

· 药剂与工艺 ·

陆英中乌索酸提取工艺的正交优选

李开泉¹, 邹盛勤¹, 陈武¹, 张绍良², 刘艳凌², 叶文峰^{1*}

(1. 宜春学院生物工程研究所, 江西 宜春 336000; 2. 青龙科技股份有限公司, 江西 宜春 336000)

摘要: 目的 筛选乌索酸提取的最佳工艺条件。方法 根据乌索酸的理化特性, 选取乙醇浓度、乙醇用量、提取时间、除杂剂浓度 4 个因素, 每因素各取 3 水平进行正交试验。结果 采用 7 倍量 90% 乙醇加热回流 2 次, 每次 1 h, 3% 除杂剂除杂为最佳提取工艺条件。结论 本工艺先进合理、实用可行, 有利于工业化生产。

关键词: 陆英; 乌索酸; 正交优选

中图分类号: R284. 2; R286. 02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)09-0791-02

Orthogonal optimization of extract technology for ursolic acid from *Sambucus chinensis*LI Kai-quan¹, ZOU Sheng-qin¹, CHEN Wu¹, ZHANG Shao-liang², LIU Yan-Ling², YE Wen-feng¹

(1. Institute of Biological Engineering, Yichun College, Yichun 336000, China;

2. Qinglong Hitech Co., Ltd., Yichun 336000, China)

Abstract **Object** To research and choose the best technology conditions for extracting ursolic acid from *Sambucus chinensis* Lindl. **Methods** According to physicochemical character of ursolic acid, orthogonal design and tests of extract technology for ursolic acid were carried on, and four factors were chosen such as concentration, quantity of ethanol, extracting time, concentration of clearing agent, and three levels of each factor were used for orthogonal design and test. **Results** That was the best technology condition that ursolic acid was extracted by means of ethyl alcohol (90%) of 7 times as much as raw materials, and it is heated 2 times (each 1 h), and the concentration of clearing agent was 3%. **Conclusion** That is a better technology for industrial production because it is advanced and rational, practical and feasible.

Key words *Sambucus chinensis* Lindl.; ursolic acid; orthogonal optimization

乌索酸(ursolic acid)又名熊果酸、乌苏酸, 是陆英中的主要活性成分^[1,2], 属五环三萜类化合物, 具有保肝、抗肿瘤、抗菌消炎、降血糖、调血脂等作用^[3,4]。乌索酸在植物界分布广泛, 但其含量均很低。因此, 研究乌索酸的最佳提取工艺条件, 提高其得率, 对充分利用植物资源具有重要意义。因此, 本实验采用正交设计对从陆英中提取乌索酸工艺进行了优选。

1 实验部分

1.1 材料与试剂: 原植物采自宜春市, 经江西省药物研究所张海道研究员鉴定为忍冬科植物陆英 *Sambucus chinensis* Lindl. 95% 乙醇(食用级), 活性炭为分析纯, 乌索酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。

1.2 检测仪器: Waters-600 型高效液相色谱仪(美国), Nicolet IMPACT-400 型傅里叶变换红外

光谱仪(美国), INOV A-500 型¹H 及¹³C 核磁共振光谱仪(美国), Autospec-Ultima ETOF EI 及 Magnet BPM 型质谱仪(美国), 显微熔点测定仪(北京分析仪器厂), 三用紫外线分析仪(江阴市申港光电仪器厂)。

1.3 方法与结果

1.3.1 试验设计: 根据乌索酸的理化特性, 研究乙醇浓度(A)、乙醇用量(B)、提取时间(C)、除杂剂浓度(D)为因素, 每因素中取 3 水平, 见表 1。

1.3.2 提取工艺: 称取陆英干粉各 800 g, 置圆底烧瓶中, 加规定量的一定浓度的乙醇, 加热回流提取 2 次, 滤过, 合并提取液, 减压回收乙醇得浸膏, 加水沉降 2 次(时间 10~12 h), 滤取沉降物, 加“XY-I 号”除杂剂除去脂类、酚类及叶绿素等杂质, 再用乙醇溶解, 加活性炭脱色, 经凝析分离, 纯化精制, 于 70℃ 以下烘干得乌索酸。结果见表 2, 方差分析见表 3。

* 收稿日期: 2002-11-18

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)重点资助项目(2002AA2Z3217)

作者简介: 李开泉(1954-), 男, 江西丰城市人, 副研究员, 在国内外发表学术论文 58 篇, 主要研究方向为天然药物研究与开发。

Tel (0795) 3201098

表 1 因素水平表
Table 1 Factors and levels

水平	因 素			
	A /%	B 倍	C/h	D/%
1	85	7.0	1.0~ 1.0	3
2	90	7.5	1.0~ 1.5	2
3	95	8.0	1.5~ 1.5	1

