

芍药苷提取与分离纯化的研究进展

贾家丽^{1,2*}, 卞俊^{1#}(1.解放军第411医院药学科,上海 200434;2.江西中医药大学药学院,南昌 330004)

中图分类号 R948;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)31-2969-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.31.33

摘要 目的:为提高芍药苷的提取率及其纯度提供依据。方法:通过查阅国内外相关文献,从芍药含量差异、提取溶剂与方法选择、提取工艺优化及分离纯化方面进行分析。结果与结论:适宜的提取和分离纯化工艺可以使芍药苷转移率提高,最终得到高纯度芍药苷单体成分,可为工业化生产奠定基础。

关键词 赤芍;芍药苷;提取;分离纯化

赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 或川赤芍 *P. veitchii* Lynch 的干燥根。春、秋二季采挖,除去根茎、须根及泥沙,晒干而成^[1]。多产于四川、内蒙古、黑龙江、吉林、辽宁等地,性苦,味微寒,归肝经,为清泻行散之品。它既能清肝火除血分郁热而凉血,又能活血化瘀而止痛,是治疗瘀血阻滞所致诸症之良药^[2]。作为传统常用中药,赤芍的中医临床运用十分广泛,主要治疗温毒发斑、吐血衄血、目赤肿痛、肝郁胁痛、经闭痛经、跌扑损伤、痈疮疮疡等。赤芍含多种化学成分,分别为芍药苷、羟基芍药苷、苯甲酰芍药苷、苯甲酰羟基芍药苷、芍药苷内酯、牡丹皮酸A、邻羟基苯醇等^[3],其中含量最高的为芍药苷。现代药理研究表明,芍药苷具有扩张冠状动脉、增加冠状动脉血流量、对抗急性心肌缺血、抑制血小板聚集、降低血压等作用^[4-5]。本文主要从芍药苷含量差异、提取溶剂与方法选择、提取工艺优化及分离纯化方面进行阐述,旨在为提高芍药苷提取率及其纯度提供依据。

1 芍药苷的含量差异

芍药苷属萜烷单萜苷类,为类白色粉末,熔点为196℃,易溶于水、甲醇、乙醇,在pH2~6条件下稳定,在碱性条件下不稳定^[6]。据报道,白芍与赤芍所含的化学成分极为相似,但芍药苷在白芍和赤芍中的含量差别较大^[7]。这主要是由于白芍多为栽培品,经炮制加工而得,有效成分在这一过程中易流失;而赤芍多以野生品入药。李明元等^[8]通过比较研究四川中江的赤芍和白芍中芍药苷含量,发现赤芍中芍药苷含量明显高于同基原的白芍,这可能是由于产地加工方法差异导致芍

药苷含量不同。不同产地的赤芍在芍药苷的含量上同样存在较大的差异,说明除产地加工之外,保存方法等也影响芍药苷的含量。林海等^[9]通过测定产于内蒙古、安徽、四川阿坝、湖南等地的赤芍中芍药苷的含量,发现内蒙古和四川阿坝的赤芍含芍药苷比较高,分别为3.85%和3.9%。周学刚等^[10]以芍药苷为检测指标,采用高效液相色谱法研究不同种质的白芍原植物中芍药苷含量及部位分布情况时,发现芍药苷含量差异的主要来源为种质的不同,且具有根茎和须根中芍药苷含量均高于主根的趋势。

2 芍药苷的提取

2.1 提取溶剂

选择合适的提取溶剂对芍药苷的提取率有重要的影响。2010年版《中国药典》将甲醇作为芍药苷含量测定提取用溶剂,但由于甲醇的毒害性,限制了其在工业生产中的实际应用。路小平^[11]分别用甲醇、乙醇、重蒸馏水提取芍药苷以探讨最佳提取溶剂,提取率分别为3.01%、3.09%、3.07%,表明使用这3种溶剂结果无明显差异。从环保及经济方面考虑,可选用重蒸馏水为提取溶剂;但笔者发现,用重蒸馏水作为提取溶剂,提取液易产生霉变现象。有学者分别采用水饱和正丁醇与甲醇作为提取溶剂提取5批生药,通过高效液相色谱法测定并比较芍药苷的含量。结果显示,以水饱和正丁醇为溶剂提取的芍药苷含量明显高于以甲醇为溶剂的提取含量。究其原因,可能与药材含淀粉量高,甲醇难以充分渗透生药而影响有效成分溶出有关^[12]。刘芳等^[13]对白芍提取方法进行研究,应用

2008,27(9):735.

