

# 基于正交设计优化新鲜川芎中挥发油提取工艺

李超<sup>1,2</sup>, 刘云华<sup>1</sup>, 秦登云<sup>1</sup>,  
黄志芳<sup>1</sup>, 刘玉红<sup>1</sup>, 陈燕<sup>1</sup>, 易进海<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>四川省中医药科学院 中药材品质及创新中药研究四川省重点实验室, 成都 610041;

<sup>2</sup>西南医科大学药学院, 泸州 646000

**摘要:**为优化川芎挥发油提取工艺,建立以新鲜川芎为原料提取制备挥发油的新方法,采用正交试验设计对乙醇回流提取工艺条件进行优化,并进一步考察优选回收浓缩、油水分离等关键工艺参数。以藁本内酯和洋川芎内酯 A 作为指标成分,应用 HPLC 一测多评法进行含量测定。以提取量、油收率、油含量为评价指标,最终确定川芎挥发油提取制备新方法为:鲜川芎切片,加 8 倍量 70% 乙醇回流提取 2 次(以干药材计,第一次需测定鲜川芎水分,调节乙醇浓度为 70%),每次 1.5 h,滤液回收浓缩至 2.0~3.0 g 生药/mL,静置过夜,弃去水层,上层乳化层加热至 60 °C 离心,分取油层,余下乳化层再加氯化钠至饱和并加热至 60 °C 离心,合并油层,即得川芎挥发油。新方法所得川芎挥发油收率约为 3%,藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量达 70%。该研究所建立的新方法生产设备要求低、操作简便易行,可实现川芎挥发油的高效制备,且含量高、品质优,为川芎挥发油的工业化生产提供了新思路和新方法。

**关键词:**新鲜川芎;挥发油;乙醇提取;正交试验;制备工艺

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)5-0771-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.5.005

## Extraction process optimization of volatile oil from fresh *Ligusticum chuanxiong* based on orthogonal design

LI Chao<sup>1,2</sup>, LIU Yun-hua<sup>1</sup>, QIN Deng-yun<sup>1</sup>,  
HUANG Zhi-fang<sup>1</sup>, LIU Yu-hong<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>, YI Jin-hai<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Sichuan Provincial Key Laboratory of Quality and Innovation Research of Chinese Materia Medica,  
Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China;

<sup>2</sup>School of Pharmacy of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

**Abstract:** In order to optimize the extraction process of *Ligusticum chuanxiong* volatile oil, this study established a new method to extract volatile oil from fresh *L. chuanxiong* which used orthogonal experimental design to optimize the extraction process conditions of ethanol reflux, and further investigated the key process parameters such as recovery concentration and oil-water separation. With the ligustilide and senkyunolide A as index components, the content was determined by quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS). and the extraction amount, oil yield and oil content were evaluated as evaluation indexes. Finally, the new extraction and preparation method of *L. chuanxiong* volatile oil was determined as follows: Slice fresh *L. chuanxiong*, add 8 times the amount of 70% ethanol to extract it by reflux twice (calculated with reference to the dried drug, the moisture of fresh *L. chuanxiong* should be measured for the first time, and the ethanol concentration should be adjusted to 70%) for 1.5 hour each time, then recover and concentrate the filtrate to 2.0-3.0 g crude medicine/mL, left for overnight. Discarded the water layer, heat the upper emulsified layer to 60 °C, centrifuge, and then separate the oil layer. Add sodium chloride to the remaining emulsified layer to saturation, then heat to 60 °C and centrifuge. *L. chuanxiong* volatile oil is obtained by combining two centrifugal oil layers. The yield of *L. chuanxiong* volatile oil was about 3%, and the total amount of

收稿日期:2023-10-11

接受日期:2024-02-29

基金项目:国家中医药管理局-中央财政转移支付地方项目(A-2023N-8);四川省科技厅重点实验室中药材品质及创新中药研究项目(A-2022N-47);科研院所科技成果转化项目(24YSZH0021)

\*通信作者 Tel:86-28-85210843; E-mail:yijinhai63@163.com

ligustilide and senkyunolide A was 70%. This research established a new method which has low production equipment requirements, simple operation, and can realize the efficient preparation of the *L. chuanxiong* volatile oil with high content and excellent quality. Therefore, it provides a new idea and a new method for the industrial production of *L. chuanxiong* volatile oil.

