

低共熔溶剂提取淫羊藿黄酮类成分及回收工艺研究



罗江南^{1,2}, 封传华³

1. 中国中医科学院中医药健康产业研究所 (南昌 330115)

2. 江西中医药健康产业研究院 (南昌 330115)

3. 南昌大学第一附属医院药学部 (南昌 330000)

【摘要】目的 探究低共熔溶剂法提取淫羊藿中黄酮类化合物的最佳提取工艺。**方法** 以淫羊藿中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的总提取率作为评价指标, 在料液比、摩尔比、含水率、提取温度、提取时间等单因素试验的基础上结合正交试验设计对淫羊藿中黄酮类成分的提取工艺进行优化, 并利用大孔树脂对溶剂中的成分进行回收。**结果** 氯化胆碱与乙醇胺形成的低共熔溶剂提取效果最好, 当氯化胆碱与乙醇胺的摩尔比为 1:4、料液比为 0.5 g:25 mL、含水率为 50%、提取温度为 70 ℃、提取时间为 15 min 时, 总提取率为 (20.07 ± 0.43) mg/g, 且 AB-8 大孔树脂能够回收低共熔溶剂中的黄酮类成分, 平均回收率为 88.29%。**结论** 低共熔溶剂较传统提取溶剂提取效率高, 回收工艺简单, 回收率高, 在中药活性成分提取应用中有巨大的潜力。

【关键词】 淫羊藿; 提取工艺; 黄酮类成分; 低共熔溶剂; 氯化胆碱; 乙醇胺; 正交试验设计; 大孔树脂; 回收工艺; 多糖; 生物碱

【中图分类号】 R284.2 **【文献标识码】** A

Study on extraction and recovery technology of flavonoids from Epimedium folium in deep eutectic solvents

LUO Jiangnan^{1,2}, FENG Chuanhua³

1. Institute of Traditional Chinese Medicine Health Industry, China Academy of Chinese Medical Sciences, Nanchang 330115, China

2. Jiangxi Health Industry Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330115, China

3. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, China

Corresponding author: FENG Chuanhua, Email: fengch1986@126.com

【Abstract】Objective To explore the optimal extraction process of flavonoids from Epimedium folium by deep eutectic solvent method. **Methods** Using the extraction rate of epimedin A, epimedin B, epimedin C and icariin in Epimedium folium as evaluation indices, the extraction process of flavonoids in Epimedium folium was optimized based on single factor experiments such as solid-liquid ratio, molar ratio, moisture content, extraction temperature, and extraction time, combined with orthogonal experimental design, and the components in the solvent were

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202403187

基金项目: 江西省中医药管理局科技计划项目 (2022B1016、2022B1026); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目 (ZZ16-ND-12)

通信作者: 封传华, 博士, 主管药师, Email: fengch1986@126.com

<https://yxqy.whuzhmedj.com>

recovered using macroporous resin. **Results** The deep eutectic solvent formed by choline chloride and ethanolamine had the best extraction effect. When the molar ratio of choline chloride to ethanolamine was 1 : 4, the solid-liquid ratio was 0.5 g : 25 mL, the water content was 50%, the extraction temperature was 70 °C, and the extraction time was 15 minutes, the total extraction rate was (20.07±0.43) mg/g, and the AB-8 macroporous resin could recover flavonoids in the eutectic solvent with an average recovery rate of 88.29%. **Conclusion** Deep eutectic solvents have great potential in the extraction of active ingredients in traditional Chinese medicine due to their simple preparation and higher extraction efficiency compared to traditional solvents.

【Keywords】 Epimedii folium; Extraction technology; Flavonoids; Deep eutectic solvent; Choline chloride; Ethanolamine; Orthogonal experimental design; Macroporous adsorption resins; Recovery technology; Polysaccharide; Alkaloid

淫羊藿又名仙灵脾，为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim.、箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.、柔毛淫羊藿 *Epimedium pubescens* Maxim. 或朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai 的干燥叶，淫羊藿中富含黄酮、多糖、生物碱等多种化学成分，具有抗骨质疏松、抗肿瘤、免疫调节、影响生殖系统等作用^[1-5]，其中黄酮类成分是主要的活性物质，包括淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 等，淫羊藿苷及总黄酮可通过提升大鼠胸腺指数和小鼠的外周血指标，达到对免疫系统的保护作用^[6-7]；淫羊藿苷可改善卵巢组织功能，起到保护卵巢和预防早衰的作用^[8]；淫羊藿苷可调控相关蛋白的表达来改善小鼠心肌纤维化^[9]；淫羊藿苷和朝藿定 A、B、C 均能抑制肿瘤生长^[10-11]。以上研究表明，淫羊藿苷表现出广泛的药效作用，且淫羊藿苷和朝藿定 A、B、C 是《中国药典》规定的质量控制成分。因此，从淫羊藿中高效提取淫羊藿苷等黄酮类成分，并对其进行深入的研究具有重要意义。

