

发挥其治疗心脑血管疾病方面提供一个较为可行的方法。

3.2 藁本内酯的水溶性较低, 本实验采用乙醇注入法, 适用于水溶性低的药物, 且所用设备简单, 易于操作, 重现性好, 制备的脂质体小而均匀, 包封率高。由于藁本内酯不稳定, 所有操作均在暗室中进行, 试验中使用棕色容器, 且避免高温。

3.3 包封率测定方法有凝胶过滤法、透析法、超速离心法及超滤法。凝胶过滤法消耗时间长, 且不易控制流速; 采用透析法时, 药物几乎透析不出来, 耗时长。超速离心法相对简单、快速、易行, 因此本实验选择超速离心法测定包封率。在测定中, 离心速度要尽可能高, 且要控制温度在室温范围内, 转速太低难将小颗粒的脂质体分离开, 温度高易使脂质体破碎而影响包封率的测定。

3.4 对于脂溶性药物, 采用乙醇注入法制备脂质体通常能有较高的包封率, 但由表 2 可知实验所得脂质体并为达到预期结果(包封率 80% 以上), 藁本内酯脂质体的包封率偏低, 可能是由于藁本内酯药物性质所决定的。一般脂溶性特别好或水溶性特别好, 即  $\lg P < -0.3$  或  $\lg P > 4.5$  的药物可被包封成具有较高包封率的脂质体<sup>[14]</sup>。本课题组将进一步进行研究进行处方及工艺的改进, 以期能进一步提高其包封率。

3.5 对于藁本内酯脂质体的稳定性、干燥方法等考察, 正在进一步试验研究。

参考文献:

- [1] 刘众, 史荫绵, 陈达仁, 等. 川芎对急性实验性脑缺血大白兔血浆中  $\beta$ -TG、PF4 及 TXB<sub>2</sub>、6-酮-PGF<sub>1</sub> $\alpha$  含量的影响[J]. 中西医结合杂志, 1990, 10(9): 543-544
- [2] 陈达仁, 史荫绵, 田桂琴, 等. 川芎和低分子右旋糖酐治疗急性脑梗塞的对照研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1992, 12(2): 71-73
- [3] Lu Q, Qiu T Q, Yang H. Ligustilide inhibits vascular smooth muscle cells proliferation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 542(1-3): 136-140
- [4] 石力夫, 邓延昭, 吴柏生. 川芎干燥根茎挥发油化学成分及其稳定性的研究[J]. 药物分析杂志, 1995, 15(3): 26-30
- [5] 李桂生, 马成俊, 李香玉, 等. 藁本内酯的稳定性研究及异构化产物的 GC-MS 分析[J]. 中草药, 2000, 31(6): 405-407
- [6] 张彦青, 解军波, 陈文倩, 等. 正交试验优选石杉碱甲脂质体的制备研究[J]. 中草药, 2009, 40(6): 896-898
- [7] 潘峰, 胡春梅, 潘黎星, 等. 粉防已阿霉素脂质体的制备与体外释放度的研究[J]. 中草药, 2009, 40(2): 215-220
- [8] Johansson B B. Experimental models of altering the blood-brain barrier [J]. *Prog Brain Res*, 1992, 9(1): 171-176
- [9] 郭海燕, 莫德林. 脂质体物理稳定性和包封率的影响因素[J]. 中国新药杂志, 2004, 13(6): 498-501
- [10] 易进海, 刘云华, 陈燕, 等. RP-HPLC 测定川芎不同部位藁本内酯和阿魏酸含量[J]. 中成药, 2009, 31(5): 811-813
- [11] 中国药典[S]. 二部. 2005
- [12] 李慧, 王一涛. 藁本内酯稳定性的影响因素及稳定化措施[J]. 江西中医学院学报, 2003, 15(1): 56-58
- [13] 李慧, 边宝林, 孟繁蕴, 等. 藁本内酯的稳定性及 $\beta$ -环糊精包合工艺的考察[J]. 中草药, 2005, 36(10): 1483-1485
- [14] 殷丹, 李三鸣, 代奕, 等. 氟比洛芬脂质体的制备和体外透皮实验[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(9): 553-556

