

渐减少,温度超过 40℃后,变化尤为明显,说明温度是影响样品中胡桃醌稳定性的主要因素之一。自然晒干样品较自然阴干样品中胡桃醌的含量低,说明光照是影响样品中胡桃醌稳定性的另一因素。因此要从胡桃楸样品中得到更多的胡桃醌,应采用 40℃以下避光干燥的方法,此结果与文献[5-6]报道结果一致。

参考文献:

[1] 匡可任,李沛琼. 中国植物志[M]. 21 卷. 北京:科学出版社, 1982:33.
[2] 于晓红,胡艳文,于洋,等. 山核桃树枝水煎剂对 S180 荷瘤小鼠抗肿瘤作用的免疫机制研究[J]. 天津中医药, 2006, 23(5): 420-422.
[3] 张咏莉,詹苗,崔玉强,等. 山核桃树皮水提物对荷瘤小鼠抑瘤效应及对血象的影响研究[J]. 中药材, 2009, 32(5): 770-774.
[4] 陈丽,那顺巴雅尔,张建,等. 胡桃醌对人肝癌 BEL-7402 细胞亚显微结构的影响[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(6): 1208-1211.
[5] 孙墨琰,王艳梅,宋湛谦,等. 核桃楸乙醇提取物的稳定性[J]. 东北林业大学学报, 2008, 36(5): 53-54.
[6] 季宇彬,陆婉,曲中原,等. 不同干燥方法、贮藏年限及采收时间对青龙衣中胡桃醌的影响[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(2): 110-112.
[7] 索绪斌,高奎滨,张云凌,等. 高效液相色谱法测定青龙衣中胡桃醌含量[J]. 中药材, 2003, 26(11): 793.

[收稿日期]2010-11-16

重庆产续断中总酚酸与绿原酸的含量测定

张丹¹,陶燕铎²,曹纬国^{1,3,4},王刚¹,颜学伟¹ (1. 重庆医科大学中医药学院,重庆 401331;2. 中国科学院西北高原生物研究所藏药中心,青海 西宁 810000;3. 重庆医科大学中医药研究室,重庆 400016;4. 重庆医科大学中医药实验教学中心,重庆 401331)

[摘要] 目的:建立续断中总酚酸与绿原酸含量分析的方法,研究重庆产续断中总酚酸与绿原酸的含量。方法:采用 $\text{FeCl}_3\text{-K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 比色法测定续断中总酚酸的含量;采用 HPLC 法测定续断中绿原酸的含量。结果:不同产地续断中总酚酸与绿原酸的含量均存在一定差异,但总酚酸含量约在 $19.305\sim 21.766\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上,绿原酸含量约为 $2.514\sim 2.721\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论:本方法适用于续断中酚酸类物质的质量分析,可以为续断药材的质量评价提供参考。

[关键词] 比色法;高效液相色谱;总酚酸;绿原酸

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2011)17-1463-03

续断为川续断科植物川续断(*Dipsacus asperoids* C. Y. cheng et. T. M. Ai)的干燥根^[1],又名川断,是较常用中药,主要用于胎漏、胎动不安、滑胎、腰膝酸软、跌打损伤和骨折等症,有研究^[2-3]报道通过药理实验证明续断及其炮制品具

有较强的抗炎作用。目前续断的研究主要集中于其三萜皂苷类化合物的研究,而续断中同时含有绿原酸、阿魏酸和原儿茶酸等多种具有显著药效活性的酚酸类化合物^[4-5],比如绿原酸具有抗炎、抗菌、抗病毒和抗氧化等多种药效活性,是多种中药中非常重要的活性物质。中药是基于多种药效物质的协同作用,关于中药的质量评价已趋向于多成分多指标的综合评价,目前尚未见关于续断中酚酸类物质含量研究的报道,本研究拟建立续断中酚酸这一类重要活性物质含量分析的方法,测定重庆产续断中总酚酸与绿原酸的含量,为续断药材的质量评价提供一种参考。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC—2010A 高效液相色谱仪;CLASS—VP 色谱工作站;龙尼柯 UV—2102PC 紫外可见分光光度计;Millipore 溶剂过滤系统。

