0.08~ 0.8 μg。

2.1.3 精密度试验: 取 39.8 μg/mL 绿原酸对照品

溶液, 连续进样 5 次, 测定色谱峰面积, 计算得其 RSD 为 1.37%。

2.1.4 重现性试验: 取同一批干浸膏样品 5 份, 制备供试品溶液, 分别进样 10 μL, 测定绿原酸峰面积, 计算其质量分数, RSD 为 1.40%。

2.1.5 稳定性试验: 取供试品溶液 10 μL, 分别在 0、1、2、4、6 h 测定绿原酸峰面积, 计算得其 RSD 为 1.18%, 结果表明供试品溶液在 6 h 内稳定。

2.1.6 回收率试验: 精密称取含绿原酸 1.041% 的野菊花干浸膏样品 12.91 mg, 各 5 份, 分别精密加入 39.8 μg/mL 绿原酸对照品溶液 2 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 结果绿原酸的平均回收率为 99.86%, RSD 为 1.82%。

2.1.7 样品测定: 精密称取微波辅助萃取工艺所得的干浸膏样品 50 mg, 置于 20 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇溶解并加至刻度, 作为供试品溶液。取供试品溶液, 分别进样 10 μL, 测定绿原酸峰面积, 采用外标法计算各样品中绿原酸的质量分数。

2.2 微波辅助萃取法及优化: 向微波辅助萃取器中投入 100 g 野菊花, 以乙醇体积分数、辐射时间、微波功率、乙醇用量和浸泡时间为考察因素, 见表 1。按照均匀设计 4.0 软件设计的 $U_{10}(10^8)$ 均匀试验表进行。将萃取液真空浓缩、干燥, 得干浸膏, 进行绿原酸的测定, 计算产品得率 (Y_1) ($Y_1 = \text{干浸膏质量} / \text{原药材投料量} \times 100\%$) 和绿原酸的质量分数 (Y_2), 结果见表 2。

表1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素				
	X ₁ 乙醇体积分数/%	X ₂ 辐射时间/m in	X ₃ 微波功率/W	X ₄ 乙醇用量/倍	X ₅ 浸泡时间/m in
1	50	10	170	5	0
2	60	20	340	7	20
3	70	30	510	9	40
4	80	40	680	11	60
5	90	50	850	13	80

表2 均匀试验设计及结果

Table 2 Design and results of uniform test

试验号	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	Y ₁	Y ₂
1	50	340	10	9	120	21.01	0.759 7
2	50	510	20	13	90	27.29	0.772 0
3	60	850	5	7	60	19.68	0.759 7
4	60	170	15	13	30	15.47	0.696 0
5	70	340	25	7	0	21.41	0.868 7
6	70	680	5	11	120	17.49	0.891 7
7	80	850	15	5	90	14.58	0.884 0
8	80	170	25	11	60	16.88	1.095 6
9	90	510	10	5	30	9.41	0.775 4
10	90	680	20	9	0	12.07	0.981 8

将测定结果通过均匀设计 4.0 版软件中自选变量法进行数据分析, 可分别获取 Y_1 、 Y_2 的回归方程, 进而求出 Y_1 、 Y_2 的优化组合, 同时在此基础上做进一步的综合分析, 得出综合优化参数组合: $X_1 = 60\%$, $X_2 = 20$ m in, $X_3 = 340$ W, $X_4 = 9$, $X_5 = 30$ m in。

2.3 验证试验: 采用均匀设计优选出的最佳条件制备 3 批样品, 测定, 计算 Y_1 和 Y_2 , 结果得 $Y_1 = 18.30\%$, $Y_2 = 1.212\%$ ($n = 6$)。

以优化工艺参数进行微波辅助萃取与传统提取方法比较, 结果见表 3。结果表明, 相同萃取条件下,

表3 微波辅助萃取与传统提取方法比较

Table 3 Comparison between microwave extraction and traditional method

萃取方法	溶剂体积分数/%	萃取时间/min	溶剂用量/mL	浸泡时间/min	产品得率/%	绿原酸质量分数/%
微波辅助萃取	60	20	900	30	18.3	1.212
传统加热回流	60	20	900	30	16.8	0.889

