

半仿生法提取鸡骨草中总三萜酸的工艺优选

赖红芳*, 邓秋芬

(河池学院化学与生命科学系, 广西 宜州 546300)

[摘要] 目的: 优选鸡骨草中总三萜酸的半仿生法提取工艺。方法: 采用 UV 测定总三萜酸含量。以总三萜酸提取率为指标, 在单因素试验基础上, 通过正交试验考察提取温度、酸提取时间、碱提取时间、料液比对鸡骨草总三萜酸提取工艺的影响, 并与传统水提法、超声波法进行比较。结果: 最佳提取工艺条件为料液比 1:25, 恒温水浴温度 100 ℃, 酸 (pH 2) 提取时间 55 min, 碱 (pH 8) 提取时间 25 min; 总三萜酸提取率达 0.123%, 高于传统水提法 (0.089%), 但低于超声波法 (0.304%)。结论: 采用半仿生法提取鸡骨草中总三萜酸的工艺具有绿色环保、成本低等优点。

[关键词] 总三萜酸; 鸡骨草; 半仿生法; 提取工艺; 正交试验; 单因素试验

[中图分类号] R283.6; R284.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0046-03

[doi] 10.11653/syfy2013240046

Optimization of Extraction Technology for Total Triterpene Acids from Abri Herba by Semi-Bionic Method

LAI Hong-fang*, DENG Qiu-fen

(Department of Chemistry and Life Sciences, Hechi University, Yizhou 546300, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize semi-bionic extraction technology of total triterpene acids from Abri Herba. **Method:** The content of total triterpene acids was determined by UV. With yield of total triterpene acids as index, based on single factor tests, orthogonal test was adopted to optimize semi-bionic extraction technology of total triterpene acids by taking extraction temperature, ratio of solid-liquid, acid and alkali extraction time as factors, then compared with water extraction method and lower than ultrasonic method. **Result:** Optimum semi-bionic extraction technology was as following: extraction temperature at 100 ℃, solid-liquid ratio of 1:15, acid (pH 2) extraction time 55 min, alkali (pH 8) extraction time 25 min; Under these conditions, yield of total triterpene acids was 0.123%, which was higher than water extraction method (0.089%) and lower than

[收稿日期] 20130501(004)

[基金项目] 广西教育厅科研立项项目(201106LX584)

[通讯作者] * 赖红芳, 硕士, 副教授, 从事天然产物提取及化学成分分析研究, Tel:0778-3141892, E-mail: laihongfang263@163.com

[参考文献]

- [1] 徐剑, 张智豪, 张永萍. 延胡索乙素贴剂处方研究[J]. 中南药学, 2008, 6(2): 148.
- [2] 梁俊, 徐璐, 付文心. NSEM 对付罐作用下家兔表皮形态的观察[J]. 贵州大学学报: 自然科学版, 1998, 15(2): 130.
- [3] 张永萍, 林亚平, 邱德文, 等. 罐疗提高盐酸维拉帕米透皮吸收的研究[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(12): 930.

- [4] 付文心. 付罐疗法[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2000: 10.
- [5] 杨芳芳, 张永萍. 促进药物透皮吸收物理方法的应用概述[J]. 贵阳中医学院学报, 2006, 28(1): 41.
- [6] 刘文, 邱德文, 张永萍, 等. 透皮吸收制剂研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2001, 23(2): 45.
- [7] 卞冰瑶, 张永萍. 罐疗促进川芎嗪凝胶剂透皮吸收后血液中盐酸川芎嗪的富集研究[J]. 微量元素与健康研究, 2011, 28(5): 6.

[责任编辑 全燕]

ultrasonic method (0.304%)。 **Conclusion:** Optimized semi-bionic extraction process had advantages of green environmental protection, low cost and so on.

