

球面对称设计优选白芍的提取工艺

白玉婷¹, 高展², 张铁军^{2*}, 葛志强¹

(1. 天津大学化工学院, 天津 300072; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。其味苦、酸、微寒, 归肝、脾经。具有平肝止痛, 养血调经, 敛阴止汗功效, 用于头痛眩晕, 肋痛, 腹痛, 四肢痉挛, 血虚萎黄, 月经不调, 自汗, 盗汗等^[1]。芍药苷是白芍的主要有效成分, 具有镇静、解痉、抗炎、抗应激性溃疡等功效。白芍中芍药苷的提取工艺目前文献报道多采用水提或者醇提, 主要采用正交设计对其工艺参数进行优化。中药提取条件优化最常采用试验设计方法有正交设计、因子分析设计、均匀设计等。正交设计仅对已有因素的已有水平进行判断; 均匀设计因其试验次数太少, 试验精度不够, 并且也只能对已有的因素水平作判断; 因子分析设计的试验次数太多而费时费力。一般中药提取试验中对提取率的影响因素很多, 实验者希望通过较少试验就能找出这些试验因素于何种状态时提取率能达到最高。而此时因素的状态并不一定是已做过的试验, 也就是试验以外的状态。球面对称设计正是基于这种观点的实验方法。本实验旨在探讨球面对称设计在白芍醇提工艺中应用的基础上, 将球面对称设计的优化结果与传统正交设计进行比较, 说明球面对称设计在中药提取工艺优化中的可行性与优势。

1 仪器与材料

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); 飞鸽牌 LXJ—ⅡB 型低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂); 予华牌 PTHW 型恒温加热套(河南豫华仪器有限公司)。

芍药苷对照品(中国药品生物制品检验所, 批号 110736-200630), 乙腈(色谱纯, Fisher Scientific), 乙醇(分析纯, 天津市凯信化学工业有限公司), 磷酸(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司)。

白芍药材购于广东康美药业股份有限公司, 经天津药物研究院中药现代研究部张铁军研究员鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 芍药苷的提取工艺: 将白芍药材粉碎, 过 30 目筛。称取白芍粉末 50.0 g, 加入一定量一定体积分数乙醇, 回流提取一定时间, 得白芍提取液。将白芍提取液离心分离, 取离心后上清液, 测定上清液中芍药苷的质量浓度, 计算提取率(提取率=上清液中芍药苷的质量浓度×上清液体积/药材中芍药苷的总质量×100%)。

2.2 芍药苷的 HPLC 法测定: 参照《中国药典》2005 年版一部白芍项下测定方法。

2.2.1 色谱条件: 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸(14:86), 柱温为 30℃, 体积流量为 1.0 mL/min, 紫外检测波长为 230 nm。

2.2.2 标准曲线的绘制: 精密称取芍药苷对照品 3.06 mg, 用甲醇溶解并定容至 50 mL, 分别取该溶液 2、4、6、8、10、12 μL 进样, 记录积分面积。以峰面积对质量浓度进行拟合, 得回归方程: $A = 24.122C + 16.567$, $r = 0.9991$ 。

2.2.3 供试品溶液的制备: 取白芍提取液离心, 得离心上清液, 稀释到可测质量浓度范围, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 测定法: 分别精密吸取芍药苷对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 采用外标法进行计算。色谱图见图 1。

2.3 白芍药材中芍药苷的测定: 取白芍中粉约 0.1 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇 35 mL, 超声处理(功率 240 W, 频率 45 kHz)30 min, 放冷, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。进样测定, 通过回归方程计算可得本批药材中芍药苷的质量分数为 1.8715%。

2.4 球面对称设计: 根据相关文献报道^[2]及预试验结果确定白芍醇提工艺中考察的因素, 以及各因素所取的水平范围。故本实验以提取率为考察指标, 考察

收稿日期: 2007-09-25

作者简介: 白玉婷(1984—), 女, 甘肃人, 天津大学化工学院生物化工专业 2006 级硕士研究生。

Tel: (022)23002935 E-mail: yutingbyt@yahoo.com.cn

* 通讯作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiezheng4@sina.com.cn

因素乙醇体积分数(x_1)、乙醇加入量(x_2)和提取时间(x_3),则可拟合成回归方程: $y=b_0+b_1x_1+b_2x_2+b_3x_3+b_4x_1x_2+b_5x_2x_3+b_6x_1x_3+b_7x_1^2+b_8x_2^2+b_9x_3^2+b_{10}x_1x_2x_3$ 。试验采用球面对称设计进行优化,水平安排见表 1。试验设计及试验结果见表 2。