有机溶剂在化学合成、储存和分离过程中具有重要作用，但其具有高度挥发性、亲脂性和毒性，对人体和环境有害，绿色化学一直是国际学术研究的前沿领域和研究热点。低共熔溶剂（deep eutectic solvents, DESs）相比传统溶剂，具有黏度大、溶解度大、易制备、安全无毒等特点，其萃取能力要远高于传统溶剂^[12]；由于 DESs 具有较高的沸点，故常规的减压浓缩的回收溶剂方式无法回收 DESs，大孔树脂吸附法常用将来将 DESs 与活性成分分开，达到回收活性成分的目的。

本文基于绿色提取的理念，利用 DESs 提取淫羊藿中黄酮类成分，同时观察 DESs 对淫羊藿苷、

朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 4 种成分的提取效果，故以淫羊藿苷、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 4 种成分的总提取率为评价指标，优化提取工艺，并利用大孔树脂回收提取液中的活性成分，为淫羊藿药材活性成分的药效学研究奠定基础，为 DESs 绿色、高效提取提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪，包括 DAD 检测器、Openlab CDS 2.x 色谱工作站（美国 Agilent 公司）；XSR105 型十万分之一分析天平和 ME204 型万分之一分析天平购自梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；SB25-12D 超声波清洗仪（宁波新艺超声设备有限公司）；MiLi-Q 纯水仪（美国 milipore 公司）；大孔树脂 D101、AB-8、HPD100（沧州宝恩吸附材料科技有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

对照品朝藿定 A（批号：MUST-21112118，纯度 99.51%）、朝藿定 B（批号：MUST-21110403，纯度 99.23%）、朝藿定 C（批号：MUST-21100310，纯度 99.11%）均购自成都曼思特生物科技有限公司；对照品淫羊藿苷（中国食品药品鉴定研究院，批号：110737-202017，纯度 98.1%）；乙腈（色谱纯，美国 Fisher 公司，批号：F21LCL201）；氯化胆碱（上海麦克林生化科技有限公司，批号：C16658717）；尿素（批号：RH596349）、乙醇胺（批号：RH463983）、1,4-丁二醇（批号：RH426990）、乙二醇（批号：C15765681）和甘油（批号：RH461222）均购自上海易恩化学技术有限公司；乳酸（上海阿拉丁

生化科技股份有限公司，批号：E2416257）；其余试剂为分析纯；淫羊藿药材（安徽佰草阁中药科技有限公司，产地：甘肃西河，批号：202202001）经江西中医药大学邓可众教授鉴定为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim.。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 混合对照品溶液的制备

分别取朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷对照品各适量，精密称定，加入甲醇溶解并稀释制成质量浓度分别为 122.16、161.60、256.04、161.28 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，备用。

2.1.2 供试品溶液的制备

取本品叶片，粉碎过三号筛，取 0.5 g 粉末，精密称定，置于离心管中，加入 25 mL 含水量为 40% 的 DESs，涡旋混匀后置于超声清洗器中，设定超声温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ ，提取时间为 20 min。提取完成后 15 285 $\times g$ 离心 10 min，取上清液 1 mL，稀释 5 倍后用 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得供试品溶液。

2.1.3 色谱条件

色谱柱：Agilent ZORBAX SB- C_{18} 柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μm ）；流动相：乙腈（A）-0.1% 磷酸（B），梯度洗脱（0~12 min，9% $\rightarrow$ 12% A；12~13 min，12% $\rightarrow$ 21% A；13~21 min，21% A；21~22 min，21% $\rightarrow$ 25% A；22~40 min，25% A；40~41 min，25% $\rightarrow$ 44% A；41~51 min，44% A）；流速：1.0 mL/min，检测波长：270 nm，柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量：10 μL ^[13]。HPLC 色谱图见图 1。

2.2 线性考察

取“2.1.1”项下的混合对照品溶液适量，用甲醇稀释制成不同浓度的混合对照品溶液，其中朝藿定 A 122.16、61.08、30.54、15.27、7.64、3.82 $\mu\text{g/mL}$ ，朝藿定 B 161.60、80.80、40.40、20.20、10.10、5.05 $\mu\text{g/mL}$ ，朝藿定 C 256.04、128.02、64.01、32.01、16.00、8.00 $\mu\text{g/mL}$ ，淫羊藿苷 161.28、80.64、40.32、20.16、10.08、5.04 $\mu\text{g/mL}$ 。经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后，取续滤液 10 μL ，按“2.1.3”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。以对照品浓度（ X ， $\mu\text{g/mL}$ ）为横坐标、峰面积（ Y ）为纵坐标进行线性回归，结果显示，各待测成分均在其相应浓度范围内与其峰面积的线性关系良好，具体见表 1。