[**Key words**] total triterpene acids; Abri Herba; semi-bionic; extraction technology; orthogonal test; single factor test

鸡骨草具有解毒利湿、舒肝止痛等功效,主要用于治疗肝炎、乳腺炎、风湿痹痛等症^[1],尤其在保肝护肝、治疗肝炎和肝硬化方面疗效显著^[2]。其主要化学成分包括生物碱类、相思子碱、三萜类、皂苷、黄酮类等化合物^[3],其中三萜类为有效活性成分,具有保肝、抑菌、增强免疫力等作用^[4-5]。目前,鸡骨草中三萜酸的研究多集中于成分的鉴定及分离,提取工艺鲜见报道。半仿生法的提取溶剂为水,具有有机溶剂残留少、有效成分不被破坏等特点^[5-6]。本实验拟采用半仿生法提取鸡骨草中总三萜酸,通过单因素试验筛选影响的因素及水平,以总三萜酸提取率为考察指标,采用正交试验优选提取工艺,为鸡骨草的开发利用及药理作用研究提供实验依据。

1 材料

UV-2102PCS 型紫外分光光度计(尤尼科仪器有限公司),AE240S 型电子分析天平[梅特勒-托利多(上海)有限公司],PHS-3B 型精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。熊果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110742-201220),鸡骨草(购于宜州中药市场,经河池学院化学与生命科学系邓晰朝副教授鉴定为豆科植物广州相思子 *Abrus cantoniensis* Hance 全草,干燥后粉碎,过 20 目筛保存备用),所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总三萜酸的含量测定

2.1.1 对照品溶液的配制 精确称取熊果酸对照品适量,用无水乙醇溶解,制成 $0.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液。

2.1.2 标准曲线的绘制^[7] 精密吸取熊果酸对照品溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL, 分别置于 10 mL 比色管中,水浴蒸干后加入 5% 香草醛-冰醋酸 0.5 mL 和高氯酸 0.8 mL,于 60 °C 水浴中恒温 10 min,冰水冷却,加入冰醋酸 5 mL,用水定容,放置 30 min,以空白溶液作参比,于 548 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度(C)为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 25.35C + 0.1827$ ($r = 0.9995$),线性范围 0.02 ~ 0.1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.3 加样回收率试验 准确移取已知含量的鸡骨草提取液 5 份,每份总三萜酸质量 287.9213 μg ,

分别加入熊果酸对照品溶液 80, 160, 240, 320, 400 μg ,按 2.1.2 项下方法测定,计算回收率分别为 103.25%, 99.67%, 99.02%, 98.37%, 96.42%,说明该方法稳定可靠。

2.2 总三萜酸的提取 准确称取一定量鸡骨草粉末置于 100 mL 圆底烧瓶中,按一定料液比加入适量水,在不同温度下酸(pH 2)、碱(pH 8)提取一定时间,抽滤;取滤渣,重复提取 1 次,抽滤,合并 2 次滤液,浓缩后定容至 10 mL,待测。

2.3 单因素试验考察

2.3.1 提取温度 精确称取 5 份鸡骨草,每份 1 g,固定料液比 1:20,分别于不同温度(30, 40, 60, 80, 100 °C)下酸(pH 2)提取 1 h,碱(pH 8)提取 30 min,按 2.3 项下方法处理,按 2.2 项下方法测定,结果发现总三萜酸提取率随温度的升高而增大,由于实验条件有限,故最高温度只能选择 100 °C。

2.3.2 料液比 精确称取 6 份鸡骨草,每份 1 g,分别于 100 °C 按不同料液比(1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35)进行酸(pH 2)提取 1 h,碱(pH 8)提取 30 min,按 2.3 项下方法处理,按 2.2 项下方法测定,结果总三萜酸提取率分别为 0.078%, 0.080%, 0.094%, 0.106%, 0.089%, 0.076%。

2.3.3 酸提取时间 精确称取 6 份鸡骨草,每份 1 g,固定提取温度 100 °C,料液比 1:25 的条件下,酸(pH 2,人胃部的 pH 约 2)提取不同时间(15, 25, 35, 45, 55, 65 min)后再进行碱(pH 8)提取 30 min,结果总三萜酸提取率分别为 0.013%, 0.020%, 0.049%, 0.056%, 0.083%, 0.068%,整个提取过程中总三萜酸提取率随提取时间的增加而增大,至 55 min 后提取率下降,因为酸提会对纤维素的水解起促进作用,利于总三萜酸析出。

