

紫草油有效成分的高效液相色谱测定法及其 在超临界流体萃取制备紫草油中的应用

沈洁¹, 沈炜¹, 蔡雪², 王京霞¹, 郑敏霞^{1*}

(1. 浙江中医药大学附属第一医院, 浙江 杭州 310006; 2. 浙江工业大学分析测试中心, 浙江 杭州 310014)

摘要:紫草提取制备成的紫草油能够预防及治疗婴儿尿布疹、皮肤溃烂、湿疹等多种皮肤疾患,临床应用非常广泛,超临界流体萃取是紫草有效成分提取的优选方法。该文建立了紫草油有效成分的高效液相色谱(HPLC)测定方法,并以紫草油所含的有效成分含量为评价指标,采用三因素三水平正交试验法对紫草超临界流体萃取制备过程中的几个重要因素(萃取压力、萃取温度和CO₂流量)进行考察,确定了紫草超临界流体萃取的最佳工艺流程。所建立的HPLC方法如下:Diamonsil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为含0.1%甲酸的乙腈-含5 mmol/L甲酸钠的0.1%甲酸水溶液(75:25, v/v),等度洗脱,流速为1 mL/min;进样量为15 μL;柱温为室温;二极管阵列检测器(PAD)检测波长为275 nm。该法可在30 min内同时测定紫草油中的有效成分紫草素、乙酰紫草素、β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁、异丁酰紫草素、β,β-二甲基丙烯酰紫草素和2-甲基丁酰基紫草素的含量,方法精密度高、重复性好。在萃取压力23 MPa、萃取温度40 °C、CO₂流量27 L/h这一优化工艺流程下得到的紫草油有效成分含量最高。所建立的HPLC-PAD法简便可行、准确可靠,可用于超临界流体萃取制备紫草油的工艺过程优化和质量控制,也可作为紫草及其制剂的质量评价提供参考。优化后的工艺条件能够满足紫草油制备需求,也符合生产实际需求。

关键词:高效液相色谱;超临界流体萃取;二极管阵列检测;活性成分;紫草油;紫草;工艺优化

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2021)07-0708-07

High performance liquid chromatographic method for determination of active components in lithospermum oil and its application to process optimization of lithospermum oil prepared by supercritical fluid extraction

SHEN Jie¹, SHEN Wei¹, CAI Xue², WANG Jingxia¹, ZHENG Minxia^{1*}

(1. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China;

2. Analysis and Test Center, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: Lithospermum erythrorhizon has the functions of cooling blood, activating blood, as well as detoxifying and penetrating rash. Lithospermum oil extracted from Lithospermum erythrorhizon can prevent and treat diaper rash, skin ulceration, eczema, and other skin diseases. Supercritical fluid extraction is the optimal method for the extraction of active components from lithospermum. In this study, an analytical method was established for simultaneously determination of six active components in lithospermum oil with high performance liquid

收稿日期:2020-12-09

* 通讯联系人.Tel:(0571)87073482,E-mail:slightsusu@163.com,zmxyxx@126.com.

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2015ZB044,2016ZQ017);浙江省“十三五”中医药重点学科建设项目(2017-XK-B01);浙江省“十三五”中医药重点专科建设项目临床药学(浙卫办中医[2019]1)。

Foundation item: Science and Technology Project of Traditional Chinese Medicine in Zhejiang Province (Nos. 2015ZB044, 2016ZQ017); Key Discipline Construction Project of Traditional Chinese Medicine in Zhejiang Province During the 13th Five Year Plan (No. 2017-XK-B01); Clinical Pharmacy of Key Specialty Construction Project of Traditional Chinese Medicine in the 13th Five Year Plan of Zhejiang Province (Zhejiang Healthy Office TCM [2019] 1)。