表 2 L₉(3⁴)正交试验结果
Table 2 Results of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	D	乌索酸产量 /g
1	1	1	1	1	1.50
2	1	2	2	2	1.17
3	1	3	3	3	1.31
4	2	1	2	3	1.52
5	2	2	3	1	1.53
6	2	3	1	2	1.23
7	3	1	3	2	0.10
8	3	2	1	3	0.15
9	3	3	2	1	0.50
K ₁	4.04	3.12	2.88	3.53	
K ₂	4.28	2.85	3.19	2.50	
K ₃	0.75	3.10	3.00	3.04	
R	3.55	0.27	0.31	1.03	

表 3 方差分析

Table 3 Variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F值	显著性
A	2.59	2	1.30	130	P<0.01
B	0.01	2			
C	0.02	2			
D	0.18	2	0.09	9	P<0.05
误差 (B-C)	0.03	4	0.01		

$F_{0.05}(2,4)=6.94$ $F_{0.01}(2,4)=18.00$

结果表明,乙醇浓度和除杂剂浓度对提取率影响差异具有显著性,因素 A 取 A₂ 为好,因此 D 取 D₁ 为好,B、C 均不显著,其水平可任取。确定其最佳工艺为 A₂B₁C₁D₁,即以 7 倍量 90% 的乙醇加热回流 2 次,每次 1 h,除杂剂浓度为 3%。

1.3.3 工艺验证:取陆英干粉 8 kg,共 5 份,照优选出的工艺条件进行提取,结果乌索酸产量在 15.36~16.13 g,均值为 15.74 g,RSD 为 2.14% (n=5),其纯度均达 95%。表明本工艺条件对提取陆英中乌索酸是比较稳定的

2 产品检测分析

2.1 理化常数测定:样品为无色针状结晶,不溶于水和石油醚,易溶于乙醇、丙酮、氯仿等有机溶剂, [α]_D²⁰+65°(c,0.095,EtOH), mp 285℃~287℃,

与乌索酸对照品混合熔点不下降

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件:填充剂 C₁₈-ODS,检测波长 220 nm,灵敏度 0.005 AUFS,流动相为甲醇-水(88:12),临用前经脱气处理,流速 0.6 mL/min,柱温 25℃。

2.2.2 测定方法与结果:精密称取干燥至恒重的乌索酸样品和对照品各 2 mg,加甲醇(色谱纯)1 mL 溶解制成样品液及对照品液。精密吸取样品液及对照品液各 10 μL 进样测定,结果两者相对保留时间完全相同,样品中乌索酸含量用面积归一化法处理为 98.96%。

2.3 产品鉴定:产品 IR,¹H NMR,¹³C NMR 光谱数据与文献值^[5,6]一致。根据样品的理化常数及其光谱数据确证为乌索酸

3 讨论

3.1 通过乙醇浓度、乙醇用量、提取时间、除杂剂浓度 4 因素各 3 水平的正交试验,结果表明以 7 倍量 90% 乙醇提取 2 次,每次 1 h,除杂剂浓度 3% 为合理的工艺条件,对陆英(干品)的提取率达 90.2%。

3.2 本工艺中仅以乙醇为溶剂,采用自制“XY-1 号”除杂剂,未加用其他有机溶剂,确保了乌索酸产品无有毒有害溶剂残留,而且解决了同分异构体齐墩果酸分离的难题,为生产高纯度的乌索酸创造了有利条件,有利于工业化生产。

致谢:乌索酸的质谱、核磁共振谱由中国医学科学院药物研究所方启程教授代测。

References

[1] Li K Q, Chen W, Xiong X J. Chemical research of ursolic acid—the anti-hepatitis component in *Sambucus chinensis* Lindl. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (Suppl): 36-37.
[2] Chen W, Li K Q, Xiong X J. Research of the anti-hepatitis active component of *Sambucus chinensis* Lindl. [J]. *J Nan-chang Univ* (南昌大学学报), 2001, 25(2): 165-167.
[3] Song J, Zhang Q L. Developments in research of pharmacology of ursolic acid [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (Suppl): 196-198.
[4] Huang J, Sun Y. Antitumor activation of ursolic acid [J]. *Chin New Drug J* (中国新药杂志), 1997, 6(2): 101-103.
[5] Cong P Z. *Application of Mass Spectroscopy in Organic Chemistry of Natural Products* (质谱学在天然有机化学中的应用) [M]. Beijing: Science Press, 1987.
[6] Peng S Q. *Interpretation of Drug Spectroscopy* (药物的波谱解析) [M]. Beijing: Beijing University of Medical Science and Peking Union Medical College United Press, 1998.