

# 响应面法-中心复合试验优选白芍土炒工艺

沈建涛, 石延榜, 张振凌\*, 孙翼飞  
(河南中医学院, 郑州 450003)

**[摘要]** 目的: 优选土炒白芍的炮制工艺参数。方法: 以芍药苷、芍药内酯苷含量的综合评分为响应值, 土炒温度、时间及加土量为自变量, 通过响应面法-中心复合试验优选土炒白芍的工艺参数。采用 HPLC 测定芍药苷、芍药内酯苷含量, 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (14:86), 检测波长 230 nm。结果: 白芍最佳土炒工艺为温度 200 ℃, 炒制时间 11 min, 饮片与灶心土用量比 10:3; 芍药苷和芍药内酯苷平均质量分数分别为 3.198%, 0.800%。结论: 白芍土炒后芍药苷和芍药内酯苷含量高于生品。优选的工艺参数稳定可靠, 为土炒白芍的质量控制提供参考。

**[关键词]** 白芍; 土炒; 响应面法/中心复合设计; 芍药苷; 芍药内酯苷; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R283.3; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0009-04

**[doi]** 10.11653/syfy2014040009

## Optimization of Processing Technology for Paeoniae Radix Alba with Terra Flava Usta by Response Surface-central Composite Test

SHEN Jian-tao, SHI Yan-bang, ZHANG Zhen-ling\*, SUN Yi-fei  
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize processing technology of Paeoniae Radix Alba with terra flava usta. **Method:** With composite score of contents of paeoniflorin and albiflorin as response value, response surface methodology/central composite design was adopted to optimize processing technology by taking temperature, time and ratio of Paeoniae Radix Alba to terra flava usta as independent variables. HPLC was adopted to determine contents of paeoniflorin and albiflorin with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (14:86) and detection wavelength at 230 nm. **Result:** Optimal processing parameters were as follows: fried 11 min at 200 ℃, Paeoniae Radix Alba-terra flava usta (10:3); Under these conditions, average contents of paeoniflorin and albiflorin were 3.198% and 0.800%, respectively. **Conclusion:** Optimized processing technology was stable and reliable. After fried with terra flava usta, contents of paeoniflorin and albiflorin from Paeoniae Radix Alba were higher than raw products.

**[Key words]** Paeoniae Radix Alba; fried with terra flava usta; response surface methodology/central composite design; paeoniflorin; albiflorin; HPLC

白芍味苦酸,性微寒,归肝经、脾经,功能平肝止

痛、养血调经、敛阴止汗,主要炮制方法包括清炒法、酒炒法、醋炒法、土炒法。吴巧凤等<sup>[1]</sup>研究发现白芍不同炮制品中芍药苷含量减少较为明显,生品 > 炒黄品 > 焦白芍 > 醋炒品 > 酒炒品 > 土炒品。严玉平等<sup>[2]</sup>研究表明白芍醋炙品、酒炙品中芍药苷含量高于生品,且存在显著差异,而炒黄品中芍药苷略有升高,土炒品略有降低。刘素香等<sup>[3]</sup>比较了白芍不同炮制品中芍药苷和芍药内酯苷含量,显示土炒品中芍药苷含量低于生品和其他炮制品,

**[收稿日期]** 20130702(014)

**[基金项目]** 国家中医药管理局中医药行业科研专项 (201207004-8)

**[第一作者]** 沈建涛,在读硕士,从事中药饮片与新药研究, Tel:15137184663, E-mail:447127100@qq.com

**[通讯作者]** \*张振凌,教授,博士生导师,从事中药炮制学教学与研究, Tel:13803816785, E-mail: zhangzl6758@163.com

但芍药内酯苷含量最高,故推测炮制过程中芍药苷由于加热,同时受到辅料中一些成分的催化,可能部分转化为芍药内酯苷。目前土炒白芍的研究多集中于炮制后芍药苷和芍药内酯苷的含量变化,而影响其质量的炮制工艺参数却尚无考察,造成白芍饮片质量的差异较大,影响临床疗效。本实验以芍药苷、芍药内酯苷含量为综合评价指标,采用响应面法/中心复合设计优选土炒白芍的炮制工艺,为白芍土炒工艺的规范化提供参考。