**Key words:** fresh *Ligusticum chuanxiong*; volatile oil; ethanol extraction; orthogonal test; preparation process

中药川芎为伞形科藁本属植物 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。其性温、味辛、微苦,具活血行气、祛风止痛之功效,为“血中之气药”,常用于胸痹心痛、跌扑肿痛、经闭痛经、头痛等<sup>[1]</sup>。川芎富含挥发油(以下简称川芎油),其主要成分为苯酞(内酯)类化合物,目前从川芎中已分离鉴别出 70 余种,其中,以藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量最高<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明川芎油具有抗炎抗菌、解热解痉、镇静止痛、扩张血管、抗血栓形成、神经细胞保护作用<sup>[3-5]</sup>。川芎油疗效确切,需求量大,被广泛应用于医药、健康和日化产品,如已批准的以川芎油为药效物质基础的新药临床批件川芎总苯酞和川芎苯酞软胶囊等。

川芎油一般以干燥的川芎根茎或饮片为原料,采用水蒸气蒸馏法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法、有机溶剂萃取法等提取制备。水蒸气蒸馏法设备简单、操作简便,因川芎油为高沸点挥发油,水蒸气蒸馏提取不完全,故该法提取率低,仅约 0.4% ~ 0.9%<sup>[6,7]</sup>。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法设备昂贵、生产成本低,且高压操作安全隐患大,所得川芎油中含有大量脂肪酸等脂溶性非挥发性成分,故提取率高,约为 4% ~ 8%<sup>[8-10]</sup>,但其藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量较低。有机溶剂萃取法使用石油醚、正己烷、工业煤油等提取,易燃易爆安全性差,所得川芎油杂质较多,同样含脂肪酸等脂溶性非挥发性成分,故提取率高,含量低。

新鲜川芎采挖时,除去泥沙,晒后烘干,再去须根,得川芎药材;川芎药材除去杂质,洗净,润透,切厚片,干燥得川芎饮片<sup>[1]</sup>。川芎药材及饮片加工过程周期长,在晒烘、浸润、干燥、贮藏等过程中会发生部分化学成分挥发损失或转化,导致苯酞类成分含量显著降低<sup>[11,12]</sup>。该研究针对现有川芎油常规提取方法的缺陷与不足,以及川芎药材及饮片加工、炮制、贮藏过程中苯酞类成分的降解与损失问题,探索以新鲜川芎为原料替代干燥川芎,采用乙醇提取、回收浓缩、油水分离制备川芎油,该方法生产设备要求低、操作简便易行。以藁本内酯和洋川芎内酯 A 的提取总量为评价指标,应用正交试验设计对回流提

取中的乙醇浓度、料液比、回流时间、提取次数 4 个主要影响因素进行筛选优化,并进一步考察优选回收浓缩、油水分离等关键工艺参数,确定了以新鲜川芎为原料提取制备川芎油的新方法,以期为川芎油的工业化生产提供参考。

## 1 材料与仪器

新鲜川芎采购于四川省彭州市葛仙山镇八井村,经四川省中医药科学院李青苗研究员鉴定为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎。

SECURA225D-1CN 型十万分之一分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);Rotavapor R-3/R-220SE 型旋转蒸发器(瑞士 BUCHI 公司);SoRVALL ST16R 型高速离心机(美国赛默飞世尔科技公司);Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

丁苯酞对照品(中国食品药品检定研究院,纯度 ≥ 98%,批号:101035-202104);藁本内酯对照品(成都德思特生物技术有限公司,纯度 ≥ 90%,批号:DST230307-007);洋川芎内酯 A(成都德思特生物技术有限公司,纯度 ≥ 98%,批号:DSTDY000801);水为超纯水;甲醇为色谱纯;其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量测定

藁本内酯和洋川芎内酯 A 对照品不稳定,2020 年版《中国药典》尚未收录其含量测定方法,本实验采用课题组前期建立报道的 HPLC 测定方法<sup>[13]</sup>,以丁苯酞为内标,运用一测多评法同时测定供试品溶液中藁本内酯和洋川芎内酯 A 的含量,藁本内酯、洋川芎内酯 A 对丁苯酞的校正因子分别为 0.2263、0.4907。

#### 2.1.1 色谱条件

采用 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(52:48)等度洗脱;检测波长为 280 nm;流速 1.0 mL/min;柱温 35 °C;进样量 5 μL,理论塔板数按丁苯酞峰计算应不