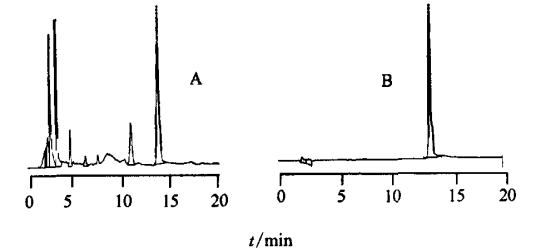


图 1 白芍提取液(A)与芍药苷对照品(B)的色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of *Radix Paeoniae Alba* extract (A) and paeoniflorin in reference substance (B)

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	$x_1/\%$	$x_2/\text{倍}$	x_3/h
$-\sqrt{3}$	40.00	6.00	0.50
-1	50.57	7.69	1.03
0	65.00	10.00	1.75
1	79.43	12.31	2.47
$\sqrt{3}$	90.00	14.00	3.00

表 2 球面对称设计的试验安排和结果

Table 2 Arrangements and results of spherical symmetry design

试验号	x_1	x_2	x_3	提取率/%
1	-1	-1	-1	72.592
2	-1	-1	1	74.329
3	-1	1	-1	80.697
4	-1	1	1	78.373
5	1	-1	-1	82.460
6	1	-1	1	83.518
7	1	1	-1	88.687
8	1	1	1	87.748
9	$-\sqrt{3}$	0	0	92.603
10	$\sqrt{3}$	0	0	97.761
11	0	$-\sqrt{3}$	0	68.026
12	0	$\sqrt{3}$	0	60.265
13	0	0	$-\sqrt{3}$	83.245
14	0	0	$\sqrt{3}$	76.178
15	0	0	0	89.019

以上结果用最速下降法进行拟合,可得提取率(y)与乙醇体积分数(x_1)、乙醇加入量(x_2)和提取时间(x_3)之间的关系式: $y=89.01876+3.36349x_1+0.65458x_2-0.90774x_3-0.21150x_1x_2-0.75725x_2x_3+0.08825x_1x_3+2.45069x_1^2-8.06209x_2^2-2.87312x_3^2$ 。

若用 F 检验, F 值为 5.177, $F^*(9,5)=4.77$ ($*P<0.05$),很明显,试验拟合方程的 $F>F^*$,因此,拟合方程的是成立的。

当乙醇体积分数 $40\%\leq x_1\leq 90\%$,乙醇加入量 $6\text{倍}\leq x_2\leq 14\text{倍}$,提取时间 $0.5\text{h}\leq x_3\leq 3\text{h}$ 时,根据上述回归方程,计算出优化条件为: $x_1=90\%$, $x_2=10.047\text{倍}$, $x_3=1.654\text{h}$,可预测出最大提取率为 102.249%。因为这个数值只是根据拟合方程和各参数取值范围计算出来,并不具有真实意义,所以预测出的最大值可能超过 100%。但是因为它与 100% 相差不大,所以认为此优化结果是可行的,所以利用这个优化结果进行验证。

2.5 球面对称设计与正交设计优化结果的验证:为了减少操作误差,同时对球面对称设计和正交设计的优化结果进行验证。球面对称设计的优化结果为: $x_1=90\%$, $x_2=10.047(\text{倍})$, $x_3=1.654\text{h}$,计算得理论提取率为 102.249%。验证时,用 50.0 g 白芍粉末,加入 90% 乙醇 502.35 mL,加热回流提取 99 min,3 次验证后可得平均提取率为 98.267%。其与理论预测值的相对误差为 3.894%,可认为理论值与试验值近似相等。

根据相关的文献报道^[3~5]和本课题组对影响正交试验的因素乙醇体积分数、加入倍量以及提取时间不同水平进行正交试验优化,得到的正交设计的优化结果是用 50.0 g 白芍粉末,加入 90% 乙醇 600 mL,加热回流 120 min,3 次验证后可得平均提取率为 90.046%。

