

# 川芎提取工艺的优化

白海波, 王剑飞, 宋子荣

(海南养生堂药物研究中心, 浙江 杭州 310007)

**摘要:** 目的: 研究川芎中有效成分阿魏酸及藁本内酯的最佳提取条件。方法: 以 HPLC 为含量测定方法, 采用重复-正交实验法, 以乙醇浓度(A)、溶剂量(B)、提取时间(C)和提取次数(D) 4 个因素, 每个因素选取 3 个水平进行实验, 经工艺验证, 最后确定提取工艺。结果: 因素 A、D 对阿魏酸的含量有显著影响。因素 A、C、D 对藁本内酯的含量有极显著影响。结论: 80% 乙醇 10 倍量, 回流提取 3 次, 每次 1.0h 为阿魏酸、藁本内酯较佳提取条件。

**关键词:** 川芎; 阿魏酸; 藁本内酯; 正交实验; HPLC

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)04-0008-03

## Study on Optimizing the Extraction Process of Ferulic Acid and Ligustilide in Ligusticum Chuanxiong Hort.

BAI Hai-bo, WANG Jianfei, SONG Zi-rong

(Hainan Yangshengtang Medical Research Center, Hangzhou 310007, China)

**Abstract:** Objective: To optimize the extraction process of Ferulic Acid and Ligustilide in Ligusticum chuanxiong Hort. Method: The optimum extraction was investigated by the orthogonal design, Ferulic Acid and Ligustilide determined by HPLC, the concentration of ethanol, amount of ethanol, extraction time and extraction times were the four factors in the experiment. Results: The optimum extraction process was adding 10 times amount of 80% alcohol, refluxing and extraction for 3 times, 1h each time. Conclusion: This extraction process shows higher yield of Ferulic acid and ligustilide and is available for industrial production.

**Key words:** Orthogonal design; Ferulic Acid; Ligusticum chuanxiong Hort; extraction process; HPLC

川芎为伞形科藁木属植物 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎, 是一种常见的中草药。川芎的有效成分分为水溶性和脂溶性两部分, 其化学成分研究表明, 水溶性以阿魏酸为代表, 脂溶性以藁本内酯为代表。因此, 研究与检测制剂中阿魏酸及藁本内酯的含量, 对于保证疗效及提高产品质量有积极意义。

### 1 仪器与试剂

**仪器:** Agilent 1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器; 岛津 LC 10-APV 高效液相色谱仪, SPD-10AVP 检测器。

**试剂:** 阿魏酸(标准品, 中国药品生物制品检定所 0773-9910); 乙腈(色谱纯); 川芎药材(华东医药股份有限公司)经鉴定为 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根; 藁本内酯(由本实验室从川芎超临界萃取挥发油中制备, 纯度 98% 以上)。

### 2 工艺确定

#### 2.1 阿魏酸为指标

**2.1.1 提取溶剂的确定** 取 10g 川芎完整药材两份, 一份用 10 倍水提取 1h, 提取 5 次, 加水定容至 1000ml; 一份用 10 倍 70% 乙醇提取 1h, 提取 5 次, 加水定容至 1000ml, 10 倍稀释后 HPLC 法测定阿魏酸含量, 色谱条件为 150 × 4.6mmC<sub>18</sub> 柱, 甲醇: 水: 乙酸 (35: 65: 1) 流动相, 320nm 波长, 1ml/min 流速, 30 °C 柱温。检测结果: 水提 2 次时提取率为 87%, 80% 乙醇提取 2 次时提取率为 97%。所以选择醇提法提取, 提取效率更高。

**2.1.2 正交实验设计及结果** 为确定川芎阿魏酸醇提的提取工艺, 以阿魏酸为指标, 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交实验进行优选, 正交因素, 水平见表 1。

表 1 正交试验因素、水平表

水平	因素			
	A	B	C	D
1	70	8	0.5	1
2	80	10	1	2
3	95	12	1.5	3

提取工艺过程为称取川芎 10g 左右, 以不同浓

度乙醇为溶剂, 平行操作条件下, 分别按  $L_9(3^4)$  正交试验进行回流提取。合并提取液, 以相应的提取溶剂稀释定容, 得 1—9 号样品液, 做 2 次重复。精密量取上述样品溶液稀释后各注入色谱仪进行测定, 以外标法计算阿魏酸含量。计算结果及方差分析见表 2, 表 3。

表 2 关于川芎药材阿魏酸提取的正交实验表

试验号	A	B	C	D	阿魏酸含量(mg/g)	
1	1	1	1	1	0.349	0.498
2	1	2	2	2	0.81	1.2
3	1	3	3	3	0.549	0.985
4	2	1	2	3	0.828	0.902
5	2	2	3	1	0.749	0.704
6	2	3	1	2	0.677	0.936
7	3	1	3	2	0.636	0.681
8	3	2	1	3	0.436	0.478
9	3	3	2	1	0.374	0.393
I	4.401	3.894	3.374	3.067		
II	4.796	4.387	4.517	4.95		
III	2.998	3.914	4.304	4.178		