chromatography (HPLC), and the contents of the active components as the evaluation index were used to investigate several important factors in the preparation of lithospermum oil by supercritical fluid extraction. The optimized HPLC conditions were as follows: separation column, Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); mobile phases, acetonitrile containing 0.1% (v/v) formic acid-0.1% (v/v) formic acid aqueous solution containing 5 mmol/L ammonium formate (75:25, v/v); flow rate, 1 mL/min; injection volume, 15 μL; room temperature; photodiode array detector (PAD); detection wavelength, 275 nm. The supercritical fluid extraction was optimized for ensuring stability of the amounts of effective components and the reliability of the quality of lithospermum oil. This will serve as the basis for preparation and quality control processes. Three factors and three levels orthogonal tests were adopted to investigate the important factors, viz. the pressure, temperature and CO₂ flow rate in the preparation of lithospermum oil. The results showed that the developed HPLC-PAD method can be used for the simultaneous determination of shikonin, acetylshikonin, β-acetoxyisovaleryl akanin, isobutyryl shikonin, β,β-dimethylacryl shikonin, and 2-methylbutyryl shikonin in 30 min. The method has good precision, accuracy and repeatability. The contents of the active components were the highest when the extraction pressure, extraction temperature, and CO₂ flow rate were 23 MPa, 40 °C, and 27 L/h, respectively. The optimized conditions are suitable for the preparation and actual production of lithospermum oil. The HPLC-PAD method is simple, feasible, accurate, and reliable. It can be used for the preparation and quality control of lithospermum oil by supercritical fluid extraction. Thus, with this method, the stability of the contents of active ingredients and the reliability of the quality of lithospermum oil can be ensured; moreover, safe and effective drug use can be realized. The established method has obvious advantages over the traditional process and is a good candidate for widespread use.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); supercritical fluid extraction (SFE); photodiode array detection (PAD); active components; lithospermum oil; Lithospermum erythrorhizon; process optimization

紫草 (*Lithospermum erythrorhizon*) 是皮肤科常用的中药之一,具有凉血、活血、解毒透疹的功效。《本草纲目》记载:“紫草治斑疹、痘毒,活血凉血,利大肠”,用于血热毒盛、斑疹紫黑、麻疹不透、湿疹、水火烫伤等。由紫草提取制备成的紫草油能够预防及治疗婴儿尿布疹、皮肤溃烂、湿疹等多种皮肤疾患,临床应用非常广泛^[1]。

紫草主要的活性成分是萘醌类化合物,包括紫草素 (shikonin)、乙酰紫草素 (acetylshikonin)、β,β-二甲基丙烯酰紫草素 (β,β-dimethylacrylshikonin) 等成分^[2],传统的提取紫草有效成分的方法主

要包括有机溶剂萃取法、水蒸气蒸馏法、减压蒸馏法、油浸法等,其工艺复杂,产品纯度不高,常用的有机溶剂提取法提取物中常含有微量有机溶剂残留。超临界流体萃取 (supercritical fluid extraction, SFE) 是近几十年发展起来的一种新型提取技术,对许多物质有较好的渗透性和较强的溶解能力,且萃取物无溶剂残留,保证产品 100% 的天然性。梁瑞红等^[3]对新疆紫草进行了超临界流体萃取工艺研究并与有机溶剂萃取的结果进行了比较,超临界流体萃取比有机溶剂萃取能得到更多紫草萘醌类组分,且超临界流体萃取所含的杂质更少,超临界流体

引用本文:沈洁,沈炜,蔡雪,王京霞,郑敏霞. 紫草油有效成分的高效液相色谱测定法及其在超临界流体萃取制备紫草油中的应用. 色谱, 2021, 39(7): 708-714.

SHEN Jie, SHEN Wei, CAI Xue, WANG Jingxia, ZHENG Minxia. High performance liquid chromatographic method for determination of active components in lithospermum oil and its application to process optimization of lithospermum oil prepared by supercritical fluid extraction. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(7): 708-714.

萃取可作为紫草有效成分提取的优选方法。目前国内文献报道超临界提取紫草的研究所涉及的内容主要有紫草有效成分的分离、纯化研究^[4]、CO₂超临界流体萃取紫草有效成分的稳定性研究^[5]、超临界流体萃取紫草的有效成分的抗氧化研究^[6]等。尚未见高效液相色谱同时测定紫草油中多种有效成分含量及用于超临界流体萃取制备紫草油工艺优化的研究报道,还没有形成一套严谨规范的工艺流程。调研国内外关于紫草有效成分检测的文献报道,大多是对左旋紫草素^[7-10]、 β 、 β -二甲基丙烯酰阿卡宁^[7-9]、乙酰紫草素^[9,10]、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素^[10]、 β 、 β -二甲基丙烯酰紫草素^[10]、葱醌类^[11] 2 到 3 种有效成分的含量检测或指纹图谱研究。