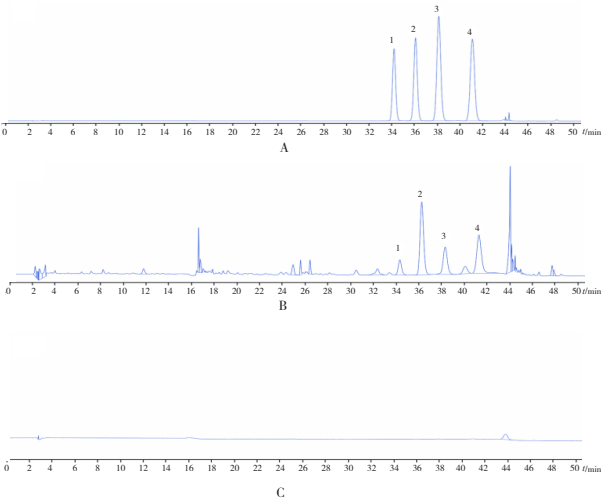


图1 HPLC色谱图

Figure 1. HPLC chromatogram

注：A.混合对照品溶液；B.供试品溶液；C.空白溶剂；1.朝藿定A；2.朝藿定B；3.朝藿定C；4.淫羊藿苷。

表1 淫羊藿中4个成分的线性关系

Table 1. Linear relationship of 4 constituents in *Epimedium folium*

成分	回归方程	r	线性范围（ $\mu\text{g/mL}$ ）
朝藿定A	$Y=1\ 143.204\ 2X-11.177\ 3$	1.000 0	122.16~3.82
朝藿定B	$Y=1\ 114.039\ 1X-15.126\ 6$	1.000 0	161.60~5.05
朝藿定C	$Y=984.811\ 3X-19.975\ 7$	1.000 0	256.04~8.00
淫羊藿苷	$Y=1\ 421.8X-35.816\ 0$	0.999 6	161.28~5.04

2.3 DESs制备

将氯化胆碱和不同类型的氢键供体（尿素、乳酸、乙醇胺、乙酰胺、1,4-丁二醇、乙二醇和甘油）按表 2 中的比例置于 80 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中混合，搅拌至形成均一透明的液体，取出后放冷至室温，即得不同类型的 DESs^[14]。

2.4 DESs单因素考察

2.4.1 提取率的计算

以总提取率（4 种活性成分之和）作为指标，采用以下公式计算总提取率：

$$\text{总提取率} = (M_1 + M_2 + M_3 + M_4) / M$$

式中， M_1 、 M_2 、 M_3 、 M_4 分别代表朝藿定 A、

表2 不同类型DESs
Table 2. Different types of DESs

编号	氢键供体	摩尔比
DESs-1	尿素	1 : 2
DESs-2	乳酸	1 : 2
DESs-3	乙醇胺	1 : 2
DESs-4	乙酰胺	1 : 2
DESs-5	1,4-丁二醇	1 : 2
DESs-6	乙二醇	1 : 2
DESs-7	甘油	1 : 2

朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷质量 (mg) ; M 代表淫羊藿粉末质量 (g)。

2.4.2 DESs类型

按“2.1.2”项下方法共制得 7 种不同 DESs 的供试品, 并进行含量测定, 试验重复 3 次。结果如图 2 所示, 7 种 DESs 对淫羊藿中 4 种活性成分 (朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷) 表现出不同的提取效果, 其中 DESs-3 (氯化胆碱-乙醇胺) 的总提取率最高, 其原因可能是氯化胆碱和乙醇胺形成的 DESs, 混合后液体的极性与淫羊藿中黄酮类成分极性相近, 根据相似相溶原理, 故能增加淫羊藿中黄酮类成分的溶出, 提高提取效果; 另一方面, 可能是由于 DESs 能够破坏植物细胞壁而增加物质间的传递, 从而提高提取效果, 故选择 DESs-3 作为最佳溶剂。

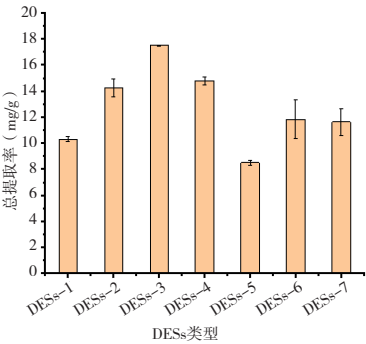


图2 不同类型DESs对淫羊藿中4种活性成分总提取率的影响 (n=3)

Figure 2. The effect of different types of DESs on the total extraction rate of four active components from Epimedii folium (n=3)

2.4.3 摩尔比

摩尔比是影响 DESs 提取效率的重要影响因素, 摩尔比的不同会改变 DESs 的熔点、黏度、表面张力等性质, 从而影响目标成分的提取效率^[15]。本文考察了不同摩尔比 (氯化胆碱-乙醇

胺分别为 2 : 1、1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4) 对淫羊藿中活性成分提取的影响, 结果如图 3 所示, 随着乙醇胺摩尔量逐渐增加, 提取效率逐渐升高, 当摩尔比为 1 : 4 时, 提取效率达到最高, 故选择摩尔比为 1 : 4 进行后续试验。

2.4.4 含水率

相对于传统溶剂, DESs 具有黏度大的特点, 含水量增加能降低 DESs 的黏度, 使药材粉末完全分布于溶剂中, 从而增加药材的提取效率。本文考察了不同含水量对提取效果的影响, 结果如图 4 所示, 随着含水率的增加, 提取效率逐渐增加后降低, 含水率为 40% 时提取率最高, 故选择含水率选择 40%。

