

鸭脚木皮中总三萜的提取工艺优化

张慧,尹永芹,汤文伟,黄永昌,贾丽娜,杜冠峰,沈志滨*
(广东药学院中药学院,广州 510006)

[摘要] 目的:建立鸭脚木皮中总三萜的含量测定方法并优选其提取工艺。方法:采用香草醛-高氯酸-浓硫酸法测定总三萜含量,检测波长 540 nm。以总三萜提取率为指标,通过正交试验考察料液比、提取时间和提取次数对鸭脚木皮中总三萜提取工艺的影响。结果:以齐墩果酸为对照品,线性范围 0.083 2~0.280 02 mg,加样回收率 99.36%。最佳提取工艺为加 10 倍量水煎煮提取 3 次,每次 1 h;总三萜平均提取率 2.94%,RSD 0.5%。结论:建立的总三萜含量测定方法稳定可靠,优选的提取工艺合理可行,为鸭脚木皮有效部位的开发提供参考。

[关键词] 鸭脚木皮;总三萜;香草醛-高氯酸-浓硫酸法;正交试验;提取工艺

[中图分类号] R283.6;R284.2 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)08-0005-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014080005

Optimization of Extraction Technology for Total Triterpenoids from
Bark of *Schefflera octophylla*

ZHANG Hui, YIN Yong-qin, TANG Wen-wei, HUANG Yong-chang, JIA Li-na, DU Guan-feng, SHEN Zhi-bin*
(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a determination method of total triterpenoids in bark of *Schefflera octophylla* and optimize its extraction technology. **Method:** Vanillin-perchloric acid-concentrated sulfuric acid method was adopted to determine the content of total triterpenoids with detection wavelength of 540 nm. Based on single-factor tests, $L_9(3^4)$ orthogonal test was designed to investigate effects of solid-liquid ratio, extracting time and times on extraction technology by taking yield of total triterpenoids as index. **Result:** With oleanolic acid as the reference substance, there was a good linear relationship in 0.083 2-0.280 02 mg, the average recovery was 99.36%. Optimal extraction process was as follows: extracted thrice with 10 times the amount of water, 1 h for each time; Under these conditions, average extraction ratio of total triterpenoids was 2.94% with RSD of 0.5%. **Conclusion:** This established method for determination of total triterpenoids was stable and reliable, optimized extraction technology was reasonable and feasible, which could provide theoretical basis for development of effective parts from bark of *S. octophylla*.

[Key words] bark of *Schefflera octophylla*; total triterpenoids; vanillin-perchloric acid-concentrated sulfuric acid method; orthogonal test; extraction technology

鸭脚木主要分布于云南、广东、广西等地,主要含五环三萜及其苷类成分,目前已分离出 100 多种化合物^[1],具有抗肿瘤、抗病毒、镇痛抗炎等药理活性^[2],民间多用于治疗风湿骨痛、跌打肿痛、驳骨止血、咽喉肿痛等。前期研究发现鸭脚木皮乙醇提取物的三氯甲烷萃取部位具有明显的镇痛抗炎作用,

[收稿日期] 20131019(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81202885);国家科技部“十二五”重大新药创制项目(2011zx09102-007-03);广东省科技计划项目(2011A030100013);广州市科技计划项目(12A062131631);广东省科技厅科技计划项目(2010B030700044)

[第一作者] 张慧,在读硕士,从事中药及复方化学成分研究,Tel:13760689572, E-mail:zhanghui2950@163.com

[通讯作者] * 沈志滨,博士,教授,从事中药及复方化学成分研究,Tel:13724866019, E-mail:szb8113@126.com

通过对该部位进行分离鉴定,发现大部分为五环三萜类成分。近期研究发现鸭脚木皮的水提液中含有大量萜类成分,富集纯化使总三萜纯度 >50%,药效学试验验证该部位具有显著的镇痛抗炎作用。本实验拟建立一种紫外比色法测定鸭脚木皮中总三萜含量,结合预试验和前期研究,采用正交试验优选鸭脚木皮中总三萜的提取工艺,为鸭脚木皮有效部位的开发研究提供参考。

1 材料

UV-2450 型紫外-可见分光光度计(日本岛津),XP6 型 1/100 万电子天平(梅特勒-托利多公司),TP-602 型电子天平(丹佛仪器北京有限公司)。鸭脚木皮购于广州市清平药材市场,经广东药学院刘基柱副教授鉴定为鸭脚木 *Schefflera octophylla* (Lour.) Harms 的树皮;齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110709-200505),香草醛(天津市福晨化学试剂厂),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取齐墩果酸对照品 5.022 mg 置于 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取鸭脚木粉末(过 60 目筛)1.00 g,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 95% 乙醇 50 mL,称定质量,超声提取 30 min,补足失重,过滤,取续滤液 30 mL,蒸干,加甲醇溶解定容至 25 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.3 检测波长的选择 取一定量对照品溶液和供试品溶液分别置于 10 mL 具塞试管中,水浴蒸干溶剂,加入 1% 香草醛-高氯酸溶液 0.5 mL,60 ℃ 水浴加热 15 min,立即冰水浴 2 min,加入 77% 硫酸 5 mL,摇匀,以空白试剂为对照,利用紫外-可见分光光度计在 200 ~ 800 nm 进行全波长扫描^[3],结果发现二者均在 540 nm 处有最大吸收,故确定检测波长 540 nm。

