

外实验得到了 C2-13 发酵炮制红花提高了其抗羟自由基氧化活性, 提高了其对小鼠肝脂质过氧化的抑制作用的结果。由红花中各有效成分结构可以看出, 发酵后红花抗氧化活性的提高可能与 C2-13 所产生的各种糖苷水解酶有关。红花中有许多糖苷类化合物, 其中很多糖苷是酚羟基与葡萄糖缩合而成。如新红花苷、6-羟基山柰酚-3-O-葡萄糖苷、6-羟基山柰酚-7-O-葡萄糖苷、槲皮苷等。当糖苷水解酶将这些糖苷键上的葡萄糖水解掉后, 就会使酚羟基的数目大幅度提高, 可进一步提高红花的抗氧化性, 此外水解后产生的苷元比相应的糖苷容易吸收, 生物利用率更高, 更有利于发挥其药理作用。

通过 HPLC 法检测了 C2-13 发酵红花对其有效成分的炮制, 发现了一些特征吸收峰的消失和一

些新的吸收峰的出现, 这可能与发酵后红花降血清总胆固醇和抗羟自由基氧化能力提高这一现象有关。为了从机制上解释这一现象, 还需要利用核磁共振、液质联用等进行深入的研究。

References

- [1] Weng X H, Li Q, Cao Q L. New field for study of TCM through fermentation by microbe [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(3): 267-268.
- [2] Jing M, Li J R, Cai Y X, *et al*. Antioxidative effect of aqueous components of flower *Carthamus tinctorius* L. [J]. *J Cardiovasc Pulm Dis* (心肺血管病杂志), 1998, 17(4): 277-279.
- [3] Jin M, Cai Y X, Li J R. 1, 10-Phenanthroline-Fe²⁺ oxidative assay of hydroxyl radical produced by H₂O₂/Fe²⁺ [J]. *Prog Biochem Biophys* (生物化学与生物物理学进展), 1996, 23(5): 553-555.
- [4] Huang X Q, Jiang H D, Xu Q, *et al*. Studies on the effect of Chinese beauty berry (*Calliandra cathayana*) on antilipid peroxidation [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(4): 246-249.

血竭的超临界 CO₂ 流体萃取工艺研究

俞蔚, 雍克岚*

(上海大学生命科学学院, 上海 200436)

摘要: 目的 研究超临界 CO₂ 流体萃取 (SFE-CO₂) 血竭中抑制 α -葡萄糖苷酶有效成分的工艺条件。方法 采用单因素法, 探讨了压力、温度、时间和 CO₂ 流量对血竭萃取率和抑制 α -葡萄糖苷酶活力提高率的影响。结果 最佳工艺条件为萃取压力 15 MPa, 温度 45℃, CO₂ 流量为 30 kg/h, 时间 2 h, 优于传统的索氏抽提。结论 SFE-CO₂ 工艺用于血竭中有效成分提取, 萃取率和抑制 α -葡萄糖苷酶活力提高率均有较大程度提高。

关键词: 血竭; α -葡萄糖苷酶; 超临界 CO₂ 萃取

中图分类号: R284.2 R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)06-0633-03

Technology of supercritical CO₂ extraction process of Dragon's Blood

YU Wei YONG Ke-lan

(School of Life Science, Shanghai University, Shanghai 200436, China)

Abstract Object To study the technology of supercritical CO₂ extraction of effective components from Dragon's Blood which has the inhibiting function on α -glucosidase. **Methods** The influence of the extraction pressure, temperature, time and fluid velocity on surplus extraction rate and the improvement of inhibition was mainly discussed. **Results** The optimal experimental parameters were 15 MPa extraction pressure, 45℃ extraction temperature, 30 kg/h fluid velocity and 2 h extraction time. **Conclusion** The results show that SFE-CO₂ can enormously increase the surplus extraction rate and the inhibitory activities on α -glucosidase.

