

Extraction of *Veratrum nigrum* L. with Microwave Irradiation and Ultrasonic Wave

Ning Qin^{1,2}, Mixia Ma³, Ning Hu⁴, Qing Min^{1*}, Kaiyuan Shao², Wenxiang Hu^{2,3,5*}

¹School of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei

²Jingdong Xianghu Microwave Chemistry Union Laboratory, Beijing Excalibur Space Military Academy of Medical Sciences, Beijing

³School of Chemistry and Environmental Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan Hubei

⁴School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan Hubei

⁵Space Systems Division, Strategic Support Troops, Chinese People's Liberation Army, Beijing

Email: *baimin0628@163.com, *huwx66@163.com

Received: Jan. 4th, 2019; accepted: Jan. 21st, 2019; published: Jan. 31st, 2019

Abstract

Veratrum nigrum L. has the effect of killing mites. It is a traditional Chinese medicine that has little use because it is toxic and incompatible with a variety of traditional Chinese medicines. At present, the pharmacological effects of *Veratrum nigrum* L. are not sufficient, but the resveratrol contained in the gourd has good protection in the cardiovascular system, liver, nervous system and antibacterial, anti-inflammatory, anti-viral, anti-tumor and other aspects. In this paper, three methods of microwave, ultrasonic, microwave and ultrasonic are combined to study the extraction of *Veratrum nigrum* L. The optimal extraction conditions of hoist are optimized by uniform design method to provide experimental basis for subsequent research.

Keywords

Veratrum nigrum L., Resveratrol, Microwave Extraction, Ultrasonic Extraction, Uniform Design

藜芦的微波超声波提取研究

秦 宁^{1,2}, 马密霞³, 胡 宁⁴, 闵 清^{1*}, 邵开元², 胡文祥^{2,3,5*}

¹湖北科技学院药学院, 湖北 咸宁

²北京神剑天军医学科学院京东祥鹤微波化学联合实验室, 北京

³武汉工程大学化学与环境工程学院, 湖北 武汉

⁴武汉轻工大学生物与制药工程学院, 湖北 武汉

⁵中国人民解放军战略支援部队航天系统部, 北京

Email: *baimin0628@163.com, *huwx66@163.com

*通讯作者。

收稿日期：2019年1月4日；录用日期：2019年1月21日；发布日期：2019年1月31日

摘要

藜芦本身有毒且与多种中药存在配伍禁忌，故是一味临床使用不多的中药。藜芦具有杀虫祛痰的传统功效，目前对藜芦的药理作用研究尚不充分，但是藜芦中含有的白藜芦醇在保护心血管系统、肝脏、神经系统和抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤等多方面都具有很好的作用。采用微波、超声波、微波与超声波组合三种方法，对藜芦进行了提取研究，通过均匀设计法优选藜芦的最优提取条件，为后续相关研究提供实验基础。

关键词

藜芦，白藜芦醇，微波提取，超声波提取，均匀设计

Copyright © 2018 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

藜芦又称黑藜芦、山葱、大叶藜芦等，是一味传统中药，始载于《神农本草经》，列为下品。其性寒，味辛，有毒，入肝经，具有祛风痰、杀虫毒的功效，用于中风痰涌、风痫癫疾、黄疸、久疟、泄痢、恶疮等症的治疗[1][2][3]。“十八反”中六参(人参、党参、沙参、玄参、苦参、丹参)皆反藜芦[4]，《本草经集注》中记载藜芦“黄连为之使；反细辛、芍药、五参，恶大黄。”中药藜芦一般认为来源于百合科藜芦属植物藜芦 *Veratrum nigrum* L.的干燥根及根茎。每年5~6月抽花茎前采挖根部，除去地上部分，洗净晒干或用开水浸烫后晒干，即得，并以根粗坚实，断面粉性者为佳[5][6]。全国大部分地区有产，主要分布于山西、河北、河南、山东、陕西、四川等地。现代药理学对藜芦的降压作用有一些研究，有关藜芦的其他药理作用研究和应用较少[7][8]。