## 响应面法优选新疆紫草总萘醌的匀浆提取工艺研究

杨磊, 刘婷婷, 卫蔚, 王化, 祖元刚\*

(东北林业大学 森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**目的 研究适合以新疆紫草为原料提取萘醌类化合物的方法, 并对其提取方法工艺条件进行了优化。方法 考察了匀浆提取时间、乙醇体积分数、料液比和提取次数等因素对提取工艺的影响, 并在单因素试验基础上, 根据中心组合试验设计原理采用 3 因素、3 水平的响应面分析法进行工艺优化。结果 得到提取过程优化的工艺条件: 提取时间为 3.99 min, 料液比 1: 9.99, 乙醇体积分数 80.2%, 紫草总萘醌的实际得率可达 0.75%, 质量分数为 30.33%, 提取次数为 2 次, 回收率可达 81%。结论 采用匀浆法从新疆紫草中提取萘醌类化合物, 有效地避免了紫草素损失, 并具有提取速度快、温度低、能耗低的特点, 适合紫草素萘醌类化合物的大规模生产。

**关键词:** 新疆紫草; 萘醌; 匀浆提取; 响应面法

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)04-0568-06

①收稿日期: 2009-08-13

基金项目: 科技部中德国际合作项目(CHN02/329)

作者简介: 杨磊(1964—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为植物化学和植物药。Tel: (0451) 82192392 E-mail: yanglei nefu@126.com

\* 通讯作者 祖元刚 E-mail: zygorl@126.com

## Optimization on homogenate extraction technology of naphthoquinones from *Arnebia euchroma* by response surface methodology

YANG Lei, LIU Ting-ting, WEI Wei, WANG Hua, ZU Yuan-gang

(Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract: Objective** To extract the naphthoquinones from *Arnebia euchroma* by the method of homogenate extraction and optimize the extraction technology. **Methods** The effects of homogenate extraction time, the volume of ethanol, the ratio of solid to liquid, and the times on extraction technology were studied. Base on the singlefactor test, an orthogonal test design was developed by Central Composite test design method. **Results** The optimized conditions were as follows: extracting time was 3 99 min, the ratio of solid to liquid was 1 : 9. 99, and the volume of ethanol was 80 2%. The actual yield and purity of naphthoquinones from *A. euchroma* were 0 75% and 30. 33%, respectively. And recovery rate of naphthoquinones was 81% when extracting twice. **Conclusion** The proposed homogenate extraction method needs less extracting time, less extraction solvent, and less energy consumption, so it is a method for extracting naphthoquinones from *A. euchroma* in high efficiency.

**Key words:** *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst; naphthoquinones; homogenate extraction; response surface methodology

新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst. 是我国传统中药之一,其根入药,具有凉血活血,解毒透疹之功用<sup>[1,2]</sup>。紫草素作为是紫草的主要有效成分,具有抗炎、抗氧、抗肿瘤、抗病毒等多种生理活性<sup>[3-6]</sup>,具有很好的开发应用前景。提取紫草萘醌类化合物的常用方法有回流提取法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法、超声法和微波法等。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取虽然具有选择性高、操作时间短、有效成分得率高,但受处理量的限制,产量低,目前工业开发难度较大。冷浸和渗漉法用时长、溶剂用量大、溶剂回收率低;回流和微波法由于萘醌化合物结构欠稳定,在 60 ℃ 以上时降解很快<sup>[7]</sup>,虽然许多研究采用了这 2 种方法,然而由于采用分光光度比色法测定掩盖了这种缺陷<sup>[7,8]</sup>;超声法虽然是一种新型的提取技术,提取速度快,得率高,但就目前而言工业化设备能耗高,噪声大。因此,寻找更加有效的提取紫草素的方法具有现实意义。匀浆提取是指生物组织通过加入溶剂进行组织匀浆或磨浆,以提取组织中有效成分的一种提取方法,具有提取速度快,温度低,能耗低,目的成分得率高的特点。近年来,本课题组应用匀浆提取法对植物组织中生物碱<sup>[9,10]</sup>、黄酮类<sup>[11]</sup>、印楝素 A<sup>[12]</sup>、鼠尾草酸<sup>[13]</sup>、白藜芦醇<sup>[14]</sup>和茄尼醇<sup>[15]</sup>等多种活性物质进行提取,收到了很好的效果。本实验采用匀浆法对新疆紫草干品中的萘醌类化合物进行了提取,在单因素的试验基础上,对匀浆提取过程中的各因素采用响应面法(response surface methodology, RSM)进行了优化,取得满意结果,为规模生产

