

文章编号:1671-6833(2023)04-0107-06

PB 试验-响应面法优化黄芩提取物的纯化工艺

孙鑫¹, 王献丽¹, 马晓吉¹, 邓芳芳², 潘成学^{1,2}

(1. 郑州大学 药学院, 河南 郑州 450001; 2. 河南郑大杰诺医药技术有限公司, 河南 郑州 450001)

摘要:以黄芩苷得率和黄芩苷纯度为评价指标,采用酸沉法、碱溶酸沉法、重结晶法、药典纯化方法对黄芩苷进行纯化,确定最佳纯化方法为碱溶酸沉法。运用 Plackett-Burman 试验得到碱溶酸沉法中的关键工艺参数,通过 Box-Behnken 响应面试验建立关键工艺参数和关键评价指标之间的回归模型,获取设计空间并进行验证。筛选得到的关键参数为药液质量浓度、碱溶温度、碱溶 pH、酸沉温度和酸沉 pH,在满足黄芩苷得率和纯度均大于 85% 时,得到操作空间:碱溶温度为 40 ℃、碱溶 pH 为 8.0、酸沉温度为 80 ℃、药液质量浓度为 11.53~14 mg·mL⁻¹、酸沉 pH 为 1.17~2.33。验证结果表明,设计空间稳定可靠,可为工业化生产黄芩提取物提供参考。

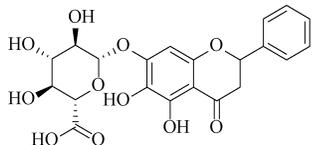
关键词:黄芩苷; 纯化; Plackett-Burman 试验; Box-Behnken 响应面试验; 质量源于设计

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

doi:10.13705/j.issn.1671-6833.2023.01.002

黄芩为中国传统大宗药材,主要用于上呼吸道感染等疾病。以“三方三药”为代表的中医药在控制新冠疫情中发挥了巨大作用,而黄芩就是主要药味之一^[1-2],市场对于黄芩和黄芩提取物需求较大。黄芩苷是黄芩及其制剂的主要质量控制指标成分^[3],《中国药典》2020 年版一部黄芩提取物项下规定黄芩苷纯度不低于 85%^[4]。黄芩苷的分子结构如下:



现有文献对黄芩苷的纯化工艺考察还仅限于实验室研究,对工业化生产鲜有报道。因此目前黄芩提取物生产企业依然采用药典纯化方法对黄芩苷进行精制。该纯化工艺为将提取液加盐酸调 pH 值至 1.0~2.0,在 80 ℃ 保温,静置,滤过。沉淀物加适量水搅拌,用 40% 氢氧化钠调 pH 值至 7.0,加等量乙醇,搅拌使溶解,滤过,滤液再加盐酸调节 pH 值至 1.0~2.0,60 ℃ 保温,静置,滤过,沉淀依次用适量水及不同浓度的乙醇洗至 pH 至中性,挥尽乙醇,减压

干燥,即得^[4]。该纯化过程反复碱溶酸沉,并采用乙醇除杂,造成有效成分损失较大,且操作烦琐、生产周期长。本实验结合工业化生产实际,以黄芩苷得率和黄芩苷纯度为响应值,对酸沉法、碱溶酸沉法、重结晶法和药典纯化方法进行实验对比,确定黄芩苷的最佳纯化方法;然后采用筛选试验(Plackett-Burman, PB)^[5-7]和 Box-Behnken 响应面试验^[8-10],对整个工艺条件进行考察,同时基于 QbD 理念^[11-12]构建操作空间,为工业化生产黄芩提取物提供理论依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

赛默飞 UltiMate3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司);DZKW-4 电热恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);THD-1008W 低温恒温槽(宁波天恒仪器厂);101-1AB 电热鼓风干燥箱(天津赛得利斯实验分析仪器制造厂)。

1.2 试剂

黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110715-202122);黄芩药材(购自中国禹州药材

收稿日期:2022-04-09;修订日期:2022-06-05

基金项目:2019 年医疗服务与保障能力提升补助资金“全国中药资源普查项目”(社财[2019]39 号)

通信作者:潘成学(1971—),男,湖北京山人,郑州大学副教授,主要从事植物资源与药材质量评价的研究,E-mail:panex@zzu.edu.cn。

引用本文:孙鑫,王献丽,马晓吉,等.PB 试验-响应面法优化黄芩提取物的纯化工艺[J].郑州大学学报(工学版),2023,44(4):107-112,119.(SUN X, WANG X L, MA X J, et al. Optimization of purification process of scutellaria baicalensis extract by PB test with response surface methodology[J]. Journal of Zhengzhou University (Engineering Science), 2023, 44(4): 107-112, 119.)