2.3.4 碱提取时间的选择 肠道的 pH 约 8。精确称取 6 份鸡骨草,每份 1 g,固定提取温度 100 °C,料液比 1:25 的条件下,分别酸(pH 2)提取 1 h 后再进行碱(pH 8)提取一定时间(15, 25, 35, 45, 55, 65 min),结果发现总三萜酸含量先随碱提取时间的增加而增大,至 25 min 时,总三萜酸含量达最高,之后提取率随时间的增加反而下降,故选择碱提时间 25 min。

2.4 正交试验优选 在单因素试验基础上,选取提取温度、酸提取时间、碱提取时间、料液比为考察因素,以总三萜酸提取率为评价指标,精确称取鸡骨草 9 份,每份 1 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 鸡骨草三萜酸的半仿生法提取工艺正交试验因素水平

水平	A 提取温度 /℃	B 碱提取 时间/min	C 酸提取 时间/min	D 料液比
1	80	20	50	1:20
2	90	25	55	1:25
3	100	30	60	1:30

表 2 鸡骨草三萜酸的半仿生法提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	总三萜酸提取率/%
1	1	1	1	1	0.035
2	1	2	2	2	0.086
3	1	3	3	3	0.057
4	2	1	2	3	0.039
5	2	2	3	1	0.042
6	2	3	1	2	0.046
7	3	1	3	2	0.061
8	3	2	1	3	0.058
9	3	3	2	1	0.091
K_1	0.059	0.045	0.046	0.056	
K_2	0.042	0.062	0.072	0.064	
K_3	0.070	0.051	0.053	0.051	
R	0.028	0.017	0.019	0.130	

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响主要为 $A > C > B > D$,确定最佳提取工艺 $A_3B_2C_2D_2$,即料液比 1:25,恒温水浴温度 100 ℃,酸提取时间 55 min,碱提取时间 25 min。精确称取鸡骨草 3 份,每份 1 g,按优选的提取工艺进行 3 次平行试验,结果总三萜酸提取率分别为 0.122%, 0.123%, 0.123%,说明该工艺稳定可行。同时称取相同质量的鸡骨草粉末,分别采用传统水提法和超声波法提

取总三萜酸,结果总三萜酸提取率分别为 0.089%, 0.304%,即半仿生法优于传统水提法,但低于超声波法。

3 讨论

与传统的水提法相比,半仿生法能提高三萜酸提取率,因为半仿生法中用到的热酸与热碱能促进植物细胞壁中主要成分水解,而且热酸热碱还能破坏细胞膜和液泡膜的磷脂双分子层结构,使药材中有效成分的提取效率较单一高温度的提取效率有所提高^[8]。与超声波法相比,半仿生法提取总三萜酸的含量虽然较低,但吸收利用率高^[9],且节约了生产成本,绿色环保,又利于工业生产的推广。

[参考文献]

[1] 郭立强,黄礼德,文全泰,等. 鸡骨草色素的超声提取及稳定性研究[J]. 化学世界,2012,53(7):396.

[2] 白隆华,董青松,蒲瑞翎. 中药鸡骨草研究概况[J]. 广西农业科学,2005,36(5):476.

[3] 黄荣韶,王永雄,胡艳,等. 鸡骨草总黄酮含量测定及其含量动态变化研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(17):1428.

[4] 田丽婷,马龙,堵年生. 齐墩果酸的药理作用研究概况[J]. 中国中药杂志,2002,27(12):884.

[5] 周丽华,周沂博. RP-HPLC 法测定不同产地鸡骨草中齐墩果酸与熊果酸的含量[J]. 山西医科大学学报,2010,41(9):801.

[6] 陈晓娟,周春山. 酶法及半仿生法提取杜仲叶中绿原酸和黄酮[J]. 精细化工,2006,23(3):257.

[7] 黄秀香,林翠梧,陈丽芬,等. 微波提取毛老虎茎中总三萜酸的正交实验研究[J]. 中药材,2008,31(1):123.

[8] 李立,周芳,刘敏,等. 半仿生法提取黄芩苷的研究[J]. 中成药,2007,29(10):1527.

[9] 龚慕辛,贾富霞,王敏,等. 不同提取方法对女贞子中齐墩果酸提出量的影响[J]. 北京中医,1999,10(3):53.

[责任编辑 全燕]