藜芦中除含有多种生物碱类成分外，还含有 β -谷甾醇类和芪类化合物[9]。在藜芦中含有的多种芪类化合物中含量较高的是芪三酚[10]，又称白藜芦醇，是非黄酮类的多酚化合物，分子式为 $C_{14}H_{12}O_3$ ，为白色针状结晶，难溶于水，易溶于有机溶剂[11][12]。以白藜芦醇为主要成分制备的保健品，在美国、日本、加拿大、西班牙等国应用较广泛。目前大量药理实验研究表明：白藜芦醇在抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、保护心血管系统、保护神经系统、免疫调节等方面均具有显著作用[13]-[18]。因此，综合考虑藜芦的产地多、产量较大而作为中药的使用量较少，藜芦的药理作用研究较少且白藜芦醇具有多种良好的药理作用，因此本实验对藜芦中提取白藜芦醇的方法进行优选，不仅可以为研究藜芦的药理作用提供实验基础，还可以为分离得到白藜芦醇提供有效方法。

2. 仪器与试剂

2.1. 仪器

XH-300UL 电脑微波超声波紫外光组合催化合成仪(北京祥鹤科技发展有限公司)，旋转蒸发器 RE-52 (上海亚荣生化仪器厂)，DXF-10C 型 500 克密封型摇摆式粉碎机(广州市大祥电子机械设备有限公司)，恒

温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司), HG-9076A 型温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司), SHB-III型台式循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司), JM-B5Kg 型电子天平(诸暨市超泽衡器设备有限公司), 异形三口瓶(100 ml, 250 ml)等。

2.2. 试剂与药材

无水乙醇, 95%乙醇(以上试剂均为分析纯), 蒸馏水。

本实验所用藜芦经鉴定为百合科藜芦属植物藜芦 *Veratrum nigrum* L. 的干燥根及根茎。

3. 实验方法与结果

3.1. 藜芦的预处理

将干燥的藜芦根及根茎粉碎, 过 60 目筛, 得藜芦粉末(批号: 20180916)。

3.2. 藜芦提取的实验设计

3.2.1. 实验方案与结果

本实验每组称取藜芦粉末(批号: 20180916) 5.0 g 于异形三口瓶中, 加入提取溶剂, 先在室温条件下磁力搅拌 20 min, 通过使用 XH-300UL 电脑微波超声波紫外光组合催化合成仪, 根据各组的实验条件, 在确定微波功率为 400 W, 超声波功率为 1500 W 的情况下, 考察了提取时间(A)、提取温度(B)、提取溶剂乙醇浓度(C)、料液比(D)四个因素在六个水平上的均匀设计实验[19] [20] [21] [22], 实验结果见下表 1~表 3。

Table 1. Uniform design of microwave extraction of resveratrol in gourd

表 1. 藜芦中白藜芦醇微波提取的均匀设计

实验号	A 提取时间 (min)	B 提取温度 (°C)	C 乙醇浓度 (%)	D 料液比	蒸发皿重 (g)	蒸发皿 + 浸膏重 (g)	浸膏重 (g)	浸膏得率 (%)	平均浸膏得率 (%)
1	3(1)	50(2)	40(3)	1:35(6)	162.93	161.3	1.63	32.6	
2	5(2)	70(4)	70(6)	1:30(5)	153.56	151.91	1.65	33.0	
3	10(3)	90(6)	30(2)	1:25(4)	286.65	285.37	1.28	25.6	27.6
4	20(4)	40(1)	60(5)	1:20(3)	161.05	159.73	1.32	26.4	
5	30(5)	60(3)	20(1)	1:15(2)	163.32	162.25	1.07	21.4	
6	40(6)	80(5)	50(4)	1:10(1)	185.84	184.51	1.33	26.6	

