

2.10 样品测定:取样品制备供试品溶液,依上述色谱条件测定,3批样品中异嗪吡啶的测定结果见表1。

表1 消炎灵颗粒中异嗪吡啶的测定结果 ( $n=3$ )

Table 1 Contents of isofoxacin in Xiaoyanling Granules ( $n=3$ )

| 批号     | 异嗪吡啶/(mg·袋 <sup>-1</sup> ) |
|--------|----------------------------|
| 050303 | 0.528 6                    |
| 050304 | 0.518 5                    |
| 050305 | 0.551 3                    |

### 3 讨论

3.1 提取方法选择:取装量差异项下的本品,研细,取约2 g,精密称定,①置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇100 mL,称定质量,超声提取40 min,放冷,补足质量,滤过,取续滤液,即得;②置具塞锥形瓶中,精密加入氯仿100 mL,称定质量,超声提取40 min,放冷,补足质量,滤过,取续滤液,即得;③置索氏提取器中,加氯仿100 mL,加热回流6 h,放冷,精密移取氯仿液10 mL,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得;④置150 mL三角瓶中,加水100 mL,超声使溶解,转移至分液漏斗中,用氯仿萃取4次(50、30、20、20 mL),合并氯仿液,回收至干,残渣加甲醇溶解转移至100 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得;另取异嗪吡啶对照品,加甲醇

配制成4  $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,作为对照品溶液;精密量取20  $\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,计算,结果异嗪吡啶的质量分数分别为0.547 8、0.468 6、0.552 6、0.510 2 mg/袋。结果表明,3法杂质干扰较大,供试品进样后,在100 min时均还有杂质峰出来;③法提取异嗪吡啶提取率较高,基本消除了其他杂质的干扰,供试品在采集20 min时,已经没有其他成分出峰,色谱条件分离良好,故选择其作为提取方法。

3.2 提取时间选择:取装量差异项下的本品,研细,取约2 g,精密称定,置索氏提取器中,加氯仿100 mL,加热回流2、4、6、8 h,放冷,精密移取氯仿液10 mL,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。另取异嗪吡啶对照品,加甲醇配制成4  $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,作为对照品溶液;取前述溶液20  $\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图,计算,结果异嗪吡啶的质量分数分别为0.405 7、0.471 2、0.476 2、0.476 9 mg/袋。结果表明,加热回流提取6 h已可较完全的提取异嗪吡啶。

3.3 流动相的选择:试验了乙腈-0.1%磷酸溶液(20:80)、(15:85)的比例,结果当乙腈与0.1%磷酸溶液的比例为15:85时,异嗪吡啶保留时间适中,峰形可以,与周围杂质峰分离较好。

## 微波辅助提取白芍的工艺研究

黄天辉<sup>1</sup>, 沈平嫔<sup>2</sup>, 沈永嘉<sup>1</sup>

(1. 华东理工大学精细化工研究所, 上海 200237; 2. 国家中药制药工程技术研究中心, 上海 201203)

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall 的干燥根,性微寒、味苦酸。白芍的有效成分主要为芍药苷。药理研究表明芍药苷有抗炎、免疫调节、抗病毒、抗氧化、保肝护肝、心血管调节等作用<sup>[1]</sup>。白芍中芍药苷的传统提取工艺为水提或醇加热回流提取法<sup>[2,3]</sup>。这些工艺的不足在于提取时间长、消耗能源大。微波辅助提取法将微波辐射与溶剂萃取结合起来,具有提取时间短、溶剂用量少、提取成本低等优点<sup>[4]</sup>。近年来,微波辅助提取法在提取中草药的有效成分中日趋活跃,是一种有潜力的新方法。将微波辅

助提取法用于白芍中芍药苷的提取,有望推动该生产工艺的升级换代。

### 1 材料

1.1 仪器:惠而浦VIP272微波萃取器(国家中药制药工程技术研究中心);R-501旋转蒸发器(上海申胜生物技术有限公司);ZX-4A旋片真空泵(上海真空泵有限公司);ZK 82J型电热真空干燥箱(上海实验仪器总厂);Waters 510型高效液相色谱仪(美国Waters公司)。