### 1 材料

LC-2010A HT 型高效液相色谱仪(日本岛津), RAYST30 型测温仪(北京雷泰光电技术有限公司)。芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110736-201035),芍药内酯苷对照品(天津马克生物技术有限公司,批号 20120513),灶心土(河南中原正信药材有限责任公司),白芍饮片(购自南京海源中药饮片有限公司,产地安徽,经河南中医学院董诚明教授鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的去外皮干燥根),乙腈、甲醇均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 芍药苷、芍药内酯苷的含量测定

**2.1.1 色谱条件**<sup>[4]</sup> Agilent HC-C<sub>18</sub>(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 230 nm,柱温 30 °C,进样量 10 μL。

**2.1.2 对照品溶液的配制** 精密称取芍药苷、芍药内酯苷对照品适量,加甲醇制成 108,65 mg·L<sup>-1</sup> 的溶液,即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密称取白芍粉末(过 4 号筛)约 0.1 g,置于 50 mL 量瓶中,加入稀乙醇 35 mL,超声(240 W,45 kHz)提取 30 min,放至室温后用稀乙醇定容,即得。

**2.1.4 线性关系考察** 精密量取芍药苷对照品溶液 1,2,6,10,14,18,22 μL,芍药内酯苷对照品溶液 1,2,4,6,8,10,14 μL,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标,得回归方程分别为  $Y = 1.412 \times 10^9 X + 1.729 \times 10^4$  ( $R^2 = 0.9999$ ),  $Y = 1.672 \times 10^9 X + 11450$  ( $R^2 = 0.9999$ ),线性范围分别为 0.108 ~ 2.376,0.065 ~ 0.91 μg。

**2.1.5 精密度试验** 取芍药苷、芍药内酯苷对照品适量,用甲醇制成质量浓度分别为 64,32.5 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果峰面积 RSD 分别为 1.679%,1.361%,

表明仪器精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 精密称取同一生白芍样品粉末 6 份,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果芍药苷、芍药内酯苷的平均质量分数分别为 3.017%,0.721%,RSD 分别为 1.351%,2.433%,表明该方法重复性良好。

**2.1.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于 0,2,4,8,12,24 h 按 2.1.1 项下色谱条件进样,结果芍药苷、芍药内酯苷平均质量分数分别为 3.011%,0.703%,RSD 分别为 1.558%,1.561%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.1.8 加样回收试验** 精密称取已知含量的白芍生品粉末(过 4 号筛)0.05 g,平行 6 份,置 50 mL 量瓶中(芍药苷、芍药内酯苷质量分数分别为 3.017%,0.721%),各加入芍药苷、芍药内酯苷对照品适量,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算平均加样回收率分别为 100.7%,99.9%,RSD 分别为 2.030%,2.382%。

**2.2 土炒白芍炮制工艺优选** 在预试验基础上,选择炒制温度、炒制时间、辅料用量为自变量,芍药苷和芍药内酯苷含量的综合评分为响应值,权重系数分别为 0.6,0.4,设计三因素五水平中心复合试验,因素水平见表 1。取同一批白芍饮片,挑选直径 1.5 ~ 2.0 cm 的饮片共 20 份,每份 100 g,按试验设计方案炒制。锅底温度稳定至所需温度后,加灶心土炒至温度基本稳定,加入白芍饮片,炒至规定时间,筛去多余的土,放凉,粉碎后过 4 号筛,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定( $n = 2$ ),试验安排及结果见表 2。

表 1 白芍土炒工艺中心复合试验因素水平

水平	A 温度/°C	B 时间/min	C 辅料用量/g
-1.682	170	1	21.6
-1	190	4	25
0	220	9	30
1	250	14	35
1.682	270	17.5	38.4

使用 Minitab 15 软件对表 2 中数据进行响应面分析,得二次多项式回归模型的拟合方程  $Y = -5.53802 + 0.04258A + 0.12692B + 0.09207C - 0.00011A^2 - 0.00352B^2 - 0.00383C^2 - 0.0009AB + 0.00043AC + 0.00446BC$ ,回归方程及各因素的方差分析见表 3,4。

