

煨木香醇提物的纯化工艺优选

战旗,戴兵,王蕊,周广涛,高鹏*
(山东中医药大学,济南 250355)

[摘要] 目的:初步考察煨木香醇提物中内酯类成分及油脂类成分的药理作用,优选煨木香醇提物的纯化工艺。方法:以墨汁推进率、腹泻指数为指标,通过药理试验考察煨木香醇提物经醇溶冷藏后内酯类及油脂类成分对健康小鼠及番泻叶所致小鼠腹泻模型的影响;以木香炔内酯、去氢木香内酯转移率及干膏得率的综合评分为指标,采用正交试验考察乙醇体积分数、乙醇用量、冷藏温度、冷藏时间对冷藏工艺的影响。结果:煨木香醇提物中内酯类成分可减缓小鼠小肠推进运动,降低腹泻指数;油脂类成分能增强小鼠小肠推进运动,显著增加腹泻指数,具有滑肠致泻作用。煨木香醇提物最佳冷藏工艺为加5倍量80%乙醇于-10℃冷藏5h;木香炔内酯、去氢木香内酯转移率及干膏得率分别为94.9%、93.8%、5.1%。结论:煨木香醇提物中油脂类成分宜除去。优选的冷藏工艺简便易行,在利于制剂成型基础上可除去具滑肠作用的油脂类成分,可推广于实际大生产应用。

[关键词] 煨木香;冷藏除杂工艺;番泻叶腹泻模型;木香炔内酯;去氢木香内酯;墨汁推进率;稀便率

[中图分类号] R283.6; R284.1; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0016-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014110016

Optimization of Purification Technology of Alcohol Extracts of Roasted Aucklandiae Radix

ZHAN Qi, DAI Bing, WANG Rui, ZHOU Guang-tao, GAO Peng*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate pharmacological action of lactone part and fat part in alcohol extracts of roasted Aucklandiae Radix, then optimize purification technology of the alcohol extracts. **Method:** Taking ink propulsion rate in the small intestine and diarrhea index as indexes, effects of lactone part and fat part in alcohol extracts of roasted Aucklandiae Radix after cold storage on diarrhea induced by Sennae Folium in healthy mice were investigated. With composite score of yield of dry extract, transfer rates of costunolide and dehydrocostus lactone as index, orthogonal test was adopted to optimize purification technology by taking ethanol concentration and consumption, refrigeration temperature and time as factors. **Result:** Propulsive motility in the small intestine and diarrhea index could be reduced by lactone part, while fat part had opposite effects with slippery bowel purgative effect. The best purification technology was as follows: refrigerated 5 h with 5 times the amount of 80% ethanol at -10℃; yield of dry extract, transfer rates of costunolide and dehydrocostus lactone were 5.1%, 94.9%, 93.8%, respectively. **Conclusion:** Fat part in alcohol extracts of roasted Aucklandiae Radix should be removed. This optimized refrigeration process was simple and feasible, based on in favor of preparation, it could remove fat part with slippery bowel purgative effect, and had a certain reference value in actual production.

[Key words] roasted Aucklandiae Radix; refrigerated impurity process; diarrhea model of Sennae Folium; costunolide; dehydrocostus lactone; ink propulsion rate; loose stools rate

[收稿日期] 20131024(013)

[基金项目] 国家科技部“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09103002-015)

[第一作者] 战旗,高级实验师,从事中药制剂工艺及质量标准研究,Tel:13075318026,E-mail:Zhanqi_3549@163.com

[通讯作者] *高鹏,博士,副教授,从事中药新药开发及新剂型研究,Tel:0531-68684868,E-mail:gaopenggaopeng@126.com

木香中主要止泻成分为木香烃内酯和去氢木香内酯等倍半萜内酯类化合物^[1-3]。该成分常采用高体积分数乙醇^[4-5]提取,同时会引入油脂、蜡质等杂质,增加浸膏得率且不利于精制成型。煨木香醇提物中植物油脂及蜡质等成分在乙醇中热时可溶而冷时难溶,故可将醇提物稠膏溶于乙醇后冷藏放置,纯化的同时可析出油脂和蜡质。目前,木香中油脂类成分的药理作用研究尚未见报道,故本实验参考精油工业纯化工艺^[6],拟初步分离、探索该油脂类成分的药理作用,验证其去除的必要性;以木香烃内酯、去氢木香内酯转移率及干膏得率为综合评价指标,通过正交试验优选煨木香醇提物的纯化工艺,为木香资源的充分利用提供参考。