1.2 试药 没食子酸、绿原酸对照品均由中国药品生物制品检定所提供(批号分别为 110831-200302, 110753-200413);乙腈为色谱纯;水为注射用水,其余所用试剂均为分析纯。

1.3 药材样品 本实验川续断样品产自续断主产区之一重庆产区的不同产地,样品经本校中药教研室王刚副教授鉴定为川续断,本实验为考察续断药材中酚酸类物质的真实含量,所有样品均未进行炮制处理,即为续断原药材(*Dipsacus asperoids* C. Y. cheng et. T. M. Ai)。

2 方法与结果

2.1 总酚酸的含量测定^[6-7]

2.1.1 没食子酸对照品溶液的制备 精密称取 105℃减压干燥至恒重的没食子酸 7.1 mg,置于 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 分别将不同续断样品粉碎,过筛(40 目),各精密称取续断细粉 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%乙醇 100 mL,密塞,称定质量,冷浸过夜后超声 60 min,放冷后称定质量,用 50%乙醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 测定波长的选择 取没食子酸对照品溶液和供试品溶液各 0.5 mL,分别置 25 mL 棕色量瓶中,加无水乙醇至 5 mL,再分别加入 0.3%十二烷基硫酸钠溶液 2 mL,和 0.5%铁氰化钾-1%三氯化铁(1:1)混合液 2 mL,摇匀,暗处放置 5 min,加 0.1 mol·L⁻¹盐酸溶液至 25 mL,摇匀,暗处放置 20 min。参照药典附录紫外-分光光度法,以溶剂为空白,在 400~800 nm 波长范围内测定吸收光谱。结果对照品与供试品溶液吸收光谱相似,在 720 nm 波长处有较大吸收,且对照品与供试品溶液显色前在此波长处无吸收,表明续断供试品溶液所含成分对总酚酸的含量测定无干扰,因此选 720 nm 为测定波长,紫外扫描图见图 1。

2.1.4 线性关系考察 精密量取没食子酸对照品溶液 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL,分别置 25 mL 棕色量瓶中,加无水乙醇至 5 mL,再分别精密加入 0.3%十二烷基硫酸钠溶液 2 mL,和 0.5%铁氰化钾-1%三氯化铁(1:1)混合液 2 mL,摇匀,暗处放置 5 min,加 0.1 mol·L⁻¹盐酸溶液至 25 mL,

[基金项目] 十一·五国家科技支撑计划(编号:2007BA145B00);重庆市卫生局科研项目(编号:2010-1-146) [作者简介] 张丹,女,硕士,讲师, E-mail: zhangdan01234567@sina.com [通讯作者] 曹纬国,男,硕士,副教授,电话:13389679838, E-mail: cwgzd2001@sohu.com

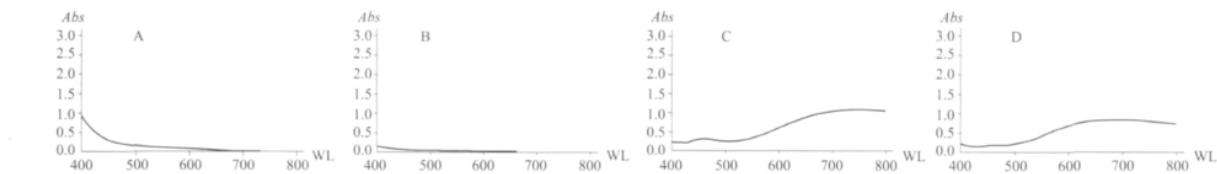


图 1 紫外扫描光谱图
A. 没食子酸显色前; B. 样品显色前; C. 没食子酸显色后; D. 样品显色后
Fig 1 The ultraviolet spectrogram
A. Gallic acid before colouration; B. The sample before colouration; C. Gallic acid after colouration; D. The sample after colouration

