

首乌藤中大黄素的提取工艺研究

杨金华¹, 王登斌², 陈小明^{2*}

1. 河南中医学院第一附属医院, 河南 郑州 450000

2. 桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004

摘要: 目的 研究不同提取工艺对首乌藤中大黄素提取效果的影响, 并优化其提取工艺。方法 以首乌藤为原料, 大黄素转移率为指标, 采用单因素试验和正交设计对提取工艺进行研究。结果 最佳提取工艺为以6倍量90%乙醇回流提取3次, 每次0.5 h。结论 优化后的提取工艺稳定, 大黄素的转移率达90%以上, 适用于首乌藤中大黄素的提取。

关键词: 首乌藤; 大黄素; 提取工艺; 转移率; 正交试验

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)10-2017-03

Extracting technology of emodin from cane of *Polygonum multiflorum*

YANG Jin-hua¹, WANG Deng-bin², CHEN Xiao-ming²

1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

2. Guilin Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541004, China

Key words: *Polygonum multiflorum* Thunb.; emodin; extracting technology; transfer rate; orthogonal test

首乌藤, 别名为夜交藤, 为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥藤茎, 具有养血安神、祛风通络的功效^[1]。其所含化学成分有大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、大黄素-8-O-β-D-单葡萄糖苷等羟基蒽醌类衍生物及其他成分^[2-4], 生理活性物质大黄素具有抗炎、抗病毒、抑菌、免疫调节、保护肝肾、利胆、促进胃肠蠕动、抗氧化、清除自由基、改善微循环等药理作用^[5]。有关何首乌中大黄素提取工艺的文献报道较多^[6-8], 但对首乌藤中大黄素的提取工艺报道较少。因此, 现以大黄素为指标, 对首乌藤的提取工艺进行考察, 为进一步制备现代制剂提供原料。

1 仪器与材料

Agilent 1200 高效液相色谱系统 (美国 Agilent 公司); Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); RE-111 旋转蒸发器 (瑞士 Buchi 公司); CQ-25 超声波清洗仪 (中船重工集团公司第七二六研究所)。大黄素对照品 (批号 110756-200110, 中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱纯; 水为纯

净水; 其他试剂均为分析纯。首乌藤药材产地四川, 购于成都市西南药都, 经桂林三金药业药物研究所中药资源研究室钟小清高级工程师鉴定为蓼科多年生缠绕草本植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥藤茎。

2 方法与结果

2.1 大黄素的测定

2.1.1 色谱条件^[1] 色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%磷酸 (85:15), 体积流量 1 mL/min, 检测波长 254 nm, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取适量大黄素对照品, 加甲醇配制成 84.00 μg/mL 对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 称取约 0.5 g 首乌藤药材粉末 (过 3 号筛), 精密称定, 加入甲醇 25 mL, 加热回流 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液 5 mL, 蒸干, 残渣加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 2 min, 再加氯仿 10 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤

收稿日期: 2011-03-21

作者简介: 杨金华 (1966—), 男, 河南淅川人, 主管药师, 学士, 研究方向为中药制剂。

Tel: 15838097918 E-mail: yangjinhua1010@163.com

*通讯作者 陈小明 Tel: (0773)5809052 E-mail: chenxiaoming3012@163.com

容器，并入分液漏斗中，分取氯仿层，酸液再用氯仿提取 3 次，每次 10 mL，合并氯仿液，减压回收氯仿，残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中定容。摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液，依次配成 1.68、3.36、8.40、16.80、33.60、84.00 $\mu\text{g/mL}$ 系列对照品溶液。分别吸取 10 μL ，按“2.1.1”项色谱条件进行测定。以峰面积积分值为纵坐标、进样量为横坐标，绘制标准曲线，得回归方程 $Y=3\ 964.9\ X+6.031\ 8$ ($r=0.999\ 9$)，表明大黄素在 16.8~840.0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验 精密吸取 5 μL 对照品溶液，按“2.1.1”项色谱条件连续进样 6 次，测定得大黄素峰面积积分值的 RSD 为 0.52%。

2.1.6 稳定性试验 精密吸取按“2.1.3”项下处理得到的供试品溶液 10 μL ，按上述色谱条件，分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定，计算得大黄素峰面积的 RSD 为 1.12%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.7 重现性试验 分别称取首乌藤粉末 6 份，按“2.1.3”项下操作制备供试品溶液，依法测定，计算得大黄素质量分数的 RSD 为 2.01%。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取样品 6 份，每份 0.25 g，精密称定，分别精密加入大黄素对照品适量，制备供试品溶液，进样测定，计算回收率。结果大黄素的平均回收率为 102.13%，RSD 为 1.14%。

2.1.9 样品测定 取不同工艺制备的样品，制备供试品溶液，依法测定，计算大黄素的量。色谱图见图 1。

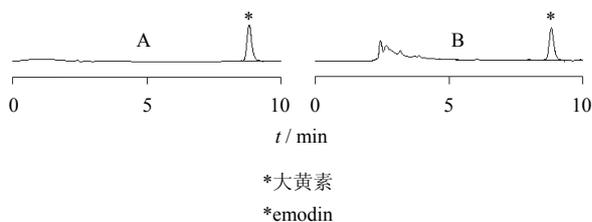


图 1 对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

2.2 单因素试验

2.2.1 提取溶媒的考察 称取 10 g 首乌藤细粉，共 2 份，分别用 10 倍量 95%乙醇和水超声提取 (30 min \times 3)，合并提取液，依法测定。计算得 95%乙醇、水提取大黄素的提取率分别为 88.20%、9.15%，

