

确定了采用硫酸铵梯度法结合 pH 梯度法制备粉防己碱阿霉素脂质体。

稳定性的检查是脂质体制备中质量控制的重要环节。该实验对复合脂质体稳定性进行了一系列的检查。发现用硫酸铵梯度法结合 pH 梯度法制备的粉防己碱阿霉素脂质体需要在 4℃ 充氮气保存下,药物的渗漏率、粒径的大小变化和磷脂含量的变化最小。在后续的实验中,提高复合脂质体稳定性是重要的研究工作之一。

体外释药实验表明脂质体中的药物在 24 h 内几乎全部释放,而游离的药物在 8 h 内就已经释放完全,证明了脂质体具有较好的缓释作用,原因可能与药物被脂质体包裹后形成了难溶盐很难透过脂质体膜有关。此外,药物与脂质膜结合力大小也可能

会对缓释作用产生一定的影响。

本实验通过对粉防己碱阿霉素复方脂质体的工艺优化、稳定性及释放度试验,表明了将两种药物同时封装于同一脂质体的可能,为下一步粉防己碱阿霉素复方脂质体逆转乳腺癌耐阿霉素细胞 MCF-7/DOX 最佳比例试验提供参考。

参考文献:

- [1] Chen YJ. Potential role of tetrandrine in cancer therapy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(12): 1102-1106.
- [2] 潘启超,田 晖. 多种中药单体逆转肿瘤多药耐药性[J]. 科学通报, 1995, 40(20): 38-40.
- [3] 张灵芝. 脂质体制备及其在生物学中的应用[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998: 57-58.
- [4] 朱 莉,潘黎军,胡春梅,等. 5-氟尿嘧啶核苷前药脂质体中磷脂含量的测定[J]. 中国药房, 2008, 19(7): 547-548.
- [5] 张 青,朱家璧,邱丽梅. 盐酸左氧氟沙星脂质体的包封率和体外释放研究[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(6): 208-212.

Caco-2 细胞单层研究淫羊藿黄酮类成分的吸收转运

陈 彦¹, 贾晓斌¹, HU Ming^{2*}

(1. 江苏省中医药研究院, 江苏省现代中药制剂工程技术研究中心, 江苏 南京 210028;

2. University of Houston, Houston 77030, USA)

摘要:目的 研究淫羊藿黄酮类成分在 Caco-2 细胞模型中的吸收转运。方法 采用超高压液相法测定药物浓度, 计算表观渗透系数 (P_{app}), 研究淫羊藿黄酮 5 个主要成分淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 在 Caco-2 细胞模型中的双向转运。结果 淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 的吸收渗透系数 (P_{AB}) 较小, 分别为 5.91×10^{-7} 、 3.22×10^{-7} 、 2.76×10^{-7} 、 4.23×10^{-7} cm/s, 宝藿苷 相对较大, 为 1.46×10^{-6} cm/s; 5 个化合物的分泌渗透系数 (P_{BA}) 都比其相应的吸收渗透系数要大, 其中宝藿苷 的分泌渗透系数是其吸收渗透系数的 9.8 倍。结论 淫羊藿黄酮类成分的肠道吸收较差, 可能存在肠道转运蛋白的外排机制, 其中三糖苷 (朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C) 的吸收要小于二糖苷 (淫羊藿苷), 二糖苷的吸收要小于单糖苷 (宝藿苷)。

关键词:淫羊藿黄酮; Caco-2 细胞单层模型; 淫羊藿苷; 渗透系数

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)02-0220-05

Absorption and transportation of flavonoids in Herb Epimedii across Caco-2 monolayer model

CHEN Yan¹, JIA Xiao-bin¹, HU Ming²

(1. Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Engineering and Technology Research Center for Modern Chinese Pharmaceutical Preparation, Nanjing 210028, China;