摇匀,暗处放置 20 min。以第 1 瓶做空白对照,以 720 nm 为测定波长,测定吸光度。以吸光度 A 为纵坐标,以对照品物质的量 $M(\text{mg})$ 为横坐标,求得回归方程: $A = 24.59M - 0.049$, $r = 0.9997$,表明没食子酸在 $0.0071 \sim 0.071 \text{ mg}$ 范围内线性关系良好。

2.1.5 加样回收率试验 取已知总酚酸含量的续断药材细粉 6 份,每份 0.5 g,分别精密加入没食子酸对照品溶液适量,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取 0.5 mL 置 25 mL 棕色量瓶中,依线性关系考察项下显色方法显色后,于 720 nm 处测定吸光度,计算加样回收率,结果平均加样回收率为 97.51%,RSD 为 2.10%,表明该方法回收率良好。

2.1.6 样品总酚酸含量测定 精密吸取供试品溶液 0.5 mL 置 25 mL 棕色量瓶中,依线性关系考察项下显色方法显色后,于 720 nm 处测定吸光度,并计算样品中总酚酸的含量,结果见表 1。

2.2 绿原酸的含量测定

2.2.1 色谱条件^[7-8] 色谱柱: hypersil C_{18} 柱 ($5 \mu\text{m}$, $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$); 流动相: 乙腈-水(用磷酸调 pH3) (17:83); 检测波长: 327 nm; 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温室温; 进样量: $20 \mu\text{L}$,理论塔板数绿原酸计不低于 3 000,按在此条件下各组分得到良好分离, HPLC 液相色谱图见图 3。

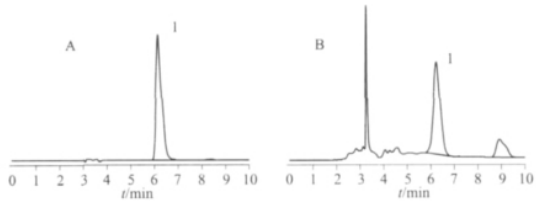


图 2 高效液相色谱图
A. 对照品; B. 续断; 1-绿原酸
Fig 2 HPLC chromatograms
A. reference substance; B. Dipsacus asperoids; 1-chlorogenic acid

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸 14.3 mg, 置 50 mL 量瓶中,加 50%乙醇溶解并定容,摇匀,即得对照品储备溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 将不同续断样品碎成细粉,过筛(40 目),精密称取药材细粉,每份约 2.0 g,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 50%乙醇 25 mL,密塞,称定质量,浸泡过夜后,超声 60 min,放冷再称定质量,用 50%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取绿原酸对照品溶液适量,加 50%乙醇制成系列标准溶液,进样测定。以色谱峰面积 A 对进样量 $M(\mu\text{g})$ 进行线性回归,结果表明绿原酸在进样量范

围内线性关系良好,线性范围为 $0.572 \sim 5.72 \mu\text{g}$,回归方程为: $A = 2916.350M + 252.461$, $r = 0.9998$ 。

2.2.5 精密度试验 精密吸取绿原酸对照品溶液 $20 \mu\text{L}$,在上述色谱条件下,重复进样 6 次,记录色谱峰面积, RSD 为 1.34%,表明精密度良好。

2.2.6 重复性试验 对同一批续断按样品溶液的制备方法平行制备 6 份,在上述色谱条件下,分别进样 $20 \mu\text{L}$,依照样品测定方法测定,记录绿原酸色谱峰面积,并计算 RSD 为 1.86%。

2.2.7 稳定性试验 在上述色谱条件下,精密吸取同一供试品溶液 6 份,每份 $20 \mu\text{L}$,分别在室温下于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样,记录绿原酸的峰面积,计算 RSD 为 2.28%,表明样品溶液在 10 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知绿原酸含量的续断药材细粉 6 份,每份约 1.0 g,分别精密加入绿原酸对照品适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别进样 $20 \mu\text{L}$,并在上述色谱条件下测定,计算平均加样回收率为 97.69%, RSD 为 1.94%,表明该方法加样回收率良好。