- [8] 李彩平,张健平,吴冉舞.白虎承气汤联合丙戊酸镁缓释片治疗复发性躁狂症疗效观察治疗[J].现代中西医结合杂志,2010,19(18):2248.
- [9] 罗征候.桃核承气汤加减治愈癫狂举隅[J].长春中医药大学学报,2009,25(4):512.
- [10] 李立.仲景方临床应用三则[J].湖北中医杂志,2003,25(8):31.
- [11] 梁小赤,朱克武,张乃玄.自拟涤痰泻火汤治疗躁狂症40

- 例疗效观察[J].陕西中医学院学报,2004,27(4):32.
- [12] 李美萍.大剂量玄参治狂病有效[J].中医杂志,2010(10):921.
- [13] 梁宝利.大承气汤加味在狂症中的应用[J].中国民族医学,2003,2(7):429.
- [14] 郭育君.中西医结合治疗急性躁狂发作20例临床分析[J].中国现代医生,2012,16(33):78.
- [15] 高伟博,葛茂宏,朱建平,等.狂息宁合并碳酸锂治疗躁狂发作的对照研究[J].中国民族医学,2013,12(6):17.
- [16] 尹雪峰.龙胆泻肝汤合丙戊酸镁治疗78例狂证患者疗效观察[J].中外医疗,2009,29(26):79.

(收稿日期:2014-03-21 修回日期:2014-05-13)

* 硕士研究生。研究方向:药物新技术与新剂型。E-mail: jiajiali100@163.com

主任药师,硕士。研究方向:新药制剂的开发。电话:021-65280289。E-mail:bian-jun@hotmail.com

高效液相色谱法测定芍药苷含量,该指标显示与正己烷、石油醚、乙醚、氯仿、醋酸乙酯、丙酮、甲醇等溶剂相比,80%乙醇作为提取溶剂的提取率较高,芍药苷含量可达1.23%。丁雯等^[14]运用超高效液相色谱-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)联用技术确定活性成分,再用超高效液相色谱-三重四极杆质谱(UPLC-TQ-MS)联用技术对芍药苷等活性成分进行定量分析,将这两种液质集成技术联合应用来研究当归、赤芍中活性成分的溶出率,采用不同体积分数的乙醇提取。结果显示,芍药苷等单萜类成分在水及低体积分数乙醇中溶出率较高,随着乙醇体积分数的升高溶出率呈下降趋势。

2.2 提取方法

常用的提取方法包括水煎煮法、回流提取法、超声提取法、微波提取法等,但各有优缺点。汤羽等^[15]考虑到芍药苷为水溶性成分,即采用水煎煮法提取芍药苷,结果显示,在适合的工艺条件下芍药苷提取率较高,提取成本低且节约能源。但是,水煎煮法伴随着一些果胶、淀粉、黏液质及其他水溶性物质的出现,同样会给后续操作带来一定的困难。有学者比较了超声提取法、索氏提取法和回流提取法提取芍药苷的差异,结果显示,回流提取法的芍药苷含量普遍高于另外两种提取法^[13]。值得注意的是,采用回流提取法,随着回流时间延长,芍药苷含量呈下降趋势,所以长时间提取加热会导致有效成分被破坏。与水煎煮法和回流提取法相比,超声提取法具有省时、操作简单、重复性好等优点,能快速、有效地提取芍药苷^[16]。陈建平等^[17]采用超声提取法,以紫外分光光度法测定芍药苷含量,在适宜的提取工艺条件下,提取率为0.296%。但是,由于仪器设备复杂等原因,使该方法在工业中的实际应用受到了限制。范文成等^[18]通过试验发现,采用微波提取法提取芍药苷,不仅提取时间短、效率高,而且平行性好,可以节省时间和提取溶剂,为其在工业大生产中的应用提供参考;但同样也存在生产仪器成本较高的问题。匀浆提取法可在高提取率的基础上减少药材粉碎、烘干过程,在常温下操作,既节约成本,又减少了对环境的污染。有学者采用匀浆提取法,在以65%乙醇为提取溶剂、料液比为1:20(g/ml)、匀浆时间为10 min的条件下提取芍药苷,结果显示,芍药苷提取率为0.836%^[19]。加速溶剂法属于一种新的样品萃取技术,在密闭容器中通过加压使溶剂沸点提高但仍处于液态,使溶剂溶解度增大而有利于有效成分溶出。王乾等^[20]研究了加速溶剂提取法提取芍药苷的可行性,再与超声提取法进行比较,具有操作方便快捷、提取率高等优点,但重复性稍差。该试验还初步研究了亚临界水提取法提取芍药苷的效果,提取的芍药苷含量达到3.66%,对于突破传统的芍药苷提取法提供了新思路。