2. University of Houston, Houston 77030, USA)

Abstract: **Objective** To study the absorption and transportation of flavonoids in Herb Epimedii by using Caco-2 monolayer model. **Methods** Caco-2 cell monolayer model was used to study the bi-direction transport of icariin, epimedin A, epimedin B, epimedin C, and baohuoside. The concentration of the five flavonoids in cell culture medium was measured by UPLC and the apparent permeability coefficients (P_{app}) were calculated. **Results** The absorptive permeability coefficients (P_{AB}) of icariin, epimedin A, epimedin B, epimedin C, and baohuoside were 5.91×10^{-7} , 3.22×10^{-7} , 2.76×10^{-7} , 4.23×10^{-7} , and

* 收稿日期: 2008-04-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30572372)

作者简介: 陈彦 (1968—), 女, 江苏南京人, 副研究员, 博士, 江苏大学硕士生导师, 中华中医药学会炮制分会委员, 美国休斯顿大学高级访问学者, 主要从事中药制剂学研究, 特别在中药多组分离子型, 如中药滴丸、多组分微乳、复方微乳等研究领域。

Tel: (025) 85608672 E-mail: ychen202@yahoo.com.cn

1.46×10^{-6} cm/s, respectively. Except baohuoside, the other four flavonoids had lower permeabilities, and the secretive permeabilities (P_{BA}) of all the flavonoids were larger than their absorptive permeabilities. Among them, the P_{BA} of baohuoside was 9.8 times as much as the P_{AB} . **Conclusion** The results suggest that the intestinal absorption of the five flavonoids is lower, which might have efflux mechanism by transporters, and the absorption of monoglycoside (e. g. baohuoside) is better than that of diglycoside (e. g. icariin) and triglycoside (e. g. epimedin A, epimedin B, and epimedin C).

Key words: flavonoids in *Herb Epimedii*; Caco-2 cell monolayer model; icariin; permeability coefficients

淫羊藿为我国传统的补益中药,始载于《神农本草经》,并记载于历代本草。淫羊藿具有补肝肾、强筋骨、祛风湿的作用,临床上用于治疗阳痿、腰膝酸软、风湿痹痛等症。淫羊藿主要有效成分为黄酮类化合物,其中以 8 位异戊烯基取代黄酮的量较高,主要是淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷。现代药理研究表明^[1,2],淫羊藿苷等异戊烯基取代黄酮对心脑血管系统、骨代谢、免疫系统、及性机能等方面具有广泛的药理功效,但此类黄酮在体内吸收转运的情况并不清楚。Caco-2 细胞系 (human colon adenocarcinoma cell lines) 来源于人的直肠癌,其结构和生化作用类似于人小肠上皮细胞,含有与小肠刷状缘上皮相关的酶系^[3]。由于药物透过 Caco-2 细胞单层的体外过程与口服药物在肠道吸收有良好的相关性,因此 Caco-2 细胞模型近年来被国外药物研究机构或开发公司广泛用于药物摄取、外排及跨膜转运等吸收机制的研究。本实验采用 Caco-2 细胞单层模型研究淫羊藿苷等异戊烯基取代黄酮的肠渗透性,从而揭示其吸收转运情况。

1 材料

二氧化碳培养箱 (Hearous, 德国); XDS-1B 倒置显微镜 (重庆); 超高压液相色谱仪 Waters AcquityTM (Waters, 美国); Millicell-ERS 跨膜电阻仪 (Millipore, 美国); Transwell 培养板 (NUNC, 丹麦); 高速冷冻离心机 (Beckman, 美国); Milli-Q 纯水机 (Millipore, 美国)。

Caco-2 TC7 细胞株由法国 Monique Rousset 博士馈赠。

DMEM 培养基 (dubecco's modified eagle's medium, Hyclone 公司); 胎牛血清 (Equitech-Bio Inc. 公司); 非必需氨基酸、HEPES 粉末 (JRH 公司); 谷氨酰胺、胰蛋白酶、Hank's 平衡盐粉末 (sigma 公司); 淫羊藿苷 (批号 110737-200312, 质量分数大于 98%) 由中国药品生物制品检定所提供。朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 对照品为实验室自制, 质量分数均大于 98%。乙腈、三乙胺、甲酸