同时由于发现正交设计结果中乙醇体积分数为 70% 与 90% 时,12 倍量提取溶剂,提取 120 min 时的提取率相差不大,因此验证时增加一组试验,考察使用 70% 乙醇提取能否达到最优化水平,即用 $x_1=70\%$, $x_2=12(\text{倍})$, $x_3=2\text{h}$ 进行验证,3 次验证平均提取率为 88.608%。

由试验结果可知,球面对称设计的理论优化结果与试验值相差不大,而且它与正交设计所得优化结果相比:二者所用乙醇的体积分数相等,虽然球面对称设计中提取溶剂的加入量要少于正交设计,所用提取时间短于正交设计,但是提取率却较正交设计高。其原因可能是因为随着提取溶剂的加入量增多,提取出白芍中芍药苷以外的物质增多,这些物质溶出的增多反而会抑制白芍中芍药苷的提取,使芍药苷的提取率降低。另一方面芍药苷受热不稳定,易分解,不宜长时间加热,与文献报道^[6]一致。

3 讨论

实验结果说明在中药提取中,可以利用球面对称设计来优化提取条件。与传统的正交试验设计相比,球面对称设计的优化结果更加节约生产成本和能源。

本实验采用乙醇提取白芍中的芍药苷,在考察影响因素的时候未对提取次数加以考虑,即所有试验均只提取1次。这是因为球面对称设计无法对提取次数予以考察,因为提取次数只能是整数而无法为小数,这也是球面对称设计的一个缺点,实验中为保证一致性,因此正交试验也采用一次提取操作。为了弥补这

个缺点,可以考虑在用球面对称设计优化提取工艺后,再采用单因素试验对提取次数加以考察。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 盛海林,涂家生. 球面对称设计在药剂学上的应用[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(4): 211-214.
- [3] 刘媛,周劲松,陈玉俊,等. 白芍提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(7): 1239-1240.
- [4] 刘芳,杨广德. 白芍中药药苷的提取方法研究[J]. 中成药, 2003, 25(10): 792-795.
- [5] 吴巧凤,严云良,楼小红. 白芍中药药苷的提取工艺研究[J]. 中成药, 2006, 28(9): 1379-1380.
- [6] 黄夏敏,彭中芳,邓祝玲. 白芍在中成药生产过程中芍药苷含量变化的研究[J]. 中药新药与临床药理, 1998, 9(4): 236.

HPLC法测定小儿止咳糖浆中麻黄碱

刘茂军¹,王春胜²

(1. 天津市和平区中医医院,天津 300050; 2. 天津化工厂医院,天津 300480)

小儿止咳糖浆由盐酸麻黄碱、甘草流浸膏、桔梗流浸膏等成分组成,具有祛痰、止咳的功效。目前无定量测定标准。笔者参考相关文献报道^[1-3],采用薄层色谱法鉴别了小儿止咳糖浆中的甘草、桔梗和盐酸麻黄碱,HPLC法测定其中的盐酸麻黄碱,以此作为其质量控制指标。

1 材料

BP210S型电子天平(感量:0.000 01 g);岛津LC—6A高效液相色谱仪;SPD—6AV紫外检测器;LC—6A输液泵;SCL—6B色谱系统控制器;VST色谱工作站。

小儿止咳糖浆以及处方药材(天津化工厂医院提供);盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号714-9202);硅胶G(青岛海洋化工厂,薄层色谱用);甲醇为色谱纯,其他均为分析纯试剂。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备:精密称取盐酸麻黄碱对照品11 mg置50 mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(每1 mL含盐酸麻黄碱0.22 mg)。精密吸取此溶液10 mL,置50 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,密塞,即得50 μg/mL的储备液。

2.2 供试品溶液的制备:精密量取小儿止咳糖浆1 mL,置25 mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,用针头式有机过滤器滤过,即得。同法制备阴性

对照溶液。

2.3 色谱条件:色谱柱:Packing Irregular-H C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸二氢钾(30:70);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:215 nm;灵敏度:0.01 AUFS;柱温:室温;进样量:20 μL。

2.4 标准曲线的绘制:精密吸取盐酸麻黄碱对照品溶液适量,稀释配制成5.5、11、22、33、44 μg/mL溶液,分别吸取20 μL进样测定。以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=1136X-3003.4$, $r=0.9998$ 。结果表明盐酸麻黄碱在5.5~44 μg/mL与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 专属性试验:精密量取盐酸麻黄碱对照品溶液、小儿止咳糖浆以及阴性对照溶液各适量,进样,结果见图1。可见盐酸麻黄碱对照品保留时间在10 min左右,供试品溶液中麻黄碱的保留时间也在10 min左右,阴性对照没有任何干扰。

