

正交法配合药效指标综合筛选木香切制工艺

张旭,侯影,贾天柱*

(辽宁中医药大学 辽宁省中药炮制工程技术研究中心 国家中医药管理局
中药炮制工艺原理重点实验室,辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的:优选木香的最佳切制工艺。方法:以木香炔内酯含量、去氢木香内酯含量、小鼠小肠炭末推进率为测定指标,以浸润加水量、浸润时间、切片厚度为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表,综合加权评分法确定木香饮片最佳切制工艺。结果:最佳切制工艺为:净木香药材加入0.3倍量水,浸润10h后切成1~2mm薄片。结论:木香的最佳切制工艺合理可行,可为规范木香饮片质量标准提供参考。

[关键词] 木香炔内酯;去氢木香内酯;小肠推进;切制工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)07-0009-04

Optimization of Cutting Technology Associated with
Pharmacodynamic Index for Aucklandiae Radix by Orthogonal Design

ZHANG Xu, HOU Ying, JIA Tian-zhu*

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Chinese Materia Medica Processing
Engineering Center of Liaoning Province, Key Lab of Chinese Materia Medica Processing
Principle of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** to optimize the cutting technology of Aucklandiae Radix. **Method:** The cutting technology of Aucklandiae Radix was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal design taking the content of costunolide and dehydrocostuslactone, the intestinal propulsion in mice as indexes with the amount of water, soaking time and thickness of pieces as factors. **Result:** The best cutting technology of Aucklandiae Radix was cutting 1-2 mm thin

[收稿日期] 20101208(007)

[基金项目] 国家发改委行业专项(200807039)

[第一作者] 张旭,讲师,在读博士,从事中药炮制工艺与原理研究,Tel:0411-87586007,E-mail:mufeitiantian@163.com

[通讯作者] *贾天柱,教授,博士生导师,从事中药炮制原理研究,Tel:0411-87586499,E-mail:jiaatz@lnutcm.edu.cn

[参考文献]

[1] Vane C H, Drage T C, Snape C E. Biodegradation of oak (*Quercus alba*) wood during growth of the shiitake mushroom (*Lentinula edodes*); a molecular approach[J]. J Agric Food Chem. 2003, 51(4):947.

[2] Yang X, Chen H, Gao H, et al. Bioconversion of corn straw by coupling ensiling and solid-state fermentation [J]. *Bioresource Technology*. ,2001, 78(3):277.

[3] Sati S C, Bisht S. Utilization of various carbon sources for the growth of waterborne conidial fungi [J]. *Mycologia*, 2006, 98(5):678.

[4] 袁丽霞,王红. HPLC法测定当归苦参丸中阿魏酸的含量[J]. 中国药事,2008, 22(1):61.

[5] 王英姿,张兆旺,孙秀梅,等. 均匀设计优选当归苦参丸方药的半仿生提取工艺条件[J]. 中草药,2005, 36(2):212.

[责任编辑 全燕]

pieces after soaking 10 h with 0.3 times water. **Conclusion:** The optimum cutting technology of Aucklandiae Radix is reasonable and feasible; it can provide a reference for establishing the quality standard of Aucklandiae Radix pieces.

[**Key words**] costunolide; dehydrocostuslactone; intestinal propulsion; cutting technology

木香为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根,始载于《神农本草经》,列为上品。具有行气止痛、健脾消食的功效,用于治疗气机郁滞症^[1-2]。木香在临床上多切片生用,或用湿纸煨、麦麸煨使用。在炮制研究中多研究其煨法,而对木香切片工艺的研究尚未见报道。由于有效成分流失与软化切制密切相关,故本试验采用正交设计法,以饮片中木香烃内酯和去氢木香内酯含量为指标,并配合药效指标小鼠小肠炭末推进率,通过综合加权评分法筛选最佳切制工艺参数,得到木香最佳切制工艺。

1 仪器、试药与动物

日本岛津公司 LC-20AT 液相色谱仪;KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);METTLER AE240 型 1/10 万分析天平(瑞士 METTLER);FA1004B 电子天平(上海精密科学仪器有限公司);DQ-102 台式椭圆形中药切片机(温岭市林大机械有限公司)。

木香烃内酯对照品(批号 111524-200503)、去氢木香内酯对照品(批号 111525-200706)均购自中国药品生物制品检定所;药材木香购自云南西双版纳勐海农科所,由辽宁中医药大学药学院翟延君教授鉴定为菊科植物木香 *A. lappa* Decne. 的干燥根。莫沙比利:购自成都康弘药业集团股份有限公司(批号 100608 No. 23959)。

昆明种小鼠,体重(20±2) g,雌雄各半;由大连医科大学实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK(辽)2009-4。