1.2 材料:白芍饮片购自上海康桥中药饮片有限公

收稿日期:2005-10-07

基金项目:国家重点科技攻关项目(999290214)

作者简介:黄天辉(1969—),男,华东理工大学精细化工研究所博士研究生,主要从事中草药的研究与开发。

Tel: (021) 64252967 E-mail: yjshen@ecust.edu.cn

司(产地浙江,批号 031222),经国家中药制药工程技术研究中心刘志远鉴定符合《中国药典》规定。芍药苷对照品(批号 110736-200320)购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯,乙醇、醋酸、异丙醇、磷酸二氢钾均为分析纯。

## 2 方法

2.1 色谱条件<sup>[5]</sup>:Shim-pack VP-ODS 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm),流动相为甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾-醋酸-异丙醇(67:173:4:4),体积流量为 1.0 mL/min,检测波长为 230 nm。

2.2 标准曲线的测定:精密称量芍药苷对照品适量,加甲醇制成 0.6 mg/mL 对照品溶液。精密量取对照品溶液 2、6、10、15、20 μL,按选定的色谱条件测定,以芍药苷的质量( $X$ , μg)与峰面积的积分( $Y$ )进行线性回归,计算回归方程为  $Y=1\ 200\ 240\ X+675\ 703.6$ , $r=0.999\ 9$ ,线性范围 1.2~12 μg。

2.3 测定:精密称取白芍饮片(80 目)约 0.5 g 3 份,置 25 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 30 min,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,按照上述色谱条件进样 10 μL,根据回归方程,计算得饮片芍药苷的质量分数为 1.83%;称取不同提取工艺的白芍干浸膏约 0.15 g 加入甲醇定容至 25 mL,滤过即得供试品溶液,按照上述色谱条件分别进样 10 μL,根据回归方程,分别计算浸膏芍药苷的质量分数。

## 3 结果与讨论

3.1 微波功率的影响:取白芍饮片(80 目)8 份,每份约 50 g,分别加入 500 mL 80%乙醇,选择微波功率 255、340、425、510、595、680、765、850 W,分别提取 15 min。浸膏的得率=浸膏的质量/饮片的质量×100%,芍药苷的转移率=浸膏中芍药苷的质量/饮片芍药苷的质量×100%,结果见表 1。在微波辅助提取过程中,微波功率的大小将影响系统内部温度的高低,进而影响到有效成分的溶出。表 1 可见,芍药苷的转移率随功率增大到 680 W 时最高,之后则逐渐下降,究其原因可能为芍药苷中的苷键随着功率增大、温度升高而水解所致;浸膏的得率则随着微波功率的增大,呈渐减趋势。由于白芍中化学成分极其复杂,微波功率的增大使某些成分溶出或分解,会直接影响到其他成分的溶出,也会影响到浸膏得率。综合考虑,微波功率以 680 W 为优化选择。

3.2 提取时间的影响:取白芍饮片(80 目)8 份,每份约 50 g,分别加入 500 mL 80%乙醇,选择微波功率 680 W,分别提取 5、10、15、20、25、30、35、40 min。微波辅助提取法的显著优点之一是提取时间

表 1 微波功率的影响

Table 1 Effect of microwave power

| 功率/<br>W | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% | 功率/<br>W | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% |
|----------|------------|--------------|----------|------------|--------------|
| 255      | 19.03      | 68.47        | 595      | 17.65      | 87.69        |
| 340      | 18.55      | 74.94        | 680      | 17.58      | 88.12        |
| 425      | 18.38      | 78.14        | 765      | 17.36      | 85.43        |
| 510      | 18.12      | 82.71        | 850      | 16.34      | 77.17        |

