

离子流图,图中各色谱峰经气质工作站标准图库进行检索,利用峰面积归一化法确定各组分在挥发油中的质量分数。鉴定的 34 个化合物占总成分的 98.53%,结果见表 1。

3 讨论

从本实验的结果中可以看出,应用程序升温,仅用 15min 就能分析测定出龙脑樟枝叶挥发油的化学成分。所鉴定出的 34 个化合物中以萜类及其衍生物为主,主要为单萜和倍半萜。单个化合物以龙脑的含量最高,达到 67.17%,其次,1R- α -蒎烯、(S)-1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)-环己烯和桉叶脑也各自占据挥发油相对含量的 3% 以上。我们对龙脑樟枝叶挥发油进行分析鉴定,旨在更全面了解龙脑樟的化学组成,为更有效地开发和利用龙脑樟资源提供理论依据。本文分析的结论可以进一步用于测定龙脑樟中主要化学成分的含量。

参考文献

[1] 陈红梅,孙凌峰. 江西吉安龙脑樟资源开发与利用前景[J]. 林业科学,2006,42(3):94-95.

- [2] 赵守训. 冰片(龙脑) - 世界最早应用的天然有机成分药物[J]. 亚太传统医药,2006,(2):24-25.
- [3] 肖培根. 新编中药志,第三卷[M]. 北京:化学工业出版社,2002:927.
- [4] 龙光远,彭招兰,郭德选,等. 龙脑樟矮林作业技术和效益分析[J]. 林业科技开发,2000,14(6):30-31.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2005:40.
- [6] 胡利民,姜民,凌霜. 天然冰片与合成冰片对小鼠的一般生殖毒性[J]. 毒理学杂志,2006,20(4):275-276.
- [7] 吴茂隆,陈小兰,廖振欣,等. 龙脑樟研究利用及其发展前景[J]. 2011,(2):33-35.
- [8] 陈小兰,曾红高,谢正平,等. 龙脑樟叶部精油在不同蒸馏时段的出油率和化学成分[J]. 江西林业科技,2011,(03):1-2.
- [9] 祝国光. 复方丹参滴丸[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:16.
- [10] 陈建南,曾惠芳,李耿,等. 龙脑樟挥发油及天然冰片成分分析[J]. 中药材,2005,28(9):781-782.
- [11] 陈美兰,叶正良,欧阳少林,等. 龙脑樟愈伤组织的诱导及龙脑的产生[J]. 中国中药杂志,2010,10(5):558-560.
- [12] 王怡,高秀梅,张伯礼. 天然冰片在复方丹参滴丸中的作用及量效关系研究[J]. 中草药,2004,35(6):672-673.

(2012-05-10 收稿)

星点设计 - 效应面法优化玄参提取工艺

周洪伟¹ 郝丽静² 杨 勇³ 张 林³ 杨 桃² 周 坤² 吴晓丹³

(1 北京中医药大学中药学院,100102; 2 河北大学中医学院; 3 北京中医药大学基础医学院)

摘要 目的:优选玄参中哈巴昔和哈巴俄昔的提取工艺。方法:采用星点设计-效应面法,以哈巴昔与哈巴俄昔总提取率为指标,考察提取溶剂、液料比和提取时间对其的影响。结果:18%~32%乙醇,液料比 20:1~26:1,提取 30~48min 时玄参总提取率最高。结论:星点设计-效应面法优化了玄参中哈巴昔与哈巴俄昔的提取工艺,预测性良好且简便可行。

关键词 玄参;哈巴昔;哈巴俄昔;提取工艺;星点设计;效应面法

Optimization of Extraction Process Based on Central Composite Design and Response Surface Methodology for Radix Scrophulariae

Zhou Hongwei¹, Hao Lijing², Yang Yong³, Zhang Lin³, Yang Tao², Zhou Kun², Wu Xiaodan³

(1 School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102; 2 School of Chinese Medicine, Hebei University, Baoding 071000; 3 School of Basic Medical Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

Abstract Objective: To optimize the extraction process for radix scrophulariae by central composite design and response surface methodology. **Methods:** Central composite design and response surface methodology was used to optimize the extracting process. The main influential factors of extraction efficiency are ethanol concentration, solvent ratio and reflux time. The conditions of the extraction were evaluated by the total content of harpagide and harpagoside. **Results:** Analysis indicated the optimum conditions of harpagide and harpagoside are 18%~32% ethanol, 20~26 fold solvent, ultrasonic extraction 30~48 minutes. **Conclusion:** It shows that the optimum process for extracting radix scrophulariae is simple, more convenient and with higher precision.