2 方法

2.1 正交试验设计 试验药材均选择直径约为 2.9 cm,质量约为 30 g 的木香干燥根作为试验材料,每份 300 g。在单因素考察的基础上,以浸润加水量、浸润时间、切片厚度为考察因素,见表 1。

表 1 木香切制因素水平

水平	A 加水量/倍	B 浸润时间/h	C 切片厚度/mm
1	0.3	8	1.0~1.9
2	0.4	10	2.0~2.9
3	0.5	12	3.0~3.9

2.2 指标性成分的含量测定

2.2.1 色谱条件 Cromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(65:35),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 225 nm,柱温 25℃。见图 1。

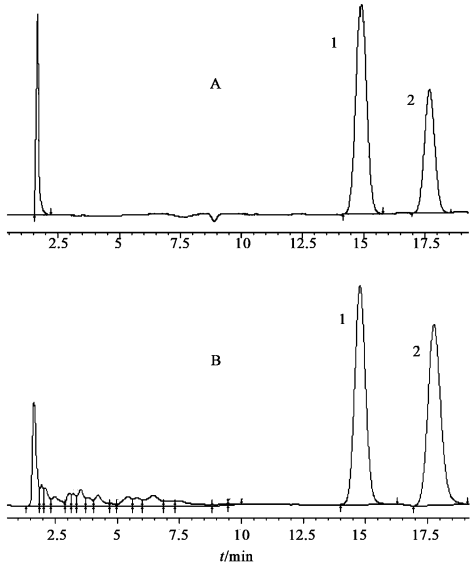


图 1 木香含量测定 HPLC

A. 混合对照品;B. 林香饮片;木香烃内酯;2. 去氢木香内酯

2.2.2 对照品溶液的制备 取木香烃内酯对照品 23.0 mg 和去氢木香内酯对照品 17.5 mg,精密称定,分别置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,分别制得 2.30 g·L⁻¹ 的木香烃内酯贮备液和 1.75 g·L⁻¹ 的去氢木香内酯贮备液。精密吸取木香烃内酯和去氢木香内酯贮备液各 2 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 含木香烃内酯 0.46 mg 和去氢木香内酯 0.35 mg 的混合溶液,即为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备:按《中国药典》2010 年版^[1]木香项下,取正交设计的 9 份木香切制饮片粉末(过四号筛)约 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定质量,放置过夜,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取木香烃内酯和去

氢木香内酯的对照品混合溶液 2.0,4.0,6.0,8.0,10.0,12.0 μL,注入液相色谱仪。以进样量(X , μg)为横坐标,峰面积积分值(Y)为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程分别为:木香烃内酯 $Y_1 = 75\,172X_1 + 6\,526.3$ ($r_1 = 0.999\,8$);去氢木香内酯 $Y_2 = 56\,174X_2 - 15\,702$ ($r_2 = 0.999\,9$)。结果表明:木香烃内酯在 0.92~5.52 μg,去氢木香内酯在 0.7~4.2 μg,呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定木香烃内酯和去氢木香内酯的峰面积。木香烃内酯 RSD 0.79%,去氢木香内酯 RSD 0.99%,结果表明精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0,4,8,12,16,20,24 h 进样分析。结果表明:木香烃内酯 RSD 1.68%,去氢木香内酯 RSD 0.99%。说明供试品溶液在制备后 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品 6 份,分别精密称定,按上述供试品溶液制备方法和色谱条件测定含量,结果木香烃内酯 RSD 0.79%,去氢木香内酯 RSD 0.94%,表明此方法重复性良好。

2.2.8 回收率试验 精密称取已知木香烃内酯和去氢木香内酯含量的同一批样品 0.1 g,分别精密加入一定量的木香烃内酯和去氢木香内酯对照品,按供试品溶液制备项下操作,平行操作 6 份,按上述色谱条件测定含量,计算回收率,木香烃内酯平均回收

率为 99.55%,RSD 1.27%,去氢木香内酯平均回收率为 98.97%,RSD 1.71%。

2.2.9 木香饮片指标性成分含量测定 分别精密吸取对照品和供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,按上述液相色谱条件测定,以外标两点法计算含量。

2.3 小肠推进率试验

2.3.1 木香饮片水煎剂的制备 取正交设计的 9 份木香生品饮片各 20 g,加 120 mL 水煎煮 30 min 过滤,再加水 120 mL 煎煮过滤,合并滤液,浓缩至 40 mL,得到 0.5 g·mL⁻¹的水煎剂。