本研究建立了紫草油 6 种有效成分含量检测的分析方法,并以紫草油所含的有效成分含量为评价指标,优化紫草超临界流体萃取制备过程中的萃取压力、萃取温度和 CO₂ 流量 3 个制备工艺条件,确定了紫草超临界流体萃取的最佳工艺流程,从而保证有效成分含量的稳定性和紫草油质量的可靠性,达到安全、有效用药的目的。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂和材料

Waters 2695 高效液相色谱系统 (Waters, USA), 配四元梯度泵、在线脱气机、Waters 2996 二极管阵列检测器 (PDA)、Chem Station 工作站控制系统; KQ-100DA 型数控超声波清洗器 (昆山舒美超声仪器有限公司); EL204 电子分析天平 (梅特勒-托利多上海有限公司); MinispanPlus 台式高速离心机 (杭州奥盛仪器有限公司); Milli-Q 超纯水系统 (Millipore, USA) 等。

紫草素 (纯度 > 99.0%)、乙酰紫草素 (纯度 > 99.0%)、 β 、 β -二甲基丙烯酰紫草素 (纯度 > 99.0%) 标准品购自国家标准物质中心, β -乙酰氧基异戊酰阿卡宁 (纯度 > 98.0%)、异丁酰紫草素 (纯度 > 98.0%) 标准品购自上海源叶生物科技有限公司, 2-甲基丁酰基紫草素 (纯度 > 98.0%) 标准品购于上海阿拉丁生化科技有限公司; 甲酸 (色谱纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 乙腈 (色谱纯, 德国默克公司); 甲酸铵 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); Milli-Q 超纯水。

新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst 由浙江中医药大学中药饮片厂提供, 由浙江中医药

大学附属第一医院中药房郑敏霞主任中药师鉴定。

1.2 色谱条件

Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), 流动相: 含 0.1% 甲酸的乙腈-含 5 mmol/L 甲酸铵的 0.1% 甲酸水溶液 (75:25, v/v), 等度洗脱, 流速为 1 mL/min; 进样量为 15 μ L; 柱温为室温; 检测波长为 275 nm。

1.3 标准溶液制备

精密称取 6 种紫草素标准品适量, 用乙腈-水溶液 (75:25, v/v) 溶解, 并定容于 10 mL 容量瓶中, 配制成混合标准品储备液, 于 4 $^{\circ}$ C 避光保存。储备液中紫草素、乙酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰阿卡宁、异丁酰紫草素、 β 、 β -二甲基丙烯酰紫草素、2-甲基丁酰基紫草素的质量浓度分别为 100、500、400、600、500、1 000 μ g/L。

分别精密吸取储备液适量, 并稀释成系列浓度的标准溶液, 各标准系列质量浓度如下: 紫草素 10、20、30、40、50 μ g/L, 乙酰紫草素 50、100、150、200、250 μ g/L, β -乙酰氧基异戊酰阿卡宁 40、80、120、160、200 μ g/L, 异丁酰紫草素 60、120、180、240、300 μ g/L, β 、 β -二甲基丙烯酰紫草素 0、100、150、200、250 μ g/L, 2-甲基丁酰基紫草素 100、200、300、400、500 μ g/L。

1.4 供试品溶液制备

取紫草超临界流体萃取所得的样品 1 mg, 精密称定, 溶于 1 mL 乙腈-水 (75:25, v/v) 溶液中, 超声 1 min, 用 0.45 μ m 滤膜过滤, 滤液作为供试品溶液, 供分析用。

1.5 超临界流体萃取制备紫草油

选取新疆紫草, 碾碎, 粗粉碎物料过筛。紫草装料量 250 g, CO₂ 超临界流体萃取时间 2 h, 无夹带剂, 一级分离, 萃取压力 23 MPa, 萃取温度 40 $^{\circ}$ C, CO₂ 流量 27 L/h。

2 结果和讨论

2.1 HPLC 方法的建立

2.1.1 有效成分检测波长的选择

《中国药典》记载紫草有效成分的检测波长为 516 nm 和 275 nm^[7], 部分文献报道紫草有效成分的检测波长为 516 nm^[11], 我们对紫草油的 6 种有效成分进行了光谱扫描, 结果如图 1 所示, 可以看出在 275 nm 和 516 nm 处, 紫草油的 6 种有效成分均有较高的吸收度, 但在 275 nm 处, 6 种有效成分的