提供了有价值的工艺参数。

### 1 仪器与试剂

匀浆萃取装置<sup>[16]</sup>(本实验室专利产品,专利号 ZL02275225 0, 转数 10 000 r/min, 容积 500 mL); KQ-250DB 型台式数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, 功率 250 W);微波萃取装置用 WP700TL 23-K5 型微波炉(格兰仕微波电器有限公司)改造<sup>[17]</sup>, 功率 700 W; DK-98-1 型水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司, 功率 1500 W);超临界萃取装置(江苏南通华安超临界萃取有限公司, 萃取釜容积 1 L)。717 型自动进样高效液相色谱仪, 包括 1525 二元泵和 2487 型紫外光检测器(美国 Waters 公司);UV-2550 紫外可见分光光度计(日本岛津公司);BS-124S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

新疆紫草药材购于黑龙江省哈尔滨市三棵树药材市场,经东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室聂绍荃教授鉴定为新疆紫草的干燥根茎,采用文献方法<sup>[18]</sup>测定,其总萘醌质量分数为 1.28%。紫草素对照品(批号 110769-200405)购自中国药品生物制品检定所;测定用甲醇和乙醇为色谱纯,购自 J&K Chemical Ltd 公司;其他试剂均为国产分析纯。色谱和光谱分析用去离子水采用 Mill-Q 去离子水制备系统自制。

### 2 方法与结果

#### 2.1 分析方法

2.1.1 紫草总萘醌的测定:采用分光光度法测定紫

草中总萘醌。以乙醇作溶剂, 516 nm 处测定吸光度。准确称取紫草素对照品适量, 加入乙醇制成 0.4182 mg/mL 的对照品贮备液。分别精密吸取对照品贮备液 0.2、0.4、0.8、1.6 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加入乙醇定容, 得对照品溶液。以吸光度为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得标准曲线方程:  $A = 25.73C - 0.004$ ,  $R^2 = 0.9997$ , 在 10~70 mg/L 线性良好。

提取液计量体积后取 1 mL 稀释至适宜的检测质量浓度, 离心(温度 25 °C; 转速 12 000 r/min; 时间 5 min), 取上清液检测, 吸光度代入标准曲线方程并依据稀释倍数得到提取液的总萘醌质量浓度, 计算总萘醌的得率(Y); 剩余的提取液 55 °C 减压浓缩至干, 称定质量, 计算浸膏中总萘醌的质量分数。

$$Y = C \times V / M \times 100\%$$

$$P = (C \times V / m) \times [(V - 1) / V] \times 100\%$$

式中 Y 为得率, P 为浸膏中总萘醌的质量分数, V 为总萘醌的质量浓度, C 为提取液体积, M 为原料质量, m 为浸膏质量

2.1.2 高效液相色谱定性测定条件: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(85:15); 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 10 μL; 柱温 25 °C; 检测波长: 516 nm。

2.2 单因素试验: 准确称取 10.0 g (绝干计) 新疆紫草原料, 置于匀浆机中, 在多种条件下提取, 以确定提取因素变化范围以及各因素的适宜值。将每次提取液滤过, 滤液取 1 mL 用于紫草总萘醌测定, 其余溶液减压回收溶剂并于 55 °C 减压干燥, 计量浸膏质量, 计算得率和质量分数。

2.2.1 提取溶剂体积分数对紫草总萘醌提取效果的影响: 紫草中萘醌类色素多数成分结合成酯, 脂剪性强, 易溶于石油醚、氯仿, 可溶于植物油、乙醇, 微溶于水。考虑到溶剂的安全性、有效性、生产成本及便于操作等因素, 实验选用乙醇水体系作为提取溶剂。固定提取时间为 3 min, 料液比 1:10, 提取次数 1 次, 不同乙醇体积分数对紫草总萘醌提取效果的影响见图 1。乙醇体积分数在 50%~100% 时, 紫草总萘醌得率随着乙醇体积分数的升高而增加, 而总萘醌质量分数在 80% 后有下降的趋势, 因此, 乙醇体积分数应保持在 80% 左右为宜。

2.2.2 提取时间对总萘醌提取效果的影响: 固定乙醇体积分数为 80%, 料液比 1:10, 提取时间分别控制在 1、2、3、4、5 min, 提取 1 次, 时间对紫草总萘醌提取效果的影响见图 2。紫草总萘醌在匀浆 3 min 时提取效果较好, 时间过长, 热效应增大, 萘醌化合