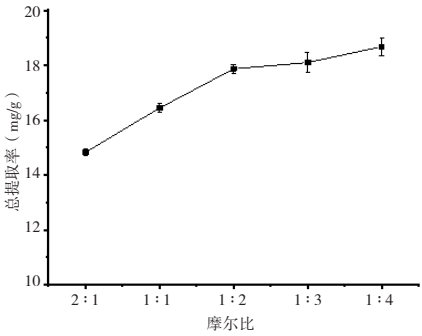


图3 不同摩尔比对淫羊藿中4种活性成分总提取率的影响 (n=3)

Figure 3. The effect of different molar ratio on the total extraction rate of four active components from Epimedii folium with different molar ratios (n=3)

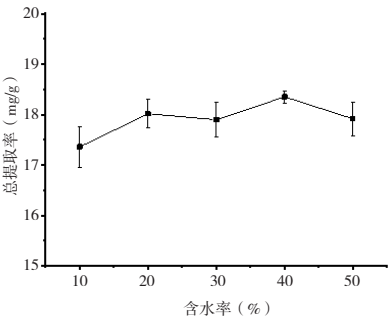


图4 不同含水率对淫羊藿中4种活性成分总提取率的影响 (n=3)

Figure 4. The effects of different moisture contents on the total extraction rate of four active components from Epimedii folium (n=3)

2.4.5 溶剂体积

适当的溶剂体积可提高 DESs 的提取效率, 本文考察了溶剂体积对提取效果的影响, 保持

DESs-3 的摩尔比为 1 : 4, 含水率为 40%, 称取 0.5 g 粉末, 分别加至不同体积 (5、10、15、20、25 mL) 的 DESs-3 中。结果如图 5 所示, 当溶剂体积逐渐增加, 提取效率逐渐增加, 其原因可能是溶剂体积增加后, 与粉末有更大的接触面积, 增加了溶剂与粉末之间的作用力, 当体积为 25 mL 时, 提取效果最好, 故选择溶剂体积为 25 mL。

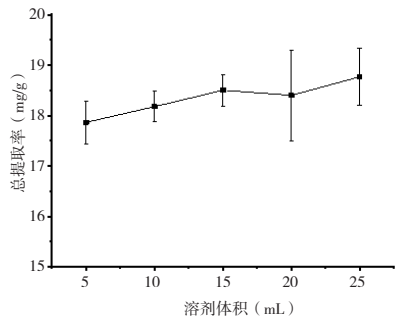


图5 不同溶剂体积对淫羊藿中4种活性成分总提取率的影响 (n=3)
Figure 5. The effect of different solvent volume on the total extraction rate of four active components from Epimedii folium (n=3)

2.4.6 提取温度

本文考察了不同温度对提取效果的影响, 设置温度为 40、50、60、70、80 ℃。结果如图 6 所示, 随着温度的升高, 提取效果逐渐升高, DESs 的黏度受温度影响较大, 适当提高温度可以增加 DESs 的流动性, 增加溶剂与粉末的接触面积, 从而提高提取效率; 温度从 40 ℃增加到 70 ℃时, 提取率增加, 当温度提高到 80 ℃时, 提取率变化不明显, 原因可能是温度较高, 降低了溶剂与成分之间的作用力, 故选择提取温度为 70 ℃。

2.4.7 提取时间

提取时间对活性成分的提取有较大的影响, 时间过长, 可能导致成分分解, 时间过短, 可能导致成分未完全溶出。本文设置的提取时间为 5、10、15、20、25 min, 结果如图 7 所示, 当时间为 5~10 min 时, 此阶段为提取初期, 物质的溶出

较快, 故提取率升高较快, 提取 20 min 后, 大部分物质已被提取出来, 提取率升高幅度不大, 提取达到稳定, 故选择提取时间为 20 min。

2.4.8 提取工艺的正交试验

根据单因素优化试验结果, 选择提取温度 (A)、提取时间 (B)、含水率 (C) 为主要影响因素, 选择适合的水平, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验 (表 3), 以总提取率为考察指标, 正交试验结果见表 4, 方差分析结果见表 5。通过对各个参数进行优化, 以获得高提取率的关键工艺参数组合。

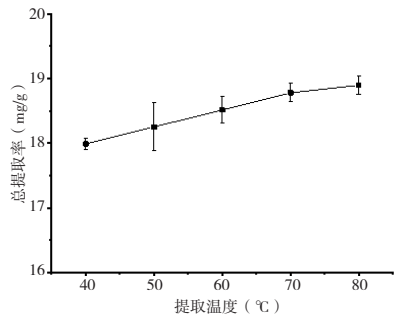


图6 不同提取温度对淫羊藿中4种活性成分总提取率的影响 (n=3)
Figure 6. The effect of different extraction temperature on the total extraction rate of four active components from Epimedii folium (n=3)

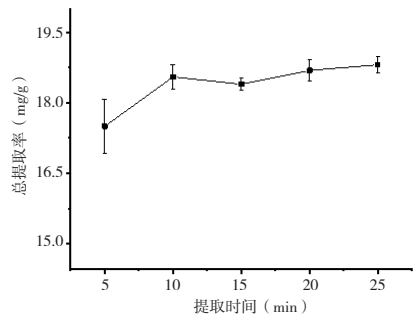


图7 不同提取时间对淫羊藿中4种活性成分总提取率的影响 (n=3)
Figure 7. The effect of different extraction time on the total extraction rate of four active components from Epimedii folium (n=3)