表明 95%乙醇提取的效率明显优于水。

2.2.2 乙醇体积分数的考察 分别称取 10 g 首乌藤细粉 6 份，分别用 10 倍量水及 20%、40%、60%、80%、95%乙醇回流提取 3 次，每次 1 h，合并提取液，依法测定。结果大黄素的提取率分别为 10.2%、23.2%、45.0%、70.8%、91.2%、90.3%，表明大黄素的提取效率随乙醇体积分数的增加而增加；当乙醇体积分数达 80%以后，提取效率随乙醇体积分数的增大变化不明显。

2.2.3 提取方式的考察 分别称取 10 g 首乌藤细粉 3 份，分别采用 80%乙醇的回流提取、超声提取和冷浸法提取各 3 次，合并提取液，依法测定。结果大黄素的提取率分别为 90.89%、86.34%、81.78%，可见回流提取法优于超声提取和冷浸法。

2.2.4 溶媒用量的考察 分别称取 10 g 首乌藤细粉 5 份，分别用 4、6、8、10、12 倍量 80%乙醇回流提取 3 次，合并提取液，依法测定。结果大黄素的提取率分别为 79.0%、83.5%、88.7%、90.6%、91.0%，表明大黄素的提取效率随溶媒量的增加而增加；当溶媒剂量达 10 倍量时，溶媒用量增加，提取效率增加不显著。

2.3 正交试验优选提取工艺

在单因素试验的基础上，选择乙醇体积分数 (A)、溶媒用量 (B)、提取时间 (C)、提取次数 (D) 进行正交试验。以大黄素的转移率为评价指标，选择 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验。

取 10 g 首乌藤药材细粉，按正交表安排试验，提取液用相应体积分数乙醇定容至 500 mL，取 100 mL，蒸干，按“2.1.3”项方法制备供试品溶液，测定。试验设计及结果和方差分析见表 1 和 2。

转移率 = 100 mL 提取液中大黄素的量 \times 5/10 g 首乌藤药材中大黄素的量

极差分析表明 4 种因素对大黄素转移率的影响程度依次为 $D > A > C > B$ ，其最优化组合为 $A_3B_2C_2D_3$ ；方差分析表明乙醇体积分数和提取次数对转移率有显著影响 ($P < 0.05$)，提取时间和溶媒用量对转移率的影响不明显。结合极差和方差分析结果，及综合成本考虑，提取时间和溶媒用量选择了因素水平组合 B_1C_1 ，而不是 B_2C_2 。因此，最后选择的优化条件为 $A_3B_1C_1D_3$ ，即 90%乙醇提取 3 次，每次用 6 倍量溶剂，提取 0.5 h。

2.4 验证试验

采用优选工艺参数，重复 3 次验证试验。结果

表1 正交试验设计及结果

Table 1 Design and results of orthogonal test

试验号	因素				转移率/%
	A/%	B/倍	C/h	D/次	
1	70 (1)	6 (1)	0.5 (1)	1 (1)	39.93
2	70 (1)	8 (2)	1 (2)	2 (2)	60.98
3	70 (1)	10 (3)	1.5 (3)	3 (3)	62.72
4	80 (2)	6 (1)	1 (2)	3 (3)	80.33
5	80 (2)	8 (2)	1.5 (3)	1 (1)	45.30
6	80 (2)	10 (3)	0.5 (1)	2 (2)	61.09
7	90 (3)	6 (1)	1.5 (3)	2 (2)	76.60
8	90 (3)	8 (2)	0.5 (1)	3 (3)	98.16
9	90 (3)	10 (3)	1 (2)	1 (1)	64.84
K_1	163.65	196.87	199.18	150.08	
K_2	186.72	204.44	206.16	198.67	
K_3	239.60	188.66	184.63	241.22	
R	25.32	5.26	7.18	30.38	

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F值	显著性
A	1 010.97	2	505.49	24.32	$P < 0.05$
B	41.57	2	20.79	1.00	
C	80.40	2	40.20	1.93	
D	1 386.57	2	693.29	33.35	$P < 0.05$

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

大黄素转移率分别为 90.82%、91.58%、90.96%，表明所筛选的提取工艺条件稳定、方法可行，有效成分提取转移率高。

3 讨论

以首乌藤中有效成分大黄素的转移率为考察指标，通过单因素和正交试验，优选得到最佳提取工艺条件为：90%乙醇回流提取、加醇量为 6 倍量、提取 3 次、每次 0.5 h。优选的提取工艺稳定，大黄素转移率达 90%，研究结果可为首乌藤产品的开发利用提供依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 陈德昌. 现代实用本草 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [3] 苏建, 袁志芳, 张兰桐, 等. RP-HPLC 法测定何首乌和夜交藤中二苯乙烯苷和蒽醌类成分 [J]. 中草药, 2007, 38(2): 278-281.
- [4] 王付荣, 周洪雷. 夜交藤的化学成分研究 [J]. 中医药学报, 2008, 36(2): 49-51.
- [5] 丁艳, 黄志华. 大黄素药理作用研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 236-238.
- [6] Wang X Y, Cai S G, Wu Y F, *et al.* Inhibition of emodin on LPS-induced nitric oxide generation by suppressing PLC- γ phosphorylation in rat peritoneal macrophages [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(3): 189-194.
- [7] 李义平, 张胜春, 杨广德. 何首乌中大黄素的提取方法研究 [J]. 中成药, 2004, 26(4): 271-274.
- [8] 邓黎, 龚涛. 何首乌中结合型大黄素的提取工艺 [J]. 华西药学杂志, 2008, 23(3): 322-323.