川芎中阿魏酸的提取工艺研究

黄国兴[1],季芳[1],杨文丹[2](1.浙江亚峰药厂有限公司,浙江 金华 321016;2.浙江师范大学 化学与生命科学学院,浙江 金华 321004)

摘要:目的 研究川芎中阿魏酸的提取工艺。方法 选用 $L_9(3^4)$正交试验表,就提取 pH、乙醇浓度、乙醇用量以及提取温度进行四因素三水平正交试验,以 HPLC测定阿魏酸含量,以阿魏酸收率作为检测指标判断方法优劣。结果 影响提取率的因素是:提取温度 >乙醇用量 >提取 pH >乙醇浓度。最佳水平组合是:pH 10,90%乙醇,10倍量,沸腾回流。结论 川芎粉碎品用 10倍量、pH 10、90%乙醇沸腾回流 1.5 h提取阿魏酸,工艺最佳。

关键词:川芎;阿魏酸;正交试验;高效液相色谱法

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2007)03-0203-03

Study on the Extraction Process of Ferulic Acid from *Ligusticum chuanxiong*

HUANG Guo-xing[1], JI Fang[1], YANG Wen-dan[2] (1. *Zhejiang Yafeng Pharmaceutical Factory Co. Ltd.*, *Jinhua* 321016, *China*; 2. *College of Chemistry and Life, Zhejiang Normal University, Jinhua* 321004, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the extraction process of ferulic acid from Ligusticum Chuanxiong Hort. **METHODS** Experiments were conducted by using $L_9(3^4)$ orthogonal design with the yield of ferulic acid as the index through content determined by HPLC, to investigate the influences of pH, the concentration of ethanol, amount of ethanol and temperature on the extraction ratio of the ferulic acid. **RESULTS** The influential degrees were the temperature > amount of ethanol > pH > the concentration of ethanol. **CONCLUSION** The optimum extraction process was circumfluence extraction with 10 times amount of 90% ethanol, pH 10 for 1.5 h.

KEY WORDS: *Ligusticum chuanxiong* Hort; ferulic acid; orthogonal design; HPLC

中药川芎是伞形科植物川芎(*Ligusticum chuanxiong* Hort)的干燥根茎。性温,味辛,具有活血止痛,行气开郁,去风止痛之功效。其主要成分之一是阿魏酸(ferulic acid)。阿魏酸及其衍生物可抑制血小板聚集,抗血栓形成,解除血管平滑肌痉挛,改善心肌缺血,抗炎止痛,抗紫外线辐射及抗自由基,以及调节人体免疫功能等[1]。阿魏酸在川芎中的含量大约为 0.1%[2]。

川芎中有效成分的提取多用乙醇提取、酸碱处理、柱色谱法分离等[3]。马双成等[4]选用乙醇回流、减压浓缩而后用大孔吸附树脂分离的方法,可得到质量和收率稳定的川芎总提取物,收率为 0.6%。吴清等[5]对双提法、醇提法以及目前比较先进的 CO_2超临界萃取法进行了工艺比较,并认为醇提法较为方便可行。刘旭等[6]已经比较全面的用正交试验的方法比较了热浸法、超声法、渗漉法、热回流法四种提取工艺,得出热浸法是比较可行的方案。但上述方法制备的提取物是川芎嗪和阿魏酸的混合物。

本试验的目的是探索从川芎中提取分离阿魏酸的方法,阿魏酸可以用乙酸乙酯、甲醇、乙醇等有机溶剂提取。考虑到溶剂成本和安全因素,采用乙醇为提取溶媒,并为了分离出阿魏酸,选用碱性条件提取。在此前提下,用正交试验的方法探索川芎中阿魏酸提取的优化工艺路线。影响阿魏酸收率的主要因素有:提取 pH、乙醇浓度、用量以及提取温度等,对此设计一个四因素三水平正交试验,以确定最佳提取工艺路线。

1 材料与仪器

1.1 材料

川芎饮片,购于金华尖峰大药房。阿魏酸、盐酸川芎嗪对照品,中国药品生物制品检定所提供。甲醇,色谱纯。其余试剂皆为国产分析纯。

1.2 仪器

水浴锅、电动搅拌机、旋转蒸发仪、Agilent1100高效液相色谱仪。

2 方法

2.1 川芎中阿魏酸的提取

选用 $L_9(3^4)$正交试验表,就提取 pH、乙醇浓度、乙醇用量以及提取温度进行四因素三水平正交试验。试验方案如表 1所示。每批试验用川芎粉碎品 10 g,按方案所列的试验条件进行提取,提取液减压过滤,滤液在旋转蒸发仪中减压浓缩至原体积 3% ~5%,得阿魏酸粗制品,密闭保存于 4℃,待测阿魏酸含量。

2.2 阿魏酸含量的测定

阿魏酸含量测定用 HPLC法,参照季芳[7]等报道的方法

作者简介:黄国兴,男,工程师,主要从事药品生产技术、质量管理及新药技术开发工作。

http://www.chinjmap.com

进行,紫外检测波长 313 nm。川芎嗪色谱条件参照马双成[4]等报道的方法,紫外检测波长 293 nm。

表 1 阿魏酸提取工艺因素水平表

Tab 1 The factor-level table of ferulic acid extraction process

水平	因素			
	A	B	C	D
	pH	乙醇浓度 /%	乙醇用量 /倍	提取温度 /℃
1	8	60	5	室温
2	10	75	7.5	40
3	12	90	10	沸腾