表3 正交试验因素水平

Table 3. Factor level of orthogonal experiment

水平	因素		
	A提取温度 (°C)	B提取时间 (min)	C含水率 (%)
1	60	15	30
2	70	20	40
3	80	25	50

表4 正交试验极差分析结果

Table 4. Results of range analysis of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D (空白)	总提取率 (mg/g)
1	3	3	2	1	17.671
2	1	3	3	3	19.281
3	3	1	3	2	18.410
4	1	2	2	2	16.451
5	2	3	1	2	19.163
6	3	2	1	3	17.896
7	2	2	3	1	19.184
8	2	1	2	3	18.876
9	1	1	1	1	19.298
K ₁	18.343	18.861	18.786	18.717	
K ₂	19.074	17.844	17.666	18.008	
K ₃	17.992	18.705	18.958	18.684	
R	1.082	1.018	1.292	0.709	

表5 正交试验方差分析结果

Table 5. Results of variance analysis of orthogonal experiment

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	1.828	2	0.914	1.900	>0.05
B	1.802	2	0.901	1.873	>0.05
C	2.954	2	1.477	3.070	>0.05
误差	7.546	2	0.481		

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。

结果显示, 3 个因素对总提取率的影响顺序依次为 C (含水率) > A (提取温度) > B (提取时间), 但结果均无显著影响, 综合考虑提取效率和节约能源等因素, 确定最优提取工艺为 A₂B₁C₃, 即提取温度 70 ℃, 提取时间 15 min, 含水率 50%。

2.4.9 DESs与传统溶剂的提取效果比较

甲醇、乙醇、水是中药提取常用的提取溶剂, 本文将 DESs 与传统溶剂(甲醇、50% 甲醇、乙醇、50% 乙醇、水)在相同条件下进行提取, 提取条件为氯化胆碱-乙醇胺 1:4, 料液比 0.5 g:25 mL, 提取温度 70 ℃, 提取时间 15 min, 含水率 50%。结果如图 8 所示, 在相同的工艺条件下, DESs-3 提取淫羊藿中黄酮类成分的效率高于传统溶剂; 比较了朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的含量, DESs-3 对朝藿定 C 的提取效果低于传统溶剂, 而对朝藿定 A、B、淫羊藿苷的提取效果均高于其他溶剂。其中 DESs-3 提取液中的淫羊藿苷含量 $[(7.72 \pm 0.14) \text{ mg/g}]$ 远高于 50% 乙醇提取液 $[(4.17 \pm 0.47) \text{ mg/g}]$, 相对传统溶剂提取效果提高了 1.85 倍。

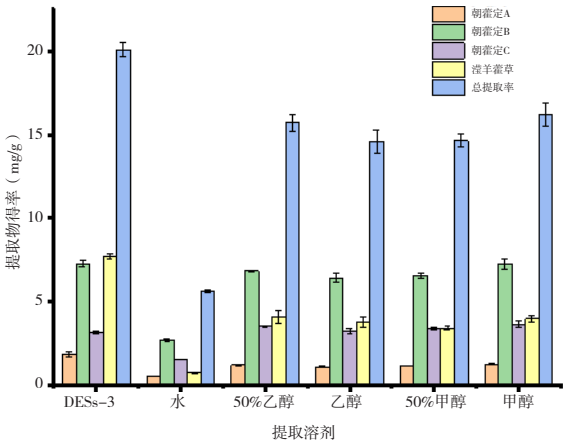


图8 不同提取溶剂对淫羊藿中4种活性成分总提取率 (n=3)

Figure 8. The total extraction rate of four active components from Epimedii folium with different extraction solvent (n=3)

2.5 成分回收工艺研究

2.5.1 大孔树脂类型考察

取活化后的 HPD100、D101、AB-8 大孔树脂各 1.0 g, 吸取 30 mL DESs 提取的淫羊藿药液, 吸附 6 h, 收集吸附后的药液, 用 25 mL 去离子

水洗脱后，再加入 25 mL 95% 乙醇洗脱，以吸附率和解析率作为考察指标，分别测定吸附后的药液与 95% 乙醇洗脱液中各成分含量。结果如图 9 所示，吸附率最大的为 D101 树脂，洗脱率最大的为 AB-8 树脂，经过树脂重量和药液体积的调整，在树脂重量不变的情况下，降低药液体积至 25 mL 时，3 种大孔树脂可将药液中的朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷全部吸收，故只需选择解吸率最大的，树脂即 AB-8 大孔树脂。

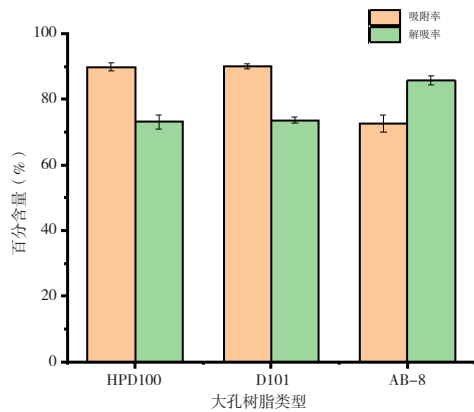


图9 不同类型大孔树脂考察结果 (n=3)