Table 2. Uniform design of ultrasonic extraction of resveratrol in gourd

表 2. 藜芦中白藜芦醇超声波提取的均匀设计

实验号	A 提取时间 (min)	B 提取温度 (°C)	C 乙醇浓度 (%)	D 料液比	蒸发皿重 (g)	蒸发皿 + 浸膏重 (g)	浸膏重 (g)	浸膏得率 (%)	平均浸膏得率 (%)
1	3(1)	50(2)	40(3)	1:35(6)	167.3	166.32	0.98	19.6	
2	5(2)	70(4)	70(6)	1:30(5)	142.22	141.06	1.16	23.2	
3	10(3)	90(6)	30(2)	1:25(4)	104.7	103.52	1.18	23.6	23.9
4	20(4)	40(1)	60(5)	1:20(3)	161	159.71	1.29	25.8	
5	30(5)	60(3)	20(1)	1:15(2)	163.34	162.27	1.07	21.4	
6	40(6)	80(5)	50(4)	1:10(1)	127.78	126.29	1.49	29.8	

Table 3. Uniform design of microwave combined ultrasonic extraction of resveratrol in gourd**表 3.** 藜芦中白藜芦醇微波组合超声波提取的均匀设计

实验号	A 提取时间 (min)	B 提取温度 (°C)	C 乙醇浓度 (%)	D 料液比	蒸发皿重 (g)	蒸发皿 + 浸膏重 (g)	浸膏重 (g)	浸膏得率 (%)	平均浸膏得率 (%)
1	1.5(1)	50(2)	40(3)	1:35(6)	153	151.91	1.09	21.8	27.23
2	2.5(2)	70(4)	70(6)	1:30(5)	132.64	131.03	1.61	32.2	
3	3.5(3)	90(6)	30(2)	1:25(4)	127.36	126.32	1.04	20.8	
4	4.5(4)	40(1)	60(5)	1:20(3)	105.54	103.56	1.98	39.6	
5	5.5(5)	60(3)	20(1)	1:15(2)	138.77	138	0.77	15.4	
6	7.5(6)	80(5)	50(4)	1:10(1)	136.9	135.22	1.68	33.6	

3.2.2. 实验结果的处理方法

浸膏重的计算方法：将各组经过不同提取方法得到的溶液先减压抽滤，除去滤渣，再将滤液用旋转蒸发仪浓缩至适量，之后倒入已称重记录并干燥至恒重的蒸发皿中，在水浴加热条件下蒸发干至恒重并称量浸膏与蒸发皿总重记录。浸膏重(g) = 浸膏与蒸发皿总重(g) - 蒸发皿重(g)

浸膏得率的计算公式：浸膏得率(%) = 浸膏重(g)/称取药粉重(g)*100%

平均浸膏得率计算公式：平均浸膏得率(%) = 三种不同提取方法的 6 组实验浸膏得率之和(%) / 6

3.2.3. 实验结果讨论

由表 1~表 3 中的实验结果，可以看出微波提取藜芦、超声波提取藜芦、微波组合超声波提取藜芦三种提取方法中，以平均提取率为评价指标，三者之间的关系为：微波提取法 > 微波组合超声波提取法 > 超声波提取法，微波提取法与微波组合超声波提取法相差较小，考虑到时间和能源成本，微波组合超声波提取法可以用于藜芦的提取。

以上三种提取方法中不同提取方法中的最优提取工艺分别为：采用微波提取法，提取时间 5 min，提取温度 70°C，70%的乙醇为提取溶剂，料液比为 1:30；采用超声波提取法，提取时间 40 min，提取温度 80°C，50%的乙醇为提取溶剂，料液比为 1:10；采用微波组合超声波提取法，提取时间 4.5 min，提取温度 40°C，60%的乙醇为提取溶剂，料液比为 1:20。以上 18 组实验，优选得到的最优提取工艺为：采用微波组合超声波提取法，提取时间 4.5 min，提取温度 40°C，60%的乙醇为提取溶剂，料液比为 1:20。

4. 结论

本文通过均匀设计法考察了微波、超声波、微波组合超声波提取藜芦的最优条件，优选到的条件可以为藜芦的后续研究提供其提取工艺选择的实验数据基础。本实验以藜芦提取率为评价指标，优选得到浸膏得率最高的条件是采用微波组合超声波提取法，提取时间 4.5 min，提取温度 40°C，60%的乙醇为提取溶剂，料液比为 1:20。有关成分的定量测定工作尚在进一步进行之中。