2.3 提取工艺优化

目前,芍药苷提取工艺采用较多的是正交设计和均匀设计来优化提取工艺参数。徐先祥等^[21]采用正交设计法优选乙醇提取赤芍的工艺,以乙醇体积分数、溶剂量、提取时间、提取

次数等为考察因素,按照 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验。结果显示,在70%乙醇、8倍溶剂体积、提取3次、每次1.5 h的条件下芍药苷含量较高。白海波等^[22]运用正交设计-重复试验法筛选抗缺血性脑中风中中药复方中赤芍提取工艺参数,按照正交设计安排试验并平行重复1次,在因素水平相同的情况下采用该方法可以提高试验的精确度,重复试验过程中可减少试验的方法误差及操作误差,使试验结果更可信。另有学者针对试验因素具有不同水平,采用混合均匀设计结合三维效应面法设计试验,优选芍药苷的提取工艺^[23]。该方法极大地减少了试验次数,得到具有代表性的试验数据,不仅可以降低由试验设计带来的误差,而且可以从响应曲面图上直接读取最佳工艺范围,将混合均匀设计与效应面法结合应用更能直观准确地反映试验结果,使数据更有说服力。响应曲面法作为优化考察条件和加工工艺参数的有效方法,通过拟合因子和响应值的相互关系得到回归模型,研究因子与响应值、因子与因子之间的关系来优化试验条件。汤磊等^[24]在研究芍药苷的超临界流体提取工艺时,在单因素试验结果基础上采用响应曲面法,通过建立多项式拟合模型,研究因子与响应值之间的关系而达到优选参数的目的,可以使试验条件组合的复杂性降低。球面对称设计试验是通过拟合方程,在已知试验因素参数范围的前提下,以提取率最高和试验次数较少为条件得到各试验因素最佳理论值,然后对各因素理论值进行验证而得到实际提取率的一种方法。白玉婷等^[25]采用球面对称设计优选芍药苷提取工艺,选择合适的试验水平安排试验,通过试验数据得拟合方程,以芍药苷提取率为指标,在乙醇体积分数为40%~90%、溶剂量为6~14倍、提取时间为0.5~3 h范围内求拟合方程各因素的预测值,按照预测值安排多次试验进行验证,得到芍药苷提取率的实际值为98.267%,与预测值近似相等。该方法与正交设计法所得优化结果相比更节约成本,但存在一个缺点,对于参数只能为整数而不能为小数的试验因素,则需要采用单因素试验对该因素再进行考察。

3 芍药苷的分离纯化

刘帅英等^[26]通过采用动态吸附法,考察了HP-20、HPD-100、LS-45、D-101、D-101A等不同型号的大孔吸附树脂对芍药苷的纯化效果。通过测定芍药苷含量证明D-101A型大孔树脂纯化芍药苷效果最好,可将芍药苷质量分数由15.3%提高到80.11%。桂双英等^[27]运用高效液相色谱法测定芍药苷含量来筛选分离纯化芍药苷的工艺,首先通过静态吸附和解吸附试验得出D101型大孔吸附树脂对芍药苷的比吸附量和解析率,然后分别对上样浓度、洗脱剂流速及用量进行考察,发现在上柱液质量浓度为2.5 mg/ml、流速为3.6 BV/h时,用5倍柱体积的20%乙醇冲洗以用于芍药苷分离富集,纯度可达到73.7%。据报道,将赤芍提取液用大孔吸附树脂吸附精制后再采用膜分离技术,可达到精制纯化的目的。经过大孔吸附树脂精制后,芍药苷的相对含量为60%,再通过膜超滤后,芍药

昔的相对含量接近90%,表明将大孔树脂与超滤技术结合,可以有效去除胶团和大分子颗粒,得到高纯度的芍药苷^[28]。硅胶由于化学性质稳定、吸附性好、安全性高、热稳定性好而广泛应用于天然活性物质的提取。潘浪胜等^[29]确立了乙醇提取工艺提取芍药苷溶液后采用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇连续液分配提取,再用硅胶吸附,三氯甲烷-甲醇(8:1, V/V)层析条件对馏分进行定性分析,用高效液相色谱法进行定量检测,经对工艺的优化,获得了纯度>97.0%的芍药苷产品,总回收率>87%。

4 结语

芍药苷作为赤芍的主要有效成分,目前对其研究正在逐步深入,而如何更好地从赤芍中提取芍药苷有效成分且达到较高的纯度,对于提取及分离纯化工艺提出了较高要求。随着提取及分离纯化技术的进步与完善,必将为提取高纯度的芍药苷单体成分打下基础,并为今后芍药苷单体在药效及剂型方面的研究提供有力帮助。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:147.