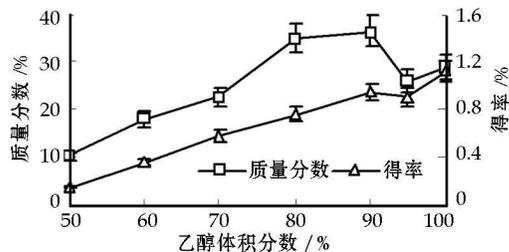


图 1 乙醇体积分数对紫草总萘醌提取效果的影响

Fig 1 Effect of ethanol concentration on yield and purity of naphthoquinones

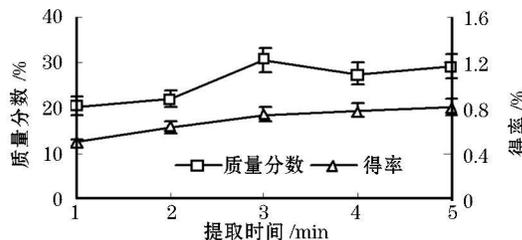


图 2 提取时间对紫草总萘醌提取效果的影响

Fig 2 Effect of extracting time on yield and purity of naphthoquinones

物部分降解或异构化, 并且物料粒度过细, 固液分离难度增加。因此, 提取时间应为 3 min 为宜。

2.2.3 料液比对紫草总萘醌提取效果的影响: 料液比对紫草总萘醌提取效果的影响见图 3, 在 80% 乙醇, 提取时间 3 min, 提取 1 次的条件下, 料液比越大, 得率越高。当料液比达到 1:10 时得率较高, 大于 1:10 时得率增加不显著。料液比过小不利于紫草总萘醌的提取, 得率低, 料液比过大溶剂用量大, 增加浓缩负荷和能耗。从经济成本和操作周期考虑, 料液比控制在 1:10 左右为宜。

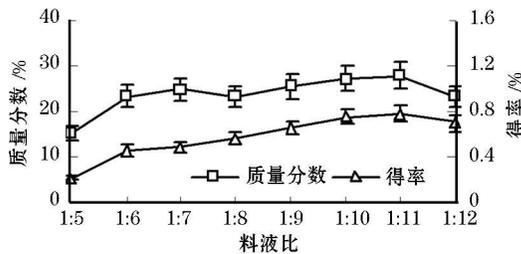


图 3 料液比对紫草总萘醌提取效果的影响

Fig 3 Effect of ratio of solid to liquid on yield and purity of naphthoquinones

2.2.4 提取次数对紫草总萘醌提取效果的影响: 由图 4 可知随着提取次数的增加, 紫草总萘醌的质量分数逐次降低, 将 4 次提取的紫草总萘醌回收率设定为 100%, 则第 1 次的回收率在 53% 以下; 前 2 次的累积回收率在 80% 左右; 前 3 次的累积回收率在 93% 左右。同时考虑到增加提取次数, 会增加溶剂

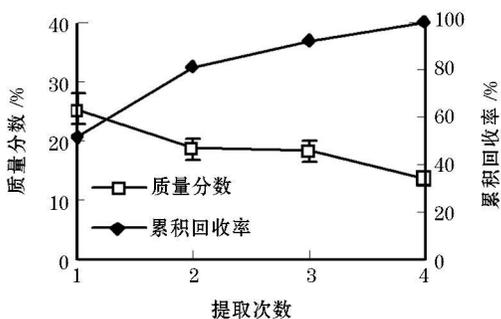


图 4 提取次数对紫草总萘醌提取效果的影响

Fig 4 Effect of extraction times on yield and purity of naphthoquinones

的使用量, 溶剂回收成本高, 且随着次数增加, 杂质成分提取较多, 导致紫草总萘醌的质量分数有所降低, 因此综合考虑, 提取次数选择 2 次较合理。规模生产时亦可考虑提取 2 次, 后 1 次的提取液作为下一批次的提取溶剂使用, 以降低成本。

### 2.3 工艺优化试验

2.3.1 响应面优化试验设计: 根据中心组合试验设计原理, 综合单因素影响试验结果, 选取乙醇体积分数、提取时间、料液比作为考察对象, 采用 Design Expert 7.0 统计分析软件的响应面分析法安排试验, 以获取最适工艺参数。试验采用 3 因素 3 水平的响应面分析法进行试验设计, 试验水平因素安排见表 1。

