

祁木香提取工艺优选

王刚, 侯志飞, 相会欣, 谷菲菲, 张雪荣*
(河北化工医药职业技术学院, 石家庄 050026)

[摘要] 目的: 确定祁木香的最佳提取工艺。方法: 采用正交试验对祁木香提取工艺进行优选, 以土木香内酯和异土木香内酯含量为指标, 考察乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间、提取次数 4 个因素的影响, 采用 HPLC 进行含量测定。结果: 最佳提取工艺为 15 倍量 85% 乙醇提取 3 次, 每次 1 h。结论: 该优选提取工艺稳定可行、提取率高, 为祁木香的提取提供科学依据。

[关键词] 祁木香; 提取工艺; 正交试验; 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(2012)09-0026-03

Optimization of Extraction Technology for *Inula helenium*

WANG Gang, HOU Zhi-fei, XIANG Hui-xin, GU Fei-fei, ZHANG Xue-rong*
(Hebei Chemical and Pharmaceutical College, Shijiazhuang 050026, China)

[Abstract] **Objective:** To determine optimum extraction technology of *Inula helenium*. **Method:** Orthogonal test was used to optimize extraction technology of *I. helenium* with the content of alantolactone and isoalantolactone as indexes. Effect of the concentration of ethanol, the amount of solvent, extraction time and extraction times were investigated, the content of index components were determined by HPLC. **Result:** Optimum extraction technology was as follows: refluxing extracted 3 times with 15 times the amount of 85% ethanol, 1 h each time. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable and feasible with high extraction ratio, it could provide scientific basis for extraction of *I. helenium*.

[Key words] *Inula helenium*; extraction process; orthogonal design; alantolactone; isoalantolactone

祁木香在 2010 年版《中国药典》中以土木香名收载, 为菊科植物的干燥根, 为安国八大祁药之一, 辛、苦, 温, 归肝、脾经, 具有健脾和胃、行气止痛、安胎的作用, 用于胸胁、腕腹胀痛、呕吐泻痢、胸胁挫伤、岔气作痛、胎动不安等症^[1-3]。祁木香的提取工艺研究对其产业开发、药理研究及扩大药源具有重要意义。目前只有采用 CO₂ 超临界萃取法和乙醇回流提取后经柱色谱法制备土木香提取物的专利报道^[4], 未见其他文献, 所能购到的市售土木香提取物均为土木香水提物。本研究以土木香内酯和异土

木香内酯含量为指标, 采用回流提取法, 采用正交试验优选祁木香的提取工艺。

1 材料

SSI PC-2000 型高效液相色谱仪(美国 SSI 分析仪器有限公司), JD110-4 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司), 祁木香药材购自河北省安国市药材市场, 经河北化工医药职业技术学院李洪教授鉴定为菊科植物 *Inula helenium* L. 的干燥根, 取干燥的祁木香粉碎, 过筛备用。土木香内酯(批号 110760-200507)、异土木香内酯(批号 0761-200002)对照品均由中国药品生物制品检定所提供, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 土木香内酯和异土木香内酯含量测定^[5]

2.1.1 色谱条件 Kromacil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.05% 磷酸水溶液(60:40), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 194 nm, 柱

[收稿日期] 20110825(015)

[基金项目] 河北省科技支撑计划项目(10276431)

[第一作者] 王刚, 硕士, 副教授, 从事中药研究, Tel: 0311-85110165, E-mail: gwez6997@163.com

[通讯作者] * 张雪荣, 硕士, 教授, 从事药物分离与纯化研究, Tel: 0311-85110176, E-mail: ZHXR62@163.com

温 30 ℃,进样量 20 μL。

2.1.2 对照品溶液制备 精密称取干燥至恒重的异土木香内酯和土木香内酯对照品适量,加甲醇分别配制成 475,380 mg·L⁻¹的对照品溶液。精密吸取对照品储备液 2 mL,甲醇定容至 10 mL,摇匀,得质量浓度分别为 95,76 mg·L⁻¹的混合对照品液。

2.1.3 标准曲线绘制 精密吸取对照品储备液 5 mL,采用倍比稀释法制得系列混合对照品溶液,分别进样 20 μL,测定其峰面积,得异土木香内酯和土木香内酯的标准曲线方程和相关系数分别为 $Y = 82\ 464X - 10^6$ ($r = 0.999\ 2$),在 0.475 ~ 4.75 μg 线性关系良好; $Y = 110\ 438X - 859\ 049$ ($r = 0.999\ 3$),在 0.38 ~ 3.8 μg 线性关系良好。

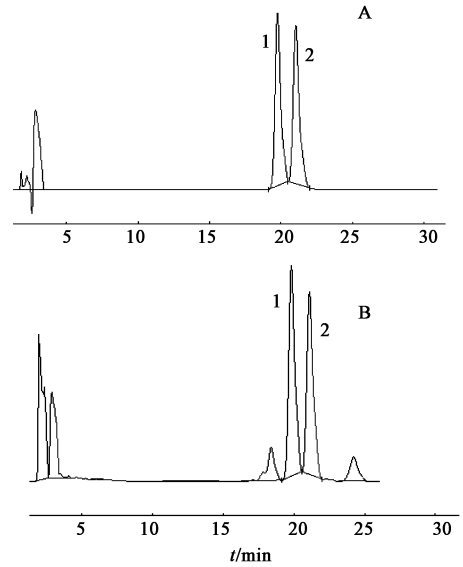
2.2 提取工艺正交试验 根据预试验结果,以乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间和提取次数为考察因素,每个因素设计 3 个水平,按 L₉(3⁴) 正交表设计正交试验(表 1)。

