



# 不同溶剂对川芎药材中有效成分提取效果的影响

杨学东\*, 伍勋, 胡立翠, 郭鹤男

(天津大学 药物科学与技术学院, 天津 300072)

**[摘要]** **目的:**比较水、甲醇、乙醇、乙酸乙酯、石油醚对川芎中 10 种有效成分的提取效果以及相应提取物的成分特征。**方法:**采用超声辅助溶剂萃取, 高效液相色谱法进行有效成分的含量测定。CAPCELL PAK C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.5% 冰醋酸溶液, 梯度洗脱; 检测波长 280 nm, 柱温 30 ℃, 流速 0.7 mL · min<sup>-1</sup>, 进样量 10 μL。**结果:**乙醇和甲醇对川芎中阿魏酸、羟基苯酞类、烷基苯酞类、藁本内酯二聚体 4 类成分提取较为完全且两者间无显著性差异; 乙酸乙酯对于羟基苯酞类成分和阿魏酸的提取率显著偏低; 水和石油醚对 4 类有效成分的提取率均显著偏低, 并且水提取物具有不同的成分特征。**结论:**乙醇和甲醇是最适合提取川芎中 4 类主要有效成分的提取溶剂。

**[关键词]** 川芎; 苯酞类成分; 提取溶剂; 提取率; 高效液相色谱法

川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 是伞形科藁本属植物川芎干燥根茎, 产于我国四川、云南、贵州等地。川芎所含的有效成分主要包括苯酞类, 如洋川芎内酯-I, 洋川芎内酯-H, 瑟丹酸内酯, 藁本内酯等; 有机酸类, 如阿魏酸; 生物碱类, 如川芎嗪; 其中以苯酞类含量最高<sup>[1-2]</sup>。川芎有效成分的提取方法主要有溶剂提取法、超临界流体萃取法、水蒸气蒸馏法、超声辅助溶剂萃取法、微波辅助溶剂提取法等。其中, 溶剂提取法是工业生产中最常用的提取方法。常用于川芎有效成分提取的溶剂有水、乙醇、甲醇、乙酸乙酯、石油醚等<sup>[3-4]</sup>, 提取工艺的评价指标大多采用总提取率或某单一成分的含量<sup>[3]</sup>, 不能较全面地评价不同提取工艺对各类成分的提取效果。本文在建立同时测定川芎提取物中 10 种活性成分 HPLC 测定方法的基础上, 比较了不同提取溶剂对川芎中各活性成分的提取效果, 为川芎内酯类成分的提取工艺开发和优化提供依据。

## 1 材料

Thermo Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(带有二元泵, 自动进样器, DAD 检测器等); FA 2004 电子天平(上海精科实业有限公司); KQ-100 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。除川芎嗪外,

洋川芎内酯-I, 洋川芎内酯-H, 瑟丹酸内酯, 藁本内酯等 11 种对照品均为本实验室自制(HPLC 归一化分析, 纯度均大于 99%, 结构鉴定数据与文献报道一致); 甲醇为色谱纯; 冰醋酸、无水乙醇、乙酸乙酯和石油醚为分析纯; 水为超纯水; 川芎药材, 购于天津中新药业药材公司, 样本存于天津大学药物科学与技术学院天然药物化学实验室。

## 2 方法与结果

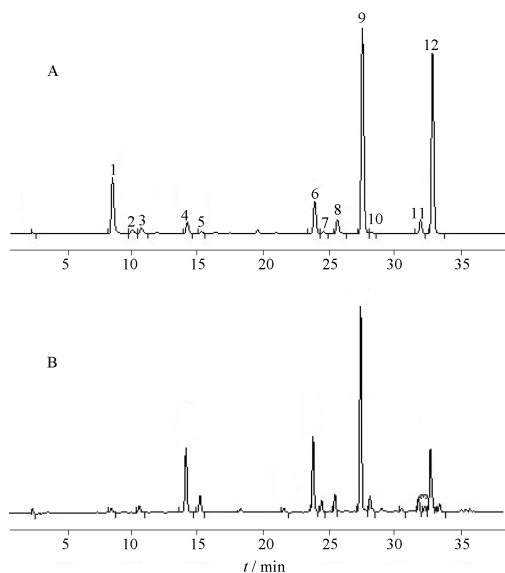
**2.1 色谱条件** CAPCELL PAK C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相甲醇(A)-0.5% 冰醋酸溶液(B), 梯度洗脱, 0 ~ 32 min, 30% ~ 85% A; 32 ~ 39 min, 85% ~ 100% A。检测波长 280 nm, 流速 0.7 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。在此条件下, 川芎提取物样品中洋川芎内酯-I, 洋川芎内酯-H, 瑟丹酸内酯, 藁本内酯, 正丁烯基苯酞等 12 种主要成分与相邻成分均实现基线分离, 见图 1。