表 1 试验因素水平编码

Table 1 Factors and level coding of test

水平	因素		
	$X_1$ (提取时间)/min	$X_2$ (料液比)	$X_3$ (乙醇体积分数)/%
-1	3	9	70
0	4	10	80
1	5	11	90

2.3.2 紫草总萘醌提取优化结果: 20 个试验中, 1~14 是析因试验, 15~20 是中心试验, 用来分析试验误差。以紫草总萘醌得率( $Y$ )为响应值, 经回归拟合后, 各因子与响应值的回归方程为:  $Y = -12.82 + 0.48X_1 + 1.72X_2 + 0.1X_3 - 6.8 \times 10^{-3}X_1X_2 + 2.34 \times 10^{-3}X_1X_3 - 1.11 \times 10^{-4}X_2X_3 - 7.54 \times 10^{-2}X_1^2 - 8.45 \times 10^{-2}X_2^2 - 6.83 \times 10^{-4}X_3^2$ 。以紫草总萘醌质量分数( $P$ )为响应值的回归方程为:  $P = -611.95 + 34.24X_1 + 60.13X_2 + 6.76X_3 - 0.26X_1X_2 - 1.36 \times 10^{-2}X_1X_3 - 7.31 \times 10^{-3}X_2X_3 - 3.81X_1 - 2.92X_2^2 - 4.12 \times 10^{-2}X_3^2$ 。结果见表 2。方差分析见表 3。

表 2 紫草总萘醌提取工艺条件中心组合设计方案及数据结果

Table 2 Test design and extraction yield of naphthoquinones from *A. euchroma* with Central Composite software

试验序号	$X_1$ /min	$X_2$	$X_3$ /%	总萘醌得率/%	总萘醌质量分数/%
1	3.4	9.4	74.1	0.69	24.08
2	4.6	9.4	74.1	0.68	24.76
3	3.4	10.6	74.1	0.68	24.69
4	4.6	10.6	74.1	0.65	24.18
5	3.4	9.4	85.9	0.67	25.33
6	4.6	9.4	85.9	0.69	25.00
7	3.4	10.6	85.9	0.66	25.02
8	4.6	10.6	85.9	0.67	25.14
9	3	10	80	0.69	26.60
10	5	10	80	0.68	26.35
11	4	9	80	0.66	27.37
12	4	11	80	0.69	27.36
13	4	10	70	0.69	26.00
14	4	10	90	0.69	26.34
15	4	10	80	0.76	29.62
16	4	10	80	0.75	28.22
17	4	10	80	0.76	30.26
18	4	10	80	0.75	29.04
19	4	10	80	0.76	29.46
20	4	10	80	0.76	28.93

表 3 紫草总萘醌提取工艺条件响应面拟合回归方程的方差分析结果

Table 3 Analysis of variance with regression model on extraction conditions of naphthoquinones with RSM

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
Model	$2.71 \times 10^{-2}$	9	$3.01 \times 10^{-3}$	24.209	$2 < 0.0001$
$X_1$ (提取时间)	$6.54 \times 10^{-5}$	1	$6.54 \times 10^{-5}$	0.524	0.4854
$X_2$ (料液比)	$6.16 \times 10^{-5}$	1	$6.16 \times 10^{-5}$	0.494	0.4978
$X_3$ (乙醇体积分数)	$2.05 \times 10^{-5}$	1	$2.05 \times 10^{-5}$	0.164	0.6936
$X_1X_2$	$4.64 \times 10^{-5}$	1	$4.64 \times 10^{-5}$	0.372	0.5553
$X_1X_3$	$5.50 \times 10^{-4}$	1	$5.50 \times 10^{-4}$	4.414	0.0620
$X_2X_3$	$1.23 \times 10^{-6}$	1	$1.23 \times 10^{-6}$	0.009	0.9227
$X_1^2$	$1.03 \times 10^{-2}$	1	$1.03 \times 10^{-2}$	82.388	$2 < 0.0001$
$X_2^2$	$1.29 \times 10^{-2}$	1	$1.29 \times 10^{-2}$	103.473	$6 < 0.0001$
$X_3^2$	$8.40 \times 10^{-3}$	1	$8.40 \times 10^{-3}$	67.483	$7 < 0.0001$
残差 Residual	$1.25 \times 10^{-3}$	10	$1.25 \times 10^{-4}$		
失拟项 Lack of Fit	$1.03 \times 10^{-3}$	5	$2.06 \times 10^{-4}$	4.838	0.0543
Pure Error	$2.13 \times 10^{-4}$	5	$4.27 \times 10^{-5}$		
总差 Cor Total	$2.84 \times 10^{-2}$	19			