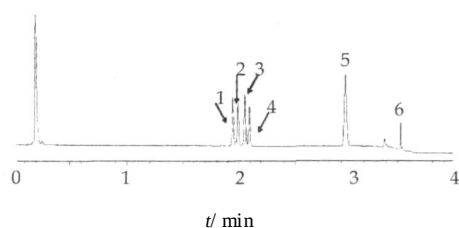
均为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 Caco-2 细胞单层模型的建立^[4,5]: Caco-2 细胞培养于 DMEM 培养液中, 含胎牛血清 10%, 非必需氨基酸 1%, 谷氨酰胺 1%, 青霉素 (100 U/mL)-链霉素 (100 μg/mL) 双抗液, 在 37℃ 的 5%CO₂ 恒温培养箱中培养。隔天换 1 次培养液, 每 5~7 天用胰蛋白酶消化传代。将 Caco-2 细胞混悬液种植于 Transwell 培养板上的多聚碳酸酯膜中, 细胞种植密度为 1×10^6 个/cm², 单层细胞于 19~21 d 左右分化形成, 用跨膜电阻仪检测跨膜电阻, 各孔跨膜电阻值均大于空白对照值 100 hm/4.2 cm² 以上, 即符合实验要求可用于试验。Caco-2 细胞单层模型见文献报道^[6]。

2.2 超高压液相色谱对样品分析方法的建立

2.2.1 色谱条件: ACQUITY UPLCTM BEH C₁₈ 柱 (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相: A 相为三乙胺-甲酸缓冲溶液 (pH 3.0)-乙腈 (9:1), B 相为乙腈-水溶液 (9:1), 梯度洗脱, 0 min: A 95%, 0.3 min: A 95%, 2.9 min: A 65%, 3.2 min: A 0%, 保持 0.8 min; 体积流量为 0.75 mL/min; 检测波长为 268 nm; 内标物睾酮检测波长为 245 nm; 检测柱温 45℃; 样品温度 20℃。色谱图见图 1。



1-朝藿定 A 2-朝藿定 B 3-朝藿定 C 4-淫羊藿苷
5-宝藿苷 6-睾酮内标

1-epimedin A 2-epimedin B 3-epimedin C 4-icariin
5-baohuoside 6-testosterone internal standard

图 1 各化合物经过 Caco-2 细胞单层后的超高效液相色谱图

Fig. 1 UPLC Chromatogram of compounds transported from Caco-2 cell monolayer

2.2.2 对照品储备液的配制: 精密称取淫羊藿苷

2.704 mg、朝藿定 A 3.291 mg、朝藿定 B 3.168 mg、朝藿定 C 3.160 mg、宝藿苷 2.058 mg 分别加二甲亚砜-乙醇(6:4)溶解至 2 mL,配制成 2 mmol/L 的各药物储备液。

2.2.3 鞣丸酮内标溶液的配制:精密称取鞣丸酮 14.4 mg,加乙腈溶解定容至 5 mL,即配制成 10 mmol/L 的储备液。精密吸取鞣丸酮储备液 0.1 mL,加入 9.4 mL 乙腈与 0.6 mL 冰乙酸,混合均匀,即为 100 μ mol/L 内标液,备用。

2.2.4 供试品溶液的制备:吸取供给池或接收池中的样品溶液 400 μ L 按体积比 4:1 立刻加入 100 μ L 鞣丸酮(100 μ mol/L)内标溶液,于离心机中离心 15 min(13 000 r/min),用超高压液相色谱仪进行分析。