市场);用于液相分析的甲醇为色谱级;其余试剂为分析纯。

2 方法

2.1 黄芩水提液的制备

取黄芩粗粉 500 g,加入沸水 5 L,于 90 ℃ 浸泡 1 h,超声提取 20 min,滤过,再次加入沸水 5 L,超声提取 20 min,滤过,合并提取液,备用。

2.2 纯化方法比较

取黄芩水提液 200 mL,依次采用酸沉法^[13]、碱溶酸沉法^[14]、重结晶法^[15]和药典纯化方法^[4]对黄芩苷进行精制,将得到的粗品于 60 ℃ 干燥,称重,测定黄芩苷含量,计算黄芩苷得率。

2.3 碱溶酸沉法工艺操作

根据实验设计表中的运行序开展实验,将待纯化样品溶液浓缩成所需特定药液浓度的水提液,每份样品取 200 mL,在设计温度下加入要求浓度的氢氧化钠溶液调节 pH 至设计参数后,保温相应时间,过滤,滤液加热至设计要求温度,加入要求浓度盐酸溶液,pH 调至要求水平,保温相应时间,保温结束后取出样品并置于低温恒温槽中静置相应时间,滤过,沉淀用蒸馏水洗至中性,抽滤,60 ℃ 真空干燥得黄芩苷粗品,称重,测定黄芩苷含量,计算黄芩苷得率。

2.4 黄芩苷含量的测定

2.4.1 色谱条件

色谱柱为 Hypersil25005-254630(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相为甲醇-水-磷酸(47:53:0.2);检测波长为 280 nm;流速为 1 mL·min⁻¹;柱温为 30 ℃;进样量为 10 μL。

2.4.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 106.982 4 μg 黄芩苷的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备

黄芩水提液:精密量取提取液 2 mL,置于 100 mL 容量瓶中,加适量 70% 乙醇,超声使之溶解,放至室温,加 70% 乙醇至刻度,摇匀。精密量取 5 mL,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤

过,取续滤液,即得。

黄芩提取物:取本品 10 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加甲醇适量使溶解,再加甲醇至刻度,摇匀。精密量取 5 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4.4 线性关系考察

将对照品溶液稀释至 6 个不同浓度,按 2.4.1 节色谱条件进行分析。以峰面积为纵坐标,对照品的进样浓度为横坐标,得到回归方程,可知黄芩苷在 3.343 2~106.982 4 μg·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系。

2.4.5 精密度、稳定性、重复性、回收率试验

精密度、稳定性、重复性及回收率试验按《中国药典》2020 年版四部^[16]要求进行考察,结果均符合要求,说明该方法具有良好的系统适用性。

2.5 黄芩苷得率计算

黄芩苷得率计算公式如下:

$$\text{黄芩苷得率} = \frac{\text{粗品中黄芩苷质量}}{\text{水提液中黄芩苷质量}} \times 100\% \quad (1)$$

2.6 Plackett-Burman (PB) 试验设计

以黄芩苷得率(Y_1)和黄芩苷纯度(Y_2)为指标,使用 Design-Expert 10.0.4 软件对碱溶酸沉法中涉及的 11 个工艺参数进行 PB 试验设计,筛选出对黄芩苷得率和黄芩苷纯度影响显著的主要因素,因素及水平见表 1。

2.7 Box-Behnken (BB) 响应面试验设计

将 PB 试验筛选得到的药液质量浓度(A)、碱溶温度(B)、碱溶 pH(D)、酸沉温度(F)和酸沉 pH(H)5 个关键参数使用 Design-Expert 10.0.4 软件进行 5 因素 3 水平的响应面试验设计,3 个因素各设高、中、低 3 个水平,分别用 1、0、-1 表示,因素及水平见表 2。