3 结果

3.1 色谱的定性与分离

冰醋酸:甲醇:水为流动相洗脱,对川芎提取液中阿魏酸能达到较好的分离效果。甲醇:水为流动相对川芎提取液中川芎嗪分离效果较好。分别采用保留时间对照法确定阿魏酸、川芎嗪的位置,阿魏酸的保留时间为 4.998,川芎嗪的保留时间为 4.498。

3.2 最佳工艺的确定

按试验方案表进行 9批次试验,以阿魏酸收率作为检测指标,比较方法的优劣。试验结果见表 2。

表 2 正交试验结果表

Tab 2 The experiment results of orthogonal design

	A	B	C	D	每克川芎阿魏酸
	pH	乙醇浓度	乙醇用量	提取温度	收率 /mg
1	8	60	5	室温	0.2519
2	8	75	7.5	40	0.4263
3	8	90	10	沸腾	1.0495
4	10	60	7.5	沸腾	0.7971
5	10	75	10	室温	0.7291
6	10	90	5	40	0.6588
7	12	60	10	40	0.7971
8	12	75	5	沸腾	0.8098
9	12	90	7.5	室温	0.2612
K1	1.7267	1.8461	1.7205	1.2422	
K2	2.1850	1.9642	1.4836	1.8812	
K3	1.8681	1.9695	2.5757	2.6564	
k1	0.5756	0.6154	0.5736	0.4146	
k2	0.7283	0.6547	0.4945	0.6271	
k3	0.6227	0.6565	0.8586	0.8855	
R	0.1527	0.0411	0.3641	0.4714	

以折合成生药中阿魏酸的量为收率指标,表 2说明,3号试验阿魏酸收率最高。对各因素进行极差分析,影响收率的因素主次顺序为 D > C > A > B,因素水平最佳组合为 $A_2 B_3 C_3 D_3$,与 3号试验条件并不相同。

3.3 验证试验结果

为进一步验证最佳工艺条件,按最佳水平组合,即 pH 10、90%乙醇、10倍量,沸腾条件下,重复试验 3批,结果见表 3。

表 3 最佳工艺验证试验结果

Tab 3 The results of optimum extraction process

试验号	每克川芎阿魏酸收率 /mg
1	1.0608
2	1.2252
3	1.1794

三批试验结果显示,阿魏酸收率均高于正交试验各试验号,证明在所试验的范围内,该工艺确实最佳。

4 讨论

本试验为简化操作,减小工作量,在前人研究基础上仅选用了简单的工作表,就乙醇 pH、浓度、用量以及提取温度进行四因素三水平正交试验很可能还有更好的工艺条件没有包括在内,因此,还可在此基础上设计更合理的正交表,进一步试验,找出更好的提取方法。此外,本次试验,川芎仅仅提取一次,药渣没有重复提取,也影响了收率。在补充试验中,药渣重复提取 2次可提高收率 15 ~ 20%。

在本实验中发现影响阿魏酸收率的一个重要因素是提取温度,在沸腾条件下,阿魏酸的提取效率明显提高,比本课题组先前的实验[8]的收率高约 80%。但徐自升等[9]发现在湿热条件下,阿魏酸很不稳定。阿魏酸在 80℃以上时会迅速分解,而且时间越长,降低的越多,而干燥条件下阿魏酸含量是相当稳定的。所以在有关的川芎药材提取、浓缩以及干燥过程中,为了获得较高的阿魏酸转移率,相关工艺的温度不宜超过 80℃,加热时间不宜超过 12 h。本试验是在溶剂沸腾条件下进行的,温度偏高,但提取的时间仅为 1.5 h,所以在实验范围内,高温的分解作用并不十分明显。本试验用乙醇作为提取剂,沸点降低,但还是会有一定损失,若采用沸点更低的溶剂作为提取剂提取效果可能会更好。

参考文献

[1] XU R F, XU D S. The application development of Ferulic acid products [J]. Journal of Cereals and Oils(粮食与油脂), 2000, 6: 7-9.

[2] YIN J. Contemporary study and clinical application of Chinese materia medica (中药现代研究与临床应用) [M]. Beijing: Academy press, 1993: 108.

[3] Beijing pharmaceutical institute. Study on effective components of Ligusticum chuanxiong Hort [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 1979, 14(11): 670.

[4] MA S C, DEN S W. Study on extracting and purifying from Ligusticum chuanxiong Hort [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 1999, 24(4): 215-217.

[5] WU Q, LI Y G, DU S Y. Study on extraction Process of Angelica sinensis and Ligusticum chuanxiong Hort [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 1999, 5(6): 17-18.

[6] LIU X, YANG X M, XU J P, *et al.* Studies on process for extraction of Ligusticum Chuanxiong Hort. by orthogonal experiments [J]. Guangdong Pharm J(广东药学), 2003, 13(6): 3-5.

[7] JI F, LU X F, RUAN Q, *et al.* Determination of ferulic acid in

Chuanxiong by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2003, 20(2): 149-151.

[8] ZHAO F, HU Y Y, CHEN Y P, *et al*. Extraction and separation of ferulic acid in Ligusticum chuanxiong Hort [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2005, 25(1): 8-10.

[9] XU Z S, CAI B C, ZHANG X. Research of the Stability of Ferulic Acid in Rhizoma Chuanxiong [J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2004, 18(2): 25-27.

收稿日期: 2006-09-25