吸收度更高,因此选择 275 nm 作为检测波长。

2.1.2 HPLC 流动相的优化

色谱条件优化过程中,对流动相溶剂(甲醇、乙腈)、流动相酸度(0.25%、0.05%、0.1%、0.2%)和流速(0.8、1.0、1.2 mL/min)进行了考察。结果发现,

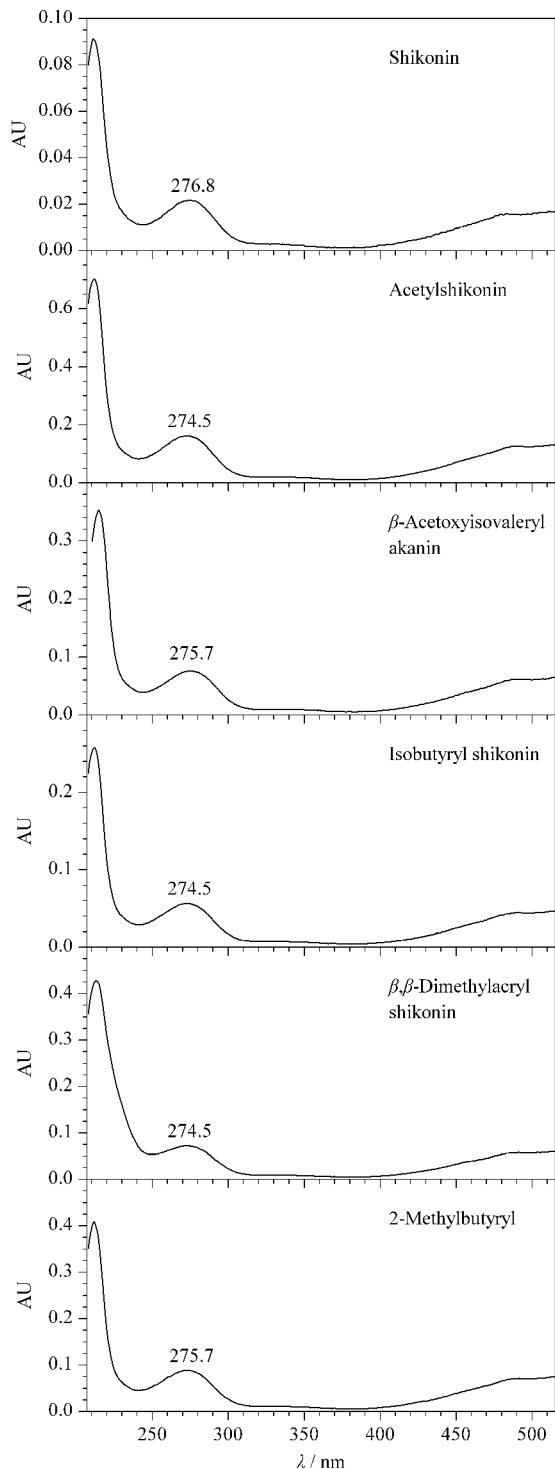


图 1 紫草油中 6 种有效成分的 PAD 光谱图

Fig. 1 Spectra of six active components in lithospermum oil with photodiode array detector (PAD)

乙腈对紫草油有效成分的洗脱能力强于甲醇,使得分离时间明显缩短,而且分离效果也比较好;流动相的酸度对紫草油有效成分的分离度有一定的影响,随着酸度的增大,色谱峰的峰形得到改善,但是考虑到过高的酸度可能对色谱柱的使用寿命产生影响,所以最终选择酸度为 0.1%;流动相流速选择 1.0 mL/min 最为适合。色谱条件优化后的紫草油标准品和样品色谱图见图 2。

2.2 HPLC 方法学考察

采用优化后的液相色谱条件,进样分析一系列浓度的混合标准溶液,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得到线性回归方程,如表 1 所示,线性关系良好。信噪比(S/N)=3 的进样质量浓度即检出限(LOD), $S/N=10$ 的进样质量浓度即定量限(LOQ),结果如表 1 所示,方法灵敏度高。

配制 1 份混合标准溶液,混合标准溶液中紫草素、乙酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰阿卡宁、异丁酰紫草素、 β,β -二甲基丙烯酰紫草素、2-甲基丁酰基紫草素质量浓度分别为 30、150、120、180、150、300 $\mu\text{g/L}$,同一天内取样 6 次进样分析,计算日内精密

