

预处理方法对羊胆汁中胆酸含量的影响

辛永涛¹,李卫民²,高英^{1*}

(1. 广州中医药大学中药学院新药中心,广州 510006; 2. 广州中医药大学中药学院,广州 510006)

[摘要] 目的:考察羊胆汁预处理方法对胆酸含量的影响。方法:采用直接干燥法、皂化法、真空冷冻干燥法、离心法制备胆酸,通过紫外分光光度法测定胆酸含量,考察不同预处理方法对胆酸含量的影响。结果:不同预处理方法对羊胆汁中胆酸含量影响较大,皂化后粗品、皂化后精品、冷冻干燥品、离心干燥品 1、离心干燥品 2、胆囊直接干燥品的胆酸质量分数分别为 63.41% ,79.55% ,39.67% ,30.62% ,41.71% ,36.26% 。结论:综合干燥品总得率及胆酸含量考虑,直接离心后加 95% 乙醇除去蛋白成分的方法和真空冷冻干燥法较好。

[关键词] 羊胆汁; 胆酸; 紫外分光光度法; 离心法; 真空冷冻干燥法

[中图分类号] R283.3 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0030-03

[doi] 10.11653/syfyj2013200030

Effect of Pretreatment Methods on Content of Cholic Acid of Sheep Bile

XIN Yong-tao¹, LI Wei-min², GAO Ying^{1*}

(1. New Drug Research and Development Center, School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] Objective: To investigate effect of pretreatment methods on the content of cholic acid from sheep bile. Method: Cholic acid was prepared by direct drying method, saponification method, vacuum freeze drying method, centrifugation method, respectively. The content of cholic acid was determined by UV, and effect of pretreatment methods on the content of cholic acid from sheep bile was investigated. Result: Effect of different processing methods on the content of cholic acid was great, contents of cholic acid from saponification crude products, saponification refined products, freeze-dried products, centrifugation drying products1, centrifugation drying products2 and gallbladder direct drying products were 63.41% , 79.55% , 39.67% , 30.62% , 41.71% , 36.26% , respectively. Conclusion: Comprehensive evaluation with yield of dry products and the content of cholic acid, direct centrifugation combining with adding 95% ethanol removal of protein composition and vacuum freeze drying method were better than other methods.

[Key words] sheep bile; cholic acid; UV; centrifugation method; vacuum freeze drying method

羊胆首载于梁代·陶弘景《本草经集注》,苦寒,具有清热解毒、清肝明目退翳之功效,常用于治疗肝热目赤、目生翳障、肺癆吐血、喉头红肿、热毒疮肿、黄

疸等^[1-3]。新鲜羊胆汁中主要成分为胆酸,质量分数>6%,比牛胆汁高^[4]。胆酸具有促进机体胆汁分泌、增加肠蠕动和乳化脂肪等作用,可用于治疗胆囊炎、胆汁缺乏、肠道功能失调、胆石症等,亦可用于熊去氧胆酸、鹅去氧胆酸、甘氨胆酸等的合成^[5]。本实验考察不同预处理方法对羊胆汁中胆酸含量的影响,为羊胆汁资源的充分利用提供实验依据。

1 材料

UVmini-1240 型紫外分光光度计(北京艾飞博科技有限公司),ZD-A18 型真空冷冻干燥机(南京

[收稿日期] 20130326(006)

[第一作者] 辛永涛,在读硕士,从事中药新药研究与开发, Tel:13560258803, E-mail:xinyt1986@126.com

[通讯作者] * 高英,教授,主任中药师,硕士生导师,从事中药新药研究与开发, Tel: 020-39358290, E-mail: 13922735429@126.com

载智自动化设备有限公司)。胆酸对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号 MUST-11070605,纯度 $\geq 98\%$),新鲜羊胆汁(产地内蒙古,经本院高英教授鉴定为绵羊 *Ovisaries* L. 的胆汁),水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 羊胆汁的预处理

2.1.1 皂化法

2.1.1.1 粗制 精密称取羊胆汁 100 g 于 500 mL 圆底烧瓶中,加入 NaOH 10 g,摇匀,在电热套内加热煮沸水解 18 h,冷却,用 10% HCl 酸化至刚果红变蓝,析出绿色盐状游离酸沉淀,浮于上面,取出,水洗至中性,滤干,<60 ℃ 烘干,得干燥胆酸粗品^[8]。