由方差分析结果可知, 上述回归方程中各变量对指标(响应值)影响的显著性, 由  $F$  检验来判定。概率  $P(F > F_{\alpha})$  值越小, 则相应变量的显著程度越高,  $P(F > F_{\alpha}) < 0.01$  时影响为高度显著,  $P(F > F_{\alpha}) < 0.05$  时影响为显著。各因素中  $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$  是高度显著的, 因此各具体试验因子对响应值的影响不是简单的线性关系。回归方程也是高度显著的, 相关系数  $r = 2.71 \times 10^{-2} / 2.84 \times 10^{-2} \times 100\% = 95.4\%$ , 说明响应值的变化有 95.4% 来自于可选变

量,因此回归方程可以较好地描述各因素与响应值之间的真实关系,可以利用此模型对紫草萘醌提取效果进行分析。失拟项  $F$  值为 4 838 9,表明失拟项相对于绝对误差不显著,而不显著的失拟项是可取的,说明该回归方程对试验拟合较好。交互作用项  $X_1X_2$ 、 $X_1X_3$  和  $X_2X_3$  并不显著  $P(F > F\alpha) > 0.05$ ,表明各因素间交互作用不明显。为了得到紫草萘醌最佳的提取条件,对回归方程求一阶偏导数等于零整理得:

$$0.48 - 6.8 \times 10^{-3} X_2 + 2.34 \times 10^{-3} X_3 - 15.08 \times 10^{-2} X_1 = 0$$

$$1.72 - 6.8 \times 10^{-3} X_1 - 1.11 \times 10^{-4} X_3 - 16.9 \times 10^{-2} X_2 = 0$$

$$0.1 X_3 + 2.34 \times 10^{-3} X_1 - 1.11 \times 10^{-4} X_2 - 13.66 \times 10^{-4} X_3 = 0$$

求解方程组得  $X_1 = 3.99$ ,  $X_2 = 9.99$ ,  $X_3 = 80.2$ ,即紫草萘醌提取的最佳条件为提取时间 3.99 min,液料比 9.99,乙醇体积分数 80.2%,在此条件下的紫草萘醌得率为 0.76%,质量分数为 29.32%。

2.4 最佳条件的验证:为了检验试验结果可靠性,根据以上结果进行了验证试验,但考虑实际操作的方便性,选用乙醇体积分数 80%、料液比 1:10、匀浆时间为 4 min 的条件下进行 5 次重复验证试验,紫草素平均得率为 0.75%,与理论值的相对误差 0.71%,质量分数为 30.33%,相对误差为 3.44%,说明验证值与回归方程预测值吻合较好。

2.5 匀浆提取与其他常规提取方法的比较:准确称取 10.0 g(绝干计)新疆紫草原料,采用文献中的优化工艺条件<sup>[18,18-20]</sup>,分别对其进行超临界 CO<sub>2</sub> 萃取、回流、冷浸、微波和超声提取,并与 2.4 项下结果比较,结果见图 5。其中匀浆、超声、CO<sub>2</sub> 超临界提取效果较好,微波和回流的方法次之,冷浸方法的效果欠佳。

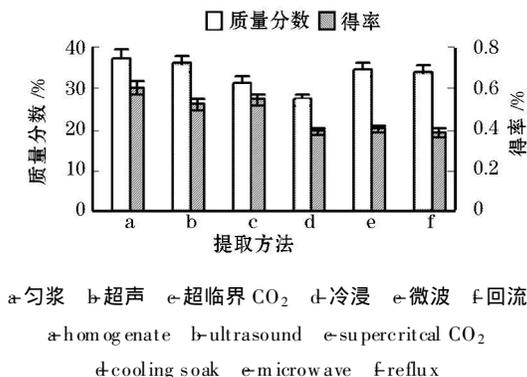


图 5 紫草总萘醌不同提取方法的比较  
Fig 5 Comparison of different extraction methods for naphthoquinones from *A. euchroma*