低于 3 000<sup>[13]</sup>。

### 2.1.2 对照品溶液制备

精密称取丁苯酞对照品 16.48 mg, 置 25 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得丁苯酞对照品储备液; 精密称取藁本内酯对照品 11.93 mg, 置 25 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定

容至刻度, 摇匀, 即得藁本内酯对照品储备液; 精密称取洋川芎内酯 A 对照品 6.65 mg, 置 25 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得洋川芎内酯 A 对照品储备液; 分别精密量取上述对照品储备液各 1 mL, 置同一 10 mL 棕色容量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

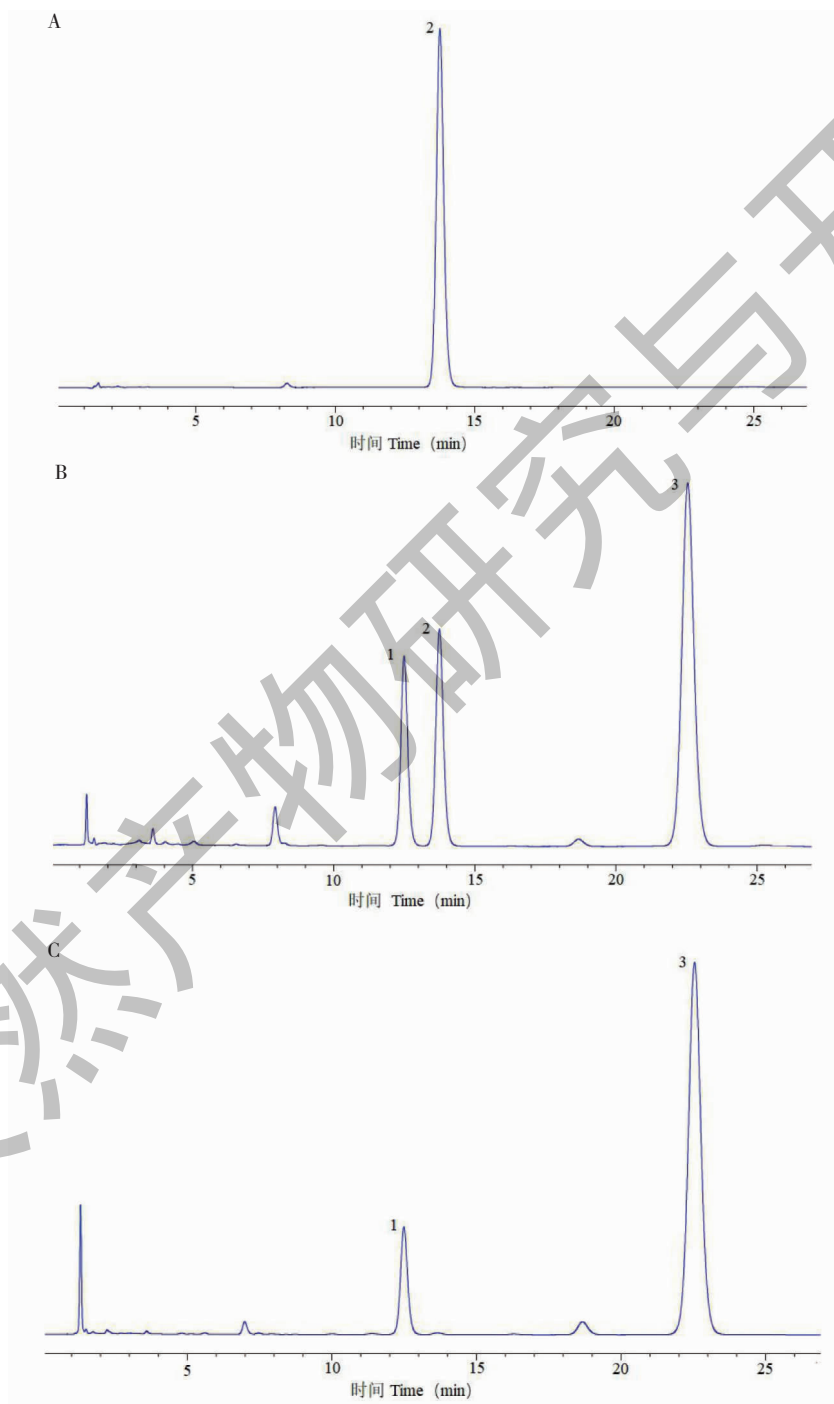


图1 丁苯酞对照品(A)、混合对照品(B)及供试品(C)溶液的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of butylphthalide control (A), mixed controls (B) and test sample (C)

注: 1-洋川芎内酯 A; 2-丁苯酞; 3-藁本内酯。 Note: 1-Senkyunolide A; 2-Butylphthalide; 3-Ligustilide.

