

白芍中芍药苷提取工艺的对比研究

于定荣, 顾雪竹, 张村, 陈畅, 麻印莲*
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 优选白芍中芍药苷的提取工艺条件, 为白芍中芍药苷的提取提供依据。方法: 将安徽亳州产白芍道地药材分别用水提取、乙醇回流提取、乙醇超声提取、乙醇索氏提取, 以芍药苷为指标成分, 按《中国药典》2010 年版规定项下方法进行测定, 优选最佳提取工艺并进行工艺验证; 色谱条件为 Kromasil 100-5C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液 (14: 86), 检测波长 230 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 理论塔板数按芍药苷峰计算均不低于 2 000。在此条件下, 芍药苷与其他组分分离较好; 芍药苷得率依次为 50% 乙醇超声提取 > 80% 乙醇回流提取 > 50% 乙醇回流提取 > 80% 乙醇索氏提取 > 水提取。结论: 白芍中芍药苷以 50% 乙醇超声提取为最佳。

[关键词] 白芍; 芍药苷; 高效液相色谱法; 提取工艺; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0049-03

[doi] 10.11653/syjf2013150049

Comparison of Different Extracting Processes for Paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba

YU Ding-rong, GU Xue-zhu, ZHANG Cun, CHEN Chang, MA Yin-lian*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To choose the best extraction for paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba from different extracting processes and provide the basis. **Method:** The medicinal materials from original growing areas were extracted by water, ethanol reflux, ethanol ultrasonic extracting and ethanol Soxhlet extracting respectively. The best extracting process was chosen from different extracting processes based on determining the content of index components of paeoniflorin by HPLC according to Chinese Pharmacopoeia 2010 and verified three times. A Kromasil 100-5C₁₈ analytical column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was consisted of acetonitrile and 0.1% H₃PO₄ (14: 86); the detection wavelength was set at 230 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the column temperature was kept at 30°C. The sample size was 10 μL. **Result:** The determining condition of paeoniflorin was good according to Chinese Pharmacopoeia 2010. The content of paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba was 3.02% for 50% ethanol ultrasonic extracting, 2.90% for 80% ethanol reflux extracting, 2.64% for 50% ethanol reflux extracting, 1.83% for 80% ethanol Soxhlet extracting and 1.56% for water extracting respectively. **Conclusion:** The best extraction for paeoniflorin in Paeoniae Radix Alba from different extracting processes is 50% ethanol ultrasonic extracting.

[Key words] Paeoniae Radix Alba; paeoniflorin; HPLC; content determination

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 味苦、甘、涩, 性微寒, 具有平肝止痛、养血调经、敛阴止汗等功效。《中国药典》(2010 年版一

部) 将芍药苷作为白芍药材质量主要控制指标之一^[1]。

对于白芍中芍药苷的提取工艺, 有报道 50% 乙

[收稿日期] 20130228(010)

[第一作者] 于定荣, 博士, 助理研究员, 从事中药制剂与炮制研究, Tel: 13436821953, E-mail: yudingrong0826@sina.com

[通讯作者] * 麻印莲, 学士, 实验师, 从事中药制剂与炮制研究, Tel: 010-84018690, E-mail: mayinlian0011@sohu.com

醇回流提取芍药苷得率最高^[2];也有报道 80% 乙醇回流提取芍药苷得率最高^[3]。此外报道的还有 50% 乙醇超声提取^[4],80% 乙醇索氏提取^[5],但这些提取工艺到底以何种为佳,尚无结论。本试验以芍药苷为指标成分,将上述几种经优选出的最佳提取工艺进行综合比较,再进行优选,为白芍中芍药苷的提取提供依据。

1 材料

芍药苷对照品(批号 110736-201136,购于中国食品药品检定研究院,供含量测定)。

三年生白芍,安徽省亳州市谯城区谯东镇余集经产地加工所制得不去皮白芍药材(自制);水为重蒸馏水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 水分测定 按《中国药典》附录 IX H 项下“烘干法”对白芍不去皮药材进行水分测定,为 10.2814%。

2.2 对照品溶液的制备 取芍药苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 64.6 μg 的溶液,即得。

2.3 供试品制备

2.3.1 水提供试品制备^[6] 取白芍药材粗粉(过 4 目筛)约 5 g,精密称定,置于 100 mL 圆底烧瓶中,加水浸泡 0.5 h,煎煮 2 次,溶剂量分别是药材量的 10 倍、10 倍;第一煎、第二煎时间分别是 1.5、1.5 h;滤过,洗涤滤器,合并两煎提取液,定容至 250 mL。精密量取 10 mL,至水浴蒸干,残渣加甲醇溶解,滤过,至 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.2 醇提供试品制备