2.3.2 小肠推进率测定 将小鼠 110 只,按体重随机分成 11 组,禁食 18 h,自由饮水。空白对照、阳性对照及 9 份木香饮片组分别用生理盐水、0.05 g·L⁻¹莫沙比利、0.5 g·mL⁻¹的药液加入 5% 炭末和 10% 阿拉伯胶制成炭末混悬液灌胃,0.02 mL·g⁻¹。10 min 后脱颈处死。剖开腹腔,自盲肠处取出小肠,不加牵引铺平于白纸上,分别量取自幽门括约肌至炭末最前端及至盲肠的距离^[3]。

小肠推进比 = (炭末移动距离/幽 - 盲全长) × 100%

2.4 结果 将测定的木香烃内酯含量、去氢木香内酯含量及药效指标小肠炭末推进率作为考察指标,综合加权评分确定木香饮片切制工艺。正交试验设计表及结果见表 2,方差分析表见表 3。

表 2 木香切制正交试验安排及结果($n = 3$)

	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	木香烃 内酯/%	去氢木香 内酯/%	小肠炭末平均 推进率/%	综合评分
1	1	1	1	1	1.598	1.786	76.83	77.25
2	1	2	2	2	2.184	2.316	64.83	83.40
3	1	3	3	3	2.511	2.685	51.82	84.28
4	2	1	2	3	1.462	2.019	64.33	71.49
5	2	2	3	1	2.281	2.308	63.82	83.95
6	2	3	1	2	2.202	2.950	73.81	94.74
7	3	1	3	2	2.141	1.815	76.37	83.80
8	3	2	1	3	2.224	2.760	74.13	93.23
9	3	3	2	1	1.573	2.705	54.02	74.73
K_1	81.643	77.513	88.407	78.543				
K_2	83.393	86.860	76.440	87.313				
K_3	83.820	84.483	84.010	83.000				
R	2.177	9.347	11.967	8.770				

注:综合评分 = 30 × 木香烃内酯含量/最大木香烃内酯含量 + 30 × 去氢木香内酯含量/最大去氢木香内酯含量 + 40 × 小肠炭末推进率/最大小肠炭末推进率。

表 3 木香切制综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	f	F
A(误差)	7.982	3.991	2	1.000
B	141.590	70.795	2	17.739
C	219.837	109.9185	2	27.542
D	115.380	57.690	2	14.455

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

由正交试验方差分析结果可知,切制木香的影响因素主次顺序为: C (切片厚度) $>B$ (浸润时间) $>A$ (浸润加水量),且切片厚度对结果有显著影响。根据直观分析及生产实际情况可确定木香的最佳切制工艺为 $A_1B_2C_1$,即木香药材加入 0.3 倍量水浸润 10 h 后切成 1~2 mm 薄片。

2.5 验证试验 按优选的切制工艺制备 2 份样品,按 **2.2.9** 项下的含量测定方法进行测定,见表 4。

表 4 验证试验

样品	木香烃内酯 /%	去氢木香内酯 /%	小肠炭末平均 推进率/%
1	1.630	1.811	77.24
2	1.645	1.830	77.36

由表 4 可知,2 份样品中木香烃内酯和去氢木香内酯的质量分数均较高,尤其是小肠炭末推进率很大,与正交试验结果吻合,说明本实验最佳切制工艺可行。

3 讨论

木香含芳香挥发性成分,不宜久煎。切制加工时,如切片太厚,有效成分则不易煎出。另外,所收

集的市售木香饮片外形、薄厚及指标性成分含量差异也较大,因此规范木香饮片切制工艺十分必要。木香生用行气作用强,以配合小肠炭末推进药效指标来综合衡量木香切制工艺,具有实际意义。

本试验正交设计中的 3 号样本,2 个指标性成分含量都比较高,但小肠炭末推进率却比较低。在木香水煎剂的小肠炭末推进实验中,也发现高剂量的水煎剂作用没有中剂量的作用明显。说明木香水煎剂高剂量对肠蠕动起抑制作用,而低剂量对肠蠕动起促进作用,其量效关系还需要进行大量的药理实验研究。根据工艺筛选结果,确立最佳工艺为:木香药材加入 0.3 倍量水,浸润 10 h 后切成 1~2 mm 薄片。初步建议将木香传统的切厚片改为切薄片。此工艺耗水量小,浸润时间能够符合生产作息时间安排,使用切片机进行操作简单易行,因此该切制工艺可操作性强,值得在饮片厂推广使用。不同薄厚的饮片对放置时间、放置环境的要求,需要长时间跟踪检测有效成分的含量及药效而定,还有待于进一步系统研究。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2010;57.
[2] 孙定人,张石革.中成药内科疾病用药:理气剂[J]. 中国药房,2001,12(9):573.
[3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1996;332.

[责任编辑 仝燕]