2.2.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 $20 \mu\text{L}$,在上述色谱条件进行测定,以外标法计算样品中绿原酸的含量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果
Tab 1 The analytical results of samples

样品	总酚酸/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	绿原酸/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
重庆武隆	21.766	2.636
重庆南川	20.582	2.721
重庆酉阳	19.305	2.597
重庆秀山	20.268	2.514

3 讨论

重庆作为续断的道地产区,实验结果表明,重庆不同产地续断药材中酚酸的含量也存在差异,续断总酚酸的含量在 $19.305 \sim 21.766 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内变化,绿原酸含量在 $2.514 \sim 2.721 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内变化,总体来看续断中酚酸类物质含量较高,具有一定的研究和开发价值。

样品的前处理方法是保证含量测定结果准确的关键,本文在测定续断中酚酸类物质含量之前进行了样品制备方法的研究,共考察了 95%乙醇、70%乙醇、50%乙醇、水 4 种提取溶剂和超声提取、加热回流提取 2 种方法对续断中酚酸类化合物提取率的影响,结果采用 50%乙醇超声提取 60 min 和 50%乙醇加热回流提取 120 min 2 种制备方法的得率为最高,考虑到温度过高可能影响化合物的稳定性,因此本实验选择 50%乙醇超声提取 60 min 为供试品制备方法。

绿原酸是近年来中药研究的热点成分,关于其含量测定方法研究较多,本研究中比较了甲醇-磷酸水溶液和乙腈-磷

酸水溶液 2 种流动相,其中本文所采用的乙腈-磷酸水溶液时,基线平稳,峰形及分离效果较好。另外实验中,处于保护色谱柱的目的,流动相没有直接使用 0.1% 的磷酸水溶液,而是用磷酸将水 pH 调为 3,即可实现绿原酸较好的分离。

参考文献:

[1] 中国药典.一部[S]. 2010:309-310.
[2] 陈旭,张先洪,陆兔林. 炮制对续断药理作用的影响[J]. 中成药,2001,23(11):799-801.
[3] 辛继兰,赵雅娟. 续断及其炮制品的药效学研究[J]. 中医学学报,2002,30(4):16-17.
[4] Kowalczyk A, Krzyzanowska J. Preliminary antifungal activity of some dipsacaceae family plants[J]. Herba Polonica,1999,45(2):101.
[5] 田小燕. 四种中草药的活性成分研究[D]. 中国医学科学院, 2006:17-29.
[6] 付煜荣,张万明,陈桂敏,等. 景天三七中没食子酸和总酚酸含量测定[J]. 中成药,2006,28(7):1016-1018.
[7] 石晋,栾雨时,赵宁. 雪莲果块茎中绿原酸及总酚酸的含量测定[J]. 中药材,2009,32(2):230-232.
[8] 刘凤仙,李昱,薛占英,等. 不同季节采摘蒲公英中绿原酸含量的研究[J]. 中国医院药学杂志,2010,30(1):91-87.

[收稿日期]2010-08-27

广藿香酮透皮贴剂成型工艺探讨

邹玉繁,汪小根 (广东食品药品职业学院,广东 广州 510520)

[摘要] 目的:制备广藿香酮透皮贴剂并优化其处方。方法:通过单因素考察,筛选透皮贴剂的压敏胶基质组成及载药量,采用均匀设计法筛选贴剂透皮促进剂。结果:采用压敏胶 A 为控释骨架和压敏胶材料,载药量为 4%。透皮促进剂最优组合为月桂氮草酮-油酸-丙二醇为 6%:5%:5%。药物从压敏胶层恒速释放。结论:所研制的透皮贴剂具有理想的释药特性。

[关键词] 广藿香酮;透皮贴剂;压敏胶;制备工艺

[中图分类号] R944.9 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2011)17-1465-03