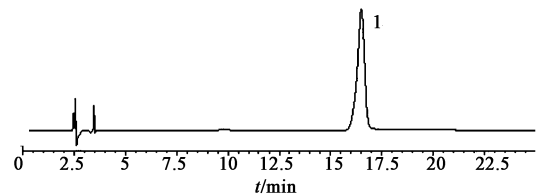
2.3.2.1 50% 乙醇回流提取供试品制备^[2] 取白芍粉末(过 40 目筛)约 2.0 g,精密称定,置于 100 mL 圆底烧瓶中,精密加 50% 乙醇 50 mL,加热回流 2 h,放冷,滤过,洗涤滤器,加入 50% 乙醇定容至 100 mL 后,精密吸取 5 mL 至 50 mL 量瓶中,加 50% 乙醇稀释至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.2.2 80% 乙醇回流提取供试品制备^[3] 取白芍药材粉末(过 40 目筛)20 g,精密称定,用 80% 乙醇回流提取 2 次,第 1 次用 8 倍量乙醇,第 2 次用 6 倍量乙醇,1 h/次。分别滤过,洗涤滤器,合并提取液,加入 80% 乙醇定容至 1 000 mL。精密吸取 1 mL 至 100 mL 量瓶中,加 80% 乙醇稀释至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 50% 乙醇超声提取供试品制备^[4] 取白芍药材粉末(过 40 目筛)0.2 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加入 60 mL 50% 乙醇,超声 50 min(功率 240 W,频率 45 kHz)。放冷,加 50% 乙醇定容至刻度,用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 80% 乙醇索氏提取供试品制备^[5] 取白芍粉末(过 40 目筛)约 5 g,精密称定,置索氏提取器中,加 12 倍量的 80% 乙醇回流提取 1.5 h,将提取液定容至 100 mL,精密量取续滤液 5 mL,加 50% 乙醇稀释至 50 mL。用 0.45 μm 滤膜滤过,即得。

2.4 芍药苷含量测定^[7-8] 按《中国药典》2010 年版白芍中芍药苷含量测定项下方法测定。色谱条件:Kromasil 100-5C₁₈(4.6 mm × 250 mm,5 μm) 色谱柱,流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(14:86),检测波长 230 nm。柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μL ,流速 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按芍药苷峰计算均不低于 2 000。在此条件下,芍药苷与其他组分均能较好地达到基线分离,色谱图见图 1~6。



1. 芍药苷(图 2~6 同)

图 1 芍药苷对照品色谱

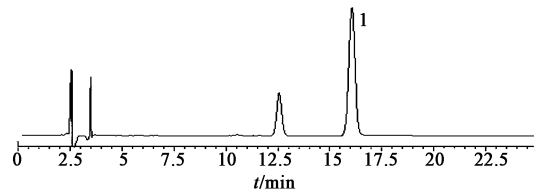


图 2 水提供试品色谱

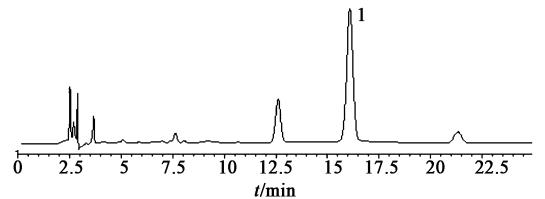


图 3 50% 乙醇回流提取供试品色谱

分别精密吸收对照品溶液与供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,测定,即以干燥品计算芍药苷含量,测定结果见表 1。