1 材料

LC-2010A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),AB135-S 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),JSP-200 型高速多功能粉碎机(浙江永康市金穗机械制造有限公司)。木香购自安徽亳州中药材市场,经山东中医药大学周凤琴教授鉴定为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根,按 2010 年版《中国药典》^[1]煨木香项下方法炮制;去氢木香内酯、木香烃内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 111525-201008,111524-201107),氯化钠注射液(山东鲁抗辰欣药业有限公司,批号 20130924),甲醇为色谱纯,水为蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

SPF 级雌性 BALB/c 小鼠,7 周龄,体重 18~22 g,由山东中医药大学动物实验中心提供,许可证号 SCXK(鲁)20050015。

2 方法与结果

2.1 番泻叶水煎剂的制备^[7] 称取番泻叶 20 g,加 10 倍量水煎煮 10 min,浓缩至 20 mL,即得。

2.2 煨木香醇提物的制备^[5] 取煨木香 100 g,粉碎成最粗粉,依次加 6,4 倍量 90% 乙醇于 40 °C 温浸提取 2,1.5 h,滤过,合并滤液,于 50~55 °C 减压浓缩成相对密度 1.10~1.15(60 °C)的稠膏,备用。

2.3 药液的制备 取 2.2 项下稠膏适量(相当于生药 50 g),称定质量,加 3 倍量 95% 乙醇溶解,置 -5 °C 冰箱低温冷藏 12 h,抽滤,滤液减压浓缩成稠膏,减压干燥得内酯类成分干膏 5.46 g(木香烃内酯与去氢木香内酯总质量分数 39%),收集不溶性滤渣水浴蒸去残留溶剂得油脂类成分 9.17 g,两部分均按体表面积折算成小鼠剂量,加生理盐水分别配制成内酯类成分(5 g·L⁻¹)和油脂类成分等剂量药液

(8 g·L⁻¹)。

2.4 小肠推进试验^[8] 取健康 BALB/c 小鼠 30 只,适应性喂养 1 周,试验前禁食过夜,自由饮水,随机等分为 3 组,依次为空白对照组、内酯组(100 mg·kg⁻¹)、油脂组(160 mg·kg⁻¹)。给药组分别按上述剂量灌胃给药,空白对照组灌胃给予同体积生理盐水,记录各小鼠准确灌胃时间。15 min 后,各组小鼠均按 0.2 mL/只灌胃给予 5% 碳素墨水,计时。小鼠灌胃碳素墨水后 30 min 脱颈椎处死,迅速取出自幽门至盲肠间的全部小肠,测量墨汁在肠管内的移动距离及小肠全长,计算墨汁推进率,结果见表 1。

墨汁推进率 = 墨汁移动距离/小肠全长 × 100%

表 1 煨木香中内酯类及油脂类成分对

小鼠小肠推进的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	小肠长度 /cm	墨汁推进距离 /cm	墨汁推进率 /%
空白对照	39.94 ± 2.16	29.41 ± 1.16	73.82 ± 5.57
内酯	40.34 ± 1.17	27.38 ± 1.47	67.98 ± 5.46 ¹⁾
油脂	39.77 ± 2.30	31.94 ± 2.86	80.34 ± 5.62 ¹⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

2.5 番泻叶腹泻试验^[7] 取健康 BALB/c 小鼠 40 只,适应性喂养 1 周,试验前禁食过夜,自由饮水,随机等分为 4 组,依次为空白对照组、模型对照组、内酯组(100 mg·kg⁻¹)、油脂组(160 mg·kg⁻¹)。给药组分别按上述剂量灌胃给药,空白对照组及模型对照组给予同体积生理盐水。0.5 h 后,除空白对照组给予同体积生理盐水外,各组均按 0.2 mL/只灌胃番泻叶水煎剂。小鼠单笼饲养,下铺滤纸,观察 6 h,每 1.5 h 换滤纸 1 次,记录稀便次数和稀便级,计算稀便率和腹泻指数,结果见表 2。

表 2 煨木香中内酯类及油脂类成分对番泻叶所致

小鼠腹泻的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	稀便率/%	稀便级	腹泻指数
空白对照	0	0	0
模型对照	45.18 ± 11.09	2.37 ± 0.75	1.07 ± 0.41
内酯	34.13 ± 11.52 ¹⁾	1.82 ± 0.41	0.62 ± 0.27 ²⁾
油脂	65.53 ± 10.26 ²⁾	2.38 ± 0.81	1.51 ± 0.29 ¹⁾