### 2.1.3 供试品溶液制备

分别取醇提液 1 mL, 油水分离水层 1 mL, 川芎油约 20 mg 置于相应稀释倍数的棕色容量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理(功率 300 W, 频率 40 kHz) 15 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.1.4 专属性考察

分别吸取混合对照品溶液、供试品溶液 5  $\mu\text{L}$ , 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 结果见图 1, 溶剂无杂峰干扰, 在此色谱条件下, 藁本内酯、洋川芎内酯 A 分离度与峰型良好, 建立的分析方法具有专属性。

### 2.1.5 线性关系考察

精密吸取“2.1.2”项下 3 种对照品溶液适量, 用甲醇制成不同稀释浓度的系列溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积  $Y$  为纵坐标, 对照品浓度  $X$  (mg/mL) 为横坐标, 进行线性回归分析。得丁苯酞线性回归方程为  $Y = 2\,714.8X - 6.993$ , 线性范围 0.020 6 ~ 0.659 2 mg/mL ( $r = 0.999\,9$ ); 藁本内酯线性回归方程为  $Y = 10\,501X + 49.471$ , 线性范围 0.014 9 ~ 0.477 2 mg/mL ( $r = 0.999\,9$ ); 洋川芎内酯 A 线性回归方程为  $Y = 5\,441.6X + 5.725$ , 线性范围 0.008 3 ~ 0.265 8 mg/mL ( $r = 0.999\,9$ )。

## 2.2 川芎油提取制备方法

新鲜川芎洗净, 切片 2 ~ 3 mm, 加乙醇回流提取, 于 60  $^{\circ}\text{C}$  回收浓缩, 浓缩水液静置, 弃去下层水层, 取上层乳化层离心, 分取油层, 即得川芎油。

### 2.3 乙醇提取工艺优选

#### 2.3.1 新鲜川芎含水量测定

新鲜川芎切片 2 ~ 3 mm, 称取 300 g, 置于 60  $^{\circ}\text{C}$  烘干(水分按 2020 年版《中国药典》规定不得超过 12.0%), 根据减失重量计算含水量, 重复 3 次, 测得新鲜川芎含水量约为 63% (以干药材计, 下同)。

#### 2.3.2 正交试验

根据文献报道及预试验结果, 以藁本内酯和洋川芎内酯 A 的提取总量为评价指标, 选取乙醇浓度(A)、料液比(B)、提取时间(C)、提取次数(D) 4 个主要因素进行考察<sup>[14, 15]</sup>, 单因素考察结果显示, 乙醇浓度为 70% 时提取效果最佳, 故选取 60%、70%、80% 乙醇浓度; 乙醇用量(料液比) 越大提取效果越好, 但考虑到实际生产成本, 故选取常用的 8、10、12 倍乙醇量; 提取时长一般为 1 ~ 2 h, 故选取 1、1.5、2 h 进行考察; 一般提取 3 次基本能够提取完全, 故选取 1、2、3 次作为提取次数考察。因素与水平详见表 1。

表 1 正交试验因素与水平

Table 1 Factor and levels of orthogonal test

水平 Level	因素 Factor			
	A 乙醇浓度 Ethanol concentration	B 料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	C 提取时间 Extraction time (h)	D 提取次数 Extraction times
1	60%	1:8	1	1
2	70%	1:10	1.5	2
3	80%	1:12	2	3

称取 300 g 新鲜川芎(切片 2 ~ 3 mm) 9 份, 按  $L_9(3^4)$  正交试验表设计方案进行试验, 照“2.1.1”项下色谱条件测定各份醇提液中藁本内酯和洋川芎内酯 A 的总量, 试验设计及结果见表 2。采用 SPSS 23.0 分析软件对该结果进行方差分析, 详见表 3。由直观分析结果可知, 各因素影响大小顺序为  $D > A > C > B$ , 即影响提取效果的主要因素是提取次数, 其次是乙醇浓度、提取时间和料液比, 最优水平为  $A_2B_3C_3D_3$ ; 由方差分析结果可知,  $D$  因素有显著性影响 ( $P < 0.05$ ),  $A$ 、 $B$ 、 $C$  因素均无显著性差异。但考虑到工业化生产的适用性、节能降耗、提高生产