2.2.5 线性关系考察:分别精密量取淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 2 mmol/L 储备液适量,用 HBSS 溶液稀释至 0.625、1.25、2.5、5、10、20、40 μ mol/L。取上述各溶液 400 μ L 与 100 μ L 内标溶液混合,吸取此溶液 10 μ L 进样,测定其峰面积。以质量浓度为横坐标,对照品与内标峰面积比为纵坐标,计算得线性方程。淫羊藿苷: $Y = 0.049 X$, $r = 0.996$;朝藿定 A: $Y = 0.06 X$, $r = 0.999$;朝藿定 B: $Y = 0.051 X$, $r = 0.993$;朝藿定 C: $Y = 0.059 X$, $r = 0.997$;宝藿苷: $Y = 0.035 X$, $r = 0.997$ 。结果表明各成分在 0~40 μ mol/L 线性关系较好。

2.2.6 精密度试验:取供试品溶液重复进样 6 次,结果淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 质量浓度的 RSD 分别为 0.65%、0.18%、0.15%、0.06%、2.79%。

2.2.7 重现性试验:取同一批样品 6 份,制备供试品溶液,进样测定,结果淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 质量浓度 RSD 分别为 1.03%、1.61%、1.39%、0.80%、2.45%。

2.2.8 稳定性试验:取同一样品溶液,分别在 0、2、4、8、24 h 进样测定,结果淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 质量浓度的 RSD 分别为 0.29%、0.61%、0.40%、0.35%、0.89%,表明各样品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.9 加样回收率试验:取已知淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 质量浓度的经过 Caco-2 细胞单层的收集液各 6 份,分别精密加入相应的对照品溶液,取出 400 μ L,加入 100 μ L 内标溶液与之混合,离心,取上清液进样,测定,计算回收

率。结果淫羊藿苷的平均回收率为 101.2%,RSD 为 1.67%;朝藿定 A 的平均回收率为 99.6%,RSD 为 2.59%;朝藿定 B 的平均回收率为 99.9%,RSD 为 2.51%;朝藿定 C 的平均回收率为 100.0%,RSD 为 2.18%;宝藿苷 的平均回收率为 99.82%,RSD 为 2.86%。

2.3 黄酮成分的跨膜转运试验^[7]

2.3.1 溶液的配制:称取 Hank's 平衡盐粉末 19.6 g,NaHCO₃ 0.74 g,D-(+) Glucose 7.0 g,HEPES 粉末 11.92 g,加纯净水溶解稀释至 2 L,用 5 mol/L NaOH 调节 pH 值至 7.4,即得 HBSS 溶液。

分别吸取淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 储备液各 300 μ L,加 HBSS 溶液溶解稀释至 30 mL,分别配制成浓度为 10 μ mol/L 的淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 溶液。

2.3.2 试验步骤:试验前首先用 37 $^{\circ}$ C 预热的 pH 7.4 的 HBSS 溶液洗涤细胞单层 3 次,测定跨膜电阻,跨膜电阻值不符合要求的弃去。再加入预热的 HBSS 溶液,于 37 $^{\circ}$ C 摇床中孵育 1 h,吸弃 HBSS 溶液。对于药物从细胞绒毛面 Apical(A)侧到基底面 Basolateral(B)侧的转运:将药物溶液 2 mL 加到 A 侧作为供给池,同时 B 侧加入空白的 pH 7.4 HBSS 溶液 2 mL 作为接收池;对于药物从 B 侧到 A 侧的转运:将药物溶液 2 mL 加到 B 侧作为供给池,空白的 HBSS 溶液 2 mL 加到 A 侧作为接收池。分别用 10 μ mol/L 淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 HBSS 溶液作为供试药物,把加好药物溶液和空白 HBSS 溶液的 Transwell 培养板置于转速为 50 r/min 的 37 $^{\circ}$ C 恒温摇床中,分别在 1、2、3、4 h 时吸取供给池、接收池溶液各 400 μ L,同时补足相应的溶液。试验平行做 3 份。