表 2 白芍土炒工艺中心复合试验安排

No.	A	B	C	芍药苷质量 分数/%	芍药内酯苷 质量分数 /%	综合评分
1	250	4	25	3.067	0.777	0.670
2	220	9	21.6	3.145	0.698	0.580
3	220	9	30	3.213	0.761	0.815
4	190	4	35	3.005	0.650	0.291
5	220	9	38.4	3.085	0.663	0.422
6	190	14	25	3.149	0.741	0.686
7	220	9	30	3.140	0.738	0.669
8	250	14	35	2.898	0.819	0.557
9	190	14	35	3.157	0.774	0.775
10	220	9	30	3.162	0.762	0.754
11	250	14	25	2.773	0.721	0.167
12	220	9	30	3.228	0.778	0.903
13	270	9	30	2.850	0.748	0.328
14	250	4	35	3.173	0.679	0.571
15	220	17.5	30	3.057	0.706	0.489
16	220	9	30	3.218	0.756	0.838
17	220	9	30	3.215	0.764	0.852
18	170	9	30	3.171	0.710	0.641
19	190	4	25	3.150	0.706	0.605
20	220	1	30	3.109	0.707	0.557

表 3 回归系数的显著性检验

项	$R^2$	SE	T	P
常量	-5.538 02	1.952 54	-2.836	0.018
A	0.042 58	0.011 89	3.582	0.005
B	0.126 92	0.055 82	2.274	0.046
C	0.092 07	0.066 28	1.389	0.195
A <sup>2</sup>	-0.000 11	0.000 02	-4.820	0.001
B <sup>2</sup>	-0.003 52	0.000 84	-4.175	0.002
C <sup>2</sup>	-0.003 83	0.000 84	-4.548	0.001
AB	-0.000 90	0.000 19	-4.788	0.001
AC	0.000 43	0.000 19	2.285	0.045
BC	0.004 46	0.001 13	3.947	0.003

由表 3 可知,除了 C 项外,其他各项的  $P < 0.05$ ,均具有显著性影响,故方程无需简化;方程  $R^2 = 0.913 2$ ,  $R^2$  调整为 0.835,方差分析结果显示回归、线性、平方、交互作用的  $P$  值皆  $< 0.05$ ,表明模型显著,失拟项  $P = 0.561 > 0.05$ ,表明失拟度不明显。应用 Minitab 15 软件绘制较显著的 2 个因素温度和时间对综合评分的三维曲面图和等高线,结果见

图 1。使用响应优化器功能优选土炒白芍的工艺参数为温度 201.1 °C,时间 11.3 min,加土量 29.9 g,预测综合评分 0.824,结合实际生产确定最佳工艺条件为温度 200 °C,时间 11 min,加土量 30 g。

表 4 回归模型的方差分析

方差来源	f	SS	MS	F	P
回归	9	0.671 7	0.074 6	11.68	0.000
线性	3	0.103 3	0.034 4	5.39	0.018
平方	3	0.327 4	0.109 1	17.08	0.000
交互作用	3	0.279 3	0.093 1	14.58	0.001
残差误差	10	0.063 9	0.006 4		
失拟	5	0.029 6	0.005 9	0.87	0.561
纯误差	5	0.034 3	0.006 9		
合计	19				

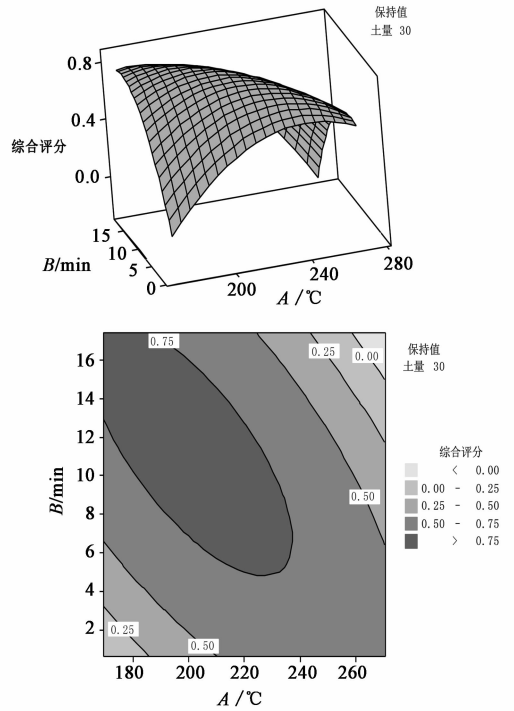


图 1 温度和时间对白芍土炒工艺影响的响应面和等高线

2.3 验证试验 取同一批次的中等大小白芍饮片 3 份,每份 200 g,按最佳工艺参数进行土炒,测定芍药苷和芍药内酯苷平均质量分数分别为 3.198%, 0.800%, RSD 分别为 0.617%, 1.364%, 计算综合评分分别为 0.860, 0.944, 0.861,与预测值偏差较小,说明优选的土炒工艺稳定可靠。