表 3 影响川芎药材阿魏酸提取因素的方差分析

来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	0.298	2	0.149	6.152	$P < 0.05$
B	0.026	2	0.013	0.536	
C	0.123	2	0.062	2.545	
D	0.299	2	0.149	6.173	$P < 0.05$
误差	0.217	9	0.024		

查方差分析表,  $F_{0.01(2,9)} = 8.06$ ,  $F_{0.05(2,9)} = 4.26$

由表 3, 表 4 可见, 以川芎阿魏酸提取量为指标, 则以  $A_2B_2C_2D_2$ , 即 80% 的乙醇溶液, 10 倍量, 提取 2 次, 每次 1h。

## 2.2 藁本内酯为指标

**2.2.1** 由于藁本内酯属挥发油类, 脂溶性高, 所以采用醇提法进行提取。色谱条件为  $150 \times 4.6\text{mmC}_{18}$  柱, 采用梯度洗脱; 柱温, 30℃; 检测波长, 284nm; 流速, 1ml/min。

**2.2.2** 正交实验设计及结果 为确定川芎醇提的提取工艺, 以藁本内酯为指标, 采用正交实验进行优选, 正交因素, 水平见表 1。

提取工艺过程为称取川芎 10g 左右, 以不同浓度乙醇为溶剂, 平行操作条件下, 分别按  $L_9(3^4)$  正交试验进行回流提取。合并提取液, 以相应的提取溶剂稀释定容, 得 1~9 号样品液, 做 2 次重复。精密

量取上述样品溶液稀释后各注入色谱仪进行测定, 以外标法计算藁本内酯含量。计算结果及方差分析见表 4, 表 5。

表 4 关于川芎药材藁本内酯提取的正交实验表

试验号	A	B	C	D	藁本内酯含量(mg/g)	
1	1	1	1	1	0.847	0.859
2	1	2	2	2	1.479	1.539
3	1	3	3	3	1.949	1.831
4	2	1	2	3	1.821	1.706
5	2	2	3	1	1.287	1.048
6	2	3	1	2	1.487	1.268
7	3	1	3	2	1.287	1.497
8	3	2	1	3	1.035	0.898
9	3	3	2	1	0.745	0.659
I	8.504	8.017	6.394	5.445		
II	8.617	7.286	7.949	8.557		
III	6.121	7.939	8.899	9.24		

表 5 影响川芎药材藁本内酯提取因素的方差分析

来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	0.662	2	0.331	28.901	$P < 0.01$
B	0.054	2	0.027	2.344	
C	0.533	2	0.267	23.263	$P < 0.01$
D	1.364	2	0.628	59.525	$P < 0.01$
误差	0.052	9	0.011		

查方差分析表,  $F_{0.01(2,9)} = 8.06$ ,  $F_{0.05(2,9)} = 4.26$

由表 4, 表 5 可见, 以藁本内酯为指标的提取方案以  $A_2B_1C_3D_3$ , 即 80% 的乙醇溶液, 8 倍量, 提取 3 次, 每次 1.5h。

## 3 川芎提取工艺的进一步确定

阿魏酸与藁本内酯同为川芎中有效成分, 本研究又以 80% 乙醇 10 倍量 1.0h 进行藁本内酯提取率测定, 结果表明, 川芎中藁本内酯在提取两次时的提取率为 83%, 提取 3 次为 95%, 因此本实验认为以 80% 醇浓度, 10 倍量体积溶媒, 1h 提取时间, 提取 3 次对阿魏酸和藁本内酯均可以达到较高的提取效率。

## 4 结果与讨论

有文献以薄层扫描法测定阿魏酸, 结果以 80% 乙醇, 提取 2 次, 共 3h 的提取条件阿魏酸含量较 70% 和 90% 乙醇为高<sup>[1]</sup>, 王文祥等以 HPLC 测定阿魏酸, 通过正交试验表明 80% 乙醇 12 倍量, 提取 3

次,每次 0.5h 为阿魏酸较佳提取条件,阿魏酸提取率在 80% 以上<sup>[2]</sup>。本实验采用有重复的正交实验,以阿魏酸和藁本内酯为指标,评价了川芎提取工艺,在选定的条件下,阿魏酸和藁本内酯提取率均可达 95%,因此,结果较为可靠,为工业生产提供有意义的参考。

#### 参考文献:

- [1] 吴清,李云谷,杜守颖,等. 当归、川芎提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(6): 17-18.
- [2] 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): 325-327.