取供给池、接收池收集溶液各 400 μ L 加入 100 μ mol/L 鞣丸酮内标溶液 100 μ L,于离心机中 13 000 r/min 离心 15 min,用超高压液相色谱仪进行分析,计算渗透系数。

2.3.3 数据分析:Caco-2 细胞模型表观渗透系数(apparent permeability coefficients P_{app})的计算参考 Artursson^[8]于 1991 年报道的药物透过 Caco-2 细胞单层的 P_{app} ,进行数据处理。 P_{app} 值越大,通透率越高。用 t 检验对两组数据进行比较处理,均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

$$P_{app} = (dQ/dt) / (SC)$$

dQ/dt 为接收池药物出现的速率, S 为膜面积(4.2 cm²), C

为药物的初始质量浓度

5 个化合物渗透系数测定结果见表 1,从 A 侧到 B 侧及从 B 侧到 A 侧转运量随时间的变化见图 2。实验表明,10 $\mu\text{mol/L}$ 淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 从 A 侧到 B 侧的转运量以及从 B 侧到 A 侧转运量在 4 h 内都随着时间的增加而呈线性增长。5 个化合物从 A 侧到 B 侧的吸收渗透系数 (P_{AB}) 都较小,其中宝藿苷 ($1.460 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$) > 淫羊藿苷 ($5.91 \times 10^{-7} \text{ cm/s}$) > 朝藿定 C ($4.23 \times 10^{-7} \text{ cm/s}$) > 朝藿定 A ($3.22 \times 10^{-7} \text{ cm/s}$) > 朝藿定 B ($2.76 \times 10^{-7} \text{ cm/s}$),表明单糖苷(宝藿苷)的吸收要大于二糖苷(淫羊藿苷),二糖苷的吸收要好于三糖苷(朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C)。

表 1 淫羊藿黄酮成分的表现渗透系数与外排比率
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Permeability coefficients and efflux ratios of flavonoids in Herba Epimedii ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物	吸收渗透系数 P_{AB} $\times 10^{-6}/(\text{cm} \cdot \text{s}^{-1})$	分泌渗透系数 P_{BA} $\times 10^{-6}/(\text{cm} \cdot \text{s}^{-1})$	外排比率 P_{BA}/P_{AB}
朝藿定 A	0.322 $\pm$ 0.039	1.595 $\pm$ 0.194	4.94
朝藿定 B	0.276 $\pm$ 0.020	1.338 $\pm$ 0.190	4.82
朝藿定 C	0.423 $\pm$ 0.003	1.201 $\pm$ 0.105	2.85
淫羊藿苷	0.591 $\pm$ 0.009	2.364 $\pm$ 0.071	3.99
宝藿苷	1.460 $\pm$ 0.202	14.302 $\pm$ 0.125	9.84

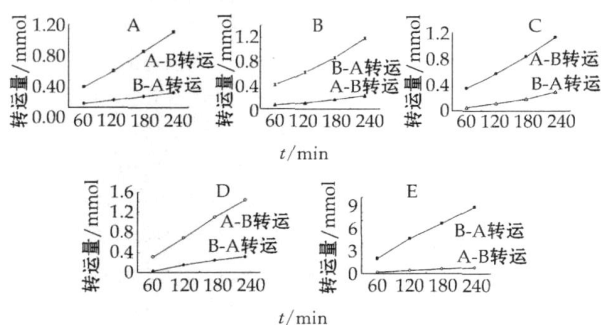


图 2 淫羊藿黄酮朝藿定 A(A)、朝藿定 B(B)、朝藿定 C(C)、淫羊藿苷(D)、宝藿苷(E)转运量

Fig. 2 Transported amount of epimedin A (A), epimedin B (B), epimedin C (C), icariin (D), and baohuoside (E) in Herba Epimedii