短。表 2 可见,芍药苷的转移率随提取时间增大到 15 min 时最高,之后则逐渐下降,而浸膏得率则随提取时间的延长,呈渐增趋势。事实上,随提取时间的延长,提取温度会逐渐增高,温度升高到一定程度后,芍药苷的苷键会水解,因而使得芍药苷的质量分数下降;提取时间从 20 min 到 40 min,浸膏得率的增加极其缓慢。说明白芍中成分的溶出有一个限度。综合考虑,提取时间以 15 min 为优化选择。

表 2 提取时间的影响

Table 2 Effect of extracting time

| 时间<br>/min | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% | 时间<br>/min | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% |
|------------|------------|--------------|------------|------------|--------------|
| 5          | 14.55      | 69.43        | 25         | 18.84      | 72.69        |
| 10         | 15.77      | 75.35        | 30         | 18.95      | 71.31        |
| 15         | 17.58      | 88.12        | 35         | 19.21      | 71.23        |
| 20         | 18.69      | 79.39        | 40         | 19.28      | 71.10        |

3.3 乙醇体积分数的影响:在中药工业生产过程中,乙醇是常用的溶剂,无毒,价格也便宜。取白芍饮片(80 目)8 份,每份约 50 g,选用 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%乙醇各 500 mL,选择微波功率 680 W,分别提取 15 min,实验结果见表 3。微波辅助提取法将微波辐射与溶剂萃取结合起来。溶剂的极性是影响微波提取的重要因素,极性大的溶剂其介电常数通常较大,更容易吸收微波能,另外溶剂的极性也是影响溶剂萃取的重要因素,相似者易相溶。从表 3 可以看出,芍药苷的转移率随乙醇体积分数增大到 80%时最高,之后则逐渐下降,究其原因可能为芍药苷的极性与 80%乙醇的相当所致;浸膏得率则随着乙醇体积分数的增加,呈渐减趋势,白芍中水溶性成分较多,随着乙醇体积分数增加,溶剂的极性不断减少,因而水溶性成分就难以溶出,以致浸膏得率不断减少。综合考虑,80%乙醇为优化选择。

3.4 料液比的影响:在中草药的有效成分提取过程中,溶剂的用量影响着生产的成本。取白芍饮片(80 目)8 份,每份约 50 g,选择 80%乙醇 250、300、350、400、450、500、550、600 mL,微波功率 680 W,分别提取 15 min,结果见表 4。从表 4 看出,浸膏得率、芍药苷转移率则随着料液比的增加,呈增加的趋势。事

表3 乙醇体积分数的影响

Table 3 Effect of ethanol concentration

| 体积分<br>数/min | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% | 体积分<br>数/min | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% |
|--------------|------------|--------------|--------------|------------|--------------|
| 55           | 19.03      | 68.03        | 75           | 18.56      | 80.01        |
| 60           | 18.85      | 77.13        | 80           | 17.58      | 88.12        |
| 65           | 18.84      | 77.50        | 85           | 17.35      | 87.48        |
| 70           | 18.79      | 78.15        | 90           | 15.65      | 82.57        |

表4 料液比的影响

Table 4 Effect of material to solvent ratio

| 料液比/<br>(g·mL <sup>-1</sup> ) | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% | 料液比/<br>(g·mL <sup>-1</sup> ) | 浸膏得<br>率/% | 芍药苷<br>转移率/% |
|-------------------------------|------------|--------------|-------------------------------|------------|--------------|
| 1:5                           | 15.77      | 61.68        | 1:9                           | 17.50      | 86.11        |
| 1:6                           | 16.38      | 67.90        | 1:10                          | 17.58      | 88.12        |
| 1:7                           | 17.26      | 76.88        | 1:11                          | 17.78      | 88.59        |
| 1:8                           | 17.38      | 81.04        | 1:12                          | 18.05      | 89.33        |

