

土木香根中土木香内酯和异土木香内酯的微波辅助提取工艺优化

赵永明¹, 张敬², 王哲³, 王宏霞¹, 商兰兰¹, 郭春燕¹, 张万明^{1*}

(1. 河北北方学院药学系, 河北 张家口 075000;

2. 河北北方学院附属第一医院肿瘤内科, 河北 张家口 075000;

3. 河北北方学院附属第一医院泌尿科, 河北 张家口 075000)

[摘要] **目的:** 优选微波法提取土木香根中土木香内酯和异土木香内酯的工艺条件。**方法:** 以土木香内酯和异土木香内酯含量为指标, 通过单因素试验和正交试验考察乙醇体积分数、料液比、微波辐射时间和提取温度等因素对提取工艺的影响, 采用 HPLC 测定指标成分含量。**结果:** 土木香内酯和异土木香内酯的最佳微波提取工艺为乙醇体积分数 90%, 料液比 1:15, 微波时间 180 s, 提取温度 45 ℃。**结论:** 优选的微波提取工艺具有稳定可行、节约时间、能耗低等优点。

[关键词] 土木香; 微波提取; 正交设计; 土木香内酯; 异土木香内酯

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0030-04

[doi] 10.11653/syjf2013080030

Optimization of Microwave-assisted Extraction Technology for Alantolactone and Isoalantolactone from *Inula helenium* Roots

ZHAO Yong-ming¹, ZHANG Jing², WANG Zhe³, WANG Hong-xia¹, SHANG Lan-lan¹,
GUO Chun-yan¹, ZHANG Wan-ming^{1*}

(1. Department of Pharmacy, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China;

2. Department of Oncology, The First Attached Hospital of Hebei Northern Institute, Zhangjiakou 075000, China;

3. Department of Urology, The First Attached Hospital of Hebei Northern Institute, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize microwave-assisted extraction technology conditions for alantolactone and isoalantolactone from roots of *Inula helenium*. **Method:** With the content of alantolactone and isoalantolactone as indexes, which were determined by HPLC, effects of the concentration of ethanol, liquid-solid ratio, extraction time and temperature on technology was investigated by single factor test and orthogonal test. **Result:** Optimal technology conditions described as followings: microwave extracted 180 s with 15 times the amount of 90% ethanol at 45 ℃. **Conclusion:** This optimized technology was stable and feasible with low energy consumption and time saving.

[Key words] *Inula helenium*; microwave-assisted extraction; orthogonal design; alantolactone; isoalantolactone

[收稿日期] 20120925(013)

[基金项目] 河北省中医药管理局资助项目(2010046)

[第一作者] 赵永明, 硕士, 讲师, 从事中药开发研究, Tel: 0313-4029305, E-mail: zym2167@163.com

[通讯作者] * 张万明, 教授, 从事中药新药研究与开发, Tel: 0313-4029305, E-mail: zwm19650228@163.com

土木香具有健脾和胃、行气止痛、安胎之功效, 常用于治疗脘腹胀痛, 呕吐泻痢, 岔气作痛, 胎动不安^[1]。现代药理学研究表明, 土木香内酯和异土木香内酯是土木香中重要有效成分, 具有抗菌、抗炎、抑制肿瘤细胞和结核分枝杆菌、降低血糖等作用^[2-4]。微波辅助提取技术作为一种新型提取方法, 具有操作简单、提取时间短、节能高效、无环境污

染等优点,引起学术界广泛重视^[5-6]。因此,本实验拟采用单因素试验和正交试验,以土木香内酯和异土木香内酯含量为考察指标,优选土木香的微波提取工艺参数,为土木香的开发研究和工业化生产提供实验依据。

1 材料

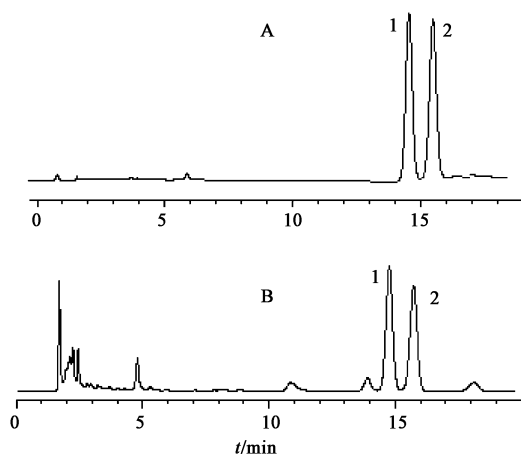
Agilent 1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),MAS-I 型微波提取仪(新仪微波化学科技有限公司),AB135-S 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多)。