2.4 显色条件考察 通过预试验考察香草醛-高氯酸溶液的浓度及用量、显色时间和显色温度等条件,确定最佳显色条件为取适量对照品溶液或供试品溶液置于具塞试管中,水浴蒸干,加入 1.5% 香草醛-高氯酸溶液 0.6 mL,于 70 ℃ 水浴加热 15 min,立即冰水浴 2 min,加入 77% 浓硫酸 5 mL,摇匀,以空白试剂为对照,于 540 nm 处测定吸光度(A)。

2.5 标准曲线的绘制 精密量取齐墩果酸对照品溶液 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4, 3.2 mL, 分别置于 10 mL 具塞试管中,按 2.4 项下显色条件测定 A^[4],

以质量为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $Y = 3.533\ 5X - 0.055\ 9$ ($r = 0.999\ 1$),线性范围 0.083 2 ~ 0.280 02 mg。

2.6 方法学考察^[5]

2.6.1 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 0.3 mL,按 2.4 项下显色条件测定,每隔 30 min 测定 1 次 A,测定 5 次,结果发现供试品溶液在 120 min 内稳定性良好,RSD 1.65%,即样品宜在显色后 120 min 内测定。

2.6.2 精密度试验 精密吸取供试品溶液 0.3 mL,按 2.4 项下显色条件平行测定 6 次,结果 RSD 2.67%,表明仪器精密度良好。

2.6.3 重复性试验 称取药材粉末 6 份(过 60 目筛),每份 1.00 g,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.4 项下显色条件测定,计算 RSD 2.81%,表明该方法重复性良好。

2.6.4 加样回收率试验 精密称取鸭脚木皮药材粉末(过 60 目筛)约 0.5 g,共 6 份,各精密加入齐墩果酸对照品 0.702 8 mg,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.4 项下方法测定,结果见表 1。

表 1 鸭脚木皮中总三萜含量测定的加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中 质量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.500 2	15.32	16.02	99.60	99.36	3.56
2	0.500 9	15.35	16.04	98.18		
3	0.500 5	15.33	16.07	105.30		
4	0.500 2	15.32	15.99	95.33		
5	0.500 5	15.33	16.04	101.00		
6	0.500 7	15.34	16.02	96.76		

2.7 提取工艺优选 预试验确定采用水煎煮法提取,选取料液比、提取时间、提取次数为考察因素,以总三萜提取率为指标,采用 L₉(3⁴) 正交表进行试验,因素水平见表 2。称取同批鸭脚木皮药材 9 份,每份 50 g(过 60 目筛),试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

表 2 鸭脚木皮中总三萜提取工艺正交试验因素水平

水平	A 料液比/g·mL ⁻¹	B 提取时间/h	C 提取数/次
1	1:8	1	1
2	1:10	2	2
3	1:12	3	3

由直观分析可知,各因素对鸭脚木皮中总三萜含量的影响顺序为 C > A > B。方差分析表明 A, C

因素对总三萜含量的影响具有显著性差异, B 因素则无显著性影响,结合生产效率等考虑,确定最佳工艺条件为 $A_2B_1C_3$,即加 10 倍量水煎煮提取 3 次,每次 1 h。

表 3 鸭脚木皮中总三萜提取工艺正交试验安排及直观分析					
No.	A	B	C	D(空白)	总三萜提取率/%
1	1	1	1	1	1.14
2	1	2	2	2	2.17
3	1	3	3	3	2.73
4	2	1	2	3	2.22
5	2	2	3	1	2.96
6	2	3	1	2	1.34
7	3	1	3	2	2.92
8	3	2	1	3	1.62
9	3	3	2	1	2.46
K_1	6.04	6.28	4.10	6.56	
K_2	6.52	6.75	6.85	6.43	
K_3	7.00	6.53	8.61	6.57	
R	0.96	0.47	4.51	0.14	

表 4 提取工艺方差分析				
方差来源	SS	f	F	P
A	0.154	2	38.50	<0.05
B	0.037	2	9.25	>0.05
C	3.444	2	861.00	<0.01
D(误差)	0.000	2		

注: $F_{0.05}(2,2)=19$, $F_{0.01}(2,2)=99$ 。

2.8 验证试验 精密称取同一批鸭脚木皮药材粉末 3 份,每份 50 g(过 60 目筛),按优选的工艺条件提取,计算总三萜提取率 2.94%^[6],RSD 0.5%,表明该工艺方法稳定可靠。

3 讨论

总三萜的含量测定多采用香草醛-高氯酸-冰醋酸法,但预试验对该方法进行考察时发现稳定性较差,经调整发现香草醛-高氯酸-浓硫酸法的稳定性很好,且具有较高的精密度、准确性和重复性。试验过程中发现样品中含有水分会影响结果的准确性,故样品显色前务必蒸干。由于未考察显色剂中香草醛-高氯酸溶液的稳定性,为保证结果的准确性,显色剂均现配现用。

[参考文献]

[1] 郭夫江,李援朝. 鹅掌柴属植物化学研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2006,18(5):873.
[2] 徐杰,彭新君,李文欣,等. 鹅掌柴属植物化学成分、药理及临床应用概况[J]. 湖南中医药大学学报,2006,26(5):62.
[3] 沈岚,冯怡,徐德生,等. 比色法测定三七花中总皂苷的含量[J]. 中成药,2007,29(9):1368.
[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:365.
[5] 王锦玉,李建荣,仝燕,等. 筋骨草中总环烯醚萜苷的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(8):3.
[6] 张兴旺,牛迎风,陶燕铎,等. 秦艽中龙胆苦苷提取工艺研究[J]. 中药材,2009,32(4):625.

[责任编辑 仝燕]

欢迎订阅 2014 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、数据挖掘、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医结合,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,192 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。