2.5 工艺验证试验 按 2.3.3 项下工艺条件,再制备 3 批 50% 乙醇超声提取供试品,按 2.4 项下方法测定芍药苷含量。

验证结果表明,白芍 3 批 50% 乙醇超声提取供

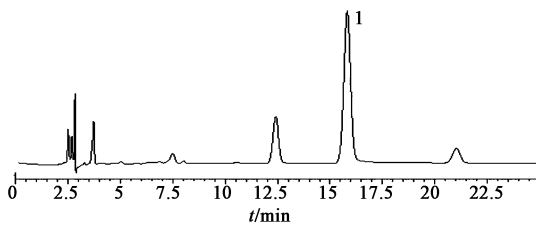


图4 80%乙醇回流提取供试品色谱

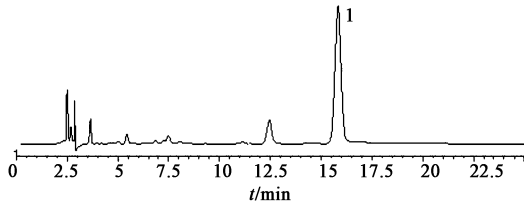


图5 50%乙醇超声提取供试品色谱

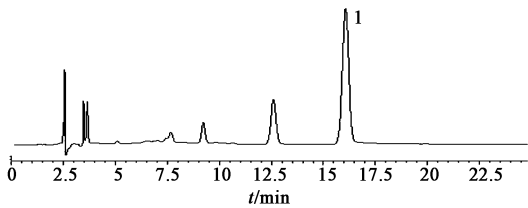


图6 80%乙醇索氏提取供试品色谱

表1 白芍中芍药苷含量测定(n=2) %

提取方法	芍药苷
水提取	1.562 2
50%乙醇回流	2.638 4
80%乙醇回流	2.895 0
50%乙醇超声	3.022 8
80%乙醇索氏	1.832 3

试品中芍药苷得率为3.022 3%,与表1中50%乙醇超声提取供试品中芍药苷得率数据相接近,且高于其他提取方法中芍药苷含量得率,表明白芍中芍药苷提取以50%乙醇超声提取方法为佳。

3 讨论

目前白芍的提取工艺主要用乙醇提取,水提法报道较少。在醇提法中又多以正交设计试验,以醇提时间、溶剂用量、提取时间、提取浓度为主要考察因素,以芍药苷为指标,以回流提取、超声提取和索氏提取进行工艺的优选。

本试验研究结果表明,白芍中芍药苷的提取得率顺序依次为:50%乙醇超声提取>80%乙醇回流提取>50%乙醇回流提取>80%乙醇索氏提取>水提取;这与《中国药典》2010年版中芍药苷含量测定采用50%乙醇进行超声提取基本符合。

白芍在生产过程中芍药苷由于受热而被破坏,含量往往下降,可能是因芍药苷的水解所致^[9];因

此,白芍在提取过程中应尽量避免长期高温受热。此外,有研究资料表明,在碱性条件下,白芍中的芍药苷峰后出现一个小峰。在酸性条件下,则无此现象。提示芍药苷对热、碱不稳定性,提取时间不宜长时间加热^[10],故在提取液中加入少量的酸,可使溶液的稳定性增加;这与《中国药典》2010年版中芍药苷含量测定项下使用的流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液的酸性条件相符合。

芍药苷具有良好的水溶性,且白芍属根茎类药材,故采用水提、糊化淀粉粒较多,过滤非常困难,使芍药苷损失较多,导致测定结果偏低,所以采用醇提较为适宜;在水提的过程中,药材稍粉碎即可,利于滤过;而利用超声波产生的强烈振动、强烈的空化效应、搅拌作用等,都可以加速药物有效成分进入溶剂,从而提高提出效率,缩短提取时间,并且免去了高温对提取成分的影响。

试验结果及验证试验结果表明,白芍中的芍药苷提取以50%乙醇超声提取最佳;本试验为超声提取在工业生产中的应用积累参数提供了一定依据。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:96.
- [2] 李冰岚,杨舒婷,陈宗良,等. 杭白芍高效液相色谱指纹图谱与品种分化研究[J]. 医药导报,2009,28(1):24.
- [3] 樊燕,饶光玲,大孔吸附树脂分离纯化白芍芍药苷的工艺研究[J]. 贵阳医学院学报,2012,37(1):30.
- [4] 阎妹,石森,李优鑫,等. 正交试验法优选芍药苷提取工艺研究[J]. 中华中医药杂志,2006,21(5):311.
- [5] 吴巧凤,严云良,楼小红. 白芍中芍药苷的提取工艺研究[J]. 中成药,2006,28(9):1379.
- [6] 王秋梅,袁艳利,杨瑞玲. 正交试验法优选白芍的水提工艺[J]. 医学研究通讯,2004,33(11):55.
- [7] 王巧梅,薛桂蓬,邢建国,等. 芪天胶囊中红景天苷和芍药苷的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(1):88.
- [8] 傅勇,李旭,虞金宝. HPLC同时测定红花逍遥片中芍药苷及甘草苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):152.
- [9] 路晓钦,马增春,高月. 四物汤药理研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,7(4):56.
- [10] 黄夏敏,彭中芬,灯祝玲. 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.

[责任编辑 顾雪竹]