Figure 9. Investigation results of different types of macroporous resins (n=3)

2.5.2 洗脱溶剂考察

取活化后的 AB-8 大孔树脂 1.0 g，吸取 25 mL DESs 提取的淫羊藿药液，吸附 6 h，收集吸附后的药液，用 25 mL 去离子水洗脱后，再分别加入 10 mL 水、10%、30%、50%、70%、95% 乙醇洗脱，以总提取物质量作为考察指标，测定不同乙醇洗脱液中各成分含量。结果如图 10 所示，水、10% 乙醇不能将淫羊藿黄酮类成分洗脱下来，30%、50%、70%、95% 乙醇能将淫羊藿黄酮类成分洗脱下来，且 70% 乙醇洗脱能力最强，故选择 70% 乙醇作为洗脱溶剂。

2.5.3 洗脱溶剂用量考察

取活化后的 AB-8 大孔树脂 1.0 g，吸取 25 mL DESs 提取的淫羊藿药液，吸附 6 h，收集吸附后的药液，用 25 mL 去离子水洗脱后，再加入 70% 乙醇洗脱，每 3 mL 进行一次检测，以总提取物洗脱率作为考察指标，测定 70% 乙醇洗脱液体积。结果如图 11 所示，随着 70% 乙醇体积的增加，总提取物洗脱率先增加后减小，在 6 mL 时含量最高，洗脱至 45 mL 时，总提取物已无法检测，故洗脱量为 45 mL。

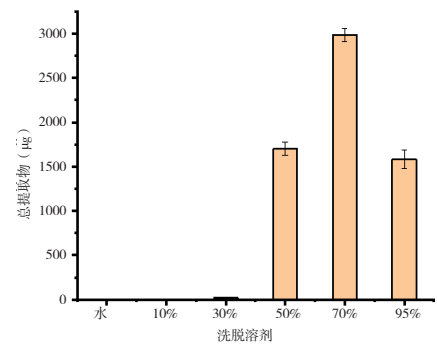


图10 不同浓度乙醇洗脱结果 (n=3)

Figure 10. Elution results of different concentrations of ethanol (n=3)

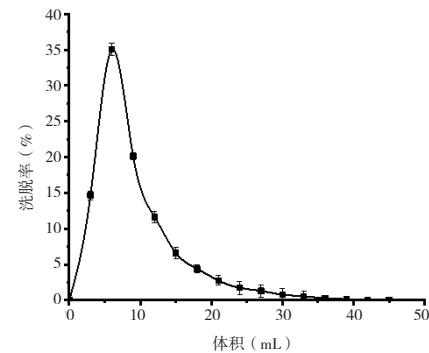


图11 洗脱溶剂用量考察结果 (n=3)

Figure 11. Investigation results of elution solvent dosage (n=3)

2.5.4 黄酮类成分回收工艺验证试验

根据上述试验结果，量取 25 mL DESs 提取的淫羊藿药液作为上样药液，与 1.0 g AB-8 大孔树脂混合，吸附 6 h，收集吸附后的药液，用 25 mL 去离子水洗脱后，再以 70% 乙醇 45 mL 洗脱，分别测定上样药液（上样量为 6 359.85 μg）和 70% 乙醇洗脱液（洗脱量）中的各成分含量，平行操作 3 次。如表 6 所示，验证结果重复性好，可用于淫羊藿黄酮类成分回收。

表6 大孔树脂回收工艺验证结果

Table 6. Verification results of macroporous resin recovery process

序号	洗脱量 (μg)	回收率 (%)	平均值
1	5 618.13	88.34	88.29
2	5 622.98	88.41	
3	5 604.24	88.12	

3 讨论

本文对 DESs 法提取淫羊藿主要黄酮的提取工艺及大孔树脂回收主要黄酮进行了全面研

究。以朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的含量作为指标,通过单因素试验确定了最佳溶剂为氯化胆碱与乙醇胺形成的 DESs,其摩尔比为 1:4,固液比为 0.5 g:25 mL,再通过正交试验优选出了 DESs 最佳条件:提取温度 70 ℃,提取时间 15 min,含水率 50%;在此条件下,朝藿定 A 提取率为 (1.87 ± 0.18) mg/g,朝藿定 B 提取率为 (7.30 ± 0.19) mg/g,朝藿定 C 提取率为 (3.18 ± 0.06) mg/g,淫羊藿苷提取率为 (7.72 ± 0.14) mg/g,总提取率为 (20.07 ± 0.43) mg/g,提取效果远高于水、甲醇、乙醇等传统溶剂;大孔树脂回收黄酮成分研究表明,该工艺能有效回收 DESs 中的淫羊藿黄酮成分,即每 1 g 的 AB-8 大孔树脂,加入 25 mL 药液,吸附 6 h 后,将吸附后的药液放出,用 25 mL 去离子水清洗,再使用 70% 乙醇将黄酮成分洗脱,黄酮成分的平均回收率为 88.29%。因此,DESs 法可高效提取淫羊藿黄酮成分,同时结合大孔树脂可达到回收黄酮成分的目的。