本实验采用的微波、超声波、组合微波超声波三种方法对藜芦进行提取尚未见文献报道，可推广应用到其他中药或天然产物有效成分的提取研究。

参考文献

- [1] 周长新. 藜芦属两种植物的化学成分及生物活性研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京大学, 2000.
- [2] 周剑侠. 三种藜芦属植物化学成分研究[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海中医药大学, 2006.
- [3] 赵瑜, 陆国才, 张卫东, 等. 藜芦生物碱药理和毒理学研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(3): 240-242.

- [4] 张旭, 宋凤瑞, 王隶书, 等. 人参与藜芦配伍化学成分变化的 HPLC-ESI-MS 与 ESI-MS 研究[J]. 化学学报, 2007, 65(9): 829-833.
- [5] 李彩霞. 藜芦与其伪品萱草根鉴别[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(8): 716.
- [6] 徐瞰海, 徐雅红. 藜芦属植物化学成分和药理作用[J]. 国外医药(植物药分册), 2002, 17(5): 185-189.
- [7] 尹子丽, 谭文红, 杨仙雨, 等. 藜芦属药用植物研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2013, 34(8): 61-63.
- [8] 全香花, 朴惠善, 孙向红, 等. 兴安藜芦的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(12): 914-916.
- [9] 谢志民, 余国奠, 徐国钧. 藜芦的本草学研究[J]. 西北药学杂志, 1989(2): 38-41.
- [10] Liao, W.J., Song, Q.F. and Zhang, D.Y. (2006) Pollen and Resource Limitation in *Veratrum nigrum* L. (Liliaceae), an Andromonoecious Herb. *Journal of Integrative Plant Biology*, **48**, 8. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2006.00383.x>
- [11] 丛悦, 王金辉, 李铤. HPLC 法测定藜芦中虎杖苷和白藜芦醇的含量[J]. 中国现代中药, 2005, 7(7): 16-17.
- [12] 李静. 兴安藜芦的化学成分研究[D]: [硕士学位论文]. 开封: 河南大学, 2014.
- [13] 王建民, 魏苑, 钟慈声, 等. 乌苏里藜芦生物碱对豚鼠心肌细胞动作电位及钙电流的影响[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(12): 1403-1405.
- [14] 周剑侠, 康露, 沈征武. 黑紫藜芦化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2006, 16(5): 303-305.
- [15] 王斌, 李慧梁, 汤建, 等. 藜芦的黄酮类化学成分研究[J]. 药学服务与研究, 2007, 7(5): 347-349.
- [16] 薛兵. 藜芦植物中生物碱的提取纯化及抑菌活性研究[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2013.
- [17] 汤建. 兴安藜芦抗肿瘤活性成分的发现及结构修饰[D]: [博士学位论文]. 上海: 上海交通大学, 2008.
- [18] Wang, B., Li, H.L., Tang, J., et al. (2007) Studies on the Chemical Constituents of Flavones of *Veratrum nigrum* L. *Pharmaceutical Care & Research*, **7**, 347-349.
- [19] 方开泰. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [20] 秦宁, 闵清, 马密霞, 张军军, 白育庭, 邵开元, 胡文祥. 花生芽中白藜芦醇的微波和超声波组合提取研究[J]. 微波化学, 2018, 2(2): 50-55. <https://doi.org/10.12677/MC.2018.22008>
- [21] 秦宁, 闵清, 马密霞, 胡文祥. 微波辅助提取中药成分研究进展[J]. 微波化学, 2018, 2(3): 79-84. <https://doi.org/10.12677/MC.2018.23012>
- [22] 韩谢, 吴元欣, 邵开元, 胡文祥. 微波萃取技术在天然产物提取中的应用[J]. 微波化学, 2017, 1(1): 3-7. <https://doi.org/10.12677/mc.2017.11002>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2576-1110, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: mc@hanspub.org