Key words Dragon's Blood; α -glucosidase; SFE-CO₂

血竭 (Dragon's Blood) 被誉为“活血之圣药”, 主要来源于百合科龙血树属藤本植物龙血树 *Draecena draco* L. 的树脂及同属植物果实中溶出或分

泌的红色树脂。性甘、温、咸、平, 具活血化瘀、消肿止痛、止血补血之功效。现代医学研究表明, 血竭具有改善机体微循环, 调整新陈代谢, 改善免疫功能等作

* 收稿日期: 2003-07-11

基金项目: 上海市科技发展基金资助项目 (02DZ9118)

作者简介: 俞蔚 (1978-), 女, 上海人, 硕士, 主要从事天然活性物质的分离与分析。Tel: (021) 66134078 Fax: (021) 66132177

E-mail: jyy518@sina.com

* 通讯作者

用。本实验室首次发现血竭对 α -葡萄糖苷酶具有强抑制作用,是一种极具开发价值的潜在降糖药物^[1]。血竭的化学成分复杂,国产血竭主要含有挥发油、黄酮类、强心苷、蒽醌、鞣质及酚类化合物等^[2]。目前超临界流体萃取技术 (supercritical fluid extraction, SFE) 已成功地应用于食品、中药、香料、医药和化工等领域。本实验采用 SFE 技术探讨了各因素对血竭萃取效果的影响,从而为血竭有效成分大规模工业化生产奠定了基础。

1 仪器与材料

HA 220-50-06 型超临界流体萃取装置 (南通市华安超临界萃取有限公司), 索氏抽提器 (上海化学试剂公司)。

芒果牌广西血竭 (购自广西中医学院), α -D-葡萄糖苷酶 (α -D-g lucosidase, Sigma 公司); 4-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG, E. merck 公司), 还原型谷胱甘肽 (中国科学院上海生物化学研究所), 试剂均为分析纯, CO₂ (食品级, 99.9%)。

2 方法与结果

2.1 血竭的 SFE-CO₂ 单因素试验设计: 影响 SFE-CO₂ 流体萃取结果的因素主要有萃取压力、萃取温度、萃取时间和 CO₂ 流量。为了确立超临界流体萃取的最佳工艺条件, 进行了 4 个条件的单因素试验, 即控制其中的 3 个因素不变, 只改变第 4 个因素, 依次得到这 4 个因素各自的最佳状态。最后以 4 个最佳条件整体作为超临界萃取的条件进行试验验证。

2.2 SFE-CO₂ 萃取工艺: 称取一定量血竭细粉装入萃取釜中, 调节萃取釜的压力和温度, 使达到适宜的萃取工艺条件。综合考虑萃取压力、温度、时间和 CO₂ 流量等因素对萃取效果的影响。

2.3 供试品溶液的配制: 分别称取各样品 10 mg 溶于甲醇中, 配成 1 mg/mL 的溶液。

2.4 各指标的确立

2.4.1 萃取率的计算: 萃取率 = (原料质量 - 萃出物质量) / 原料质量 $\times$ 100%

2.4.2 抑制活力提高率的计算: 将 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液 1.2 mL, 1 mg/mL 谷胱甘肽 50 μ L, 一定体积的抑制剂, 0.1 U/mL α -葡萄糖苷酶 2 μ L, 0.116 mol/L PNPG 50 μ L 加入试管中混匀, 于 37 $^{\circ}$ C 保温 10 min, 加入 10 mL 0.1 mol/L 碳酸钠终止液。采用 UV-260 型紫外分光光度计在 400 nm 处测定吸光度 (A) 值, 以蒸馏水作空白。根据抑制率的定义与本实验的实际方法, 按下式计算:

$$\text{抑制率 } I = (\Delta A_E - \Delta A) / \Delta A_E \times 100\%$$

ΔA_E 为酶与底物反应后的 A 值 (扣除相应空白)

ΔA 为加入抑制剂后酶反应的 A 值 (扣除相应空白)

每种抑制剂以 lgC 为横坐标, 抑制率 I 为纵坐标, 做回归曲线, 于 50% 抑制率处得半抑制率 ID₅₀。

$$\text{抑制活力提高率} = (\text{ID}_{50}\text{血竭全粉} - \text{ID}_{50}\text{血竭萃取物}) / \text{ID}_{50}\text{血竭全粉} \times 100\%$$

2.5 萃取压力的影响: 见图 1 可见, 随着萃取压力的增加, 活力提高率先急剧上升, 然后缓慢下降。这是因为压力增加, 超临界 CO₂ 的密度变大, 血竭中非极性无效成分在超临界 CO₂ 中的溶解度随着增大, 但当压力上升至一定限度时, 血竭中部分起协同作用的非极性组份也被萃取出来, 造成抑制活性降低, 同时设备的能耗也随之增加。并且随着压力的增加, 越来越多的物质被萃取出来, 萃取率呈逐渐下降的趋势。因此选择最佳萃取压力为 15 MPa。