对比传统提取方式,微波辅助萃取所得的干膏中绿原酸的质量分数高,干膏得率大,具有显著优势。

3 讨论

实验发现萃取剂体积分数对微波辅助萃取野菊花中绿原酸的影响最大。其原因可能是乙醇体积分数决定了溶剂的极性大小,与微波的吸收效果关系密切,直接影响微波萃取的效果。乙醇体积分数不同,对绿原酸的溶解能力不一样,从而影响其溶出度。乙醇体积分数、微波萃取时间、微波辐射功率和固液比都会影响药材和萃取溶剂对微波辐射能量的吸收,所以各参数之间具有一定的交互作用。

微波辅助萃取不同于传统加热回流方式,其微波直接作用于溶剂和药材,热量和有效成分均由内向外传出,从而使得萃取时间短、提取效率高。结果表明,相同提取条件下,微波辅助萃取具有显著优势。由此可见,其产业化应用将为中药制药领域中的提取技术注入新的活力。

参考文献

- [1] 石兰萍,田琳琳,袁劲松,等.野菊花的研究概况[J].中西医结合心脑血管病杂志,2005,3(5):434-436.
- [2] 姜丽霞,徐世芳.HPLC法测定野菊花中绿原酸的含量[J].中国药品标准,2003,4(6):54-56.

胶原纤维吸附剂对银杏叶中鞣质的选择性去除作用

李娟,廖学品,唐睿,石碧*

(四川大学皮革化学与工程教育部重点实验室,四川成都 610065)

摘要:目的 研究胶原纤维吸附材料对银杏叶中鞣质的选择性去除作用。方法 以皮胶原纤维为原料,通过戊二醛交联反应制备吸附材料。将此吸附材料用于选择性地去除银杏叶提取物中的鞣质,并用HPLC和明胶法对吸附实验结果进行检测。结果 HPLC图谱和明胶法检测结果说明,所制备的胶原纤维吸附材料具有较好的吸附选择性,可以完全除去银杏叶提取物中的鞣质,而有效成分基本不损失。结论 胶原纤维吸附材料可用于中药提取物或制剂中鞣质的高选择性脱除。

关键词: 银杏叶;胶原纤维;鞣质;吸附选择性

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)01-0062-04

银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* L. extract, GbE)的主要成分是银杏黄酮和银杏苦内酯^[1],这些成分具有清除自由基、抗病毒、抗肿瘤、抗辐射、保肾等作用^[2]。但银杏叶提取物中含有鞣质、蛋白质等杂质,其中含鞣质为12.59%~13.92%^[3]。鞣质的存在不仅影响最终产品的稳定性和澄清度,而且可能产生副作用^[3],因此必须除去。常用的去除鞣质的方法主要有氨水沉淀法、明胶沉淀法、铅盐沉淀法、大孔树脂吸附法等^[4]。由于银杏黄酮分子与鞣质分子结构相似,因此常用方法的选择性较差,有效成分损失较多,而且可能引入其他更加难以去除的杂质。胶原

纤维中含有羧基、氨基和羟基^[5],能与鞣质分子的酚羟基发生多点氢键-疏水键结合^[6]。本课题组的前期研究发现,胶原纤维对鞣质具有选择性吸附能力^[7]。因此本实验以戊二醛为交联剂制备胶原纤维吸附材料,用于选择性地去除银杏叶提取物中的鞣质。

1 仪器与材料

Agilent 1100型高效液相色谱仪、DAD检测器(美国Agilent公司),UV-2501PC型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)。

落叶松鞣质(自制,由落叶松树皮提取^[7])。胶原纤维(实验室自制,制备方法参阅文献方法^[8])。1%

* 收稿日期:2007-03-22

基金项目:“973”重大基础前期研究专项(2004CCA06100);杰出青年基金资助项目(20325619)

作者简介:李娟(1982—),女,四川省西昌人,硕士研究生,研究方向为天然产物的分离。E-mail: blackgound@163.com

* 通讯作者 石碧 Tel: (028)85400356 Fax: (028)85400365 E-mail: sbitannin@vip.163.com