3 结果与分析

3.1 对照品和供试品色谱图

对照品溶液和供试品溶液分别按照 2.4.2 节和 2.4.3 节方法进行制备,均通过 2.4.1 节色谱条件进行分析,各色谱图见图 1。

表 1 Plackett-Burman 试验设计因素及水平

Table 1 Factors and levels for Plackett-Burman test design

| 水平 | 因素 | | | | | | | | | | |
|----|-----------|---------|-------------|----------|-----------|---------|-----------|----------|-----------|---------|---------|
| | A(药液质量浓度) | B(碱溶温度) | C(氢氧化钠质量浓度) | D(碱溶 pH) | E(碱溶保温时间) | F(酸沉温度) | G(盐酸质量浓度) | H(酸沉 pH) | I(酸沉保温时间) | J(静置温度) | K(静置时间) |
| -1 | 6 | 40 | 10 | 6 | 40 | 40 | 10 | 1 | 40 | 5 | 12 |
| 1 | 14 | 80 | 40 | 8 | 80 | 80 | 37 | 3 | 80 | 30 | 20 |

表2 Box-Behnken 响应面试验设计因素及水平

Table 2 Factors and levels for Box-Behnken response surface design

| 水平 | 因素 | | | | |
|----|-----------|---------|---------|---------|---------|
| | A(药液质量浓度) | B(碱溶温度) | D(碱溶pH) | F(酸沉温度) | H(酸沉pH) |
| -1 | 6 | 40 | 6 | 40 | 1 |
| 0 | 10 | 60 | 7 | 60 | 2 |
| 1 | 14 | 80 | 8 | 80 | 3 |

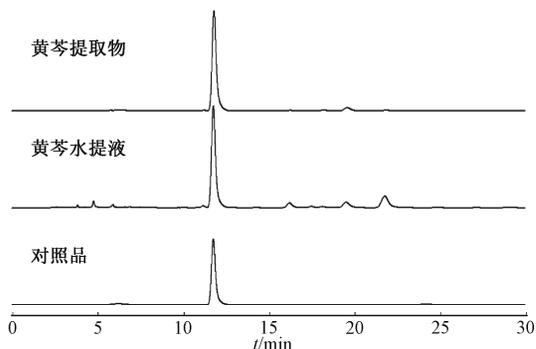


图1 对照品与供试品 HPLC 图

Figure 1 HPLC of control and test sample

3.2 黄芩苷不同纯化方法的实验结果

黄芩苷不同纯化方法的实验结果如表3所示,由实验结果可以看出,当采用碱溶酸沉法对黄芩苷进行精制时,黄芩苷得率和黄芩苷纯度均较其他3

种纯化方法高,因此选取碱溶酸沉法更进一步地研究。

表3 黄芩苷纯化方法的比较

Table 3 Comparison of purification methods of baicalin

| 纯化方法 | 黄芩苷得率/% | 黄芩苷纯度/% |
|--------|---------|---------|
| 酸沉法 | 65.85 | 70.07 |
| 碱溶酸沉法 | 79.97 | 77.71 |
| 重结晶法 | 67.52 | 72.45 |
| 药典纯化方法 | 60.42 | 75.40 |

3.3 Plackett-Burman (PB) 试验结果

通过 PB 试验设计对影响因素进行显著性分析,试验设计及结果见表4,试验结果效应分析见表5,各模型的 P 值均小于 0.01,可知该模型具有极显著影响,表明模型具有统计学意义。从各个因素的 P 值可以看出药液质量浓度、碱溶温度和酸沉 pH 对黄芩苷得率有极显著影响;药液质量浓度、碱溶温度、碱溶 pH、酸沉温度和酸沉 pH 对黄芩苷纯度有极显著影响。因此选取药液质量浓度(A)、碱溶温度(B)、碱溶 pH(D)、酸沉温度(F)和酸沉 pH(H)5个因素进一步优化处理。考虑到生产成本,在后续实验中将剩余工艺参数固定为 40%的氢氧化钠溶液、碱溶保温时间 40 min、浓盐酸、酸沉保温时间 40 min、5~30 °C 状态下静置 12 h。