效率等实际情况, 且由表 2 正交试验结果可知,  $B$  因素的 1 水平、3 水平,  $C$  因素和  $D$  因素的 2 水平、3 水平差异不大, 可以探讨适当减少提取次数, 降低乙醇用量, 缩短提取时间的可行性, 故可考虑选择次优提取方案  $A_2B_1C_2D_2$  进行验证。

#### 2.3.3 验证试验

为进一步验证次优提取方案, 以藁本内酯和洋川芎内酯 A 的提取总量为考察指标, 新鲜川芎切片 2 ~ 3 mm, 称取 6 份 300 g, 对最佳方案  $A_2B_3C_3D_3$  与次优方案  $A_2B_1C_2D_2$  进行同法提取验证试验, 重复 3 次, 结果见表 4。由表 4 可见, 次优方案  $A_2B_1C_2D_2$

表2 正交试验设计与结果

Table 2 Design and results of orthogonal test

试验号 No.	A	B	C	D	藁本内酯和 洋川芎内酯 A 总量 Total amount of ligustilide and senkyunolide A (mg)
1	1	1	1	1	1 943.53
2	1	2	2	2	2 904.13
3	1	3	3	3	3 179.41
4	2	1	2	3	3 243.61
5	2	2	3	1	2 335.26
6	2	3	1	2	3 066.82
7	3	1	3	2	3 099.42
8	3	2	1	3	3 012.69
9	3	3	2	1	2 277.62
K <sub>1</sub>	8 027.07	8 286.56	8 023.04	6 556.41	-
K <sub>2</sub>	8 645.69	8 252.08	8 425.36	9 070.37	-
K <sub>3</sub>	8 389.73	8 523.85	8 614.09	9 435.71	-
R	206.21	90.59	197.02	959.77	-

表3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

来源 Source	离均差平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value
A	64 414.28	2	32 207.14	4.41	> 0.05
B	14 594.93	2	7 297.46	1.00	> 0.05
C	60 757.83	2	30 378.92	4.16	> 0.05
D	1 638 204.07	2	819 102.04	112.24	< 0.05

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

与最佳方案  $A_2B_3C_3D_3$  提取总量差异不大,略有降低 (< 10%),但可较大程度节约乙醇用量、缩短提取时间、降低生产成本,适合于工业化大生产。因此最终确定乙醇提取方案为  $A_2B_1C_2D_2$ ,即新鲜川芎加 8

倍量 70% 乙醇(以干药材计,第一次需测定鲜川芎水分,调节乙醇浓度为 70%),回流提取 2 次,每次 1.5 h。

表4 提取工艺验证试验结果

Table 4 Results of extraction process validation test

方案 Programmatic	试验号 No.	提取总量 Total extraction amount (mg)	平均值 Mean valve (mg)	RSD (%)
$A_2B_3C_3D_3$	1	3 485.53	3 513.62	0.71
	2	3 522.55		
	3	3 532.79		
$A_2B_1C_2D_2$	1	3 223.06	3 180.68	1.2
	2	3 150.21		
	3	3 168.77		

## 2.4 浓缩分离工艺优选

### 2.4.1 回收浓缩工艺

预试验表明回收浓缩程度对油水分离效果有显著影响,故取3份等量的川芎醇提液3 600 mL,每份含新鲜川芎700 g(折合干药材260 g),藁本内酯和洋川芎内酯A含量为2.1 mg/mL,3份醇提液分别于60℃减压回收浓缩至1.0、2.0、3.0 g/mL(以干药材计),收集回收乙醇,浓缩水液静置过夜,分取

水层,测定水层及回收乙醇中藁本内酯和洋川芎内酯A总量,计算损失率,结果见表5。由表5可见,浓缩至1.0、2.0、3.0 g/mL,回收乙醇中藁本内酯和洋川芎内酯A的总量均较低(损失率约为3%),但水层损失率分别为16.4%、6.3%、4.3%,为减少成分损失使产量最大化,故确定回收浓缩工艺为醇提液浓缩至2.0~3.0 g生药/mL,静置,弃下水层,得乳化层,备用。

