

白术中白术内酯 I, II, III 提取工艺优选

王建成

(临沂市食品药品检验检测中心, 山东临沂 276001)

[摘要] 目的: 优选白术中3种内酯类成分的提取工艺。方法: 采用 HPLC 测定白术内酯 I, II, III 含量, 流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~16 min, 60%~76% A; 16~18 min, 76%~100% A; 18~30 min, 100% A), 双波长检测 220 nm(白术内酯 I, III)和 276 nm(白术内酯 II)。以白术内酯 I, II, III 提取率为指标, 通过单因素试验筛选提取方式, 利用正交试验考察乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间及提取次数对白术提取工艺的影响。结果: 最佳提取方式为乙醇温浸法, 最佳工艺条件为加 6, 4, 4 倍量 90% 乙醇于 40 °C 温浸提取 3 次, 提取时间依次为 1.5, 1.0, 1.0 h。白术内酯 I, II, III 的提取率分别为 92.62%, 92.39%, 93.06%。结论: 优选的提取工艺稳定可行, 白术中 3 种内酯类成分的提取率高。

[关键词] 白术; 白术内酯 I; 白术内酯 II; 白术内酯 III

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0028-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015090028

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150317.1043.003.html>

[网络出版时间] 2015-03-17 10:43

Optimization of Extraction Process of Atractylonolide I, II, III from Atractylodis Macrocephalae Rhizoma

WANG Jian-cheng (Linyi Institute for Food and Drug Control, Linyi 276001, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of atractylonolide I, II, III from Atractylodis Macrocephalae Rhizoma. **Method:** HPLC was adopted to determine contents of atractylonolide I, II, III with mobile phase of acetonitrile (A) -water (B) for gradient elution (0-16 min, 60% -76% A; 16-18 min, 76% -100% A; 18-30 min, 100% A) and dual-wavelength detection of 220 nm for atractylonolide I, II and 276 nm for atractylonolide III. Taking extracting rates of atractylonolide I, II, III as indexes, extraction method was screened by single factor test, orthogonal test was adopted to optimize extraction process with extracting time, extracting times, ethanol concentration and amount as factors. **Result:** Alcohol warm infusion method was selected, optimum technological conditions for extracting thrice by adding 6, 4, 4 times the amount of 90% ethanol at 40 °C, extracting time was 1.5, 1.0, 1.0 h in turn. Extracting rates of atractylonolide I, II, III were 92.62%, 92.39%, 93.06%, respectively. **Conclusion:** This optimized extraction process is stable and feasible with high extraction efficiency of atractylonolide I, II, III in Atractylodis Macrocephalae Rhizoma.

[Key words] Atractylodis Macrocephalae Rhizoma; atractylonolide I; atractylonolide II; atractylonolide III

白术味苦、甘,性温,归脾、胃经,具有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎的作用^[1],主要有效成分为白术内酯类^[2-4]。该类成分的提取常采用水蒸气蒸馏法、乙醇加热回流法和 CO₂ 超临界流体萃取法等^[5-9],但关于这些提取方法的合理性尚无相关文献报道。本实验通过单因素试验筛选白术中白术内酯类成分的提取方式,以白术内酯 I, II, III 提取率

的综合评分为考察指标,采用正交试验优化提取工艺参数,为白术的工业化生产提供参考。

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)。白术药材购自山东宏济堂医药有

[收稿日期] 20140503(008)

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

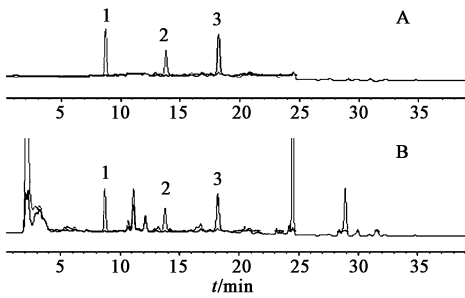
[第一作者] 王建成,硕士,主管中药师,从事中药药物分析及制剂研究,Tel:13793155751,E-mail:gaopenggaopeng@126.com

限公司,经山东中医药大学中药教研室石俊英教授鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的干燥根茎;白术内酯 I, II, III 对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 20131008, 20131211, 20131024),乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 白术内酯 I, II, III 的含量测定

2.1.1 色谱条件 采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~16 min, 60%~76% A; 16~18 min, 76%~100% A; 18~30 min, 100% A),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 25 °C,双波长检测 220 nm(白术内酯 I, III)和 276 nm(白术内酯 II),见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 白术内酯 III; 2. 白术内酯 I; 3. 白术内酯 II

图 1 白术提取液 HPLC

Fig. 1 HPLC of *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma* extract

2.1.2 对照品溶液的配制 精密称取白术内酯 I, II, III 对照品适量,分别加甲醇制成 1 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取白术提取液,过滤,精密量取滤液 5 mL 于 100 mL 量瓶中,加甲醇定容

表 1 白术温浸提取工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of warm immersion process of *Atractylodes Macrocephalae Rhizoma*

No.	A 乙醇体积分数/%	B 溶剂用量/倍	C 提取时间/h	D 提取数/次	白术内酯 I /%	白术内酯 II /%	白术内酯 III /%	综合评分/分
1	90	4	1.0	1	0.537	0.471	0.542	55.12
2	90	6	1.5	2	0.642	0.596	0.680	67.93
3	90	8	2.0	3	0.951	0.612	0.968	93.18
4	80	4	1.5	3	0.758	0.663	0.772	78.06
5	80	6	2.0	1	0.577	0.535	0.589	60.13
6	80	8	1.0	2	0.486	0.437	0.503	50.63
7	70	4	2.0	2	0.509	0.465	0.546	53.98
8	70	6	1.0	3	0.534	0.929	0.557	65.48
9	70	8	1.5	1	0.511	0.470	0.519	53.06