DESs 作为新型绿色溶剂,较传统溶剂具有制备简单、高效、环保等特点^[16-20],本研究表明 DESs 可提高淫羊藿黄酮成分的提取效果,但未对氯化胆碱和乙醇胺形成的溶剂进行表征,无法确定溶剂的结构、极性等理化性质,只能证明其较传统溶剂提取效率更高,而无法阐明其具体机制,故后期试验将增加对 DESs 的表征,以阐明 DESs 高效提取的机制。

参考文献

- 徐文芬,何顺志,王悦云,等.不同产地加工与贮藏方法对淫羊藿药材中淫羊藿苷及总黄酮的影响[J].中成药,2012,34(8):1556-1559.[Xu WF, He SZ, Wang YY, et al. Influence of processing and storage on contents of icariin and total flavonoids of Epimedium folium[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2012, 34(8): 1556-1559.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1528.2012.08.032](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1528.2012.08.032).
- 付佳琪,于栋华,卢芳,等.淫羊藿及其药对研究进展[J].中华中医药学刊,2023,41(1):137-142.[Fu JQ, Yu DH, Lu F, et al. Research progress on Epimedium and its drug pairs[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2023, 41(1): 137-142.] DOI: [10.13193/j.issn.1673-7717.2023.01.031](https://doi.org/10.13193/j.issn.1673-7717.2023.01.031).
- 肖文剑,苏开鑫,纳青青,等.淫羊藿总黄酮调控 Wnt/ β -catenin 信号通路对去卵巢大鼠抗骨质疏松作用研究[J].解剖学研究,2021,43(5):533-536,540.[Xiao WJ, Su KX, Na QQ, et al. Total flavonoids epimedium protect biomechanical properties of bones in ovariectomized rats by regulating Wnt/ β -catenin signaling[J]. Anatomy Research, 2021, 43(5): 533-536,540.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-0770.2021.05.011](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-0770.2021.05.011).
- 杨洋,尹程程,陈昊媛,等.不同品种淫羊藿黄酮类有效成分的主成分分析及对肾阳虚大鼠保护作用的研究[J].天然产物研究与开发,2021,33(2):179-187.[Yang Y, Yin CC, Chen HY, et al. Principal component analysis of active flavonoid compounds from different species of Epimedium and its protective effect on kidney-yang deficiency rats[J]. Natural Product Research and Development, 2021, 33(2): 179-187.] DOI: [10.16333/j.1001-6880.2021.2.001](https://doi.org/10.16333/j.1001-6880.2021.2.001).
- 徐忠坤,殷洪梅,李芳,等.淫羊藿总黄酮胶囊中黄酮类成分含量测定及抗骨质疏松活性研究[J].中国中药杂志,2018,43(15):3140-3144.[Xu ZK, Yin HM, Li F, et al. Determination of flavonoids constituents in epimedium total flavone capsule and research on its anti-osteoporosis activity[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(15): 3140-3144.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20180611.003](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20180611.003).
- 鲁宁杰,郭鑫,李伟,等.淫羊藿总黄酮对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J].新疆医学,2019,49(6):575-577.[Lu NJ, Guo X, Li W, et al. The influence of Epimedium flavone on immune function of immunosuppressive mice induced by CTX[J]. Xinjiang Medical Journal, 2019, 49(6): 575-577.] DOI: [CNKI:SUN:XJYI.0.2019-06-010](https://doi.org/CNKI:SUN:XJYI.0.2019-06-010).
- Cao LH, Qiao JY, Huang HY, et al. PI3K-AKT signaling activation and icariin: the potential effects on the perimenopausal depression-like rat model[J]. Molecules, 2019, 24(20): 3700. DOI: [10.3390/molecules24203700](https://doi.org/10.3390/molecules24203700).
- 董若曦,朱小丹,樊伯珍,等.淫羊藿苷对顺铂致卵巢早衰大鼠卵巢储备功能的作用研究[J].浙江医学,2019,41(3):230-233.[Dong RX, Zhu XD, Fan BZ, et al. Effects of icariin on ovarian reserve function in female rats with premature ovarian failure induced by cisplatin[J]. Zhejiang Medical Journal, 2019, 41(3): 230-233.] DOI: [10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.3.2018-1307](https://doi.org/10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.3.2018-1307).
- 林小英,任星桥,曾凡群,等.淫羊藿苷通过调控