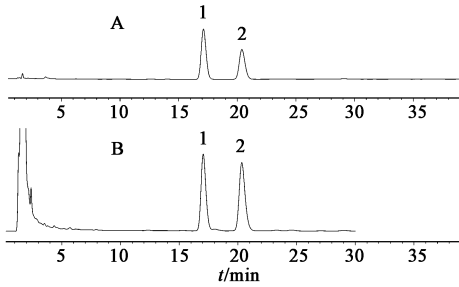
注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

由表 1,2 可知,与空白对照组或模型对照组相比,内酯组墨汁推进率、稀便率及腹泻指数均显著降低,而油脂组墨汁推进率、稀便率及腹泻指数明显增大。说明内酯类成分可抑制胃肠蠕动、降低小肠推进功能,减轻小鼠腹泻程度;而油脂类成分可促进小

鼠小肠蠕动,增加小鼠腹泻程度,故木香中油脂类成分须去除。

2.6 木香炔内酯和去氢木香内酯的含量测定

2.6.1 色谱条件 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.05% 磷酸溶液(65:35),检测波长 225 nm,柱温 30 °C,进样量 10 μL,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 木香炔内酯; 2. 去氢木香内酯

图 1 木香 HPLC

2.6.2 对照品溶液的制备 依次精密称定木香炔内酯、去氢木香内酯对照品 10.08, 10.21 mg, 置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得。

2.6.3 供试品溶液的制备 精密称取 2.2 项下稠膏 1 g 至 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.7 乙醇冷藏纯化工艺优选 在预试验基础上,选择乙醇体积分数、乙醇用量、冷藏时间和冷藏温度为考察因素,每个因素设定 3 个水平,因素水平见表 3。取 2.2 项下稠膏适量,称定质量,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验,以木香炔内酯、去氢木香内酯转移率及干膏得率的综合评分为指标,权重系数分别为 0.25, 0.25, 0.5, 试验安排及结果见表 4, 方差分析见表 5。

表 3 煨木香醇提物的乙醇冷藏除杂工艺正交试验因素水平

	A	B	C	D
水平	乙醇体积分数 /%	乙醇用量 /倍	冷藏时间 /h	冷藏温度 /°C
1	70	5	5	0
2	80	10	10	-5
3	90	15	15	-10

由直观分析可知,各因素对煨木香醇提物的乙醇冷藏除杂工艺的影响顺序为 A > D > C > B, 初步选择最佳提取工艺 A₂B₂C₂D₃。以极差最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果显示因素 A, D 对除杂工艺具有显著性影响,因素 C 则无显著性影响,结合降低成本及节约能源等方面考虑,确定最佳冷藏工艺为 A₂B₁C₁D₃, 即加 5 倍量 80% 乙醇于 -10 °C 冷藏 5 h。

表 4 煨木香醇提物的乙醇冷藏除杂工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D	转移率/%		干膏得率(Z) /%	综合评分
					去氢木香内酯(X)	木香炔内酯(Y)		
1	1	1	1	1	75.1	78.4	10.3	65.11
2	1	2	2	2	79.8	80.2	7.4	76.69
3	1	3	3	3	82.6	81.9	6.8	80.97
4	2	1	2	3	95.4	96.8	5.2	99.92
5	2	2	3	1	93.7	94.2	6.9	86.49
6	2	3	1	2	95.7	96.0	7.2	85.90
7	3	1	3	2	94.3	95.1	6.3	90.47
8	3	2	1	3	94.8	95.2	5.7	94.97
9	3	3	2	1	95.1	95.5	7.5	84.17
K ₁	222.77	255.50	245.98	235.77				
K ₂	272.31	258.15	260.78	253.06				
K ₃	269.61	251.04	257.93	275.86				
R	49.54	7.11	14.80	40.09				

注:综合评分 = X_i/X_{max} × 25 + Y_i/Y_{max} × 25 + Z_{min}/Z_i × 50。

表 5 综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	f	F	P
A	517.28	58.64	2	60.10	< 0.05
B(误差)	8.61	4.30	2	1.00	
C	41.11	20.55	2	4.78	> 0.05
D	269.55	134.78	2	31.32	< 0.05

注: F_{0.05}(2, 2) = 19。

2.8 验证试验 取 2.2 项下稠膏 3 份,质量分别为 85.3, 85.0, 86.1 g, 按最佳冷藏工艺进行验证试验,结果木香炔内酯转移率分别为 95.7%, 94.2%, 94.8%, 去氢木香内酯转移率依次为 94.9%, 93.5%, 93.1%, 总得率分别为 5.1%, 4.9%, 5.2%, 证实该冷藏工艺稳定可行。