土木香购于河北省安国药材市场,经河北北方学院药学系薛贵平高级实验师鉴定为菊科植物土木香 *Inula helenium* L. 的干燥根。土木香内酯、异土木香内酯对照品(南京泽朗医药科技发展有限公司,纯度 >98%),乙腈、甲醇均为色谱纯,水为纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 土木香内酯及异土木香内酯含量测定

2.1.1 色谱条件^[7] Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(50:50),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 220 nm,柱温 30 °C,进样体积 20 μL。见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 异土木香内酯; 2. 土木香内酯

图 1 土木香 HPLC

2.1.2 标准曲线制备 分别精密称量土木香内酯和异土木香内酯对照品 6.60, 4.20 mg 于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,得混合对照品溶液。分别精密量取 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 5.00 mL 置于 50 mL 量瓶中,加流动相定容,按上述色谱条件测定。以峰面积对质量浓度进行线性回归,得回归方程 $Y_{\text{土木香内酯}} = 23.427X + 15.363$ ($r = 0.9996$),线性范围 3.30 ~ 66.00 mg·L⁻¹; $Y_{\text{异土木香内酯}} = 39.433X + 21.642$ ($r = 0.9993$),线性范围 2.10 ~ 42.00

mg·L⁻¹。

2.1.3 精密度试验 取混合对照品溶液,按上述色谱条件连续进样测定 6 次,结果土木香内酯峰面积的 RSD 0.97%,异土木香内酯峰面积的 RSD 0.88%,表明仪器精密度良好。

2.1.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 8, 12 h 测定,结果土木香内酯峰面积的 RSD 1.03%,异土木香内酯峰面积的 RSD 0.92%,说明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.1.5 重复性试验 取同一土木香粉末 6 份,精密称定,微波提取制备供试品溶液,进样测定,结果土木香内酯和异土木香内酯含量的 RSD 分别为 0.95%, 0.92%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 加样回收率试验 分别吸取一定量的样品溶液,加入适量土木香内酯和异土木香内酯的混合对照品溶液,进样测定,计算土木香内酯和异土木香内酯平均回收率分别为 98.21%, 97.68%, RSD 分别为 3.42%, 3.68%。

2.1.7 样品测定 取土木香粉末 10 g,加一定体积乙醇溶液,置于微波提取仪中微波提取,过滤,即得样品溶液。样品溶液用流动相稀释 100 倍,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取 20 μL 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,每个样品测定 3 次,根据标准曲线分别计算含量。

2.2 单因素试验考察

2.2.1 乙醇体积分数 准确称取过 100 目筛的土木香粉末 10 g,分别用 10 倍量水及体积分数为 20%, 40%, 60%, 80%, 100% 的乙醇溶液微波提取,提取温度 50 °C,微波辐射 180 s。提取液离心,进样,结果土木香内酯提取量分别为 2.53, 8.89, 18.30, 18.89, 22.09, 19.88 mg·g⁻¹;异土木香内酯提取量分别为 0.99, 5.77, 11.89, 12.12, 14.07, 12.77 mg·g⁻¹。故选择 80% 乙醇溶液。

2.2.2 物料粉碎度 分别准确称取过 20, 40, 80, 100, 140 目筛的土木香粉末 10 g,加 80% 乙醇溶液 100 mL,于 50 °C 微波提取 180 s,依法测定,结果土木香内酯提取量分别为 9.53, 10.48, 13.37, 16.49, 26.47 mg·g⁻¹;异土木香内酯提取量分别为 6.17, 6.47, 8.16, 10.99, 17.56 mg·g⁻¹。故选择过 140 目筛的土木香粉末为宜。

2.2.3 微波辐射时间 准确称取过 140 目筛的土木香粉末 10 g,加 80% 乙醇溶液 100 mL,分别于 50 °C 时微波提取 30, 60, 120, 180, 240 s,进样,结果土木香内酯提取量分别为 19.67, 21.08, 26.42,