表4 Plackett-Burman 试验设计及结果

Table 4 Experimental design and results of Plackett-Burman design

| 试验号 | 因素 | | | | | | | | | | | $Y_1/\%$ | $Y_2/\%$ |
|-----|----|----|----|---|----|----|----|---|----|----|----|----------|----------|
| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | | |
| 1 | 14 | 80 | 10 | 8 | 80 | 80 | 10 | 1 | 40 | 30 | 12 | 76.66 | 76.13 |
| 2 | 6 | 80 | 40 | 6 | 80 | 80 | 37 | 1 | 40 | 5 | 20 | 49.88 | 78.71 |
| 3 | 14 | 40 | 40 | 8 | 40 | 80 | 37 | 3 | 40 | 5 | 12 | 49.68 | 83.27 |
| 4 | 6 | 80 | 10 | 8 | 80 | 40 | 37 | 3 | 80 | 5 | 12 | 5.42 | 42.98 |
| 5 | 6 | 40 | 40 | 6 | 80 | 80 | 10 | 3 | 80 | 30 | 12 | 40.14 | 86.00 |
| 6 | 6 | 40 | 10 | 8 | 40 | 80 | 37 | 1 | 80 | 30 | 20 | 74.63 | 76.65 |
| 7 | 14 | 40 | 10 | 6 | 80 | 40 | 37 | 3 | 40 | 30 | 20 | 19.02 | 83.09 |
| 8 | 14 | 80 | 10 | 6 | 40 | 80 | 10 | 3 | 80 | 5 | 20 | 39.81 | 85.63 |
| 9 | 14 | 80 | 40 | 6 | 40 | 40 | 37 | 1 | 80 | 30 | 12 | 82.31 | 77.63 |
| 10 | 6 | 80 | 40 | 8 | 40 | 40 | 10 | 3 | 40 | 30 | 20 | 5.36 | 46.14 |
| 11 | 14 | 40 | 40 | 8 | 80 | 40 | 10 | 1 | 80 | 5 | 20 | 82.61 | 78.52 |
| 12 | 6 | 40 | 10 | 6 | 40 | 40 | 10 | 1 | 40 | 5 | 12 | 73.17 | 82.25 |

3.4 响应面试验结果

3.4.1 Box-Behnken 试验设计结果及方差分析

应用 Design-Expert 10.0.4 对表6的试验数据进行拟合并进行方差分析,由表7可知两个模型 P 值均小于 0.0001,说明以黄芩苷得率和黄芩苷纯度为评价指标的回归模型具有显著统计学意义。失拟项 P 值分别为 0.2150 和 0.3267,两方程的 R^2 分别

为 0.9602 和 0.9584,说明各模型拟合度较好且有良好的预测性。对于黄芩苷得率,A(药液质量浓度)、H(酸沉 pH)对模型具有极显著影响,B(碱溶温度)具有显著影响,各因素的影响程度从大到小为 H(酸沉 pH)、A(药液质量浓度)、B(碱溶温度)、D(碱溶 pH)、F(酸沉温度);对于黄芩苷纯度,H(酸沉 pH)对模型影响极显著,D(碱溶 pH)具有显著影响,各因素

表5 Plackett-Burman 试验设计分析

Table 5 Plackett-Burman test design analysis

| 来源 | P 值 | |
|-------------|-----------|------------|
| | Y_1 | Y_2 |
| 模型 | 0.004 3** | 0.000 1** |
| A(药液质量浓度) | 0.005 1** | <0.000 1** |
| B(碱溶温度) | 0.008 2** | <0.000 1** |
| C(氢氧化钠质量浓度) | 0.099 4 | — |
| D(碱溶 pH) | — | <0.000 1** |
| E(碱溶保温时间) | 0.019 5 | 0.084 6 |
| F(酸沉温度) | 0.013 1 | <0.000 1** |
| G(盐酸质量浓度) | 0.036 8 | 0.014 5 |
| H(酸沉 pH) | 0.000 7** | 0.000 4** |
| I(酸沉保温时间) | 0.019 6 | — |
| J(静置温度) | — | 0.098 7 |
| K(静置时间) | 0.016 4 | — |