Key Words Radix scrophulariae; Harpagide; Harpagoside; Extraction process; Central composite design; Response surface methodology

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号:81001495/H2705);北京中医药大学复方中药制药研究创新团队资助项目(编号:2011-CXTD-13);保定市科技攻关资助项目(编号:08ZF088)

通讯作者:吴晓丹(1978年-),女,北京中医药大学基础医学院方药系讲师,医学博士,研究方向:方剂配伍规律及疗效客观化研究

玄参为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根,其味甘、苦、咸,性微寒,功效清热凉血、滋阴降火、解毒散结。现代研究表明,玄参主要含环烯醚萜类、苯丙素苷类,尚含植物甾醇、有机酸类、黄酮类、三萜皂苷、挥发油、糖类、生物碱及微量的单萜和

二萜成分等,其中哈巴俄昔在玄参中含量较高,是玄参的特征性有效成分^[1~2];哈巴昔与哈巴俄昔可调节免疫功能,保护血管内皮细胞,具有较广泛的药理活性^[3~4]。本研究采用星点设计-效应面法(CCD-RSM)研究玄参中哈巴昔与哈巴俄昔的提取工艺,优选的工艺简便可行,为该方法在中药提取工艺优化中的应用提供实验依据。

1 仪器与试剂

HPLC 系统:LC-10AT_{VP}四元泵,DGU-14A 脱气机,CTO-10T_{VP}柱温箱,SPD-M10T_{VP}检测器,SIL-10ADVP 自动进样器,CLASS-VP 色谱工作站(岛津公司);AUW120D 电子分析天平(岛津)。

哈巴昔对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111729-200603);哈巴俄昔对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111730-201106);玄参药材(购自保定北京同仁堂药店有限责任公司);甲醇、乙腈(色谱纯);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 方法与结果

2.1 哈巴昔与哈巴俄昔的 HPLC 测定

2.1.1 色谱条件 Agilent eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6mm×250mm,5μm);乙腈为流动相 A,水为流动相 B,按表 1 进行梯度洗脱;流速 1mL·min⁻¹;柱温 30℃;检测波长哈巴昔 210nm,哈巴俄昔 278nm。

表 1 流动相梯度洗脱方案

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~	95	5
5~	90	10
12~	90	10
30~	70	30
32~	70	30
38~	50	50

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取经五氧化二磷减压干燥 36h 的哈巴昔与哈巴俄昔对照品 18.48mg、18.14mg,分别置 10mL 量瓶中,加甲醇定容,即得哈巴昔与哈巴俄昔对照品储备液。精密移取哈巴昔对照品储备液 2mL、哈巴俄昔对照品储备液 0.2mL,分别置于 10mL 量瓶中,加甲醇定容,即得哈巴昔与哈巴俄昔对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取玄参药材粉末(过三号筛)0.5065g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50mL,密塞,称定重量,浸泡 1h,超声处理 45min,放冷,再次称定重量,用 50% 甲醇补足损失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.4 线性范围 精密吸取哈巴昔对照品溶液 1、2、

4、8、10、20μL,哈巴俄昔对照品溶液 4、8、10、14、16、20μL,分别注入色谱仪,以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归,得哈巴昔回归方程:Y=296990X+20638,相关系数:r=0.9999,线性范围:0.370~7.393μg;哈巴俄昔回归方程:Y=2769.6X+2984.7,相关系数:r=1,线性范围:145.1~725.6ng。

2.1.5 精密度试验 取对照品溶液,连续进样 6 次,测得哈巴昔与哈巴俄昔的 RSD 分别为 2.26% 和 0.22%。

2.1.6 准确性试验 哈巴昔加样回收率为(96.77±2.33)%,RSD 为 2.41%(n=6),哈巴俄昔加样回收率为(96.40±2.30)%,RSD 为 2.39%(n=6)。

2.1.7 药材含量测定 依 2.1.1 项下方法测定玄参药材中哈巴昔和哈巴俄昔含量,哈巴昔含量为 0.35%,RSD=1.47%(n=3),哈巴俄昔含量为 0.12%,RSD=0.24%(n=3)。玄参药材含量符合《中国药典》一部(2010 版)项下规定。

表 2 因素水平表

因素	水平				
	-1.73	-1	0	1	1.73
X ₁	0	10.5	25	40	50
X ₂	10:1	14:1	20:1	26:1	30:1
X ₃	30	48	75	102	120

表 3 实验设计与结果

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	Y
1	0	-1.73	0	0.903207
2	1	1	-1	0.853644
3	1	-1	1	1.02672
4	-1	-1	-1	0.985767
5	0	0	1.73	1.10496
6	0	1.73	0	1.81369
7	-1	1	-1	0.611001
8	0	0	0	1.20039
9	0	0	0	1.29498
10	0	0	0	1.10251
11	-1.73	0	0	0.978919
12	0	0	-1.73	1.30882
13	0	0	0	1.31728
14	1	1	1	1.2333
15	1.73	0	0	1.30784
16	-1	1	1	1.19758
17	-1	-1	1	1.16446
18	1	-1	-1	0.63164
19	0	0	0	1.02609
20	0	0	0	1.2296

2.2 玄参中哈巴昔与哈巴俄昔的提取工艺研究 在预实验基础上,选择提取溶剂(%)X₁、液料比 X₂ 和提取时间(min)X₃ 为考察因素,以哈巴昔与哈巴俄昔总

提取率(Y)为指标进行 CCD-RSM 法优化,实验设计与结果见表 2~表 3。

采用 Design-Expert 8.0 软件处理数据,有:

直线回归方程为:

$$Y = 1.114620 + 0.025442X_1 + 0.118850X_2 + 0.084780X_3 \quad (r=0.4804, P=0.2285)$$

二元回归方程为:

$$Y = +1.19514 + 0.025442X_1 + 0.11885X_2 + 0.084780X_3 + 0.096278X_1X_2 + 0.00118186X_1X_3 + 0.049057X_2X_3 - 0.069297X_1^2 + 0.00239254X_2^2 - 0.048126X_3^2 \quad (r=0.6160, P=0.7139)$$

多元回归方程为:

$$Y = 1.20 + 0.095X_1 + 0.26X_2 - 0.059X_3 + 0.096X_1X_2 + 0.001182X_1X_3 + 0.049X_2X_3 - 0.017X_1^2 + 0.054X_2^2 + 0.003916X_3^2 - 0.053X_1X_2X_3 - 0.25X_1^2X_2 + 0.25X_1^2X_3 - 0.12X_1X_2^2 - 0.27X_12X_2^2 \quad (r=0.9760, P<0.05)$$

由以上方程可知,多元回归方程的拟合效果最好。采用 OriginPro 8.0 软件绘制三维效应面图,考察 X_1 、 X_2 、 X_3 三个因素对 Y 的影响,如图 1 所示。

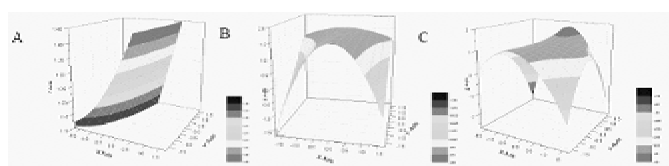


图 1 星点设计-效应面图

2.3 最优工艺验证 由 CCD-RSM 法优选玄参的提取工艺条件为: $X_1 = 18\% \sim 32\%$, $X_2 = 20:1 \sim 26:1$, $X_3 = 30 \sim 48\text{min}$;按优选工艺提取玄参药材 3 批,依 2.1

项下方法测定其总提取率,结果见表 4,数学模型满足预测要求。

表 4 玄参药材总提取率验证结果(n=3)

批次	X_1	X_2	X_3	$Y_{\text{预测}}$	$Y_{\text{实际}}$	偏差
1	32%	26:1	48min	1.53075	1.53037	
2				1.53075	1.53936	1.57%
3				1.53075	1.59461	

3 讨论

目前中药提取工艺优化多采取正交设计或均匀设计法,这两种方法多采用线性数学模型,实验次数较少,精度不高。效应面法系通过描绘效应对考察因素的效应面,从效应面选择较佳的效应区,从而回推自变量取值范围即最佳实验条件的一种研究方法。实验设计可采用星点设计,该方法适用于非线性模型拟合,且具有良好的预测性^[5]。本实验引入星点实验设计方法,结合效应面法优选玄参中哈巴昔与哈巴俄昔的提取工艺,取得了良好的效果。

参考文献

- [1] 胡瑛瑛,黄真.玄参的化学成分及药理作用研究进展[J].浙江中医药大学学报,2008,32(2):268-270.
- [2] 季金玉,张云,从晓东,等.玄参的化学成分及质量控制研究进展[J].中华中医药学刊,2010,28(12):2507-2510.
- [3] 谢丽华,刘洪宇,钱瑞琴,等.哈巴昔与哈巴俄昔对肾虚小鼠免疫功能及血浆环化核苷酸的影响[J].北京大学学报(医学版),2001,33(3):283-284.
- [4] 崔忠生,邸科前,马焕云.哈巴昔及哈巴俄昔对肾上腺素损伤血管内皮细胞的保护作用[J].山东医药,2009,49(25):60-61.
- [5] 吴伟,崔光华,陆彬.实验设计中多指标的优化:星点设计和总评“归一值”的应用[J].中国药理学杂志,2000,35(8):530-533.

(2012-05-24 收稿)

HPLC 法测定肤疾洗剂中苦参碱的含量

张智军¹ 崔 华² 马久太³

(1 陕西省彬县食品药品监督管理局,陕西省彬县西大街老政府院内,713500; 2 陕西摩美得制药有限公司; 3 陕西步长制药有限公司)

摘要 目的:建立肤疾洗剂中苦参碱的含量测定方法。方法:采用 HPLC 法,使用 C_{18} 柱色谱柱,流动相为 $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾- $0.016\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠-乙腈(30:30:35),流速 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 220nm。结果:在 $0.515 \sim 5.15\mu\text{g}$ 范围内苦参碱线性关系良好,平均回收率为 98.73%,RSD 为 1.01%。结论:该方法能够对肤疾洗剂中苦参碱进行准确、快速的定量检测。

关键词 HPLC;肤疾洗剂;苦参碱

Determination of the Content of Matrine in Fuji Lotion by HPLC

Zhang Zhijun¹, Cui Hua², Ma Jiutai³

(1 Binxian Food And Drug Administration, 713500; 2 Shanxi Momentum Pharmaceutical Co., LTD, Xianyang; 3 Shanxi Buchang Pharmaceutical Co., LTD, Xi'an)