

和水的比例,包合时间对实验结果有显著性影响。最佳因素水平为 $A_2B_1C_2$,即大蒜油、 β -环糊精和水比例为 1 : 8 : 80,包合时间 1 h,包合温度 35 ℃。

2.3 验证试验:按最佳工艺条件精密称取 β -环糊精 80 g,加 800 mL 蒸馏水,水浴加热使溶解,再降至 35 ℃,不断搅拌,在搅拌条件下,将 10 mL 蒜油慢慢加入 β -环糊精水溶液中,继续搅拌包合 1 h,冷却,置冰箱中冷藏 24 h,滤过,包合物于低温干燥。结果包合物的平均收得率为 94.78%,大蒜素的利用率为 80.62%。两项指标均优于正交设计中的最大值。

3 讨论

实验过程中分别用饱和水溶液法^[3]、研磨法、超声法^[4]进行蒜油 β -环糊精包合物的制备,结果表明本实验所用的制备方法最佳。

在传统的颗粒制剂工艺中,常将提取的挥发油溶于少量乙醇等溶剂稀释后喷洒到干颗粒中,密闭一定时间后分装,生产过程中挥发油极易挥发造成损失。

该工艺通过对蒜油的 β -环糊精的包合,蒜油被包合后化学成分没有变化,制成包合物后溶解度明显增加,可以提高蒜油的生物利用度,降低挥发油的刺激性和副作用,大大提高了蒜油的稳定性,降低了挥发油在生产、储存过程中的挥散或氧化变质。

该工艺提高了该产品的质量,并使挥发油液体药物固体粉末化,便于制成多种剂型,该工艺流程短,收得率、包合率、大蒜素的量均较高,便于工业化生产,为蒜油制剂的进一步研究提供了一定实验依据。

参考文献:

- [1] 金燕,刘桂洁.大蒜药理作用的研究进展[J]. 中医药信息, 2000,17(6):33-35.
- [2] 徐巍,苏乐群,李宏建.大蒜素的研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2007,27(6):805.
- [3] 王靖,张铁军,王文燕.羟丙基- β -环糊精对降香挥发油包合作用的研究[J]. 中草药,2006,37(5):700-703.
- [4] 赵慧萍,王浩.正交设计法研究通脉颗粒中 β -环糊精包合物的制备工艺[J]. 中草药,2005,36(12):1821-1822.

正交试验优选乌药的提取工艺

陈方亮,余翠琴,徐仙娥*

(台州市中心医院,浙江台州 318000)

摘要:目的 研究乌药的提取工艺。方法 采用正交试验设计,以干浸膏得率和乌药醚内酯提取率为指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。考察乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间对干浸膏得率和乌药醚内酯提取率的影响。结果 确定最佳方案为加生药材 10 倍量的 75% 乙醇,回流提取 90 min。结论 优选得到的乌药提取工艺合理、操作可行、质量可控。

关键词: 乌药;乌药醚内酯;提取工艺;正交设计

中图分类号:R284.2

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)07-1079-03

乌药为樟科山胡椒属植物乌药 *Lindera aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根,具散寒、补中、顺气、开郁之功效,能上理脾胃元气,下通少阴肾经。乌药主产浙江、江西、湖南等地,历代医家都评价“以浙江天台所产者品质最佳”。被誉为“长生不老药”的天台乌药,历史悠久,品质超群,享誉中外,是我国名贵地道药材之一。乌药中主要含有挥发油、异喹啉类生物碱、黄酮类及倍半萜类成分^[1],其中最能体现乌药特征的成分是呋喃倍半萜及其内酯类成分。《中国药典》2005年版一部中以乌药醚内

酯为指标性成分对乌药进行定性鉴别和定量测定。本实验以干浸膏得率、乌药醚内酯提取率为考察指标,优化了乌药的提取工艺参数。

1 仪器和试剂

Waters2695 高效液相色谱仪(包括 2695 四元梯度泵,在线脱气机,自动进样器,柱温箱,2487 紫外检测器,Empower 色谱工作站);Mettler AE200 电子分析天平;DGG-9123A 型电热恒温鼓风干燥箱;XW-80A 型旋涡混合器;0412-1 型台式离心机;HS2060 型超声波清洗器。

* 收稿日期:2008-12-20

基金项目:台州市科技计划项目基金资助(061ky25)