### 3 讨论

试验研究表明适当的加热温度和时间可增加白芍中芍药苷和芍药内酯苷的溶出,减少水分含量;但炒制温度过高或时间过长则会使芍药苷含量减少,

# ZTC1 + 1- II 型澄清剂对远志总皂苷提取液纯化效果的影响

戴兵<sup>1</sup>, 李梅<sup>2</sup>, 高鹏<sup>1</sup>, 代龙<sup>1\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东省莱阳卫生学校, 山东烟台 264000)

**[摘要]** 目的: 优选远志总皂苷提取液的澄清工艺。方法: 以固形物去除率和细叶远志皂苷保留率为评价指标, 在单因素试验基础上, 通过正交试验考察药液质量浓度、加入温度、搅拌速度及澄清剂加入量对远志总皂苷提取液澄清工艺的影响。采用 HPLC 测定细叶远志皂苷含量, 流动相甲醇-0.05% 磷酸溶液 (65:35), 检测波长 210 nm。结果: 最佳澄清工艺为提取液浓缩至 0.125 g·mL<sup>-1</sup>, 保温搅拌加入 B 组分, 用量 0.8 g·L<sup>-1</sup>, 间隔 2 h 后保温搅拌加入 A 组分, 用量 0.4 g·L<sup>-1</sup>, 两组分水浴温度 80 ℃, 保温时间 20 min, 搅拌速度 90 r·min<sup>-1</sup>, 搅拌时间 10 min; 细叶远志皂苷保留率 84.56%, 固形物去除率 21.97%。结论: ZTC1 + 1- II 型澄清剂用于澄清远志总皂苷提取液的效果良好。

**[关键词]** 远志; 总皂苷; ZTC 澄清剂; 正交试验; 单因素试验; 细叶远志皂苷

**[中图分类号]** R283.3; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)04-0012-04

**[doi]** 10.11653/syfy2014040012

## Influence of ZTC1 + 1- II Clarifier on Purification Effect of Extracts of Total Saponins from Polygalae Radix

DAI Bing<sup>1</sup>, LI Mei<sup>2</sup>, GAO Peng<sup>1</sup>, DAI Long<sup>1\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;  
2. Laiyang Health School, Yantai 264000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize clarification process of extracts of total saponins from Polygalae Radix

**[收稿日期]** 20130714(005)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09103002-015)

**[第一作者]** 戴兵, 在读硕士, 从事中药制剂工艺及质量标准研究, Tel:13793155751, E-mail:daibing0118@163.com

**[通讯作者]** \* 代龙, 教授, 从事中药新药开发及新剂型研究, Tel:0531-68684868, E-mail:dailongdailong@263.net

芍药内酯苷含量增加。药理试验发现芍药苷可抑制副交感神经兴奋, 降低平滑肌张力和抑制其运动, 从而抑制胃肠道的运动<sup>[5]</sup>; 白芍总苷对大鼠结肠炎具有良好的保护作用<sup>[6]</sup>。灶心土具有温中止血、止呕、止泻的功效, 白芍经灶心土炮制后健脾止泻功效得以增强, 推测灶心土中微量元素是土白芍发挥药效的物质基础; 另外在炒制过程中, 灶心土起到了良好的传热作用, 使白芍外观性状良好。

### [参考文献]

[1] 吴巧凤, 来平凡, 陈京, 等. 杭白芍生品与炮制品中药药甙、苯甲酸和元素含量的对比分析[J]. 中国中医药科技, 2005, 12(5): 299.

[2] 由会玲, 严玉平, 高艳芝, 等. 芍药及不同炮制品中药药苷含量的比较研究[J]. 四川中医, 2009, 27(6): 54.

[3] 刘素香, 黎阳, 丰晶, 等. 不同炮制方法对白芍质量的影响[J]. 药物评价研究, 2010, 33(2): 125.

[4] 黄山君, 杨琪伟, 石燕红, 等. 一测多评法测定白芍中芍药苷与芍药内酯苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 780.

[5] 郑世存, 李晓宇, 欧阳兵, 等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. 中国药物警戒, 2012, 9(2): 100.

[6] 高崇凯, 吴雁, 王勇, 等. 白芍总苷粉针剂的抗炎镇痛作用[J]. 中国新药药理与临床药理, 2002, 13(3): 163.

[责任编辑 仝燕]