广藿香为唇形科刺蕊草属植物,其药用成分主要为挥发油,称广藿香油。百秋里醇和广藿香酮作为油中的主要成分对白色念珠菌、新型隐球菌、黑根霉菌等真菌具有明显的抑制作用,对金黄色葡萄球菌、甲型溶血性链球菌等细菌亦具有抑制作用^[1]。本课题拟以广藿香酮为药物,研制胶黏剂骨架(压敏胶层)贴剂。鉴于透皮吸收制剂要求载药量小的特点,采用均匀设计法筛选了促渗剂,达到临床有效、使用方便的目的。

1 材料

聚丙烯酸压敏胶 A(广州市金菱化学工业有限公司);聚丙烯酸压敏胶 B(广州化学工业研究所);聚丙烯酸压敏胶 C

(广州化学工业研究所);聚丙烯酸压敏胶 D(广州化学工业研究所);油酸(含量:99.15%,汕头市光华化学厂);月桂氮草酮(福建寿宁美菲思生物化学制品厂);药用甘油(厦门鱼肝油厂);聚山梨酯 80(天津市大茂化学试剂厂);广藿香酮原料(自制,含量:99.05%)。

2 方法与结果

2.1 压敏胶基质的选择

2.1.1 涂布效果 取 4 种不同型号的聚丙烯酸压敏胶(A、B、C、D)适量,分别涂布在不同防黏纸上,置烘箱内 80℃干燥后,用铝箔复合即可。观察压敏胶性能差异。结果表明,4 种不同型号压敏胶的稠度顺序为:B<C<A<D。前 3 种压敏胶性能较接近,易涂布,不拉丝,黏性好。压敏胶 D 黏性最强,胶液非常黏稠,容易拉丝而破坏胶面,手工较难涂布。而且其溶剂系统为有机溶剂,不利于环保,所以未对其作进一步考察。

2.1.2 与药物相容性 精密称取一份广藿香酮 200 mg,加入 3 种不同型号的压敏胶。加入无水乙醇适量溶解后,分别加入 3 种不同型号的压敏胶各 5.0 g,研匀,涂布在防黏纸上,干燥后与铝箔复合即可。按文献[2]进行初黏力、持黏力和剥离强度测定,结果见表 1。

表 1 压敏胶与药物相容性实验结果

Tab 1 The compatibility of pressure with drug			
压敏胶	初黏力/g	持黏力/min	剥离强度/N
A	0.862 98	>30	4
B	—	>30	1.75
C	—	>30	3.5

结果表明,在 3 种不同型号的压敏胶中加入等量药物,C 的载药量最小,有结晶析出。三者黏性评价,A 的初黏力和剥离强度最佳,持黏力三者相当(砝码质量为 1 kg 时,在长达 30 min 的时间内仍不脱落)。所以 3 种压敏胶与药物相容性好坏的顺序为:A>B>C。综合以上结果,选择 A 作为压敏胶基质。

2.2 压敏胶载药量的考察 分别精密称取广藿香酮原料 100,150,200,250 mg,加入无水乙醇适量溶解后,定量加入压敏胶 5 g 研匀,涂布、干燥。观察胶层状态,并测定初黏力,结果见表 2。

表 2 混合不同药物量压敏胶的性质

Tab 2 Properties of pressure mixed different weight drug		
药物量/mg	胶层厚度	初黏力/g
100	无结晶	4.1080
150	无结晶	4.1080
200	无结晶	4.1080
250	结晶	1.49112

结果表明,在 5 g 压敏胶中,其最大载药量≤200 mg,此时胶层完整,无结晶析出,初黏力无明显变化。达 250 mg 时,胶面药物结晶明显,初黏力降低。说明压敏胶载药量为 4%。

2.3 透皮促进剂的筛选 为了提高药物透皮吸收,本研究采用均匀设计法对透皮促进剂进行筛选。

2.3.1 试验因素和水平 研究考察的促进剂种类有:月桂

[基金项目] 广东省自然科学基金资助项目(编号:9151052005000003);广东省中医药管理局资助项目(编号:2010233) [作者简介] 邹玉繁,女,硕士,副教授,电话:020-28854860,E-mail:zouyufan404@126.com [通讯作者] 汪小根,男,博士,教授,电话:020-28854960,E-mail:wan-gxg@gdyzy.edu.cn