至刻度,摇匀,即得。

2.1.4 标准曲线绘制 精密量取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0 mL, 分别置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密吸取 10 μL 按 2.1.1 项下条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得白术内酯 I, II, III 的回归方程分别为 $Y = 1.001 \times 10^6 X + 129.238$ ($r = 0.9998$), $Y = 8.573 \times 10^5 X + 237.294$ ($r = 0.9999$), $Y = 9.828 \times 10^5 X - 280.228$ ($r = 0.9998$), 线性范围依次为 0.2008~2.008, 0.2023~2.023, 0.1995~1.995 μg。

2.2 提取方式筛选 取白术粗粉 100 g(过 20 目筛),以干膏得率和白术内酯 I, II, III 提取率为指标,分别采用水蒸气蒸馏法(加 10 倍量水于挥发油提取器中提取 5 h)、乙醇回流法(加 10 倍量 90% 乙醇加热回流 2 h)和乙醇温浸法(加 10 倍量 90% 乙醇 40 °C 温浸 2 h)提取,结果干膏得率依次为 0.95%, 12.82%, 6.35%, 提取率依次为白术内酯 I 1.22%, 83.80%, 81.97%, 白术内酯 II 6.73%, 75.55%, 73.64%, 白术内酯 III 2.15%, 85.26%, 84.02%, 故选择乙醇温浸法。

2.3 提取工艺优选 以乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间、提取次数为考察因素,每个因素设定 3 个水平。称取白术粗粉(过 20 目筛)100 g,以白术内酯 I, II, III 提取率的综合评分为评价指标,结合白术内酯类成分的药理活性考虑,设定权重系数白术内酯 I, III 提取率均为 0.4,白术内酯 II 0.2,试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为 $D > A > C > B$ 。以极差最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果发现因素 A, D 具有显著性影响,因素 C 则影响不显

著,选择最佳提取工艺组合 $A_1B_2C_2D_3$,综合工业成本、耗能等因素考虑,确定最佳工艺条件为加6,4,4倍量90%乙醇于40℃温浸提取3次,提取时间依次为1.5,1.0,1.0h。

表2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	MS	F	P
A	0.033	0.016	20.040	<0.05
B(误差)	0.002	0.001	0.002	
C	0.024	0.012	14.660	>0.05
D	0.098	0.049	60.360	<0.05

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

2.4 验证试验 称取白术粗粉(过20目筛)100g,共3份,按最佳提取工艺进行验证试验,结果白术内酯I,II,III的提取率分别为92.62%,92.39%,93.06%,表明优选的提取工艺稳定可行。

3 讨论

预试验考察了不同温浸温度(30,40,50,60,70℃)对白术内酯I,II,III提取率的影响,结果发现3种白术内酯类成分的提取率随温度的升高而增高,40℃时这3种成分的提取率>90%,高于40℃时杂质溶出量明显升高,故选择40℃温浸提取。

中医传统理论认为白术生用燥湿健脾,偏于燥湿作用,苍术酮是引起燥性的主要成分之一^[10],与炮制原则中的“减酮减燥,增酯增效”相对应^[11-12]。经试验证实水蒸气蒸馏法不能提取白术内酯类成分,说明白术内酯I,II,III为相对分子质量较大的非挥发性倍半萜类成分,属于白术挥发油类成分,但不可盲目采用水蒸气蒸馏法提取。而且水蒸气蒸馏后的样品色谱图中,燥性成分苍术酮含量明显增高,不利于白术发挥健脾作用。本文采用乙醇温浸法提取白术内酯类成分,该工艺具有提取率高、杂质溶出

率低,且操作简便易行,后续纯化、工业耗能大大优于乙醇回流法,可为白术的工业化大生产提取提供实验依据。

[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,2010:95.

[2] 杨娥,钟艳梅,冯毅凡. 白术化学成分和药理作用的研究进展[J]. 广东药学院学报,2012,28(2):218-221.

[3] 龙全江,徐雪琴,胡响. 白术的化学、药理与炮制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2004,11(11):1033-1034.

[4] 殷静先. 白术药理研究进展[J]. 时珍国医国药,2000,11(6):572.

[5] 乔小云,李俏,陆晓和. 白术挥发油提取工艺研究[J]. 医药导报,2001,20(9):547-548.

[6] 王峰,蔡光明,刘军,等. 正交试验法优选白术挥发油提取工艺[J]. 解放军药学学报,2009,25(4):311-313.

[7] 李孝栋,潘卫三,吴立军,等. 干姜和白术挥发油提取工艺[J]. 沈阳药科大学学报,2003,20(1):45-47.

[8] 黄江虹. 和胃理肠丸中白术挥发油的提取及包合工艺的研究[J]. 中药材,2007,30(5):613-616.

[9] 吴素香,吕圭源,李万里,等. 白术超临界CO₂萃取工艺及萃取物的化学成分研究[J]. 中成药,2005,27(8):885-887.

[10] 陈晓萍,张长林. 白术不同化学成分的药理作用研究概况[J]. 中医药信息,2011,28(2):124-126.

[11] 容穗华,林海,高妮. 白术炮制工艺及炮制原理的研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(8):1001-1003.

[12] 赵文龙,吴慧,单国顺,等. 麸炒白术“减酮减燥,增酯增效”炮制理论的再印证[J]. 中国中药杂志,2013,38(20):3493-3497.

[责任编辑 刘德文]