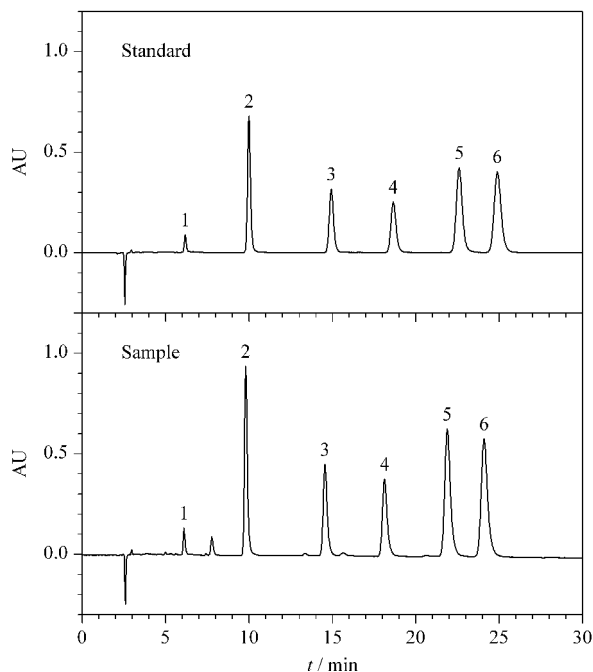


图 2 优化条件下紫草油标准品和样品的 HPLC 谱图

Fig. 2 HPLC profiles of lithospermum oil standards and samples under optimized chromatographic conditions

1. shikonin; 2. acetylshikonin; 3. β -acetoxyisovaleryl akanin; 4. isobutyryl shikonin; 5. β,β -dimethylacryl shikonin; 6. 2-methylbutyryl.

表 1 6 种有效成分的线性关系、检出限和定量限 ($n=3$)
Table 1 Linear relationships, limits of detection (LODs), and limits of quantification (LOQs) of the six active components ($n=3$)

Compound	t_R/min	Linear range/ $(\mu\text{g/L})$	Calibration curve	r	LOD/ $(\mu\text{g/L})$	LOQ/ $(\mu\text{g/L})$
Shikonin	6.08±0.01	10.00–50.00	$Y=79583X-90506$	0.9990	1.73	5.78
Acetylshikonin	9.76±0.02	50.00–250.00	$Y=84361X+139619$	0.9997	0.75	4.08
β -Acetoxyisovaleryl akanin	14.45±0.01	40.00–200.00	$Y=71421X-81331$	0.9999	2.24	6.38
Isobutryl shikonin	18.03±0.03	60.00–300.00	$Y=81910X-7028.4$	0.9985	1.58	6.55
β,β -Dimethylacryl shikonin	21.81±0.05	50.00–250.00	$Y=109607X-699084$	0.9990	2.63	7.67
2-Methylbutyryl	24.28±0.05	100.00–500.00	$Y=75658X-935990$	0.9991	4.62	20.5

* Y : peak area of each component; X : mass concentration, $\mu\text{g/L}$.

草素、乙酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰阿卡宁、异丁酰紫草素、 β,β -二甲基丙烯酰紫草素、2-甲基丁酰紫草素质量浓度分别为 40、200、160、240、200、400 $\mu\text{g/L}$, 连续 6 日每日进样分析, 计算日间精密度, 结果如表 2 所示, 精密度良好。

按供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液进样分析评估重复性, 结果见表 3。按供试品溶液制备方法制备 1 份供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、16、24 h 进样分析评估稳定性, 结果见表 3。

按加样回收率测定方法, 分别在已知含量的样品中, 加入一定质量浓度的混合标准溶液, 按照供试品溶液制备方法制备供试品 6 份, 进样分析, 计算加样回收率, 结果见表 4。

以上结果证明该分析方法的重复性、稳定性和准确度良好。此分析方法可用于紫草油中 6 种有效

表 2 日内和日间精密度试验结果 ($n=6$)
Table 2 Test results of intra-day and inter-day precisions ($n=6$)

Compound	Intra-day precision		Inter-day precision	
	Content/ $(\mu\text{g/L})$	RSD/%	Content/ $(\mu\text{g/L})$	RSD/%
Shikonin	29.35	2.17	38.89	3.70
Acetylshikonin	150.29	0.19	197.06	1.47
β -Acetoxyisovaleryl akanin	120.41	0.35	160.54	3.41
Isobutryl shikonin	186.86	3.81	231.60	4.49
β,β -Dimethylacryl shikonin	148.28	1.14	193.46	3.27
2-Methylbutyryl	293.96	2.01	393.40	2.65