3 讨论

煨木香临床多入丸、散剂,采用高体积分数乙醇提取其内酯类成分的同时会提取出油脂等脂溶性成分,通过药理试验证实了该内酯类成分具有止泻作用,而油脂类成分则会滑肠、致泻,为避免降低药效和利于精制成型,必须除去油脂类成分。

醇溶冷藏法能有效降低干膏得率,使提取物黏软程度降低,易于制剂精制成型,同时去除了与内酯类有效成分具有相反药理作用的油脂杂质,该方法简便易行,适宜工业大生产。腹泻的病理基础为肠黏膜炎症、水肿、运动机能亢进,多由感染引起,亦可

大孔树脂富集纯化木棉花总黄酮的工艺优选

朱锦坤^{1,2}, 张全伟^{1,3}, 张奕丹¹, 曾雪兰¹, 王术玲^{1*}

(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 暨南大学药学院, 广州 510632;
3. 汕头大学医学院, 广东 汕头 515041)

[摘要] 目的: 优选木棉花总黄酮的大孔树脂纯化工艺。方法: 采用 UV 测定总黄酮含量, 以总黄酮吸附率、洗脱率为指标, 通过静态洗脱-洗脱试验筛选树脂类型, 利用单因素试验考察上样液质量浓度、pH、吸附流速、洗脱溶剂、水洗用量、上样量、洗脱剂用量等对木棉花总黄酮纯化工艺的影响。结果: 选用 DM-130 型大孔树脂, 最佳吸附-洗脱条件为上样液质量浓度 4.89 g·L⁻¹, pH 4, 吸附流速 3 BV·h⁻¹, 加水 5 BV 除杂, 加 50% 乙醇 3 BV 以 2 BV·h⁻¹ 洗脱; 总黄酮纯度由上样液的 13.33% 提高至 77.68%。结论: DM-130 型大孔树脂可用于富集纯化木棉花总黄酮, 该方法操作简单、成本低廉、纯化效果突出, 具有较高的工业生产应用前景。

[关键词] 木棉花; 总黄酮; DM-130 型大孔树脂; 富集纯化; 静态吸附-洗脱

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0019-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014110019

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140324.1543.006.html>

[网络出版时间] 2014-03-24 15:43

Optimization of Enrichment and Purification Process for Total Flavonoids from Gossampini Flos by Macroporous Resin

ZHU Jin-kun^{1,2}, ZHANG Quan-wei^{1,3}, ZHANG Yi-dan¹, ZENG Xue-lan¹, WANG Shu-ling^{1*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

[收稿日期] 20130905(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81102530); 国家大学生创新创业训练计划项目(AFE112131A41)

[第一作者] 朱锦坤, 在读硕士, 从事中药学研究, Tel: 13502440109, E-mail: zjkschool@foxmail.com

[通讯作者] * 王术玲, 副教授, 硕士生导师, 从事中药质量标准研究, Tel: 020-39358081, E-mail: jingelwang@gzucm.edu.cn

因肠道功能紊乱等原因引发^[9], 本文仅对木香醇提取物油脂类成分的药理作用进行初步研究, 其具体成分及致泻机制尚不明确。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 57.
[2] 魏华, 彭勇, 马国需, 等. 木香有效成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(3): 613.
[3] 王永兵, 王强, 毛福林, 等. 木香的药效学研究[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(2): 146.
[4] 吴秦西, 赖先荣. 均匀设计法优选川木香提取物提取工艺[J]. 中外医疗, 2008(32): 89.
[5] 周广涛, 高鹏, 戴兵, 等. 木香中去氢木香内酯和木香

烃内酯提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2): 40.

[6] 冯庆华. 玫瑰精油系列产品的提取及工艺研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2010.
[7] 周干南, 胡芝华, 汪亚先, 等. 小鼠腹泻模型的制备与腹泻指数的应用[J]. 中草药, 1994, 25(4): 195.
[8] 曹灵芝, 马利芹, 王丽叶, 等. 建立动物腹泻模型的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(26): 11383.
[9] Moriya R, Shirakura T, Hirose H, et al. NPY Y2 receptor agonist PYY (3-36) inhibits diarrhea by reducing intestinal fluid secretion and slowing colonic transit in mice[J]. Peptides, 2010, 31(4): 671.

[责任编辑 刘德文]