5 个化合物从 B 侧到 A 侧的渗透系数即分泌渗透系数 (P_{BA}) 比其吸收渗透系数大,外排比率 (P_{BA}/P_{AB}) 分别为淫羊藿苷 3.99、朝藿定 A 4.94、朝藿定 B 4.82、朝藿定 C 2.85、宝藿苷 9.84,因此提示这 5 个黄酮苷在小肠吸收转运的过程中可能存在肠道转运蛋白的外排作用。

3 讨论

黄酮是淫羊藿的主要有效成分,具有多种药理活性,作为主成分的淫羊藿苷,药动学研究表明,其生物利用度较低(12%)^[9],而导致其生物利用度较低的原因,以及与其结构类似的其它异戊烯基取代黄酮的吸收代谢情况不得而知。由于 Caco-2 细胞模型与体内的肠道吸收情况有很好的相关性,因此,本研究通过 Caco-2 细胞模型,研究淫羊藿苷等黄酮跨膜转运的情况,初步探讨淫羊藿黄酮小肠吸收转运的机制。

药物通过胃肠道的吸收性能可以通过药物透过胃肠道壁的渗透性来评价,此外,肠壁细胞膜内侧存在的药物外排泵如 P-糖蛋白(P-gp)和多药耐药相关蛋白(MRP)等,可以把已经摄入细胞内的药物外排出去,从而影响药物的吸收与药物的生物利用度^[10,11]。一般认为完全吸收的药物其渗透系数较大($P_{app} > 1 \times 10^{-4} \text{ cm/s}$),而不完全吸收的药物具有较低的渗透系数($P_{app} < 1 \times 10^{-7} \text{ cm/s}$)^[12]。实验结果表明,淫羊藿黄酮的吸收渗透系数普遍较小,淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 的吸收渗透系数约在 $2 \times 10^{-7} \sim 0.5 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$,因此吸收较差,是导致这类化合物生物利用度较低的原因之一。通常理论上讲如果化合物由小肠顶侧膜的转运蛋白分泌或外排,那么 B 到 A 侧的渗透系数会远远大于 A 到 B 侧的渗透系数^[7]。这 5 个黄酮苷的分泌渗透系数约是吸收渗透系数的 3 倍或更大,尤其是宝藿苷,外排比率(P_{BA}/P_{AB})达到了 9.84,因此提示这 5 个黄酮苷在小肠吸收转运的过程中可能存在肠道转运蛋白的外排作用,这也可能是导致这类化合物生物利用度较低的另一个原因。

此外,本实验运用了超高效液相来分析样品,分析速度快,所用时间只有高效液相分析时间的十分之一,大大地提高了样品分析的效率。

参考文献:

- [1] 黄秀兰,周亚伟,王伟.淫羊藿黄酮类化合物药理研究进展[J].中成药,2005,27(6):719.
- [2] 李梨,周歧新,石京山.淫羊藿苷药理作用研究进展[J].中国药房,2005,16(12):952.
- [3] Hidalgo J, Raub T J, Borchardt R T. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability [J]. *Gastroenterology*, 1989,96:736.
- [4] Hu M, Chen J, Tran D, et al. The Caco-2 cell monolayers as an intestinal metabolism model: metabolism of dipeptide Phe-Pro [J]. *Drug Target*, 1994,2:79.
- [5] Hu M, Chen J, Zhu Y, et al. Mechanism and kinetics of transcellular transport of a new β -actam antibiotic loracarbef across an human intestinal epithelial model system (Caco-2) [J]. *Pharm Res*, 1994,11:1405.