2.1.1.2 精制 取胆汁酸粗品 5 g,加 0.02 倍量活性炭和 4 倍量 95% 乙醇回流 2 h,趁热过滤,回收乙醇至 1/3 生药量,冷却,4 ℃ 静置 3 d,结晶析出,捣碎,用少量无水乙醇洗滤 3 次至无腥味,以无水乙醇重结晶,干燥,得干燥胆酸精品。

2.1.2 冷冻干燥法 称取羊胆汁 5 g 于 30 mL 安瓿瓶中,于 -20 ℃ 冰箱中预冻 2~4 h,取出,在 -40 ℃,0.09 MPa 条件下,真空冷冻干燥 12~14 h,冷冻干燥完全,取出,得干燥品。

2.1.3 离心法 称取羊胆汁 10 g 于 10 mL 离心管中,以 3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,黄色上清液倒于蒸皿中,于 60 ℃ 干燥,得干燥品 1。称取羊胆汁 10 g 于 10 mL 离心管中,以 3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清液,加入 95% 乙醇 20 mL 搅拌均匀,静置 0.5~1.0 h,以 3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,倒出黄色上清液于蒸皿中,60 ℃ 干燥,得干燥品 2。

2.1.4 胆囊直接干燥法 取无破损羊胆囊(内含羊胆汁),直接于室温下悬挂风干,剖开胆囊取出羊胆汁干燥物,得胆囊内干燥品。

2.2 胆酸的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 取胆酸对照品 2.5 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,加 60% 冰醋酸溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 新鲜羊胆汁供试液的制备 精密称取新鲜羊胆汁 1.0 g,置于 100 mL 量瓶中,用 95% 乙醇稀释,振摇并沉淀片刻,上清液过滤,收集滤液 25 mL,在水浴上小心蒸干乙醇,用 60% 冰醋酸溶解并稀释至 25 mL 量瓶中,摇匀,沉淀片刻,取上清液,备用。

2.2.3 不同处理方法供试液的制备 分别精密称取各干燥品适量,分别置于 10 mL 量瓶中,加适量

60% 冰醋酸溶液超声溶解,取出,放冷,加 60% 冰醋酸溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,弃初滤液,精密量取续滤液 5 mL 置 50 mL 量瓶中,用 60% 冰醋酸稀释至刻度,摇匀,备用。

2.2.4 标准曲线的绘制^[7] 精密量取对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,分别置 25 mL 具塞试管中,各试管中加入 60% 冰醋酸溶液稀释至 1.0 mL,分别加入新配制的 1% 糠醛水溶液 1.0 mL,摇匀,于冰浴中放置 5 min,精密加入硫酸溶液(取硫酸 50 mL 与水 65 mL 混合)13 mL,混匀,在 70 ℃ 水浴中加热 10 min,迅速移至冰浴中 2 min,以相应试剂为空白,于 605 nm 处测定吸光度(A),以 A 为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 1.2789X - 0.0566$ ($r = 0.9957$),表明胆酸在 0.10~0.48 g·L⁻¹ 呈良好线性关系。

2.2.5 样品测定 精密量取 2.2.3 和 2.2.2 项下供试液各 1 mL,按 2.2.4 项下方法进行测定,结果见表 1。

表 1 不同羊胆汁预处理方法对胆酸含量的影响

No.	样品	总提取物 得率/%	干燥品 取量/mg	胆酸质量 分数/%
1	皂化后粗品	5.49	31.40	63.41
2	皂化后精品	1.55	19.62	79.55
3	冷冻干燥品	9.90	32.36	39.67
4	离心干燥品 1	10.58	30.50	30.62
5	离心干燥品 2	12.12	31.40	41.71
6	胆囊直接干燥品	-	31.70	36.26
7	新鲜羊胆汁	-	-	3.74