27.53, 26.64 mg·g⁻¹; 异土木香内酯提取量分别为 13.74, 14.62, 15.63, 17.72, 16.27 mg·g⁻¹。故选择微波时间以 180 s 为宜。

2.2.4 料液比 分别称取过 140 目筛的土木香粉末 10 g, 分别用 5, 10, 15, 20, 30 倍量 80% 乙醇微波提取 1 次, 提取温度 50 ℃, 微波辐射 180 s。进样, 结果土木香内酯提取量分别为 19.01, 26.62, 31.57, 30.16, 30.79 mg·g⁻¹; 异土木香内酯提取量分别为 12.11, 17.07, 20.68, 20.29, 20.83 mg·g⁻¹。故选择料液比 1:15。

2.2.5 提取温度 分别称取过 140 目筛的土木香粉末 10 g, 加 15 倍量 80% 乙醇溶液, 分别于 30, 40, 50, 60, 70 ℃ 微波提取 180 s。结果土木香内酯提取量分别为 19.85, 23.06, 33.37, 30.84, 30.69 mg·g⁻¹; 异土木香内酯提取量分别为 13.31, 15.44, 22.68, 20.87, 20.03 mg·g⁻¹。故选取提取温度 50 ℃。

2.3 正交试验设计 在单因素试验基础上, 选择乙醇体积分数、料液比、提取时间及提取温度为考察因素, 进行四因素三水平正交试验, 以土木香内酯和异土木香内酯提取量的综合评分为指标, 综合得分 (Z) 采用加权评分法, 土木香内酯 (X) 和异土木香内酯 (Y) 提取量的权重分别为 0.62, 0.38, $Z = 0.62X + 0.38Y$ 。因素水平见表 1, 试验安排及结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 1 土木香根中土木香内酯和异土木香内酯提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 料液比	C 微波时间 /s	D 提取温度 /℃
1	70	1:12	150	45
2	80	1:15	180	50
3	90	1:18	210	55

由直观分析可知, 各因素对土木香内酯和异土木香内酯含量的影响顺序为 $C > A > B > D$ 。以极值最小的 D 因素为误差项进行方差分析, 结果表明 A , C 因素对提取工艺具有显著影响。确定最佳提取工艺为 $C_2A_3B_2D_1$, 即微波提取 180 s, 乙醇提取分数 90%, 料液比 1:15, 提取温度 45 ℃。

2.4 验证试验 分别称取 3 份土木香根细粉, 每份 20 g, 按优选工艺进行提取。结果土木香内酯提取量分别为 39.64, 39.28, 39.17 mg·g⁻¹, 异土木香内酯提取量分别为 25.21, 24.87, 25.46 mg·g⁻¹。表明优选的提取工艺较稳定。

表 2 土木香根中土木香内酯和异土木香内酯提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	提取量/mg·g ⁻¹		综合 评分
					异土木 香内酯	土木香 内酯	
1	1	1	1	1	19.51	31.69	27.06
2	1	2	2	2	21.25	34.55	29.50
3	1	3	3	3	17.49	29.10	24.69
4	2	1	2	3	20.72	33.81	28.84
5	2	2	3	1	18.99	31.12	25.89
6	2	3	1	2	20.48	32.66	28.03
7	3	1	3	2	19.34	31.32	26.77
8	3	2	1	3	21.37	34.70	29.63
9	3	3	2	1	23.05	37.20	31.82
K_1	27.08	27.56	28.24	28.26			
K_2	27.59	28.34	30.05	28.10			
K_3	29.41	28.18	25.78	27.72			
R	2.33	0.78	4.27	0.54			

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	8.96	2	19.62	<0.05
B	1.03	2	2.25	>0.05
C	27.56	2	60.30	<0.05
D(误差)	0.46	2	1.00	

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

2.5 不同提取方法比较

2.5.1 回流提取法 取土木香药材粉末 20.0 g, 精密称定, 加 15 倍量 90% 乙醇回流提取 1.5 h, 提取液离心, 过滤, 计算土木香内酯和异土木香内酯提取量分别为 26.48, 17.61 mg·g⁻¹。