2.6 稳定性试验:同一供试品溶液在室温下放置,分别于0、4、8、12、18、24 h准确吸取20 μL进样,测定盐酸麻黄碱峰面积,计算得其RSD为1.69%。说明供试品溶液在24 h内稳定。

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,计算其中盐酸麻黄碱的质量分数,结果其RSD为1.63%。

2.8 精密度试验:精确吸取供试品溶液20 μL,重

球面对称设计优选白芍的提取工艺

作者：[白玉婷](#)，[高展](#)，[张铁军](#)，[葛志强](#)
作者单位：[白玉婷, 葛志强 \(天津大学化工学院, 天津, 300072\)](#)，[高展, 张铁军 \(天津药物研究院, 天津, 300193\)](#)
刊名：[中草药](#)  
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39(7)
被引用次数：1次

参考文献(6条)

1. [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005
2. [盛海林;涂家生](#) 球面对称设计在药剂学上的应用[期刊论文]-[中国药科大学学报](#) 1996(04)
3. [刘媛;周劲松;陈玉俊](#) 白芍提取工艺的研究[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2006(07)
4. [刘芳;杨广德](#) 白芍中芍药苷的提取方法研究[期刊论文]-[中成药](#) 2003(10)
5. [吴巧凤;严云良;楼小红](#) 白芍中芍药苷的提取工艺研究[期刊论文]-[中成药](#) 2006(09)
6. [黄夏敏;彭中芳;邓祝玲](#) 白芍在中成药生产过程中芍药苷含量变化的研究 1998(04)

本文读者也读过(10条)

1. [白玉婷](#). [高展](#). [张铁军](#). [葛志强](#) 球面对称设计应用于中药提取的适宜性研究[会议论文]-2007
2. [聂爱国](#). [郭立玮](#). [NIE Ai-guo](#). [GUO Li-wei](#) 均匀设计在白芍提取工艺中的应用[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#) 2005, 12(12)
3. [闫兴丽](#). [张建军](#). [李小燕](#). [杜守颖](#). [李伟](#) 温度对白芍药材、白芍提取物及乾坤清颗粒成品中芍药苷含量稳定性的影响[期刊论文]-[中草药](#)2003, 34(2)
4. [黄天辉](#). [沈平嬢](#). [沈永嘉](#) 微波辅助提取白芍的工艺研究[期刊论文]-[中草药](#)2006, 37(6)
5. [黄天辉](#). [黄泰松](#). [周俊](#). [张祥民](#) 微波提取高效液相色谱测定白芍中芍药苷的研究[期刊论文]-[中成药](#)2008, 30(8)
6. [徐艳](#). [原振江](#). [XU Yan](#). [YUAN Zhen-jiang](#) 球面对称设计法研究纤维素酶对枸杞子中枸杞总糖提取率的影响[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#)2006, 13(8)
7. [简炎林](#). [黄园](#). [龚涛](#). [JIAN Yan-lin](#). [HUANG Yuan](#). [GONG Tao](#) 优化地塞米松类脂纳米粒的制备工艺[期刊论文]-[华西药学杂志](#)2006, 21(4)
8. 利用球面对称设计法筛选泛昔洛韦分散片的优化处方[期刊论文]-[河北医学](#)2006, 12(7)
9. [宋学伟](#). [潘兰](#). [韩泳平](#). [钟亚玲](#). [任磊](#) 球面对称设计优化荨麻多糖的提取工艺[期刊论文]-[中草药](#)2006, 37(9)
10. [苏孝共](#). [朱光辉](#). [王增寿](#). [SU Xiao-gong](#). [ZHU Guang-hui](#). [WANG Zeng-shou](#) 白芍与柴胡不同比例配伍芍药苷水煎出量的比较[期刊论文]-[中国现代应用药学](#)2005, 22(3)

引证文献(1条)

1. [卞芙蓉](#). [劳兴珍](#). [郑珩](#). [吴梧桐](#) 酵母发酵生产谷胱甘肽的培养基优化[期刊论文]-[中国生化药物杂志](#) 2009(3)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807021.aspx