**2.2 混合对照品溶液的制备** 精密称取阿魏酸、洋川芎内酯-I、洋川芎内酯-H、瑟丹酸内酯、正丁基苯酞、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、正丁烯基苯酞、双藁本内酯和欧当归内酯 A 各适量, 加甲醇溶解, 配成含阿魏酸 0.004 4 g · L<sup>-1</sup>, 洋川芎内酯-I 0.030 2 g · L<sup>-1</sup>, 洋川芎内酯-H 0.012 6 g · L<sup>-1</sup>, 瑟丹酸内酯 0.533 6 g · L<sup>-1</sup>, 正丁基苯酞 0.024 5 g · L<sup>-1</sup>, 阿魏酸松柏酯 0.112 0 g · L<sup>-1</sup>, 藁本内酯 1.841 9 g · L<sup>-1</sup>, 正丁烯基苯酞 0.005 1 g · L<sup>-1</sup>, 双藁本内酯 0.020 1 g · L<sup>-1</sup>, 欧当归内酯 A 0.036 8 g · L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**[稿件编号]** 20120229010

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09313)

**[通信作者]** \* 杨学东, Tel: (022) 87401152, E-mail: yangxd@tju.edu.cn



1. 香草醛;2. 川芎嗪;3. 阿魏酸;4. 洋川芎内酯-I;5. 洋川芎内酯-H;6. 瑟丹酸内酯;7. 正丁基苯酞;8. 阿魏酸松柏酯;9. 藁本内酯;10. 正丁烯基苯酞;11. 双藁本内酯;12. 欧当归内酯 A。

图1 混合对照品(A)和川芎提取物样品(B)的HPLC图

Fig. 1 Chromatograms of reference substances (A) and *Ligusticum chuanxiong* extract (B)

**2.3 供试品溶液的制备** 精密称取川芎提取物 0.025 g 于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解,定容至 10 mL,摇匀,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

**2.4 线性关系和最低检测限考察** 精密量取混合对照品溶液 0.032, 0.16, 0.32, 0.4, 0.8, 1 mL 置 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,得到一系列不同浓度的混合对照品溶液。分别吸取上述对照品溶液 10 μL 进样,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以对照品质量浓度 (g · L<sup>-1</sup>) 为横坐标 (X),峰面积积分值为纵坐标 (Y),计算标准曲线回归方程。另取混合对照品溶液逐步稀释成浓度适宜的混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,以信噪比 S/N = 3 计算得到 10 种成分的最低检测限,见表 1。

**2.5 精密度考察** 精密吸取同一浓度的混合对照品溶液 10 μL,在 2.1 项下色谱条件下,重复进样 6 次,记录峰面积。阿魏酸、洋川芎内酯-I、洋川芎内酯-H、瑟丹酸内酯、正丁基苯酞、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、正丁烯基苯酞、双藁本内酯和欧当归内酯 A 峰面积 RSD 分别为 1.0%, 0.69%, 0.80%, 0.67%, 0.83%, 0.74%, 0.46%, 0.37%, 1.2%。

表 1 10 种成分的标准曲线和最低检测限

Table 1 Linearity calibration curves and limit of detection of 10 constituents in *Ligusticum chuanxiong* extract

化合物	线性方程	R <sup>2</sup>	线性范围 /mg · L <sup>-1</sup>	检测限 /μg · L <sup>-1</sup>
阿魏酸	$Y = 85.258X - 0.0312$	0.9997	0.141 ~ 4.42	28.3
洋川芎内酯-I	$Y = 100.37X + 2.9319$	0.9938	9.66 ~ 30.2	19.3
洋川芎内酯-H	$Y = 57.776X + 0.0455$	0.9998	0.404 ~ 12.6	8.09
瑟丹酸内酯	$Y = 21.295X + 0.7278$	0.9998	17.1 ~ 533	30.4
正丁基苯酞	$Y = 283.82X - 0.0067$	0.9998	3.92 ~ 24.5	25.7
阿魏酸松柏酯	$Y = 548.32X - 0.3541$	0.9998	3.58 ~ 12	17.8
藁本内酯	$Y = 397.05X + 1.5915$	0.9992	11.7 ~ 1473	15.4
正丁烯基苯酞	$Y = 939.68X + 0.0093$	0.9993	0.798 ~ 4.98	31.9
双藁本内酯	$Y = 279.25X - 0.1094$	0.9997	2.01 ~ 20.1	7.35
欧当归内酯 A	$Y = 869.15X + 0.9129$	0.9996	1.84 ~ 36.8	21.2

