

# 多指标综合评分法优选制何首乌的 $\beta$ -环糊精辅助提取工艺

崔明磊,任晓亮\*,刘亚男,邱喜龙,戚爱棣  
(天津中医药大学,天津 300193)

**[摘要]** 目的:优选制何首乌的 $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)辅助提取工艺。方法:采用层次分析法,以二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚转移率的综合评分为指标,通过正交试验考察 $\beta$ -CD用量、料液比、提取次数及时间对制何首乌有效成分提取工艺的影响。采用HPLC测定二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚含量,流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)梯度洗脱(0~5 min,15%~25% A;5~12 min,25%~30% A;12~15 min,30%~60% A;15~20 min,60% A;20~25 min,60%~75% A;25~31 min,75%~77% A),检测波长320(二苯乙烯苷),254 nm(大黄素、大黄素甲醚)。结果:最佳工艺条件为 $\beta$ -CD加入量10%,加10倍量水提取3次,每次1 h;二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚转移率分别为90.19%,8.39%,0.76%。结论:与传统水提法相比, $\beta$ -CD辅助提取法能显著提高活性成分转移率。

**[关键词]**  $\beta$ -环糊精;制何首乌;层次分析法;二苯乙烯苷;大黄素;大黄素甲醚

**[中图分类号]** R282.4;R282.71;R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0018-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130018

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1505.007.html>

**[网络出版时间]** 2014-05-13 15:05

**[收稿日期]** 20131012(009)

**[基金项目]** 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20111210110010,20111210120006)

**[第一作者]** 崔明磊,硕士,从事药物分析研究,Tel:15222522371,E-mail:linercuiminglei@163.com

**[通讯作者]** \*任晓亮,博士,讲师,从事药物分析研究,Tel:022-59596221,E-mail:xiaoliang\_ren@sina.com

$A_2B_2C_2D_3$ ,即加15倍量80%乙醇于30 kHz,60℃提取。

**2.3 验证试验** 通过试验分析,发现提取温度影响不大且较难控制,故实际生产中不需要加热,确定女贞子超声逆流提取工艺为超声频率30 kHz,乙醇体积分数80%,料液比1:15。称取女贞子药材3份,每份200 kg,按该条件进行3次验证试验,结果齐墩果酸和熊果酸平均总质量分数5.66%,RSD 1.64%,表明优选的提取工艺稳定可行。

### 3 讨论

2010年版《中国药典》中大多数药材的有效成分含量测定均采用超声法处理样品,但该方法主要停留在实验室少量样品处理上,且超声处理条件单一。连续超声逆流法可大大提高有效成分提取效率,而且提取过程操作简单,溶媒用量较传统提取少,尤其适合提取热敏感成分,但提取设备对药材的粒度要求较严格,女贞子药材大小较为合适,不需要

进行粉碎处理,进料采用真空上料机,能稳定进料速度以控制工艺参数。本文采用中试条件进行数据摸索,并通过放大试验证实了女贞子连续超声逆流提取的有效性和可靠性。

### [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,2010:43.
- [2] 黄晓君,沈文斌. 女贞子的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(7):861.
- [3] 郭宇洁,任焯,葛争艳,等. 正交试验法比较女贞子中齐墩果酸与特女贞苷的乙醇提取工艺[J]. 中成药,2013,35(2):277.
- [4] 文廷刚,杜小凤,郭宇,等. 女贞子总黄酮的测定及其提取工艺[J]. 江苏农业科学,2008(2):187.
- [5] 郭留城,杜利月. 女贞子超声波提取工艺研究[J]. 中医临床杂志,2009,21(3):262.

[责任编辑 刘德文]

# Optimization of $\beta$ -Cyclodextrin Assisted Extraction Technology for *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* by Multi-index Comprehensive Evaluation Method

CUI Ming-lei, REN Xiao-liang\*, LIU Ya-nan, QIU Xi-long, QI Ai-di  
(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) assisted extraction process of *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*. **Method:** Analytic hierarchy process was adopted, taking comprehensive score of transfer rates of emodin, physcion and stilbene glycoside as index, orthogonal test was applied to optimize extraction technology with solid-liquid ratio,  $\beta$ -CD dosage, extracting time and times as factors. HPLC was employed to determine contents of emodin, physcion and stilbene glycoside with mobile phase of acetonitrile (A) -0.1% phosphoric acid solution (B) for gradient elution (0-5 min, 15% -25% A; 5-12 min, 25% -30% A; 12-15 min, 30% -60% A; 15-20 min, 60% A; 20-25 min, 60% -75% A; 25-31 min, 75% -77% A) and detection wavelength at 320 (stilbene glycoside) and 254 (emodin and physcion) nm. **Result:** Optimal extraction process was as following: extracted 3 times with 10-fold water for 1 h each time,  $\beta$ -CD dosage of 10%; Transfer rates of emodin, physcion and stilbene glycoside were 8.39%, 0.76% and 90.19%, respectively. **Conclusion:** Compared with traditional water extraction,  $\beta$ -CD assisted extraction process could significantly improve transfer rate of active ingredients.

**[Key words]**  $\beta$ -cyclodextrin; *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*; analytic hierarchy process; stilbene glycoside; emodin; physcion

制何首乌功效补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨<sup>[1]</sup>,具有延缓衰老、调节血脂、抗动脉粥样硬化、抗心肌缺血、提高记忆、改善骨质疏松和增强免疫等药理作用<sup>[2]</sup>。其主要活性成分为二苯乙烯苷类和蒽醌类<sup>[2-3]</sup>,前者光照稳定性较差<sup>[4]</sup>,后者在水中溶解度较小,故采用传统工艺未能充分提取制何首乌中活性成分。 $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)包含7个吡喃葡萄糖单元<sup>[5]</sup>,具有内疏水、外亲水的特殊分子结构,能与制何首乌中二苯乙烯苷及蒽醌类成分形成包合物,包合后能增加活性成分的稳定性和溶解度<sup>[6-8]</sup>。故本实验以二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚为指标成分,采用层次分析法<sup>[9]</sup>综合评价制何首乌的 $\beta$ -CD辅助提取工艺,为中药活性成分的提取充分和 $\beta$ -CD的推广应用提供参考。

## 1 材料

2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), BT125D 型电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司)。制何首乌购自安国长安中药材有限公司,经天津中医药大学中药学院马琳教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根;二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110844-200606,

110756-200110,110758-201013), $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD,孟州市华兴生物化工有限责任公司),乙腈、磷酸为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

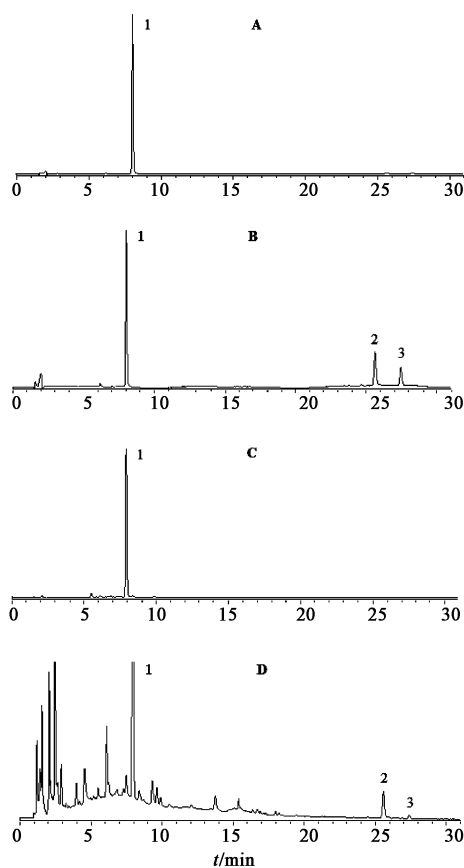
### 2.1 指标成分的含量测定

**2.1.1 色谱条件** Waters SymmetryShield<sup>TM</sup> RP18 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水(B)梯度洗脱(0 ~ 5 min, 15% ~ 25% A; 5 ~ 12 min, 25% ~ 30% A; 12 ~ 15 min, 30% ~ 60% A; 15 ~ 20 min, 60% A; 20 ~ 25 min, 60% ~ 75% A; 25 ~ 31 min, 75% ~ 77% A),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 320(二苯乙烯苷),254 nm(大黄素、大黄素甲醚),柱温为室温,进样量 10  $\mu$ L,见图 1。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚对照品适量,分别置于 5 mL 棕色量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得 1.085,0.494,0.530 g·L<sup>-1</sup>对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密量取提取液适量,加甲醇稀释 1 倍,超声 30 min,于 1 万 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取上清液经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过,即得。

**2.1.4 标准曲线绘制** 精密量取二苯乙烯苷、大黄素及大黄素甲醚对照品溶液适量,混合均匀,逐级稀



A. 对照品 (320 nm); B. 对照品 (254 nm);  
C. 供试品 (320 nm); D. 供试品 (254 nm);  
1. 二苯乙烯苷; 2. 大黄素; 3. 大黄素甲醚

图 1 制首乌提取液 HPLC

释,分别配成系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程分别为  $Y = 38\ 286X + 16\ 323 (r = 0.999\ 9)$ ,  $Y = 39\ 075X + 32\ 584 (r = 0.999\ 6)$ ,  $Y = 51\ 858X + 5\ 397.5 (r = 0.999\ 8)$ , 线性范围依次为 16.9 ~ 542, 0.480 ~ 15.4, 0.102 ~ 6.63  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.1.5 精密度试验** 取二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚混合对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算峰面积的 RSD 分别为 0.78%, 1.14%, 0.91%, 表明仪器精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 称取制首乌药材 10 g, 平行提取 6 份,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚含量的 RSD 分别为 1.41%, 1.33%, 1.85%, 表明该方法重复性良好。

**2.1.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12, 18, 24 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.11%, 1.30%, 1.45%, 表明供试品

溶液在 24 h 内较稳定。

**2.1.8 加样回收率试验** 取已知含量的样品 6 份,分别加入二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚对照品储备液适量,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚平均回收率分别为 98.81%, 100.6%, 100.1%, RSD 分别为 0.57%, 1.28%, 1.78%, 表明该方法回收率符合要求。

**2.1.9 样品测定** 参照 2010 年版《中国药典》中测定制首乌二苯乙烯苷和游离蒽醌的处理方法,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果制首乌中二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚质量分数依次为 19.8, 1.89, 1.85  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

**2.2 正交试验** 在单因素试验基础上,选择  $\beta$ -CD 用量、加水量、提取次数及时间为考察因素,称取制首乌药材 10 g, 共 9 份,按  $L_9(3^4)$  正交表进行试验,因素水平见表 1。以二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚转移率为评价指标,采用层次分析法 (AHP) 确定各成分的权重系数进行综合评分,权重系数通过构成两两比较优先矩阵,计算归一化权重系数及验证权重系数随机一致比率 ( $CR < 0.1$ ),确定二苯乙烯、大黄素、大黄素甲醚权重系数分别为 0.5, 0.25, 0.25, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 1 制首乌  $\beta$ -环糊精辅助提取工艺正交试验因素水平

水平	$\beta$ -CD 加入量/%	B 提取时间 /h	C 提取次数 /次	D 料液比
1	5	0.5	1	1:10
2	10	1.0	2	1:20
3	15	1.5	3	1:30

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为  $B > C > A > D$ , 最佳工艺为  $A_2B_2C_3D_3$ 。以极差最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果表明 B 因素具有显著性影响,其他因素则无显著性影响。结合生产成本考虑,确定最佳工艺组合  $A_2B_2C_3D_1$ , 即  $\beta$ -CD 加入量 10%, 加 10 倍量水提取 3 次, 每次 1 h。按最佳提取工艺进行 3 次验证试验,同时选择水为提取溶剂,其他提取工艺保持不变,平行试验 3 次,对比传统水提取法与  $\beta$ -CD 辅助提取法的差异,结果见表 4。

由表 4 可知,优选的  $\beta$ -CD 辅助提取工艺稳定可靠,与传统水提工艺相比,前者能显著提高制首乌中二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚转移率 ( $P < 0.01$ )。

表2 制首乌 $\beta$ -环糊精辅助提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	转移率/%			综合评分
					二苯乙烯苷	大黄素	大黄素甲醚	
1	1	1	1	1	37.80	3.26	0.28	36.36
2	1	2	2	2	86.44	6.77	0.56	79.02
3	1	3	3	3	96.76	4.08	0.99	87.22
4	2	1	2	3	76.74	3.35	0.51	62.54
5	2	2	3	1	89.79	8.34	0.75	90.23
6	2	3	1	2	64.34	5.31	0.53	62.46
7	3	1	3	2	75.34	3.14	0.33	56.63
8	3	2	1	3	71.61	4.88	0.41	62.00
9	3	3	2	1	72.72	6.12	0.51	68.84
$K_1$	67.53	51.84	53.61	65.14				
$K_2$	71.74	77.08	70.13	66.04				
$K_3$	62.49	72.84	78.03	70.59				
R	9.25	25.24	24.42	5.44				

表3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	128.78	2	2.52	>0.05
B	1 095.92	2	21.43	<0.05
C	931.77	2	18.22	>0.05
D(误差)	51.13	2	1.00	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

表4 制首乌 $\beta$ -环糊精辅助提取工艺验证试验和对比试验

方法	No.	转移率/%			综合评分
		二苯乙烯苷	大黄素	大黄素甲醚	
$\beta$ -CD 辅助提取法	1	90.15	8.39	0.77	91.15
	2	90.31	8.38	0.74	90.45
	3	90.12	8.41	0.76	90.94
水提法	1	80.04	5.88	0.39	68.82
	2	80.49	5.46	0.38	67.54
	3	81.04	5.85	0.36	68.49

### 3 讨论

与传统水提法相比,采用 $\beta$ -CD 辅助提取法时制首乌中二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚的转移率分别提高了12%、48%、100%,提高程度略有不同,其中二苯乙烯苷提高较小,推测与二苯乙烯苷本身易溶于水且转移率已经较高有关。大黄素与大黄素甲醚为游离蒽醌类化合物,在水中溶解度低,致使水提时转移率较低,故 $\beta$ -CD 对二者增溶作用明显。大黄素甲醚与大黄素的分子结构相似,前者疏水性

更强,更易与 $\beta$ -CD 疏水空腔结合形成包合物,故 $\beta$ -CD对制首乌中大黄素甲醚的辅助提取效果最好。

### [参考文献]

[1] 刘世琪,王磊,越亮.高压炮制对何首乌中有效成分含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(21):37.

[2] 高淑红,苏珍枝,肖学风.制首乌化学成分及药理作用研究进展[J].山西中医学院学报,2012,13(2):74.

[3] 陈万生,樊伟,杨根金,等.制首乌化学成分的研究[J].第二军医大学学报,1999,20(7):438.

[4] 班翊,刘其礼,金悠,等.二苯乙烯苷的稳定性研究[J].中草药,2004,35(4):1235.

[5] 何仲贵.环糊精包合物技术[M].北京:人民卫生出版社,2008:1.

[6] 周春晖,李俊. $\beta$ -环糊精辅助提取金银花中总黄酮的工艺研究[J].中成药,2010,32(10):1796.

[7] 王小萍,马麦霞,双少敏,等.薄层色谱法测定大黄类药物与环糊精的包结常数[J].分析化学研究简报,2002,30(1):38.

[8] 李向军,连军,双少敏,等.大黄素甲醚-环糊精超分子体系包结行为研究[J].化学研究与应用,1999,11(3):298.

[9] 任爱农,卢爱玲,田耀洲,等.层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J].中国中药杂志,2008,33(4):372.

[责任编辑 刘德文]