分别取祁木香药材 4 g,按正交因素表中各因素水平进行回流提取,滤过,合并滤液,减压浓缩至约

表 1 祁木香提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 溶剂用量/倍	C 提取时间/h	D 提取次数
1	75	10	0.5	1
2	85	15	1	2
3	95	20	1.5	3

40 mL,定量转移至 50 mL 量瓶中,加乙醇至刻度,摇匀,滤过,精密量取滤液 25 mL,浓缩至近干,残渣加甲醇溶解,转移至 25 mL 量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液 1 mL,甲醇稀释至 10 mL,摇匀,滤过,取续滤液按 2.1.1 色谱条件进行测定,分别吸取对照品溶液、供试品溶液各 20 μL,进样,记录色谱图见图 1。正交试验结果见表 2,方差分析见表 3。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 异土木香内酯; 2. 土木香内酯

图 1 祁木香 HPLC

表 2 祁木香提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	异土木香内酯	土木香内酯
1	1	1	1	1	0.497	0.297
2	1	2	2	2	0.636	0.342
3	1	3	3	3	0.674	0.359
4	2	1	2	3	5.085	3.388
5	2	2	3	1	4.933	3.223
6	2	3	1	2	4.770	3.123
7	3	1	3	2	4.163	2.749
8	3	2	1	3	4.448	2.937
9	3	3	2	1	3.912	2.718
异土木香内酯	K ₁	0.602	3.248	3.238	3.114	
	K ₂	4.929	3.339	3.211	3.190	
	K ₃	4.174	3.119	3.256	3.402	
	R	4.327	0.220	0.045	0.289	
土木香内酯	K ₁	0.333	2.144	2.119	2.079	
	K ₂	3.244	2.167	2.149	2.071	
	K ₃	2.801	2.067	2.110	2.228	
	R	2.911	0.100	0.039	0.157	

表 3 祁木香提取工艺正交试验方差分析

指标	方差来源	SS	f	F	P
异土木香	A	32.050	2	10 213.68	<0.01
内酯含量	B	0.074	2	23.46	<0.05
	C(误差)	0.003	2	1.00	
	D	0.134	2	42.77	<0.05
土木香内酯含量	A	14.766	2	5 852.81	<0.01
	B	0.017	2	6.58	>0.05
	C(误差)	0.003	2	1.00	
	D	0.047	2	18.53	>0.05

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00, F_{0.01}(2,2) = 99.00$ 。

以异土木香内酯含量为评价指标,各因素对提取工艺影响为 $A > D > B > C$,以极差最小的 C 因素为误差项进行方差分析,A 因素有极其显著性影响,B, D 因素有显著性影响。结合直观分析结果,确定最佳提取工艺为 $A_2 B_2 C_3 D_3$,即加 15 倍 85% 乙醇提取 3 次,每次 1.5 h。

以土木香内酯含量为评价指标,各因素对提取工艺的影响与异土木香内酯一致,以极差最小的 C 因素为误差项进行方差分析,其中 A 因素有极其显著性影响。结合直观分析结果,确定最佳提取工艺为 $A_2 B_2 C_2 D_3$,即加 15 倍 85% 乙醇提取 3 次,每次 1 h。

综合考虑提取效率和成本等,确定最佳提取工艺为 $A_2 B_2 C_2 D_3$,即加 15 倍 85% 乙醇提取 3 次,每次 1 h。

2.3 验证试验 按优选的最佳工艺制备供试品溶液,进行 3 次验证试验。结果提取率分别为异土木香内酯 2.511%, 2.703%, 2.611%; 土木香内酯

1.628%, 1.691%, 1.656%。说明确定的最佳工艺是合理的。

3 讨论

市售土木香提取物均为土木香水提物,经测定异土木香内酯和土木香内酯含量极低。分别取异土木香内酯和土木香内酯对照品溶液,在 190 ~ 400 nm 扫描,均在 193 ~ 195 nm 有最大吸收,故检测波长定为 194 nm。

预试验中分别以水、50% 乙醇、60% 乙醇、75% 乙醇、85% 乙醇、90% 乙醇、95% 乙醇、无水乙醇等为提取溶剂进行提取。由于异土木香内酯和土木香内酯易溶于乙醇、三氯甲烷、苯、乙醚,几乎不溶于水,若选用低体积分数乙醇则不利于有效成分提取完全,故正交试验中选择体积分数分别为 75%, 85%, 95% 的乙醇进行考察,结果表明 85% 乙醇提取率较高,与预实验中单因素试验结果一致。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:13.
- [2] 王绪颖,贾晓斌,陈彦.木香类药材的研究进展[J].中药材,2010,33(1):153.
- [3] 李雪莲,朴惠善.土木香的化学成分及药理作用研究进展.中国现代中药,2007,9(6):28.
- [4] 李晓波,霍炎,史海明,等.用于促进胃动力的土木香提取物的提取方法:中国,101380348[P].2009-03-11.
- [5] 侯志飞,张勉之,李洪,等.高效液相色谱法测定祁木香药材中异土木香内酯和土木内酯[J].中草药,2011,42(5):916.

[责任编辑 全燕]