**2.6 稳定性考察** 取川芎提取物供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 在 2.1 项下色谱条件测定,并记录峰面积。阿魏酸、洋川芎内酯-I、洋川芎内酯-H、瑟丹酸内酯、正丁基苯酞、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、正丁烯基苯酞、双藁本内酯、欧当归内酯 A 峰面积 RSD 分别为 2.1%, 1.2%, 1.1%, 1.2%, 1.4%, 1.3%, 1.2%, 1.7%, 1.5%, 1.3%。说明供试品在 24 h 内稳定性良好。

**2.7 重复性试验** 取川芎提取物样品 6 份,每份 0.025 g 按 2.3 项下操作制备供试液,进样 10 μL,记录峰面积,标准曲线法计算含量,阿魏酸、洋川芎内酯-I、洋川芎内酯-H、瑟丹酸内酯、正丁基苯酞、阿魏酸松柏酯、藁本内酯、正丁烯基苯酞、双藁本内酯和欧当归内酯 A 含量的 RSD 分别为 1.1%, 1.9%, 1.9%, 1.9%, 1.6%, 1.9%, 1.9%, 1.4%, 1.6%, 1.7%。

**2.8 加样回收率试验** 精密称定川芎提取物 6 份,每份 0.025 g,分别精密加入混合对照品溶液,按 2.3 项下操作制备供试液,进样 10 μL。记录峰面积,计算回收率,结果见表 2。

**2.9 提取物的制备与测定** 取 2 g 川芎药材 5 份,分别以 100 mL 水、无水乙醇、甲醇、乙酸乙酯、石油醚浸泡 5 h 后超声提取 2 次,每次 30 min,合并提取液,回收溶剂,干燥后称重,计算提取率,按 2.3 项制备供试品,按 2.1 项测定并记录峰面积,计算各成分相对于药材的提取率,平行测定 3 次,见表 3。为便于对比不同溶剂提取物的成分特征和提取效果,将图 1 所示川芎中 10 种有效成分按成分特征和保留



表 2 川芎提取物中 10 种成分的加样回收率

Table 2 Recoveries of the 10 constituents in *Ligusticum chuanxiong* extract %

化合物	平均回收率	RSD
阿魏酸	98.35	1.9
洋川芎内酯-I	99.03	1.7
洋川芎内酯-H	97.71	2.0
瑟丹酸内酯	97.61	1.5
正丁基苯酞	95.70	2.0
阿魏酸松柏酯	99.28	1.9
藁本内酯	100.9	1.8
正丁烯基苯酞	101.7	1.9
双藁本内酯	97.05	2.0
欧当归内酯 A	101.5	1.8

时间分为阿魏酸, 羟基苯酞类(洋川芎内酯-I 和洋川芎内酯-H), 烷基苯酞类(瑟丹酸内酯、正丁基苯酞、阿魏酸松柏酯、藁本内酯和正丁烯基苯酞)和藁本内酯二聚体类(双藁本内酯和欧当归内酯 A) 4 组。由于阿魏酸松柏酯极性和保留时间与烷基苯酞类成分类似, 故将其和烷基苯酞类成分归为一组。5 种溶剂对上述 4 类有效成分的提取效果对比见图 2。

表 3 5 种提取溶剂提取各有效成分的提取率

Table 3 The extraction yields of 5 different solvents for the 10 constituents in *Ligusticum chuanxiong* %

化合物	石油醚	乙酸乙酯	甲醇	无水乙醇	水
阿魏酸	0.040	0.227	0.457	0.507	0.270
洋川芎内酯-I	0.108	0.649	1.32	1.32	0.662
洋川芎内酯-H	0.055	0.229	0.483	0.471	0.224
瑟丹酸内酯	1.34	3.28	3.34	3.49	0.444
正丁基苯酞	0.634	1.61	1.72	1.74	0.120
松柏酯	0.107	0.344	0.320	0.298	0.015
藁本内酯	1.66	3.62	3.65	3.74	0.168
正丁烯基苯酞	0.011	0.030	0.034	0.031	0.001
双藁本内酯	0.009	0.026	0.029	0.030	0.001
欧当归内酯 A	0.016	0.054	0.048	0.051	0.002
总提取率	10.0	11.2	19.4	19.8	27.7

### 3 讨论

本文研究中建立了 HPLC 同时测定川芎提取物中 12 种有效成分含量的分析方法, 但是按照 2010 年版《中国药典》规定, 其所有提取物样品中香草醛含量均未达到定量限要求, 川芎嗪含量均未达到检测限要求, 故本文研究未将香草醛和川芎嗪作为定量测定的指标成分。