作者简介:徐方亮(1975—),男,浙江台州人,副主任药师,学士,主要从事医院药学与临床药学研究工作。

Tel:(0576)88526053 E-mail:cf11975@126.com

乌药由天台山乌药生物工程有限公司提供,经本院中药房黄瑞平副主任药师鉴定为樟科山胡椒属植物乌药 *L. aggregata* (Sims) Kosterm. 的干燥块根;乌药醚内酯对照品(中国药品生物制品检定所,批号 1568-200201);甲醇、乙腈为色谱纯;水为双重蒸馏水;其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素与水平的确定:乌药中的活性成分以脂溶性成分为主,因此,乙醇提取工艺比水提工艺合理。为了对影响提取效果的乙醇体积分数(A)、乙醇用量(B)、提取时间(C)进行优选,以干浸膏得率、乌药醚内酯提取率为评价指标,选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验。因素水平见表 1。

表 1 因素与水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A/ %	B/ 倍	C/ min
1	55	5	60
2	75	10	90
3	95	15	120

2.2 乌药醚内酯的测定^[2]

2.2.1 色谱条件:Symmetry C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, 5.0 μ m);流动相:乙腈-水(57:43);体积流量:1 mL/min;检测波长:235 nm;柱温:28 $^{\circ}$ C;进样量为 5 μ L。

2.2.2 对照品溶液的配制:精密称取乌药醚内酯对照品 25.5 mg 置于 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,即得含乌药醚内酯 0.510 mg/mL 对照品溶液。

2.2.3 线性关系考察:精密吸取 0.510 mg/mL 乌药醚内酯对照品溶液 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mL 分别置于 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,进样测定。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,求得回归方程为 $A = 10\,300\,C - 18\,900$, $r = 0.999\,9$,线性范围为 10.2 ~ 510 μ g/mL。

2.2.4 精密度试验:取 0.510 mg/mL 乌药醚内酯对照品溶液,按上述色谱条件连续重复进样 5 次,测定峰面积,结果乌药醚内酯峰面积的 RSD 为 0.62%。

2.2.5 重现性试验:取同一批乌药药材,制备 5 份供试液,进行测定,测得乌药醚内酯的平均质量分数为 0.114 5%,RSD 为 1.64%。

2.2.6 稳定性试验:取乌药药材,制备供试液每 8 h 测定 1 次,测定 6 次,得乌药醚内酯的质量分数的 RSD 为 2.43%。

2.2.7 加样回收率试验:取乌药药材浸膏 5 份,精密称定,分别加入 0.102 mg/mL 乌药醚内酯对照品溶液 5 mL,制备供试品溶液,进样,计算,结果乌药醚内酯的加样回收率为 98.83%,RSD 为 2.57%。

2.2.8 乌药药材中的乌药醚内酯测定:参照《中国药典》2005 年版一部乌药项下方法。取药材细粉 1.0 g,加乙醚 50 mL,回流提取 4 h,滤过,取提取液挥干,残渣用甲醇分次溶解,转移至 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取滤液进样测定,根据标准曲线计算,结果乌药醚内酯的平均质量分数为 0.184 2%,RSD 为 3.66%($n = 5$)。

2.2.9 各试验产物中乌药醚内酯测定:精密称取各试验所得浸膏约 1 g,置 10 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇 10 mL,称定质量,超声提取 30 min,放冷,补充质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 2 mL,置 10 mL 量瓶中加甲醇至刻度,摇匀,即得。取供试品溶液适量置于自动进样瓶中,按上述色谱条件进样 10 μ L,连续重复进样 3 次,测定峰面积,取平均值,根据回归方程计算乌药醚内酯的质量分数。

2.3 干浸膏得率的测定:取各试验所得的浸膏约 1 g,精密称定,水浴蒸干后,于 105 $^{\circ}$ C 干燥 5 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,再于 105 $^{\circ}$ C 干燥 1 h,冷却称定质量,至两次质量的差异不超过 5 mg 为止记录干膏质量,计算干膏得率。

2.4 正交试验设计与结果:取乌药药材约 20 g,精密称定,按正交试验表中确定的实验条件回流提取,将各试验组制得的醇提液滤过,合并滤液,回收乙醇至无醇味,记录浸膏量。依次测得每组干浸膏得率及每组浸膏中乌药醚内酯提取率,按指标主次进行综合评分,规定乌药醚内酯提取率占 65%,干浸膏得率占 35%,综合评分 = 35/最大浸膏得率 × 浸膏得率 × 100% + 65/最大乌药醚内酯提取率 × 乌药醚内酯提取率 × 100%。对结果进行计算得到评分值,结果见表 2。

根据极差大小得知,影响提取工艺的主次因素,依次为乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间,而最佳提取工艺则为 $A_2B_2C_2$,即以 10 倍生药体积的 75% 乙醇,回流提取 90 min。