表 3 重复性和稳定性试验结果 ($n=6$)
Table 3 Test results of repeatability and stability ($n=6$)

Compound	Repeatability RSD/%	Stability RSD/%
Shikonin	1.92	0.36
Acetylshikonin	0.33	1.50
β -Acetoxyisovaleryl akanin	0.80	1.57
Isobutryl shikonin	0.55	2.16
β,β -Dimethylacryl shikonin	0.52	2.49
2-Methylbutyryl	0.33	3.26

成分的定量分析, 有效成分的含量指标可应用于评价超临界流体萃取制备紫草油工艺的优化过程。

2.3 超临界流体萃取制备紫草油的工艺条件筛选

选取新疆紫草, 碾碎, 粗粉碎物料过筛。每组实验装料量 250 g, CO_2 超临界流体萃取时间 2 h, 无夹带剂, 一级分离, 采用三因素三水平正交试验法, 正交试验因素水平见表 5, 实验组别见表 6, 考察萃取压力、萃取温度和 CO_2 流量对紫草有效成分含量的影响。9 组试验所得的紫草油样品通过上述已建立的 HPLC 分析方法检测有效成分含量, 有效成分含量结果见表 7, HPLC 谱图见图 3。

表 4 HPLC 分析方法的加样回收率结果 ($n=6$)
Table 4 Recovery test results of the HPLC method ($n=6$)

Compound	Background/ $(\mu\text{g/L})$	Added/ $(\mu\text{g/L})$	Found/ $(\mu\text{g/L})$	Recovery/%	RSD/%
Shikonin	10.27	8.50	18.15	92.68	4.25
	10.27	10.00	20.13	98.58	
	10.27	12.50	22.85	100.65	
Acetylshikonin	86.63	70.00	152.95	94.74	5.35
	86.63	86.50	171.31	97.89	
	86.63	104.00	195.93	105.09	
β -Acetoxyisovaleryl akanin	71.42	57.50	123.43	90.45	4.19
	71.42	71.50	141.70	98.29	
	71.42	85.50	153.08	95.50	
Isobutryl shikonin	63.14	50.50	111.68	96.12	7.16
	63.14	63.00	132.08	109.42	
	63.14	75.50	145.26	108.77	
β,β -Dimethylacryl shikonin	75.81	60.50	132.57	93.81	8.35
	75.81	75.50	149.23	97.24	
	75.81	90.50	175.10	109.71	
2-Methylbutyryl	148.17	118.50	251.29	87.02	4.76
	148.17	148.00	289.20	95.29	
	148.17	178.00	314.86	93.64	

表 5 正交试验因素水平表
Table 5 Factor level table of orthogonal test

Level	Extraction pressure/MPa	Extraction temperature/ $^{\circ}\text{C}$	CO_2 flow/ (L/h)	Blank control
1	18	30	27	1
2	23	35	30	2
3	28	40	32	3

表6 超临界流体萃取制备紫草油工艺优化的正交试验表

Table 6 Orthogonal test for optimization of the extraction process of lithospermum oil by supercritical fluid extraction

Test No.	Extraction pressure	Extraction temperature	CO ₂ Flow	Blank control
1	1(18 MPa)	1(30 ℃)	1(27 L/h)	1
2	1(18 MPa)	2(35 ℃)	2(30 L/h)	2
3	1(18 MPa)	3(40 ℃)	3(32 L/h)	3
4	2(23 MPa)	1(30 ℃)	2(30 L/h)	3
5	2(23 MPa)	2(35 ℃)	3(32 L/h)	1
6	2(23 MPa)	3(40 ℃)	1(27 L/h)	2
7	3(28 MPa)	1(30 ℃)	3(32 L/h)	2
8	3(28 MPa)	2(35 ℃)	1(27 L/h)	3
9	3(28 MPa)	3(40 ℃)	2(30 L/h)	1

表7 9组超临界流体萃取工艺制备所得紫草油的有效成分含量(n=3)

Table 7 Active component contents of lithospermum oil prepared by nine supercritical fluid extraction processes (n=3) $\mu\text{g/L}$