由表 3 和图 2 可以看出乙酸乙酯、甲醇和乙醇

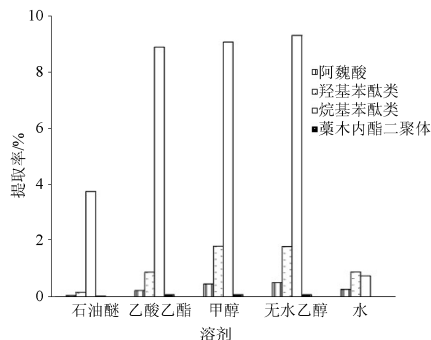


图 2 5 种溶剂对川芎中 4 类成分的提取效果对比

Fig. 2 Comparison of five solvents for the extraction of ferulic acid, hydroxyphthalides, alkylphthalides and dimeric phthalides

作为提取溶剂时, 对川芎中阿魏酸、羟基苯酞类、烷基苯酞类、藁本内酯二聚体的提取率都很高。但是, 当采用石油醚和水作为提取溶剂时, 由于溶剂本身的极性和渗透性的影响, 对 4 类成分的提取率都不高。对于极性较小的烷基苯酞类成分, 乙酸乙酯、甲醇和乙醇的提取效果差异不大, 但乙醇和甲醇对极性较大的羟基苯酞类成分和阿魏酸的提取率约为乙酸乙酯的 2 倍。因此, 乙醇和甲醇是提取川芎中有效成分最为适宜的溶剂。

在实际应用中, 采用甲醇和乙醇提取川芎药材都能较好地满足高效液相色谱分析的要求。而由于甲醇的毒性, 使其不适用于药品生产的提取工艺中。乙醇无疑是更适合用于工业生产中川芎有效成分提取的溶剂。另外, 虽然乙酸乙酯对低极性烷基苯酞类成分的总提取率略低于甲醇和乙醇, 但其提取物中该类成分的相对含量却远高于甲醇和乙醇的提取物, 所以将乙酸乙酯应用于川芎中烷基苯酞类成分的提取工艺具有一定的优势。水对于川芎中 4 组有效成分的提取率都很低, 表明水不适于作为这 4 类成分的提取溶剂。从水提取物的分析结果可以看出, 本文测定的 4 组共 10 种成分仅占总提取物的 6.9%, 因此这些成分不是川芎水提取物的主要成分。对于川芎水提取物中的化学成分有待于进一步开展实验研究。

#### [参考文献]

[1] 孙永跃, 李淑芬, 宋慧婷, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取川芎中药效成分研究[J]. 化学工程, 2006, 34(3): 60.  
[2] 吴平丽, 刘雯. 川芎中洋川芎内酯 A 和 Z-藁本内酯的 HPLC 法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2010, 41(4): 290.



- [3] 原永芳,周践,郑晓梅,等. 超临界流体 CO<sub>2</sub> 萃取川芎挥发油化学成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(2):84.
- [4] Yi T, Leung K S, Lu G H, et al. Simultaneous qualitative and

quantitative analyses of the major constituents in the rhizome of *Ligusticum chuanxiong* using HPLC-DAD-MS [J]. Chem Pharm Bull, 2006, 54(2):255.

## Effect of different solvents on extraction of effective components from *Ligusticum chuanxiong*

YANG Xuedong\*, WU Xun, HU Licui, GUO He'nan

(School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the effect of different solvents such as water, ethanol, methanol, ethyl acetate and petroleum ether on extraction of 10 effective components from *Ligusticum chuanxiong* and component characteristics of corresponding extracts. **Method:** Ultrasonic assisted solvent extraction and high performance liquid chromatography quantitative analysis were adopted to determine effective components. CAPCELL PAK C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was adopted. The mobile phase was methanol-0.5% HAc for gradient elute. The detection wavelength was 280 nm. The column temperature was 30 °C. The flow rate was 0.7 mL · min<sup>-1</sup>. The sample size was 10 μL. **Result:** Methanol or ethanol showed no significant difference in extraction of ferulic acid, hydroxyphthalide, alkylphthalide and diligustilide. Ethyl acetate displayed relatively low extraction ratios in hydroxyphthalide and ferulic acid. Water and petroleum ether showed relatively low extraction ratios in all four effective components, and water extracts showed different component characteristics. **Conclusion:** Ethanol and methanol are the most suitable solvents to extract four effective components from *L. chuanxiong*.

[Key words] *Ligusticum chuanxiong*; phthalides; extraction solvents; extraction efficiency; HPLC

doi:10.4268/cjmm20121317

[责任编辑 马超一]