注：“**”表示差异极显著($P<0.01$)，“—”处代表该因素对模型的影响不显著(即 $P\geq 0.10$)。

表6 部分 Box-Behnken 设计及结果

Table 6 Partial Box-Behnken design and results

| 试验号 | 因素 | | | | | $Y_1/\%$ | $Y_2/\%$ |
|-----|----|----|---|----|---|----------|----------|
| | A | B | D | F | H | | |
| 1 | 6 | 60 | 8 | 60 | 2 | 58.44 | 82.34 |
| 2 | 10 | 60 | 7 | 60 | 2 | 51.68 | 84.40 |
| 3 | 10 | 60 | 7 | 60 | 2 | 48.37 | 84.52 |
| 4 | 14 | 60 | 7 | 60 | 1 | 51.75 | 77.30 |
| 5 | 10 | 60 | 8 | 40 | 2 | 65.16 | 76.64 |
| 6 | 10 | 60 | 7 | 40 | 1 | 61.19 | 79.11 |
| 7 | 10 | 60 | 8 | 60 | 3 | 26.33 | 78.19 |
| 8 | 10 | 40 | 7 | 80 | 2 | 60.33 | 86.31 |
| 9 | 10 | 60 | 7 | 40 | 3 | 20.92 | 83.20 |
| 10 | 6 | 60 | 7 | 80 | 2 | 38.80 | 85.70 |
| 11 | 10 | 40 | 7 | 60 | 3 | 30.07 | 84.13 |
| 12 | 14 | 80 | 7 | 60 | 2 | 54.56 | 81.53 |

的影响程度从大到小为 H(酸沉 pH)、D(碱溶 pH)、B(碱溶温度)、F(酸沉温度)、A(药液质量浓度);其余项不显著。可以看出,药液质量浓度、碱溶温度、碱溶 pH 和酸沉 pH 是碱溶酸沉工艺中的关键参数。

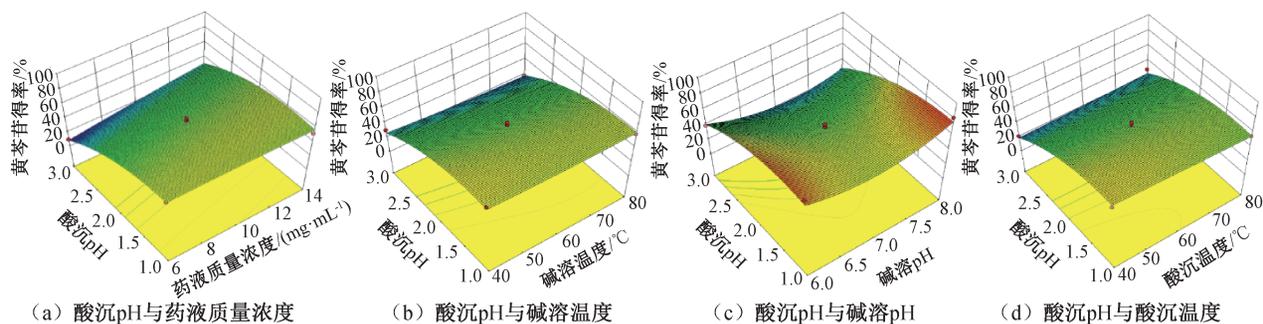


图2 各因素交互作用对黄芩苷得率的响应面图

Figure 2 Response surface of the effect of interaction terms on the yield of baicalin

表7 二项模型的方差分析

Table 7 Analysis of variance of quadratic model

| 来源 | P 值 | |
|-----------|------------|------------|
| | Y_1 | Y_2 |
| 模型 | <0.000 1** | <0.000 1** |
| A(药液质量浓度) | 0.000 1** | 0.395 8 |
| B(碱溶温度) | 0.032 4* | 0.122 3 |
| D(碱溶 pH) | 0.155 1 | 0.048 3* |
| F(酸沉温度) | 0.213 3 | 0.135 9 |
| H(酸沉 pH) | <0.000 1** | <0.000 1** |
| AB | 0.001 1** | <0.000 1** |
| AD | 0.562 3 | 0.000 5** |
| AF | 0.040 7* | 0.436 4 |
| AH | 0.006 2** | 0.656 1 |
| BD | 0.130 2 | <0.000 1** |
| BF | 0.818 9 | <0.000 1** |
| BH | 0.462 4 | 0.005 4** |
| DH | 0.078 6 | 0.000 7** |
| FH | 0.145 1 | 0.000 7** |

注：“**”表示差异极显著($P<0.01$)，“*”表示差异显著($P<0.05$)。

3.4.2 响应面分析

采用 Design-Expert 10.0.4 软件对黄芩苷得率(Y_1)和黄芩苷纯度(Y_2)进行响应面分析,从图 2 和图 3 可以看出,酸沉 pH 对黄芩苷得率和黄芩苷纯度的影响都较其他因素大:随着酸沉 pH 的降低,黄芩苷得率逐渐升高,而黄芩苷纯度逐渐下降。因此在纯化过程中对于酸沉 pH 的调节极为重要,只有酸沉 pH 在合适的范围内,才能保证响应值达到最优。