实上,溶剂萃取的直接推动力在于溶剂的浓度差,浓度差随着提取溶剂的增加而增加,提取溶剂的增加会导致芍药苷等其他成分不断溶出,实验表明料液比1:12时为优化比例。

3.5 验证试验:根据微波辅助提取白芍中芍药苷的优化工艺条件为微波功率680 W、提取时间15 min、乙醇体积分数80%、料液比1:12,制备3批样品,测定,计算,结果浸膏平均得率为18.05%,芍药苷平均转移率为93.45%。

3.6 不同提取方法的比较:白芍在工业上广泛采用加热回流提取其有效成分,按文献报道<sup>[2,3]</sup>加热回流提取白芍中芍药苷的优化工艺为乙醇体积分数80%,乙醇用量为12倍,通常提取3次,每次1 h。按此条件制备3批样品,测定,计算,结果与微波辅助提取的优化结果进行对比,见表5。可以看出,与传

统加热回流提取法相比,微波功率680 W、提取时间15 min、乙醇体积分数80%、料液比为1:12,可得到较佳提取效果。与传统提取方法相比,微波提取所需时间缩短至1/12,浸膏得率提高了0.49%、芍药苷转移率提高了15.31%。

表5 微波提取与加热回流的比较

Table 5 Comparison of microwave extraction with hot reflux

| 提取<br>方法 | 乙醇体<br>积分数/% | 料液比/<br>(g·mL <sup>-1</sup> ) | 提取<br>时间/min | 浸膏<br>得率/% | 芍药苷<br>转移率/% |
|----------|--------------|-------------------------------|--------------|------------|--------------|
| 微波提取     | 80%          | 1:12                          | 15           | 18.05      | 93.45        |
| 加热回流     | 80%          | 1:12                          | 180          | 17.56      | 78.14        |

#### 4 结论

实验结果表明:微波功率680 W、提取时间15 min、乙醇体积分数80%、料液比为1:12,可得到较佳提取效果。与传统提取方法相比,微波提取所需时间缩短至1/12,浸膏得率提高了0.49%、芍药苷转移率提高了15.31%。总之,微波辅助提取方法具有提取效率高、提取时间短、操作成本低等优点,是一种提取白芍中芍药苷的有效方法。

#### References:

- [1] Liu Y X, Ma Y Z. Advance of chemical constituents and pharmacological research of Baishao (*Paeonia lactiflora*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26 (8): 437-440.
- [2] Tao Q F. Optimization of extraction process for paeoniflorin in *Paeonia lactiflora* Pall. [J]. *J Chin Med Mat* (中药材), 1999 (2): 94-95.
- [3] Gan X Q, Li C W. Study on extraction process of paeoniflorin in *Paeonia lactiflora* Pall. by orthogonal design [J]. *J Huaihai Med* (淮海医药), 2001 (4): 344.
- [4] Pare J R, Jocelyn, Sigouin, Michel. Microwave-assisted natural products extraction [J]. US: 5002784A. 1991.
- [5] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

### 欢迎订阅《中草药》杂志 2005 年增刊

2005年11月25日~30日,由天津药物研究院和中国药学会主办的“第五届中药新药研究与开发信息交流会暨《中草药》杂志第九届编委会”在海南省海口市召开,为了配合会议的召开,本刊编辑部编辑、出版了《中草药》杂志2005年第36卷增刊。本增刊共收载论文150余篇,特邀中国科学院院士、中国工程院院士和国内十余位知名专家和中青年学科带头人,就中药现代化和中药走向国际等热点问题撰写综述性文章,另外还有反映国内近年来中药植化、药理、分析、制剂、药材资源和临床等新成就的科研论文和综述性文章。

增刊为大16开本,350页(约70万字),天津市报刊增刊特许准印证(2005)第063号,定价60元,另加5.00元邮费。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅,款到寄刊。

编辑部地址:天津市南开区鞍山西道308号 邮编:300193 网址:www.tjipr.com

电话:(022)27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail: zcyzbbjb@tjipr.com