- [6] Yan Z Y, Gary W. *Optimization in Drug Discovery in vitro Methods [M]*. Totowa: Humana Press Inc., 2004.
- [7] Chen J, Lin H M, Hu M. Absorption and metabolism of genistein and its five isoflavone analogs in the human intestinal Caco-2 model [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005, 55:159.
- [8] Artursson P, Karlsson J. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, 175(3):880.
- [9] Ye L K, Chen J M, Liu S H, et al. Pharmacokinetics of icariin in rats [J]. *Chin Pharm J*, 1999, 34(1):33.
- [10] Eun J J, Liu X, Jia X B, et al. Coupling of conjugating enzymes and efflux transporters: impact on bioavailability and drug interactions [J]. *Curr Drug Metabol*, 2005(6):455.
- [11] Ana R G, Lin H M, Hu M, et al. Kinetic characterization of secretory transport of a new ciprofloxacin derivative (CNV97100) across Caco-2 cell monolayers [J]. *Pharm Sci*, 2002, 91(12):2511.
- [12] Artursson P, Palm K, Luthman K. Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 46(1):27.

NIR在线检测监控安神补脑液水提过程的研究

吕琳昂^{1,2}, 师涛^{1,2}, 杨辉华², 梁琼麟², 王义明², 罗国安^{2*}

(1. 江西中医学院, 江西南昌 330004; 2. 清华大学分析中心, 北京 100084)

摘要:目的 建立近红外光谱快速测定安神补脑液提取过程中有效成分的方法。方法 按照厂家工艺实验室模拟安神补脑液水提过程, 近红外在线检测并对提取物进行 HPLC 法测定, 获取提取液的近红外 (NIR) 光谱信息与提取物中的代表活性成分二苯乙烯苷、淫羊藿苷的信息, 采用偏最小二乘法建立 NIR 与 HPLC 信息间的关系。结果 校正模型相关系数分别为 0.953 8、0.975 6, 预测样本集的误差均方根 (RMSEP) 分为 0.048 7、0.043 2。结论 本法操作简便、快速, 可用于安神补脑液水提过程质量监控。

关键词:安神补脑液; 近红外; 偏最小二乘法

中图分类号: R284.2; R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)02-0224-05

Application of on-line detection and analytical technique by NIR in quality control of water extracting process of Anshen Bunao Liquid.

L ÜLin-ang^{1,2}, SHI Tao^{1,2}, YANG Hui-hua, LIANG Qiong-lin², WANG Yi-ming², LUO Guo-an²

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Analysis Center, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: **Objective** To develop a novel method for fast determination of the active components in the extracts of Anshen Bunao Liquid with near infrared (NIR) spectroscopy. **Methods** The samples in this experiment were simulated according to the manufacture process. HPLC was used to determine the contents of stilbene glycoside and icariin in the extracts of Anshen Bunao Liquid. NIR spectra of the samples were collected in range of 4 000—12 500 cm⁻¹. Multivariate calibration models based on PLS algorithm were developed to correlate the spectra and corresponding values determined by HPLC. **Results** The correlation coefficients of the calibration models were 0.953 8 and 0.975 6, and the RSE for stilbene glycoside and icariin were 0.048 7 and 0.043 2, respectively. **Conclusion** The proposed method is simple and rapid, and used to quality control of Anshen Bunao Liquid.

Key words: Anshen Bunao Liquid; NIR; PLS

安神补脑液收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第21册, 由制何首乌、淫羊藿、大枣、甘草、干姜等中药精制而成, 主要用于治疗神经衰弱症、神经官能症、头痛、脑血管病恢复期、更年期综合征等病证。安神补脑液中二苯乙烯苷和淫羊藿苷的 HPLC 法测定已有报道^[1,2]。本研究以安

神补脑液提取过程为例, 实验室模拟其工艺提取过程, 以近红外在线检测, 并采用 HPLC 法测定所采集样品的二苯乙烯苷和淫羊藿苷, 采用偏最小二乘 (PLS) 法建立近红外 (NIR) 光谱信息与 HPLC 色谱信息间的关系, 探讨安神补脑液水提液中二苯乙烯苷和淫羊藿苷的快速测定方法, 以用于中药提取过

* 收稿日期: 2008-06-15

基金项目: 国家“十五”科技支撑计划项目 (2006BA108B04-01); 国家 973 中医理论专项 (2005CB523503)