Test No.	Shikonin	Acetylshikonin	β -Acetoxyisovaleryl akanin
1	10.90 \pm 0.29	93.85 \pm 6.54	88.18 \pm 5.94
2	11.71 \pm 0.12	109.76 \pm 4.09	93.64 \pm 2.18
3	13.98 \pm 0.27	155.94 \pm 8.15	129.43 \pm 3.77
4	13.79 \pm 0.26	137.60 \pm 0.46	113.74 \pm 0.91
5	20.54 \pm 0.39	172.14 \pm 3.02	144.89 \pm 6.02
6	19.45 \pm 0.12	170.89 \pm 3.61	139.91 \pm 1.05
7	15.81 \pm 0.15	152.83 \pm 2.10	121.70 \pm 0.71
8	13.01 \pm 0.25	132.91 \pm 1.06	106.54 \pm 0.64
9	14.03 \pm 0.15	150.57 \pm 0.71	123.75 \pm 0.15

Test No.	Isobutyryl shikonin	β , β -Dimethylacryl shikonin	2-Methylbutyryl
1	79.67 \pm 4.37	105.91 \pm 5.73	184.08 \pm 6.54
2	85.43 \pm 2.20	104.63 \pm 2.07	199.47 \pm 4.87
3	116.07 \pm 2.79	129.33 \pm 2.99	273.99 \pm 7.01
4	101.15 \pm 0.56	137.53 \pm 0.72	234.61 \pm 0.78
5	125.72 \pm 1.21	151.22 \pm 2.31	295.33 \pm 4.63
6	130.06 \pm 1.19	221.44 \pm 2.34	296.09 \pm 2.33
7	114.45 \pm 0.23	213.82 \pm 1.56	261.93 \pm 1.32
8	94.29 \pm 0.62	145.16 \pm 0.72	221.70 \pm 1.66
9	105.39 \pm 0.30	161.81 \pm 0.91	253.99 \pm 0.58

影响超临界流体萃取有效成分的主要因素有萃取压力、萃取温度和 CO₂ 流量,本实验采用三因素三水平正交试验法来优化紫草超临界流体萃取的工艺条件,结果发现试验 1 至试验 9 所得的紫草油有效成分的总量分别是 S1 = 562.59 $\mu\text{g/L}$, S2 = 604.64 $\mu\text{g/L}$, S3 = 818.74 $\mu\text{g/L}$, S4 = 738.42 $\mu\text{g/L}$, S5 = 909.84 $\mu\text{g/L}$, S6 = 977.84 $\mu\text{g/L}$, S7 = 880.54 $\mu\text{g/L}$, S8 = 713.61 $\mu\text{g/L}$, S9 = 809.54 $\mu\text{g/L}$ 。试验 6 的工艺条件所得的紫草油有效成分含量最高,且试验 6 所需的 CO₂ 流量最少,符合工