3.4.3 设计空间及验证

为便于实际生产中的操作,选择对响应值影响较大的关键工艺参数药液质量浓度和酸沉 pH,通过 Design Expert 10.0.4 软件建立了设计空间,结合生产企业实际生产需求,使响应值 $Y_1>85\%$, $Y_2>85\%$ 。但由于模型的预测值与真实值会存在一定偏差,所

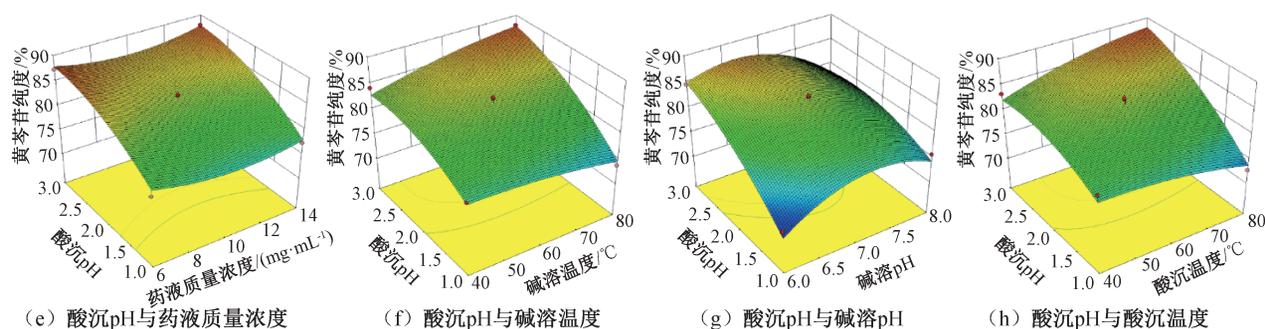


图3 各因素交互作用对黄芩苷纯度的响应面图

Figure 3 Response surface of the effect of interaction terms on the purity of baicalin

以设计空间的边界具有不确定性。为了应对设计空间边界的不确定性,在定义设计空间时可加入置信水平 $\alpha=0.05$ 的置信区间,将设计空间优化,最终确定设计空间:碱溶温度为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、碱溶 pH 为 8.0、酸沉温度为 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、药液质量浓度为 $11.53\sim 14\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、酸沉 pH 为 1.17~2.33,结果用 Overlay Plot 展示,如图 4 所示,在黄色区域内任选一点进行操作,响应值均能达到 85% 以上。

为验证设计空间的准确性,在设计空间内、外任取 3 个点进行验证,每个试验平行做 3 份,具体验证点试验条件和结果见表 8。由验证结果得到的实际值和预测值接近,表明该模型具有良好的预测性。当工艺参数未在设计空间内时,不能达到目标要求;而当工艺参数落在设计空间内时,能够很好地达

到预期目标,说明设计空间稳定可靠,对指导黄芩苷的实际生产具有重大参考意义,同时也符合质量源于设计(QbD)理念。

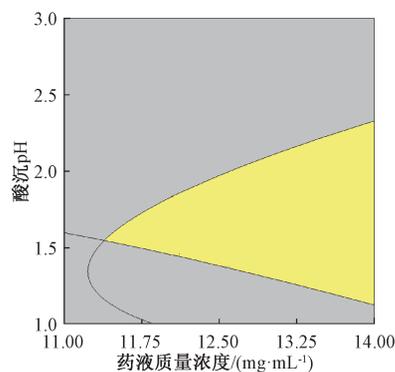


图4 设计空间图

Figure 4 Design space map

表8 设计空间验证试验结果

Table 8 Design space validation test results

| 序号 | 是否在空间内 | A(药液质量浓度) | B(碱溶温度) | D(碱溶pH) | F(酸沉温度) | H(酸沉pH) | Y ₁ /% | | Y ₂ /% | |
|----|--------|-----------|---------|---------|---------|---------|-------------------|-------|-------------------|-------|
| | | | | | | | 预测值 | 实际值 | 预测值 | 实际值 |
| 1 | 是 | 13.56 | 40 | 8 | 80 | 1.97 | 89.28 | 89.97 | 88.41 | 87.56 |
| 2 | 是 | 12.40 | 40 | 8 | 80 | 1.76 | 87.06 | 86.15 | 86.45 | 87.02 |
| 3 | 是 | 13.82 | 40 | 8 | 80 | 2.22 | 86.35 | 87.34 | 89.25 | 88.97 |
| 4 | 否 | 10.29 | 40 | 8 | 80 | 1.55 | 81.51 | 80.59 | 78.36 | 78.83 |
| 5 | 否 | 11.11 | 40 | 8 | 80 | 2.04 | 78.46 | 78.13 | 86.43 | 85.98 |
| 6 | 否 | 8.92 | 40 | 8 | 80 | 1.33 | 78.18 | 79.06 | 82.93 | 83.42 |

4 结论

以黄芩苷得率和纯度为考察指标,进行黄芩苷的纯化工艺研究,通过对酸沉法、碱溶酸沉法、重结晶法和药典纯化方法进行对比实验,结果发现采用碱溶酸沉法进行黄芩苷纯化时,其得率和纯度均比较高,因此采用 PB 试验和响应面试验对碱溶酸沉法中涉及的工艺参数进行系统研究。结果得到工业化生产推荐的操作空间:药液质量浓度为 $11.53\sim 14.00\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、碱溶温度为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、碱溶 pH 为 8.0、酸沉温度为 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、酸沉 pH 为 1.17~2.33。在设计

空间内操作,能够满足关键工艺指标黄芩苷得率和纯度均在 85% 以上。实验结果说明采用一次碱溶酸沉法对黄芩苷进行纯化,不仅能得到较高的黄芩苷得率和黄芩苷纯度,且能够缩短生产周期、降低生产成本,适合于工业化生产,具有较好的实用价值。

参考文献:

- [1] 李萌,刘方舟,杜昱,等. 新型冠状病毒肺炎验案用药规律探析[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(6): 1909-1914.
- LI M, LIU F Z, DU Y, et al. Analysis and study of drug

- use patterns in COVID-19 treatment cases[J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2021, 23(6): 1909-1914.
- [2] 侯艺, 付亚辉, 于若愚, 等. 基于数据挖掘新型冠状病毒肺炎治疗期中药用规律[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(5): 1667-1675.
- HOU Y, FU Y H, YU R Y, et al. Rule of Chinese materia medica in the treatment period of COVID-19 based on data mining [J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2021, 23(5): 1667-1675.
- [3] 郑勇凤, 王佳婧, 傅超美, 等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中成药*, 2016, 38(1): 141-147.
- ZHENG Y F, WANG J J, FU C M, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of baicalin [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2016, 38(1): 141-147.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of People's Republic of China: Volume I* [M]. 2020 ed. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [5] 王超越, 龚行楚, 付泽飞, 等. 确定性筛选设计结合设计空间法优化黄芩提取物的纯化工艺[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(8): 2061-2066.
- WANG C Y, GONG X C, FU Z F, et al. Definitive screening design combined with design space for optimizing purification process of *Scutellariae Radix* extract[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2021, 46(8): 2061-2066.
- [6] 黄樱华, 李丹涛. Plackett-Burman 试验法结合星点设计-响应面法优化侧柏叶的纯化工艺[J]. *中药材*, 2020, 43(3): 682-686.
- HUANG Y H, LI D T. Optimization of purification process of *Platycladus orientalis* leaves by Plackett-Burman design combined with central composite design-response surface method [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2020, 43(3): 682-686.
- [7] 滕毅, 杨海玲. Plackett-Burman 设计联用星点设计-响应面法优选大青叶中靛玉红的提取工艺[J]. *中草药*, 2019, 50(8): 1942-1946.
- TENG Y, YANG H L. Optimal extraction of indirubin from *Isatidis Folium* based on Plackett-Burman design combined with central composite design-response surface methodology[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(8): 1942-1946.
- [8] 王伶俐, 应泽茜, 孙贝贝, 等. 基于 Box-Behnken 设计-响应面法优化蜜麦麸的制备工艺[J]. *中草药*, 2021, 52(12): 3538-3543.
- WANG L H, YING Z X, SUN B B, et al. Optimization of processing technology of honey wheat bran based on Box-Behnken response surface methodology[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(12): 3538-3543.
- [9] DING X R, ZHU J, ZHANG Y, et al. Separation and concentration of natural products by fast forced adsorption using well-dispersed velvet-like graphitic carbon nitride with response surface methodology optimisation[J]. *Talanta*, 2016, 154: 119-126.
- [10] 任慧, 崔小敏, 胡静, 等. Box-Behnken 响应面法优化金铃子散的醇提工艺[J]. *中药材*, 2019, 42(11): 2631-2634.
- REN H, CUI X M, HU J, et al. Optimization of alcohol extraction process of Jinlingzi powder by Box-Behnken response surface methodology[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2019, 42(11): 2631-2634.
- [11] 刘玉娟, 王永洁, 邓莉莉, 等. 基于质量源于设计理念的中药制剂工艺研究进展[J]. *中国现代中药*, 2022, 24(3): 523-528.
- LIU Y J, WANG Y J, DENG L L, et al. Research on Chinese medicine preparation process based on quality by design concept: a review[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2022, 24(3): 523-528.
- [12] TROIANO G, NOLAN J, PARSONS D, et al. A quality by design approach to developing and manufacturing polymeric nanoparticle drug products[J]. *The AAPS Journal*, 2016, 18(6): 1354-1365.
- [13] 李静. 黄芩苷的提取与纯化方法的研究[D]. 济南: 山东大学, 2011.
- LI J. Research on the extraction and purification of baicalin[D]. Jinan: Shandong University, 2011.
- [14] 田帅华, 李钦. 灯盏细辛中野黄芩苷提取纯化工艺研究[J]. *中成药*, 2010, 32(1): 124-127.
- TIAN S H, LI Q. Study on extraction and purification of scutellarin from *Erigeron breviscapus* [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2010, 32(1): 124-127.
- [15] 周健. 黄芩有效成分提取及纯化工艺的研究[D]. 西安: 西安理工大学, 2009.
- ZHOU J. Study on extraction and purification process of baicalin active ingredient in *Scutellaria Baicalensis* Georai [D]. Xi'an: Xi'an University of Technology, 2009.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of People's Republic of China: Volume IV* [M]. 2020 ed. Beijing: China Medical Science Press, 2020.

types of aircraft, different interlayer bonding states and different horizontal forces was analyzed. It was found that with the action of B737-800, B767-300ER and B777-300ER, the maximum shear stress of asphalt overlay appeared in the upper layer, and with the increase of the number of rounds, the mechanical index of pavement gradually increased, in which the transverse tensile strain at the bottom of asphalt layer and the tensile stress at the bottom of cement concrete slab changed significantly; With the increase of interlayer bonding coefficient, the pavement mechanical index showed a decreasing trend, and its influence degree gradually decreased along the pavement depth direction; When there was emergency horizontal braking force, the maximum shear stress between asphalt layers increased by 11.84%, the maximum transverse tensile strain at the bottom of asphalt layer increased by 6.05%, and the longitudinal tensile strain increased by 9.68%.

Keywords: composite pavement; multi-layer overlay; finite element model; moving load; mechanical response

(上接第 112 页)

Optimization of Purification Process of *Scutellaria Baicalensis* Extract by PB Test with Response Surface Methodology

SUN Xin¹, WANG Xianli¹, MA Xiaoji¹, DENG Fangfang², PAN Chengxue^{1,2}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2. Henan Zhengda Jienuo Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Taking the yield and purity of baicalin as evaluation indicators, the acid precipitation method, alkali-soluble acid precipitation method, recrystallization method and pharmacopeia purification method were used to purify baicalin, and the best purification method was determined as alkali-soluble acid precipitation method. Plackett-Burman test was used to obtain the key process parameters in the alkali-soluble acid precipitation method, and the regression model between the key process parameters and the key evaluation indicators was established by the Box-Behnken response surface test, and the design space was obtained and verified. The key parameters obtained by screening were the liquid concentration, alkali solution temperature, alkali solution pH, acid precipitation temperature, and acid precipitation pH. When the yield and purity of baicalin were both greater than 85%, the operating space were: the alkali solution temperature was 40 °C, the pH of alkali solution was 8.0, the temperature of acid precipitation was 80 °C, the concentration of liquid medicine was 11.53–14 mg·mL⁻¹, and the pH of acid precipitation was 1.17–2.33. The verification results show that the design space was stable and reliable, and it could provide a reference for industrial production of *Scutellaria baicalensis* extract.

Keywords: baicalin; purification; Plackett-Burman test; Box-Behnken response surface test; quality by design