不同提取方法得到的紫草提取物的比较光谱和液相色谱见图 6。可以看出,微波和回流的提取物尽管在 516 nm 总萘醌最大吸收处也有一定的吸收,但最大吸收波长已移至 580 nm 左右处,表明萘醌类成分已被破坏,从保留时间 5~16 min 的 6 个萘醌衍生物峰微波和回流提取物已消失,代之以 2 min 左右的未知色谱峰,表明提取物成分变化很大。匀浆和超声提取总萘醌的得率明显高于其他提取方法,而匀浆提取的时间远远小于其他方法,优势明显。还可以看出,超临界 CO<sub>2</sub> 和冷浸提取法温度低,也可获得尚佳的效果,尽管费时比匀浆和超声提取长,得率次于匀浆和超声。实验结果表明温度对紫草总萘醌影响显著,高温提取很难得到好的提取效果。另外从图 6 可以看出匀浆、超声和冷浸的提取物成分相近,在保留时间 6~16 min 均有 6 个主要吸收峰,而超临界 CO<sub>2</sub> 的提取物在保留时间 6~16 min 只有 5 个主要吸收峰,缺少 8 min 左右的吸收峰,这一差别是否会造成药理活性的差异尚需论证。

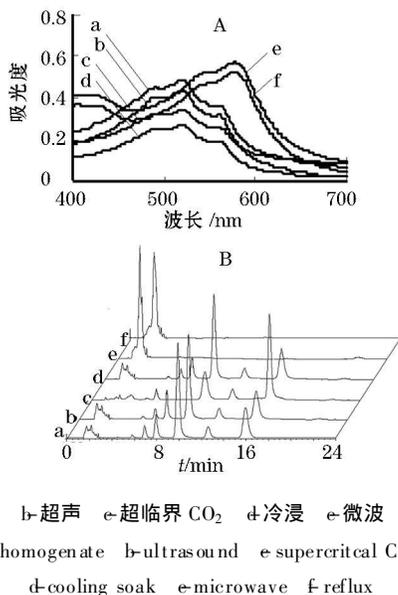


图 6 不同方法紫草提取物的可见光谱(A)和 HPLC 谱(B)  
Fig 6 Visible spectrum (A) and HPLC spectrum (B) of *Al. euchroma* extracts by different methods

### 3 讨论

由于紫草萘醌类化合物不稳定,尤其对温度、酸碱度、氧及超声等因素敏感<sup>[7]</sup>,为其高效提取造成了一定的困难。本研究采用匀浆法从新疆紫草中提取萘醌类化合物,有效地避免了紫草素的受热降解或异构化。通过单因素试验考察了提取时间、乙醇体积分数和料液比对紫草萘醌类化合物提取的影响,进一步采用响应面分析法对各参数取值进行优化,得到了紫草萘醌匀浆提取的最佳工艺条件,并根据

实际情况,将修正后的最佳提取条件定为:提取时间 4 min,乙醇体积分数 80%,料液比 1B 10。在此条件下紫草总萘醌的得率为 0.75%,质量分数 30.33%。

参考文献

[1] 中国药典[S] 一部 2005  
 [2] 黄志纾,张敏,马林,等 1 紫草的化学成分及其药理活性研究概况[J] 天然产物研究与开发, 2005, 12(1): 73-83  
 [3] Singh B, Sharma M K, Meghwa P R, et al Antinflammatory activity of shikonin derivatives from *Arnebia hispidissima* [J] *Phytomedicine*, 2003, (10): 375-380  
 [4] Assimopoulou A N, Boskou D, Papageorgiou V P Antioxidant activities of alkannin, shikonin and *Alkanna tinctoria* root extracts in oil substrates [J] *Food Chem*, 2004, (87): 433-43  
 [5] Kim S H, Kang I C, Yoon T J, et al Antitumor activities of a newly synthesized shikonin derivative, 2-hymin-DMNQ-S-33 [J] *Cancer Lett*, 2001, (172): 171-175  
 [6] 罗学娅,李明辉,伦永志,等 1 左旋紫草素抗副流感病毒作用[J] 中草药, 2005, 36(4): 568-571  
 [7] 谢秀琼,邱明丰 1 对制剂中紫草成分和提取工艺的探讨[J] 中国药房, 1997, 8(2): 60-61  
 [8] 梁瑞红,谢明勇,刘薇 1 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取新疆紫草萘醌得率的响应曲面分析[J] 食品科学, 2004, 25(50): 76-78