3 讨论

羊胆酸在胆汁中以结合物形式存在,提取时必须选择合理工艺。羊胆汁预处理方法对胆酸含量具有很大的影响,影响因素包括温度、压力、时间等,如常压条件下,时间过短或过长均会影响胆酸的制取。胆酸是生产人工牛黄等的主要原料之一,提高羊胆酸精品的收得率,可降低人工牛黄等合成的生产成本,更有利于工业化生产。皂化法制得胆酸含量高达 79.55%,但总干燥品得率较低,而且皂化时间较长;完整胆囊直接干燥,虽然胆酸含量相对较高,但干燥时间较长,而且从干燥胆囊中不容易取出干燥品,损失较多,得率很低。综合干燥品总得率及胆酸含量,直接离心后加 95% 乙醇除去蛋白成分的方法及真空冷冻干燥法较好。

通脉口服液提取工艺变更及药理试验验证

杨凤梅¹,熊永爱¹,侯莉伟¹,黄晶¹,王念明¹,杨明^{1,2*}

(1. 成都中医药大学,成都 611137;

2. 江西中医学院中药现代制剂教育部重点实验室,南昌 330004)

〔摘要〕 目的:比较不同提取工艺制备的通脉提取液对实验性小鼠心肌缺血的影响。方法:采用腹腔注射异丙肾上腺素建立小鼠心肌缺血模型,比较不同提取工艺制备的通脉提取液 A 和通脉提取液 B、市售通脉口服液、复方丹参片不同药物对小鼠血浆 ATP 含量、心肌组织的影响。结果:模型对照组、通脉口服液组、通脉提取液 A 组、通脉提取液 B 组、复方丹参片组、空白正常组血浆中 ATP 质量浓度分别为(197.06±77.78),(239.60±60.90),(328.21±84.27),(318.42±70.87),(271.13±66.45),(475.93±94.98) μg·L⁻¹,心肌组织损伤指数分别为(2.26±0.86),(1.16±0.28),(0.59±0.17),(0.76±0.23),(0.68±0.12),0。通脉提取液 A 和通脉提取液 B 均表现出比通脉口服液更为显著的治疗效果,治疗效果优于复方丹参片,且通脉提取液 A 效果略优于通脉提取液 B。结论:变更工艺后制备的通脉提取液 A 和 B 均可显著改善小鼠心脏缺血,提高心功能,治疗效果明显优于市售通脉口服液,其中通脉提取液 A 作用更显著。

〔关键词〕 通脉口服液;不同工艺;心脏缺血;ATP;心肌组织

〔中图分类号〕 R283.6;R284.2;R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)20-0032-04

〔doi〕 10.11653/syfy2013200032

Extraction Technology Change and Pharmacological
Test Verification of Tongmai Oral Liquid

YANG Feng-mei¹, XIONG Yong-ai¹, HOU Li-wei¹, HUANG Jing¹, WANG Nian-ming¹, YANG Ming^{1,2*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;

2. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education,

Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

〔Abstract〕 Objective: To compare effects of different extraction processes for Tongmai oral liquid on experimental myocardial ischemia in mice. Method: Intraperitoneal injection of isoproterenol in mice to establish model of myocardial ischemia. Effects of Tongmai extract A, Tongmai extract B, commercially available Tongmai

〔收稿日期〕 20130410(016)

〔第一作者〕 杨凤梅,硕士,从事中药新制剂、新剂型、新技术研究,Tel:18208128471,E-mail:1040736068@qq.com

〔通讯作者〕 * 杨明,教授,博士生导师,从事中药新制剂、新剂型、新技术研究,Tel:028-61800127,E-mail:yangming16@126.com

〔参考文献〕

[1] 郝丽莉,芦彦学,王亚威,等.动物胆汁的药用研究[J].中医药信息,1999,16(3):13.

[2] 刘养清,刘二保.动物胆汁理化特性及药用[M].北京:化学工业出版社,2002:121.

[3] 王凯平,石朝周.动物胆汁药用研究的概况与展望[J].中国中医药科技,2000,7(5):350.

[4] 张能荣.牛胆胆汁质量的研究[J].中草药,1983,14(7):15.

[5] 赵文静,蒋蕾,旺建伟.羊胆汁与其主要成分抗炎作用的比较研究[J].中医药学报,2009,37(4):20.

[6] 吕军,赵松华.牛牛胆酸精品生产工艺的改进[J].贵阳医学院学报,1997,22(3):311.

[7] 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,2010:7.

〔责任编辑 全燕〕