表5 浓缩工艺优选结果

Table 5 Results of preferred enrichment process

部位 Part	浓缩程度 Concentrate degree (g/mL)	藁本内酯 Ligustilide (mg)	洋川芎内酯A Senkyunolide A(mg)	总量 Total amount(mg)	损失率 Loss rate (%)
回收乙醇 Recovered ethanol	1.0	170.53	28.09	198.62	2.7
	2.0	189.11	40.71	229.82	3.1
	3.0	212.76	40.15	252.91	3.4
水层 Water layer	1.0	917.34	309.60	1 226.93	16.4
	2.0	350.83	117.87	468.70	6.3
	3.0	241.80	78.89	320.69	4.3

### 2.4.2 油水分离工艺

预试验显示乳化层加热离心或加氯化钠离心有利于破乳和油水分离,进一步研究表明乳化层加热至60℃离心可除去大部分水层,此时剩余的乳化层较少,再加氯化钠至饱和并加热至60℃离心可使油水分离基本完全。

取3份等量的川芎醇提液3 600 mL(同“2.4.1”项),于60℃减压回收浓缩至2.5 g生药/mL,静置过夜,弃去水层,上层乳化层分别按下述方法进行处理。方法I:离心(8 000 r/min,5 min),余下乳化层再同法离心一次;方法II:加热至60℃离心(8

000 r/min,5 min),余下乳化层再同法离心一次;方法III:加热至60℃离心(8 000 r/min,5 min),余下乳化层加氯化钠至饱和并加热至60℃离心(8 000 r/min,5 min),分别收集方法I~III的川芎油,称定油重量、测定油中藁本内酯和洋川芎内酯A含量,结果见表6。由表6可知,方法III经两次离心可使油水分离基本完全,川芎油收率最高(约3%),显著高于方法I和II,三者含量均约为70%,故可依据油收率确定油水分离工艺为乳化层加热至60℃离心,分取油层,再加适量氯化钠至饱和并加热至60℃离心,合并油层即得川芎油。

表6 乳化层分离试验结果

Table 6 Results of emulsion layer separation test

分离方法 Separation method	出油量 Oil yield(g)	油收率 Oil recovery rate(%)	藁本内酯和 洋川芎内酯A总含量 Total content of ligustilide and senkyunolide A(%)
I	4.4	1.7	69.1
II	5.4	2.1	69.3
III	7.5	2.9	70.1

综上所述研究结果,确定川芎油提取制备新方法为:新鲜川芎切片,加8倍量70%乙醇(以干药材计,第一次需测定鲜川芎水分,调节乙醇浓度为70%),回

流提取2次,每次1.5 h,滤液浓缩至约2.0~3.0 g生药/mL。静置过夜,弃去水层,取上层乳化层加热至60℃离心,分取油层,余下乳化层再加氯化钠至

饱和并加热至 60 ℃ 离心,合并油层,即得川芎油。

## 2.5 中试放大研究

另取新鲜川芎 200 kg,按上述新方法进行 3 批中试试验,所得川芎油平均收率约为 2.5%,藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量约为 65%,油收率及含量总体较高,表明生产工艺稳定可行,适合于工业化大生产。

## 2.6 新鲜川芎与干燥川芎比较研究

相关研究表明,新鲜川芎中苯酞类成分在产地加工过程中受温度、光照等影响会发生化学结构的改变和转化,藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量降低,洋川芎内酯 I 和 H 含量增加<sup>[16,17]</sup>。

为进一步验证新鲜川芎提取川芎油的优越性,取同一批新鲜川芎等分成六份,三份按“2.4.2”项下新方法提取制备川芎油;另三份晒干,贮藏 5 个月后同法制备川芎油,测定含量,其中每份川芎以干药

材 185 g 计(鲜川芎为 500 g),以藁本内酯和洋川芎内酯 A 提取总量、油收率及油含量为指标进行比较,结果以基于样品重复数据( $n=3$ )的平均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,详见表 7。由表 7 可见,新鲜川芎与干燥川芎相比,前者油收率约为(3.01 $\pm$ 0.03)%,藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量约为(69.97 $\pm$ 0.35)%;后者油收率约为(2.06 $\pm$ 0.03)%,藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量约为(55.90 $\pm$ 0.30)%。应用 SPSS 23.0 分析软件对数据进行显著性差异分析,分析结果表明,相较于新鲜川芎,干燥川芎的藁本内酯和洋川芎内酯 A 提取总量、油收率和油含量均显著降低( $P<0.01$ ),进一步证明了新鲜川芎采用上述新方法提取制备川芎油的合理性和优越性,所得川芎油不仅收率和含量高,且省去了晒烘、炮制、贮藏等繁琐的处理过程。