[2] 张的风, 余润民, 张金莲, 等. 中医学概论[M]. 南昌:江西高校出版社, 2009:235.

[3] 吴少华, 陈有为, 杨丽源, 等. 川赤芍的化学成分研究[J]. 中草药, 2008, 39(1):13.

[4] Hsu FL, Lai CW, Cheng JT. Antihyperglycemic effects of Paeoniflorin and 8-debenzoylpaeoniflorin, glucosides from the root of *Paeonia lactiflora*[J]. *Planta Med*, 1997, 63(4):323.

[5] Ye J, Duan H, Yang X, et al. Antithrombotic effect of paeoniflorin: evaluated in a photochemical reaction thrombosis model in vivo[J]. *Planta Med*, 2001, 67(8):766.

[6] 金利泰. 天然药物提取分离工艺学[M]. 杭州:浙江大学出版社, 2011:266.

[7] 杨柳, 许舜军, 吴金雄, 等. 白芍、赤芍的比较研究概况[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(5):577.

[8] 李明元, 范成杰, 吕芳, 等. 相同基源的赤芍和白芍中芍药苷含量的比较[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(6):1142.

[9] 林海, 胡黎. 不同产地赤芍中芍药苷的含量测定[J]. 中国医药指南, 2009, 7(16):92.

[10] 周学刚, 陈淑欣, 魏东华, 等. 不同种质和不同部位白芍原植物中芍药苷和芍药内酯苷的含量测定[J]. 医药导报, 2011, 30(11):1480.

[11] 路小平. 赤芍中芍药苷提取溶剂的选择[J]. 时珍国医国

药, 2006, 17(6):1016.

[12] 刘玉红, 陈燕, 易进海. 不同提取溶剂对白芍中芍药苷含量测定结果的影响[J]. 基层中药杂志, 2001, 15(5):19.

[13] 刘芳, 杨广德. 白芍中芍药苷的提取方法研究[J]. 中成药, 2003, 25(10):792.

[14] 丁雯, 钱大玮, 刘培, 等. 不同提取溶剂对当归赤芍药对主要活性成分溶出率的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7):916.

[15] 汤羽, 梁海燕. 赤芍中芍药苷的提取方法研究[J]. 黑龙江医药, 2007, 20(2):137.

[16] 田桦, 张大伟, 王惠娟, 等. 正交设计法优化芍药苷的超声提取工艺[J]. 黑龙江医药科学, 2011, 34(5):37.

[17] 陈建平, 苏健裕, 陈玲, 等. 超声提取白芍中芍药苷工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(11):77.

[18] 范文成, 叶晓红, 李奉勤. 微波提取赤芍中芍药苷的试验研究[J]. 中成药, 2008, 30(1):136.

[19] 史伟国, 张玉, 杜永强. 赤芍中芍药苷的匀浆提取工艺优化[J]. 黑龙江医药科学, 2013, 35(2):59.

[20] 王乾, 刘三康, 付春梅, 等. 加速溶剂提取法提取赤芍中的芍药苷[J]. 华西药学杂志, 2006, 21(2):184.

[21] 徐先祥, 周丽, 马燕, 等. 正交试验优选赤芍提取工艺研究[J]. 安徽中医学院学报, 2008, 27(5):41.

[22] 白海波, 宋子荣, 李波. 正交设计-重复试验法优选赤芍的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(4):15.

[23] 彭晓霞, 路莎莎, 张振巍. 混合均匀设计效应面法优选赤芍中芍药苷的提取工艺[J]. 中国药房, 2011, 22(11):993.

[24] 汤磊, 刘本. 响应面法优化白芍中芍药苷的超临界流体提取研究[J]. 中成药, 2010, 32(8):1331.

[25] 白玉婷, 高展, 张铁军, 等. 球面对称设计优选白芍的提取工艺[J]. 中草药, 2008, 39(7):1021.

[26] 刘帅英, 徐文峥, 李水福. 赤芍中芍药苷的大孔吸附树脂纯化研究[J]. 中草药, 2010, 41(9):1480.

[27] 桂双英, 周亚球, 柯仲成. D101型树脂对芍药苷吸附分离性能的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2):24.

[28] 陈寅生, 姚仲青. 膜分离与大孔树脂吸附技术在赤芍总苷提取与分离中的应用[J]. 南京中医药大学学报, 2006, 22(6):406.

[29] 潘浪胜, 吕秀阳, 吴平东. 赤芍中芍药苷提取工艺的优化[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1):105.

(收稿日期:2014-01-17 修回日期:2014-04-11)

《中国药房》杂志——WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊, 欢迎投稿、订阅