[9] 史伟国,祖元刚,赵春建,等 1 匀浆法提取喜树果和喜树叶中喜树碱的研究[J] 林产化学与工业, 2009, 29(1): 79-82  
 [10] 张琳,杨磊,贾佳,等 1 匀浆法提取长春花中长春碱、文多灵和长春质碱[J] 高校化学工程学报, 2008, 29(5): 768-773  
 [11] 赵春建,祖元刚,付玉杰,等 1 匀浆法提取沙棘果中总黄酮的工艺研究[J] 林产化学与工业, 2006, 26(2): 38-40  
 [12] 杨磊,李家磊,祖元刚,等 1 印楝种子中印楝素 A 的匀浆提取工艺[J] 东北林业大学学报, 2008, 36(9): 65-67  
 [13] 杨磊,肖长文,赵春建,等 1 pH 控制匀浆法从迷迭香中提取鼠尾草酸[J] 黑龙江大学自然科学学报, 2008, 25(4): 514-518  
 [14] 田浩,刘玉,夏禄华,等 1 匀浆法提取花生植株中白藜芦醇[J] 东北林业大学学报, 2008, 36(3): 81-83  
 [15] 祖元刚,赵春建,李春英,等 1 鲜法匀浆萃取烟叶中茄尼醇的研究[J] 高校化学工程学报, 2005, 19(6): 757-761  
 [16] 祖元刚,祖柏实,史权,等 1 打浆萃取装置 [P] 1 ZL02275225.0, 2002-09-11  
 [17] 杨磊,马春慧,黄金明,等 1 兴安落叶松中二氢槲皮素提取方法的比较[J] 森林工程, 2009, 25(5): 6-11  
 [18] 杨秀芳 1 正交实验法优选紫草的提取工艺[J] 中成药, 2005, 27(3): 351-353  
 [19] 李洪玲,乔秀文,曾宪佳,等 1 新疆紫草中紫草素的微波提取工艺优选[J] 时珍国医国药, 2007, 18(1): 148  
 [20] 白研,白粉云,毋福海,等 1 正交试验优选紫草提取工艺[J] 中药新药与临床药理, 2006, 17(4): 289-291

## 黄芩不同中医调剂品的 HPLC 指纹图谱比较研究

任子瑜,秦雪梅\*,薛黎明,李震宇,郭小青,张丽增

(山西大学中医药现代研究中心,山西太原 030006)

摘要:目的 比较黄芩不同中医调剂品黄芩生饮片、3 种酒制黄芩、条芩与枯芩样品之间的 HPLC 图谱,探讨各组样品间的化学差异。方法 采用 HPLC 法。色谱条件: Hypersil ODS2 C<sub>18</sub> 柱(200 mm @ 4.6 mm, 5 Lm), 流动相: 甲醇-0.05% 磷酸水溶液线性梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 280 nm。运用相似度软件、SIMCA-P 与 SPSS 软件对指纹图谱进行分析。结果 不同黄芩指纹图谱组间分类明显,组内集中性好; 生品与酒制品之间分类明显,差异很大; 不同酒制品相比,酒炒和酒炒炭样品比较相近,酒烘与酒炒样品则差异明显; 枯芩与条芩相比,差异明显。其中变化明显的成分是黄芩中黄酮类成分中极性较小的成分。结论 证明了古代中医区别用药的合理性,为黄芩质量控制及综合评价提供可靠的科学依据,并为黄芩合理用药提供参考。

关键词: 生黄芩; 酒制黄芩; 条芩; 枯芩; HPLC 指纹图谱

中图分类号: R282.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)04-0573-04

黄芩为唇形科多年生草本植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,始载于 5 神农本草经。古文献记载黄芩用药有/病在头面及手指,皮肤者,须用酒炒之,借酒力以上腾。咽之下脐之上须酒洗之,在下生用大凡生升熟降; / 枯而飘者泻上焦之火,实而坚者,退下部之热; / 清上用枯,清下用

实,内行用醋,外行酒炒。可见,自古以来,为提高临床疗效,满足不同病症需求,黄芩的应用有别。杨云等<sup>[1-4]</sup>通过正交试验确定了黄芩最佳的酒炙与炭制工艺,并比较了黄芩炮制前后 4 种黄酮类成分量的变化。而在不同的酒黄芩炮制品中,酒烘样品色泽鲜亮均匀,工艺条件易于控制。对于黄芩酒炒样

收稿日期: 2009-11-22

基金项目: 山西省科技攻关项目(042033)

作者简介: 任子瑜(1984),女,河南省新乡市人,硕士研究生,研究方向为中药质量控制。Tel: 13835117085 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

\* 通讯作者 秦雪梅 Tel: (0351) 7011202 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn