

· 工艺与制剂 ·

当归、川芎配伍闪式提取工艺优选

王玥, 杜守颖*, 戴俊东, 陆洋, 魏长玲, 陆显进, 黎迎, 李慧云, 赵静宜
(北京中医药大学, 北京 100102)

[摘要] 目的: 优选当归、川芎配伍提取工艺, 比较川芎、当归单提和共提液中阿魏酸的含量变化。方法: 以阿魏酸为指标, HPLC测定阿魏酸含量, 选取提取时间、提取电压、乙醇用量及乙醇体积分数为考察因素, 采用正交试验设计优选当归-川芎配伍闪式提取工艺, 并用该优选工艺分别提取当归和川芎, 比较单提、共提液中阿魏酸含量变化, 探讨当归-川芎配伍的增效机制。结果: 最佳提取工艺为20倍量65%乙醇于100V电压下闪式提取1.5min; 当归-川芎共提液中阿魏酸的含量与单提液之和相近。结论: 该优选工艺简单、经济, 证实了当归、川芎配伍药理作用增强的原因并非阿魏酸含量的提高引起。

[关键词] 闪式提取; 当归; 川芎; 阿魏酸; 正交试验

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)17-0005-04

Optimization of Flash Type Extraction Technology for *Ligusticum chunxiong* and *Angelica sinensis*

WANG Yue, DU Shou-ying*, DAI Jun-dong, LU Yang, WEI Chang-ling,
LU Xian-jin, LI Ying, LI Hui-yun, ZHAO Jing-yi
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize compatibility extraction technology of *Ligusticum chunxiong* and *Angelica sinensis*, and compare the content of ferulic acid in Chinese herbal compound contain *L. chunxiong* and *A. sinensis* pair compatibility and single one. **Method:** With the content of ferulic acid as index which was determined by HPLC, compatibility extraction technology of *L. chunxiong* and *A. sinensis* was optimized by orthogonal test design with extraction time, extraction voltage, ethanol consumption and ethanol volume fraction as factors, and optimized process was used to extract *L. chunxiong* and *A. sinensis* single, the content variation of ferulic acid were compared in compatibility and single extraction, in order to investigate synergism mechanism of compatibility of *L. chunxiong* and *A. sinensis*. **Result:** Optimum extraction technology was: extracted 1.5 min with 20 times the amount of 65% ethanol, extraction voltage 100 V; The content of ferulic acid in compatibility extraction liquid was similar with the total content in single extraction liquid. **Conclusion:** This optimized technology was simple and economic, it confirmed that reason for enhancing pharmacological effect of compatibility with *L. chunxiong* and *A. sinensis* wasn't because of increasing the content of ferulic acid.

[Key words] flash type extraction; *Angelica sinensis*; *Ligusticum chunxiong*; ferulic acid; orthogonal test

川芎具有活血行气、祛风止痛的作用, 当归具有 补血活血、调经止痛的功能^[1], 二者同属一科, 且主

[收稿日期] 20120228(031)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81073057); 教育部博士点基金项目(20090013110007); 北京中医药大学复方中药制药研究创新团队(2011-CXTD-13); 国家重点实验室开放基金项目(SKL2010Z0304); 国家重点实验室开放基金项目(SKL2010M0302)

[第一作者] 王玥, 实验师, 硕士, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel: 010-84738615, E-mail: angela312312@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 杜守颖, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究, E-mail: dushouying@263.net

要成分均为阿魏酸,配伍使用,可增强养血调经、行气活血的功效^[2-3]。有文献报道当归、川芎单提液中阿魏酸含量之和小于共提液^[4-5],也有文献报道相反的结论^[6],本研究通过对当归-川芎配伍提取工艺进行优选,以期验证上述结论。

目前,有关当归、川芎提取方法的报道较多^[7-23],如水蒸气蒸馏法、乙醇回流法、超临界 CO₂ 提取、渗漉法、超声法等。以上方法不同程度存在提取时间长、操作繁琐、溶剂损耗大等问题。近几年发展的闪式提取技术提取速度快,且节能经济,依靠高速机械剪切力和超动分子渗滤技术,在室温及溶剂存在下数秒钟内可把物料破碎至细微颗粒,并使有效成分迅速达到组织内外平衡,通过过滤达到提取之目的^[24]。

本实验以当归-川芎共提液中阿魏酸含量为指标成分,应用正交试验对闪式提取条件进行优化,用最优工艺分别提取当归和川芎,从阿魏酸含量变化的角度探讨其配伍增效的机制,为当归-川芎共提阿魏酸的建立和发展提供新思路和数据支持,为中药复方剂分析、传统中药组方原理和临床治疗药物监测提供参考。

1 材料

JHBE-50S 型中草药闪式提取器(河南金鼎科技发展有限公司),Agilent1100 高效液相色谱仪(Agilent1100 化学工作站,美国惠普),UV-2000 型紫外-可见分光光度计(日本日立),DZ-2BC 型真空干燥箱(天津泰斯特),AEG-220 型电子分析天平(日本岛津)。

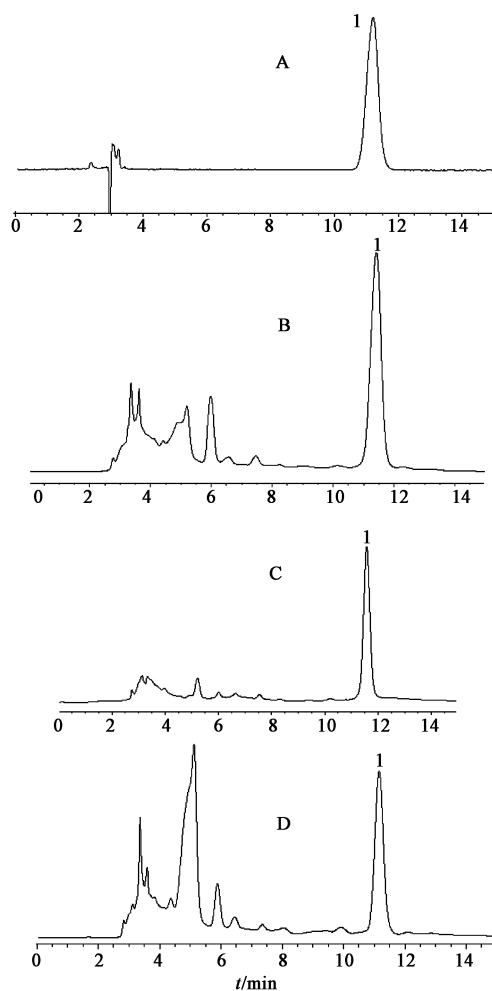
乙腈、甲醇、冰醋酸为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

当归、川芎药材[均购于河北安国以岭中药饮片有限公司,批号分别为 100701,090811,经北京中医药大学杜守颖教授鉴定分别为伞形科植物川芎 *Ligusticum chunxiong* Hort. 的干燥根茎,伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根],阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110773-200611)。

2 方法与结果

2.1 阿魏酸的含量测定 Grace Smart RP₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-1% 冰醋酸(30:70),检测波长 321 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温室温,见图 1。

2.2 标准曲线的制备 精密称取干燥至恒重的阿魏酸对照品 2.85 mg,置 25 mL 棕色量瓶中,加 70%



A. 对照品; B. 川芎单提液; C. 当归单提液;
D. 川芎当归共提液; 1. 阿魏酸

图 1 当归、川芎提取液 HPLC

甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,吸取 1 mL 加 70% 乙醇稀释 10 倍。精密移取 2, 4, 5, 8, 10 mL 阿魏酸对照品溶液分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,分别取续滤液 10 μL 注入高效液相色谱仪测定,记录峰面积。以峰面积为纵坐标,阿魏酸质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 94.996X - 7.772$ ($r = 0.9996$),线性范围 2.28 ~ 11.4 mg·L⁻¹。

2.3 精密度、稳定性、加样回收率试验 取阿魏酸对照品溶液,重复进样 6 次,记录峰面积,计算 RSD 0.22%,表明仪器精密度良好。

取阿魏酸对照品溶液,分别于配制后 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 进样,测定峰面积,结果 RSD 1.72%,说明阿魏酸对照品溶液常温下 8 h 内稳定。

取已知阿魏酸质量分数的样品 6 份,加入相应对照品溶液适量,制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,结果阿魏酸平均回收率 103.7%, RSD

2.19%,说明该方法可行。

2.4 正交试验设计 根据文献报道,采用甲醇或乙醇提取阿魏酸的效果较好^[20],但甲醇毒性较大,故本研究选用乙醇作溶剂。选取乙醇体积分数,乙醇用量,提取时间、提取电压为考察因素,每个因素设计3个水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,因素水平见表1。

表1 当归、川芎配伍闪式提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 乙醇用量/倍	C 提取时间/min	D 提取电压/V
1	65	15	1	100
2	75	20	1.5	120
3	85	25	2	140

研究表明在当归-川芎配伍的诸多方剂中,两者以1:1配伍比例出现频率最多^[25],故本试验称取川芎、当归药材粗粉各30g,混匀,进行闪式提取,滤液定容至1000mL量瓶中。每号试验平行操作2份,共计18份。试验安排及结果见表2,将数据代入SPSS软件中进行方差分析,结果见表3。

表2 当归、川芎配伍闪式提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	阿魏酸/%
1	1	1	1	1	12.12
2	1	2	2	2	17.28
3	1	3	3	3	12.42
4	2	1	2	3	12.90
5	2	2	3	1	14.26
6	2	3	1	2	9.71
7	3	1	3	2	10.22
8	3	2	1	3	10.09
9	3	3	2	1	10.98
K_1	41.81	35.24	31.91	37.35	
K_2	36.87	41.62	41.16	37.20	
K_3	31.28	33.10	36.89	35.41	
R	10.53	8.52	9.25	1.79	

表3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	37.567	2	18.784	24.21	<0.05
B	26.130	2	13.065	16.84	
C	28.532	2	14.266	18.38	
D(误差)	1.552	2	0.776		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

以极差最小的D因素为误差项进行方差分析,A因素具有显著性影响,确定最佳提取工艺为 $A_1B_2C_2D_1$,即20倍量65%乙醇于100V电压下闪式提取1.5min。

2.5 验证试验 取当归、川芎各30g,混匀,按最优工艺进行闪式提取,平行操作3份,结果阿魏酸含量分别为17.388,17.321,17.401mg,说明该方法稳定可行。

2.6 当归、川芎单提液中阿魏酸的含量 取当归、川芎各30g,分别按上述优选工艺进行闪式提取,提取液分别定容于1000mL量瓶中,进行含量测定。结果当归、川芎分别含阿魏酸4.377,11.833mg,共16.210mg,与2种药材同质量混合所得提取液中阿魏酸的含量相比低6.909%,但无统计学差异(RSD 3.402%)。因此可推断当归-川芎配伍组合功效增加的临床意义不在于阿魏酸含量的提高,证实了文献[7]的结论。

3 讨论

采用回流法、超声法、微波萃取等单独提取当归或川芎中阿魏酸时,多选用体积分数>60%的乙醇^[10-12,14,21-22,26-30]。本研究在设计因素水平表时,对乙醇体积分数进行考察,结果说明在其他闪提参数不变的情况下,采用体积分数分别为25%,35%,45%,55%的乙醇提取当归川芎混合药材时阿魏酸的提取率均<65%乙醇的提取率,提取率分别为9.925,12.358,15.231,15.951mg。说明阿魏酸提取量随乙醇体积分数的变化呈抛物线式分布,65%乙醇提取效果最好。推测可能由于阿魏酸可溶于乙醇和乙酸乙酯,且易溶于乙醚,微溶于石油醚和苯^[31],具有一定脂溶性,但脂溶性不是很大,故试验确定使用65%乙醇。

当归-川芎合并应用的药理药效强于单独使用的研究已有报道^[32-34],本研究中提液的阿魏酸含量略高于单提液之和,但无统计学差异,表明2味中药配伍应用的意义并非在于阿魏酸含量的提高。应用闪式提取器进行当归、川芎中阿魏酸的提取时,需将上述2种药材适当粉碎使饮片小于闪式提取器的外刀头内径,过大的饮片不易被刀头打碎,提取率会降低。为了闪式提取器的安全使用,提取电压不宜>200V,单次提取时间不宜超过2min。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:38,124.
- [2] 李伟霞,唐于平,郭建明.当归-川芎药对及其组成药

- 味对 3 种血虚模型补血作用的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(13): 1808.
- [3] 王欢, 唐于平, 丁安伟, 等. 当归-川芎药对不同配比的中医应用数据分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 44.
- [4] 周建设, 孔毅, 申屠建, 等. 川芎当归单煎共煎液中有效成分含量的变化[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(2): 95.
- [5] 宋金春, 刘红, 刘薇芝, 等. 当归川芎红花不同组合方式对复方剂中阿魏酸含量的影响[J]. 山西医药杂志, 2005, 34(9): 713.
- [6] 李艳红, 刘昌辉, 张银卿, 等. 当归、川芎、红花及其合并提取液中阿魏酸的含量测定[J]. 中药材, 2008, 31(11): 1673.
- [7] 郑春生, 姚宝书, 李梅. 当归挥发油提取工艺的研究[J]. 天津轻工业学院学报, 2001(1): 32.
- [8] 孙代华, 芦金清, 周祖坤. 正交试验优选当归芍药胶囊的提取工艺研究[J]. 中成药, 2004, 6(1): 38.
- [9] 赵迪加, 张水寒, 王宇红. 妇炎宁中当归渗漉法提取工艺的研究及其与双提法样品的镇痛作用比较[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1360.
- [10] 胡杰, 冯丽莉, 崔福德. 当归川芎中阿魏酸提取的研究[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(11): 732.
- [11] 李桂生, 马成俊, 刘志峰, 等. 超临界 CO₂ 萃取法与水蒸气蒸馏法提取当归挥发油的比较[J]. 中草药, 2001, 32(7): 581.
- [12] 金汝城, 李贵文, 马素丽. 当归中阿魏酸提取工艺的优化研究[J]. 中成药, 2008, 30(4): 516.
- [13] 陈象青, 刘圣, 方焱, 等. 多指标正交试验优选当归提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8): 25.
- [14] 潘媛媛, 廖克俭, 戴跃玲. 微波法提取当归中阿魏酸的工艺研究[J]. 辽宁化工, 2008, 37(10): 659.
- [15] 杨广德, 梁明金, 贺浪冲. 川芎中阿魏酸的提取方法研究[J]. 中成药, 2002, 24(6): 418.
- [16] 马双成, 邓少伟. 川芎提取、纯化工艺条件的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(4): 21.
- [17] 张虹, 柳正良, 王洪泉, 等. 超临界萃取法提取川芎中有效成分的研究[J]. 中草药, 2001, 32(12): 1077.
- [18] 吴清, 李云谷, 杜颖, 等. 当归、川芎提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(6): 17.
- [19] 魏玉平, 刘俊, 王永富, 等. 川芎中活性成分的提取工艺建立与综合评判[J]. 中草药, 2005, 36(1): 53.
- [20] 杨广德, 梁明金, 贺浪冲, 等. 川芎中阿魏酸的提取方法研究[J]. 中成药, 2002, 24(6): 418.
- [21] 洪燕龙, 徐德生, 冯怡, 等. 川芎中含阿魏酸效应组分的提取、纯化工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(17): 1740.
- [22] 蔡翠芳, 唐星, 李积军. 川芎中阿魏酸的提取纯化工艺[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(1): 70.
- [23] 张军, 王凤云, 詹丽玲, 等. 川芎的超临界 CO₂ 萃取-大孔树脂吸附工艺的研究[J]. 中草药, 2005, 36(8): 1168.
- [24] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 401.
- [25] 王雁梅, 康红钰, 刘春杰, 等. 高效液相色谱法测定当归-川芎药对配伍复方中阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 61.
- [26] XU Z S, CAI B C, ZHANG X. Research of the stability of ferulic acid in rhizoma chuanxiong [J]. Res Pract Chin Med, 2004, 18(2): 25.
- [27] 崔丽娟, 刘玉明. 正交试验法优选川芎中阿魏酸的提取工艺[J]. 齐鲁药事, 2005, 24(9): 560.
- [28] 杨林, 罗晓星, 王四旺. 正交设计提取当归川芎中阿魏酸的研究[J]. 云南中医学院学报, 2007, 30(2): 14.
- [29] 白海波, 王剑飞, 宋子荣. 川芎提取工艺的优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(4): 8.
- [30] 王文祥, 顾明, 徐向毅, 等. 正交试验法优选川芎总酚提取工艺[J]. 中成药, 2000, 22(5): 325.
- [31] 许惠. 中药川芎应用与提取工艺的发展[J]. 研究重庆工商大学学报: 自然科学版, 2005, 22(3): 233.
- [32] 苏勃, 莫宗琪, 刘晓东, 等. 川芎和当归的单用与合用对小鼠脑部耐缺血能力的影响[J]. 中华临床医药, 2003, 4(4): 89.
- [33] 刘晓东, 薛玉英, 谢林, 等. 大鼠灌胃川芎、当归及其复方后阿魏酸的药代动力学[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(5): 448.
- [34] 任平, 焦凯, 李月彩, 等. 川芎嗪和阿魏酸对麻醉狗血流动力学的不同效应[J]. 第四军医大学学报, 1999, 20(9): 797.

[责任编辑 仝燕]