- α -SMA 和 MMPs/TIMP 的表达改善异丙肾上腺素所诱导的心肌纤维化[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(8): 1087–1092. [Lin XY, Ren XQ, Zeng FQ, et al. Epimedium glycoside improves isoproterenol induced myocardial fibrosis by regulating the expression of α -SMA and MMPs/TIMP[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2021, 37(8): 1087–1092.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-1978.2021.08.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1978.2021.08.010).
- 10 唐荣志, 赖海标, 黄智峰, 等. 淫羊藿苷对前列腺癌原位移植瘤小鼠肿瘤生长及细胞周期的影响[J]. 中西医结合研究, 2024, 16(2): 78–82. [Tang RZ, Lai HB, Huang ZF, et al. Effects of Icarin on tumor growth and cell cycle in prostate cancer orthotopic transplantation tumor mice[J]. Research of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2024, 16(2): 78–82.] DOI: [10.3969/j.issn.1674-4616.2024.02.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-4616.2024.02.002).
- 11 史阔豪, 张光财, 武康雄, 等. 4 种淫羊藿黄酮苷类主要成分体外药理活性比较[J]. 陕西科技大学学报, 2021, 39(2): 56–61. [Shi KH, Zhang GC, Wu KX, et al. Comparison of pharmacological activities *in vitro* of four flavonoid glycosides from Epimedium folium[J]. Journal of Shaanxi University of Science & Technology, 2021, 39(2): 575–577.] DOI: [10.3969/j.issn.1000-5811.2021.02.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-5811.2021.02.009).
- 12 陈冉, 李德慧, 阮桂发, 等. 基于绿色低共熔溶剂法高效提取鸡骨草中的黄酮和皂苷[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(9): 1632–1640. [Chen R, Li DH, Ruan GF, et al. Green and efficient extraction of flavonoids and saponins from *Abrus cantoniensis* Hance. by deep eutectic solvents[J]. Natural Product Research and Development, 2019, 31(9): 1632–1640.] DOI: [10.16333/j.10016880.2019.9.022](https://doi.org/10.16333/j.10016880.2019.9.022).
- 13 翟英茹, 罗江南, 李慧, 等. 不同基原淫羊藿综合品质研究[J]. 中成药, 2023, 46(10): 3197–3203. [Zhai YR, Luo JN, Li H, et al. Comprehensive quality of Epimedium folium from different botanical origins[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2023, 46(10): 3197–3203.] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.r.20230423.1119.002.html>.
- 14 Kandaneli R, Thulluri C, Mangala R, et al. A novel ternary combination of deep eutectic solvent–alcohol (DES–OL) system for synergistic and efficient delignification of biomass[J]. Bioresour Technol, 2018, 265: 573–576. DOI: [10.1016/j.biortech.2018.06.002](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.002).
- 15 Hansen BB, Spittle S, Chen B, et al. Deep eutectic solvents: a review of fundamentals and applications[J]. Chem Rev, 2020, 121(3): 1232–1285. DOI: [10.1021/acs.chemrev.0c00385](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00385).
- 16 雷永伟, 刘欣, 安艳霞, 等. 低共熔溶剂提取荞麦壳黄酮的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(13): 160–166. [Lei YW, Liu X, An YX, et al. Optimization of extraction technology of Buckwheat hull flavonoids in deep eutectic solvent[J]. Food Research and Development, 2023, 44(13): 160–166.] DOI: [10.12161/j.issn.1005-6521.2023.13.024](https://doi.org/10.12161/j.issn.1005-6521.2023.13.024).
- 17 蒋利荣, 何海燕, 覃拥灵, 等. 氯化胆碱基低共熔溶剂优化草珊瑚总黄酮提取工艺[J]. 中国饲料, 2023, (13): 22–26. [Jiang LR, He HY, Qin YL, et al. Optimization and extraction of total flavonoids from *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai by choline chloride-based deep eutectic solvents[J]. China Feed, 2023, (13): 22–26.] DOI: [10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.2022080018-05](https://doi.org/10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.2022080018-05).
- 18 熊苏慧, 唐洁, 李诗卉, 等. 一种新型天然低共熔溶剂用于玉竹总黄酮的绿色提取[J]. 中草药, 2018, 49(10): 2378–2386. [Xiong SH, Tang J, Li SH, et al. A new type of natural eutectic solvent for green extraction of total flavonoids from *Polygonati odorati rhizoma*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(10): 2378–2386.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2018.10.020](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2018.10.020).
- 19 杨雪苗, 徐楠冰, 杨丹, 等. 超声辅助天然低共熔溶剂萃取法在蒺藜黄酮类成分提取中的应用[J]. 现代化工, 2022, 42(S2): 239–243. [Yang XM, Xu NB, Yang D, et al. Application of ultrasonic-assisted natural deep eutectic solvents in extraction of flavonoid from *Tribulus terrestris* L. [J]. Modern Chemical Industry, 2022, 42(S2): 239–243.] DOI: [10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.S2.047](https://doi.org/10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.S2.047).
- 20 李刚, 封传华, 郭慧玲, 等. 低共熔溶剂高效提取车前草中大车前苷和毛蕊花糖苷研究[J]. 中国药师, 2021, 24(9): 1676–1679, 1707. [Li G, Feng CH, Guo HL, et al. Efficient extraction of plantamajoside and acteoside from *Plantago asiatica* L. by deep eutectic solvent[J]. China Pharmacist, 2021, 24(9): 1676–1679, 1707.] DOI: [10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.09.016](https://doi.org/10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2021.09.016).

收稿日期: 2024 年 03 月 26 日 修回日期: 2024 年 07 月 15 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