把空白作为误差列进行方差分析,见表 3。

2.5 验证试验:取乌药药材 200 g,共 5 批,按最佳工艺进行放大试验,各批次的乌药醚内酯提取率分别为 63.98%、62.17%、64.36%、65.64%、64.77%,浸膏得率分别为 10.15%、11.69%、9.98%、9.85%、10.12%。

表2 正交试验设计与结果

Table 2 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	乌药醚内酯 提取率/%	浸膏得 率/%	综合评 分/%
1	1	1	1	1	41.44	7.02	65.16
2	1	2	2	2	57.44	7.95	84.29
3	1	3	3	3	37.34	6.31	58.67
4	2	1	2	3	64.14	9.63	96.67
5	2	2	3	1	65.13	10.32	100.00
6	2	3	1	2	58.37	9.31	89.83
7	3	1	3	2	61.90	7.86	88.44
8	3	2	1	3	62.59	8.83	92.41
9	3	3	2	1	61.53	8.12	88.95
K_1	208.11	250.27	247.40	254.11			
K_2	286.50	276.69	269.90	262.55			
K_3	269.79	237.44	247.10	247.74			
R	26.13	13.08	7.60	4.94			

表3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	显著性
A	136.38	2	568.19	30.89	$P < 0.05$
B	267.07	2	133.54	7.26	
C	114.05	2	57.03	3.10	
D(误差)	36.78	2	18.39		

$F_{0.05}(2,2) = 19.00$

3 讨论

乌药醚内酯测定方法探索时,进行了确定流动相的试验,发现甲醇与水组合基线波动大于乙腈与水的组合,随着乙腈比例的增加,乌药醚内酯的出峰时间逐渐提前,但与其他成分分离度不理想,最后确定以乙腈-水(57:43)为流动相可使出峰时间与分离度达到比较理想的状况。

在提取工艺的试验中曾比较过回流提取法与超声提取法,发现超声提取法得到的浸膏量较少,不利于进一步试验,于是选用回流提取。本实验按最佳提取工艺放大试验后得到的药材中平均乌药醚内酯总提取量为118.23 mg/100 g,与梁汉明等^[3]报道的CO₂超临界提取工艺中最大总萃取量128.35 mg/100 g相差不大,但本实验的浸膏得率远大于其萃取的油状物得率,这估计与提取溶剂有很大关系。

参考文献:

- [1] 王军伟,阮冰. 乌药的植化及药理研究概况[J]. 浙江中医杂志,2006,41(11):675.
- [2] 余翠琴,陈方亮. 高效液相色谱法测定乌药中乌药醚内酯[J]. 中草药,2009,40(6):983-984.
- [3] 梁汉明,郭晓玲,冯毅凡,等. 乌药超临界二氧化碳萃取工艺的研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(3):643-644.

共振瑞利散射法测定粉防己中粉防己碱

孙艳,王驰*

(重庆医科大学药学院,重庆400016)

摘要:目的 研究刚果红和粉防己碱的结合反应,建立测定粉防己碱的新方法。方法 pH 4.0 BR缓冲液中,刚果红与粉防己碱通过分子间作用力形成离子缔合物,使 $\lambda_{ex} = \lambda_{em} = 380 \text{ nm}$ 波长的共振瑞利散射信号加强。结果该方法在 0.06~0.1 mg/mL 呈线性关系,检测限为 0.3 $\mu\text{g/mL}$ 。对6批粉防己中粉防己碱测定的结果与高效液相色谱法基本一致。平均回收率为 98.9%,RSD为 1.71%($n=6$)。结论 此方法灵敏度高,稳定性好,可用于粉防己中粉防己碱的测定。

关键词:粉防己;粉防己碱;共振瑞利散射

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)07-1081-03

粉防己碱又名汉防己甲素,是千金藤属防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 根中主要生物活性成分,化学结构属双苄基异喹啉化合物,有抗心肌、肾缺血、抗高血压、抗肝纤维化、抗肿瘤多药耐药性、抗缺氧性肺动脉高压等多种药理作用,特

别是作为一种天然的肿瘤细胞多药耐药逆转剂在肿瘤防治方面有其良好的应用前景。目前分析粉防己碱的方法主要是高效液相色谱法^[1],薄层扫描法^[2]和紫外分光光度法^[3],但这些方法操作烦琐,且灵敏度较低。弹性光散射是指辐射光波长与入射光波长

* 收稿日期:2008-09-28

作者简介:孙艳(1980—),女,陕西丹凤人,重庆医科大学药学院硕士研究生,2003年毕业于重庆医科大学药学院,2003—2005年工作于丽珠集团苏州新宝制药厂技术部,研究课题:靶向LH-RH多肽复合物的制备及效果评价。
Tel: (023) 68485578 E-mail: yanziyanzi710@126.com