2.5.2 超声提取法 取土木香药材粉末 20.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加 15 倍量 90% 乙醇于 30 ℃ 超声提取 40 min, 提取液离心, 过滤, 计算土木香内酯和异土木香内酯提取量分别为 30.53, 19.67 mg·g⁻¹。

结果表明, 与超声提取和回流提取相比较, 微波提取工艺能显著缩短提取时间并增强提取效率。

3 讨论

采用微波辅助提取时, 介电常数大的溶剂有助于吸收微波能, 使物料细胞内部温度迅速升高、内部压力急剧上升最终细胞破裂, 有效成分流出。土木香内酯和异土木香内酯属于倍半萜内酯, 该类化合物极性较小, 在乙醇中溶解度较大。本实验最终选

东北铁线莲中抗肿瘤活性成分的提取工艺优选

金晨^{1,2}, 翟兴英^{1,4}, 李翔^{1,2}, 张武岗^{1,2*}, 唐琍萍^{3*}, 张凌¹, 冯育林^{1,2}, 杨世林^{1,2}

(1. 江西中医学院, 南昌 330006; 2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;
3. 江西中医学院附属医院, 南昌 330000; 4. 北京中医药大学, 北京 100102)

[摘要] 目的: 建立东北铁线莲中抗肿瘤活性成分 W2[3-O- α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 6)- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃核糖-(1 \rightarrow 3)- α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖齐墩果酸皂苷]的提取工艺。方法: 以 W2 提取量为指标, 采用 HPLC 测定 W2 含量, 通过正交试验和单因素试验考察提取溶媒、提取时间、料液比、提取次数对提取工艺的影响, 确定 W2 最佳提取工艺。结果: 最佳提取工艺为 30% 乙醇提取 2.5 h, 料液比 1:12, 提取 2 次。结论: 优选的提取工艺合理、稳定、可行, 为东北铁线莲后续研究提供实验依据。

[关键词] 东北铁线莲; 提取工艺; 齐墩果酸皂苷; 正交试验; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)08-0033-04

[doi] 10.11653/syfy2013080033

Optimization of Extraction Process of Anti-tumor Active Ingredient in *Clematis manshurica* Rupr

JIN Chen^{1,2}, ZHAI Xing-ying^{1,4}, LI Xiang^{1,2}, ZHANG Wu-gang^{1,2*},
TANG Li-ping^{3*}, ZHANG Ling¹, FENG Yu-lin^{1,2}, YANG Shi-lin^{1,2}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330006, China;
2. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation of Chinese

[收稿日期] 20121108(015)

[第一作者] 金晨, 在读硕士, 从事天然药物活性成分研究, Tel:0791-88607657, E-mail:last59@sina.com

[通讯作者] * 张武岗, 副教授, 从事天然产物活性成分研究及中药质量标准研究, Tel:0791-87119650, E-mail:zwgchf98@foxmail.com;

* 唐琍萍, 主管药师, 从事药事管理及中药质量标准研究, Tel:0791-86361304, E-mail:tanglipingnc@sina.com

用乙醇-水体系作为提取溶媒, 既保证了有效成分的溶解度, 又有利于样品吸热升温。试验中发现物料粉碎程度对提取效率影响很大, 粒径减小, 药材与提取溶剂接触的面积增大, 促进有效成分的溶出、扩散。

[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, 2010:15.
- [2] Dirsch V M, Stuppner H, Vollmar A M. Cytotoxic sesquiterpene lactones mediate their death-inducing effect in leukemia T cells by triggering apoptosis [J]. *Planta Med*, 2001, 67(6):557.
- [3] Konishi T, Shimada Y, Nagao T, et al. Antiproliferative

sesquiterpene lactones from the roots of *Inula helenium* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(10):1370.

- [4] Huo Y, Shi H M, Wang M Y, et al. Chemical constituents and pharmacological properties of *Radix Inulae* [J]. *Pharmazie*, 2008, 63(10):699.
- [5] 范送玲, 张建军, 熊带水, 等. 川芎微波提取工艺优选 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(18):46.
- [6] 王秀文, 王颖莉, 裴晓丽, 等. 均匀设计法优选党参茯苓水溶性多糖的微波提取工艺 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(4):24.
- [7] 王金, 李素霞, 赵永明, 等. 正交试验优化土木香根中土木香内酯和异土木香内酯的提取工艺 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(12):36.

[责任编辑 全燕]