表 7 鲜川芎和干川芎提取川芎油数据比较( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 7 Comparison of data on the extraction of volatile oil from fresh and dried *L. chuanxiong* ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

原料 Raw material	提取总量 Total extraction amount (mg)	出油量 Oil yield (g)	油收率 Oil recovery rate (%)	藁本内酯和洋川芎内酯 A 总含量 Total content of ligustilide and senkyunolide A (%)	转移率 Transfer rate (%)
鲜川芎 Fresh <i>L. chuanxiong</i>	5 490.00 $\pm$ 80.47	5.57 $\pm$ 0.06	3.01 $\pm$ 0.03	69.97 $\pm$ 0.35	70.93 $\pm$ 0.15
干川芎 Dried <i>L. chuanxiong</i>	3 445.67 $\pm$ 54.92*	3.81 $\pm$ 0.05*	2.06 $\pm$ 0.03*	55.90 $\pm$ 0.30*	61.77 $\pm$ 0.42*

注:\*与鲜川芎相比,差异极显著( $P<0.01$ )。

Note: Compared with fresh *L. chuanxiong*, the differences are highly significant ( $P<0.01$ ).

## 3 讨论与结论

从新鲜川芎到川芎药材及饮片的加工炮制过程以及后续贮藏期间,川芎苯酞类成分易发生氧化分解和多种异构化反应,导致该类成分含量显著降低。目前尚未见国内外有关于新鲜川芎提取制备挥发油的工艺研究相关报道,该研究以新鲜川芎为原料,采用常规的乙醇提取、回收浓缩、油水分离制备川芎油,方法简便可行,且所提川芎油中藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量高。既省去了川芎加工处理与贮藏过程,又避免了苯酞类成分的转化与损失,同时也降低了川芎油的生产成本,较传统的以干川芎为原料提取挥发油具有明显优势。

该研究以藁本内酯和洋川芎内酯 A 总量为评价指标,应用正交试验设计,考察回流提取中乙醇浓度、料液比、回流时间、提取次数对提取效果的影响,进一步对回收浓缩、油水分离等关键工艺参数进行优化,确定了新鲜川芎提取制备川芎油的新方法。张丽娜等<sup>[18]</sup>以《中国药典》挥发油提取甲法对新鲜、

干燥川芎的根进行挥发油提取,油收率分别仅为 0.23%、0.46%。运用本研究新方法所得川芎油收率约 3%,具有明显提取优势,油中藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量高达 70%,不仅实现川芎油的高效制备,而且所得油含量高、品质优。

相关研究表明,在一定温度范围内,升高提取温度,藁本内酯和洋川芎内酯 A 提取量亦增加;当温度高于 80 ℃,提取量变化不明显<sup>[19,20]</sup>,故本实验控制微沸状态(80~90 ℃)提取可消除温度因素影响同时使提取率最大化。此外,在考察苯酞类成分回流过程的稳定性时还发现,该类成分在提取过程中相对稳定,含量无明显变化,故可以藁本内酯和洋川芎内酯 A 含量作为其工艺优化指标。川芎苯酞类化合物为脂溶性成分,难溶于水,在考察水液温度对有效成分损失的影响中还发现,藁本内酯和洋川芎内酯 A 在 25、40、50、60 ℃ 的水液中溶解度差异均不大,故将乳化层加热至约 60 ℃ 离心,不仅有利于油水分离,而且水层有效成分损失亦不大。进一步

工业化中试放大试验显示,采用三效蒸发器于 60 ℃ 减压浓缩,回收乙醇中藁本内酯、洋川芎内酯 A 的含量和损失率明显高于实验室小试试验,前者损失约 10% ~ 15%,后者损失约 3% ~ 5%,可能与回收设备原理性能不同有关;此外,还发现回收温度对苯酞类成分的损失有一定的影响,三效蒸发器于 50 ℃ 回收浓缩可明显降低有效成分的损失。实际生产中,回收乙醇循环使用,可进一步降低有效成分的损失,提高川芎油收率,同时还可极大降低生产成本,对于川芎油工业化生产具有极重要的意义。

### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I(中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing:China Medical Science Press,2020.
- 2 Ren WG et al. Research progress and predictive analysis of quality markers in Rhizoma Ligustici Chuanxiong [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol(世界科学技术-中医药现代化),2021,23:3307-3314.
- 3 Wang M, Qiao AP, Jia XG et al. Study on mechanism of Gastrodiae Rhizoma-Chuanxiong Rhizoma herb pair in the treatment of hypertension based on network pharmacology and molecular docking technology [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:473-483.
- 4 Liu SS, Zheng Q, Yue PF, et al. Effect and mechanism of phthalides from *Ligusticum chuanxiong* on oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced MDCK-MDR1 cell injury [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2021,52:2958-2966.
- 5 Wu XM, Qian ZM, Zhu L, et al. Neuroprotective effect of ligustilide against ischaemia-reperfusion injury via up-regulation of erythropoietin and down-regulation of RTP801 [J]. Br J Pharmacol,2011,164:332-343.
- 6 Wei XC, Yang ST, Zhang Y, et al. GC-MS analysis of two assistant methods on extracting volatile oil from Chuanxiong Rhizoma [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2019,41:129-134.
- 7 Zou JB, Zhang XF, Shi YJ, et al. The investigation of key factors influencing the extraction process of chuanxiong oil by steam distillation [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志),2019,54:1468-1474.
- 8 Li YH, Yi JH, Guan YL, et al. GC-MS analysis of essential oil from the roots of *Ligusticum chuanxiong* with supercritical fluid extraction [J]. Chin J Anal Lab(分析试验室),2007,26:106-108.
- 9 Zeng Z, Xie RQ, Tan LX, et al. GC-MS analysis and determination of chemical components of the extracts from *Ligusticum chuanxiong* Hort. by steam distillation and supercritical CO<sub>2</sub> extraction [J]. Chin J Appl Chem(应用化学),2011,28:956-962.
- 10 Deng P, Wei FX, Wen W, et al. Comparative study on volatile oil in Rhizoma chuanxiong by steam distillation and supercritical fluid extraction [J]. J Pharm Pract(药学实践杂志),2020,38:152-155.
- 11 Jin YQ, Lu GH, Wei BP, et al. Chemical change of chuanxiong raw materials during storage [J]. J Chin Med Mater(中药材),2013,36:38-41.
- 12 Lan ZQ, Zheng L, Ai QQ, et al. Research on quality change of chuanxiong slices under the different storage conditions [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2016,27:459-461.
- 13 Yang Y, Liu YH, Huang ZF, et al. Determination of senkyunolide A and ligustilide in Chuanxiong Rhizoma and *Angelicae sinensis* Radix by QAMS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2015,21:58-62.
- 14 Hu J, Feng LL, Liu Y, et al. Study on the determination of extraction of ligustilide in Radix Angelicae Sinensis and Rhizoma Chuanxiong [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报),2005,22:145-148.
- 15 Ji GH, He W, Li Y, et al. Study on optimizing the extraction process of ferulic acid and ligustilide in *Ligusticum chuanxiong* Hort. [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志),2015,21:16-19.
- 16 Chen R, Yin DD, Yang M, et al. Comparison of six active components between fresh and dried Rhizoma Ligustici Chuanxiong based on ultra-high-performance liquid chromatography [J]. J Anhui Univ Chin Med(安徽中医药大学学报),2019,38:84-88.
- 17 Zuo AH, Cheng MC, Zhuo RJ, et al. Structure elucidation of degradation products of Z-ligustilide by UPLC-QTOF-MS and NMR spectroscopy [J]. Acta Pharm Sin(药学学报),2013,48:911-916.
- 18 Zhang LN, Zhao L, Song N, et al. GC-MS analysis of volatile oils from fresh and dried roots, stems, leaves and flowers of *Ligusticum chuanxiong* [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2021,43:532-535.
- 19 Zhu JX, He W, Li Y, et al. Optimization of the extraction process of ligustilide from *Ligusticum chuanxiong* by response surface analysis [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2011,33:2172-2175.
- 20 Lv W, Wu L, Luo HL, et al. Optimization of extraction process of *Ligusticum chuanxiong* by central composite design-response surface method [J]. Drug Eval Res(药物评价研究),2014,37:53-57.