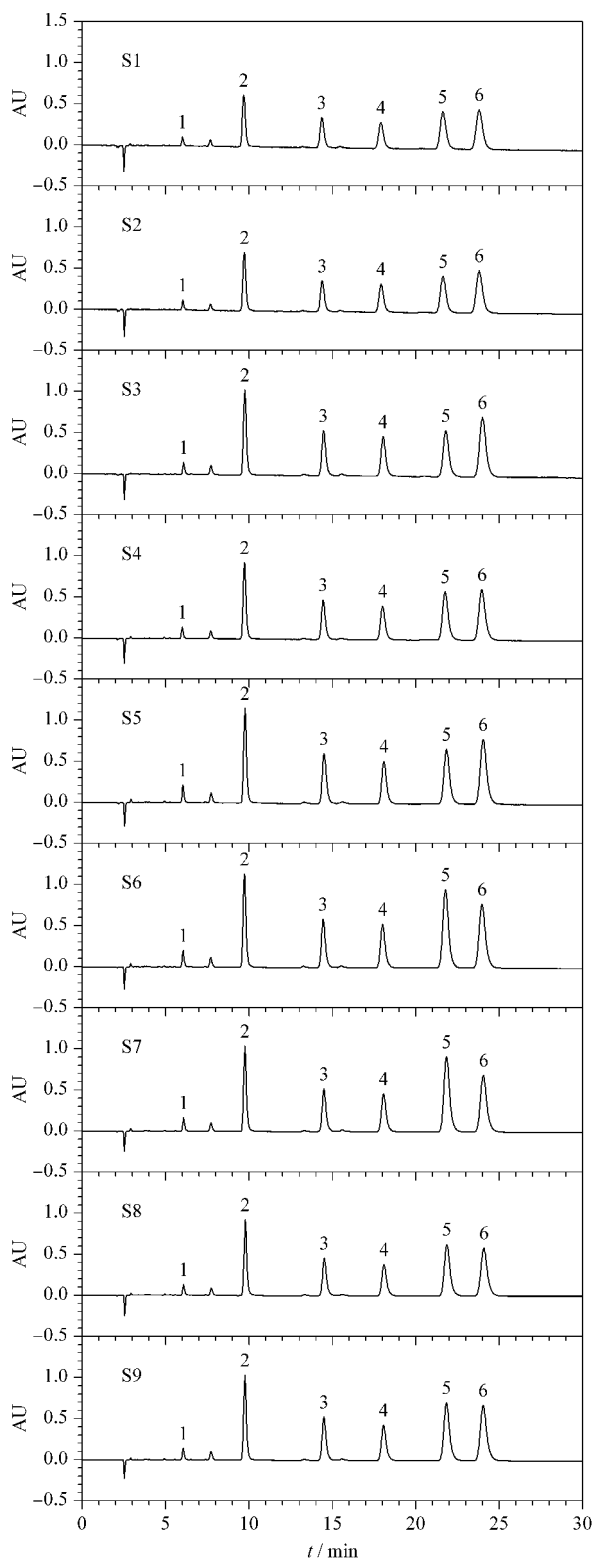


图3 9组超临界流体萃取工艺制备所得紫草油的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of lithospermum oil prepared by nine supercritical extraction processes

Samples S1-S9; obtained from Tests 1-9 in Table 6.

1. shikonin; 2. acetylshikonin; 3. β -acetoxyisovaleryl akanin; 4. isobutyryl shikonin; 5. β , β -dimethylacryl shikonin; 6. 2-methylbutyryl.

业化大生产的需求。所以超临界流体萃取制备紫草油的最优工艺条件是:萃取压力 23 MPa,萃取温度 40 °C, CO₂ 流量 27 L/h。

3 结论

本研究建立了 HPLC-PAD 法同时测定紫草油中 6 种有效成分含量的分析方法,并将此方法应用于超临界流体萃取制备紫草油的工艺优化过程,优化后的工艺条件能够满足紫草油制备需求,有效成分含量稳定。本方法简便可行、准确可靠,可用于超临界流体萃取制备紫草油的工艺过程和质量控制。

参考文献:

- [1] Zhang T M. *Clinical Chinese Pharmacy*. 1st ed. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2004: 223
张廷模. 临床中药学. 第 1 版. 北京: 中国中医药出版社, 2004: 223
- [2] Zan K, Su R, Teng A J, et al. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2016, 36(9): 1526
咎珂, 苏蕊, 滕爱君, 等. 药物分析杂志, 2016, 36(9): 1526
- [3] Liang R H, Xie M Y, Shi Y F. *Food Science*, 2004, 25(3): 130
梁瑞红, 谢明勇, 施玉峰. 食品科学, 2004, 25(3): 130
- [4] Huang P P. [PhD Dissertation]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010
黄萍萍. [博士学位论文]. 广州: 华南理工大学, 2010
- [5] Lee H Y, Kim Y J, Kim E J, et al. *J Cosmet Sci*, 2008, 59(5): 431
- [6] Qi Y, Liu Y M. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2013, 30(8): 850
祁英, 刘玉梅. 中国现代应用药理学, 2013, 30(8): 850
- [7] Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Part 1*. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 355
国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 355
- [8] Ding Y F, Li X L, Liu G B, et al. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2015, 22(11): 76
丁叶芳, 李西林, 柳国斌, 等. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(11): 76
- [9] Ma L C, Ma S J, Zhu J F, et al. *China Pharmacy*, 2020, 31(14): 1732
马留纯, 马生军, 朱金芳, 等. 中国药房, 2020, 31(14): 1732
- [10] Zhang L, Zhang A Q, Wang M, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2017, 45(11): 1727
张蕾, 张爱芹, 王嫚, 等. 分析化学, 2017, 45(11): 1727
- [11] Gao Z J, Liu Q Y, Qu X L, et al. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2019, 36(10): 1193
高召军, 刘秋月, 曲晓兰, 等. 中国现代应用药理学, 2019, 36(10): 1193