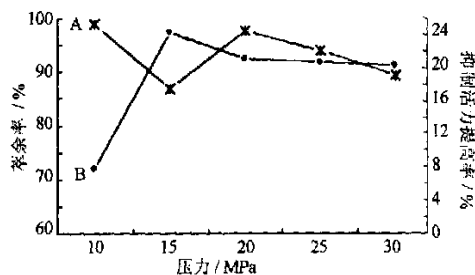


图 1 压力对萃取率 (A) 和抑制活力提高率 (B) 的影响

Fig 1 Effect of pressure on surplus extraction rate (A) and inhibitory activities (B)

2.6 萃取温度的影响: 见图 2 可见, 当萃取压力处于低压区 (< 10 MPa) 时, 50 $^{\circ}$ C 萃取温度下血竭萃取物的活力提高率较 40 $^{\circ}$ C 时的高; 当萃取压力处于中压区 (> 15 MPa) 时, 40 $^{\circ}$ C 萃取温度下因降低了 CO₂ 的密度, 使物质的溶解降低而不利于萃取, 两者相互制约, 相互影响。因此最佳萃取温度为 40 $^{\circ}$ C。

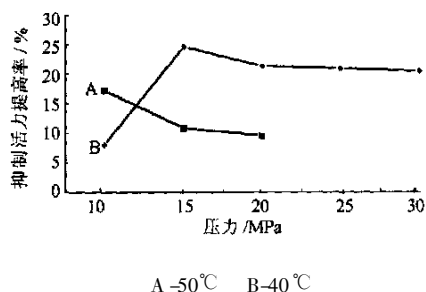


图 2 不同萃取温度对抑制活力提高率的影响

Fig 2 Effect of different temperature on inhibitory activities

2.7 萃取时间的影响: 见图 3 可见, 随着萃取时间的增加, 血竭萃取物的活力提高率先上升后下降, 这是因为随着时间的延长, 物质在超临界 CO₂ 中的溶

解度也增大,但当萃取至一定程度,随着血竭中起协同作用的非极性组份的萃出,抑制活力也随之下降。同时随着萃取时间的延长,越来越多的物质被萃取出来,萃取率也随之下降。因此选择最佳萃取时间为 2 h

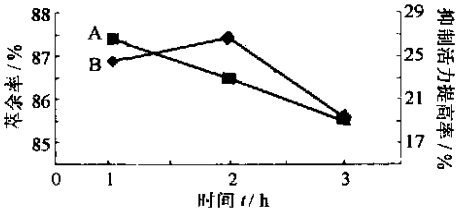


图 3 时间对萃取率(A)和抑制活力提高率(B)的影响

Fig 3 Effect of time on surplus extraction rate (A) and inhibitory activities (B)

2.8 CO₂ 流量的影响: 见图 4 超临界 CO₂ 流体流量对提取率具有双重作用,增加流体流量一方面因减少超临界流体在物料中的传质接触时间而降低了萃取率,另一方面因增加了传质速率和浓度差而利于物质的萃取。随着流量的增大,浓度差也增大,但溶质在 CO₂ 中的溶解量减小,当流量增大到一定值时,提取效率不再随流量增大而有明显变化,再增加 CO₂ 流量,使血竭与 CO₂ 的接触时间缩短,血竭中成分来不及充分扩散到 CO₂ 中,同时过大的 CO₂ 流

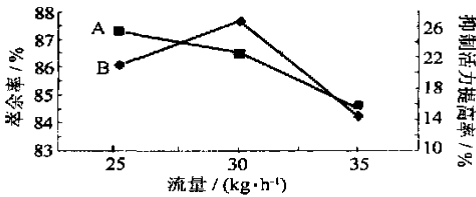


图 4 CO₂ 流量对萃取率(A)和抑制活力提高率(B)的影响

Fig 4 Effect of CO₂ flow on surplus extraction rate (A) and inhibitory activities (B)

量也会导致消耗增加,因此,流量存在一个最佳值。从本实验结果来看,流量取 30 kg/h 为宜。

2.9 SFE-CO₂ 法和索氏抽提法提取结果的比较: 称取广西血竭细粉(过 60~80 目筛) 100 g 加入石油醚 1 600 mL 进行索氏抽提,温度为 85℃,提取时间为 30 h,回收溶剂,得血竭石油醚提取物。将血竭的超临界流体萃取法与石油醚索氏提取法作比较,各实验对比条件与结果见表 1。可见,用 SFE-CO₂ 法萃取血竭,与传统的索氏抽提法相比较,条件温和,生产工艺周期大大缩短,得率和 α-葡萄糖苷酶抑制活力均有较大提高。

表 1 SFE-CO₂ 法和索氏提取法萃取血竭中成分工艺比较

Table 1 Comparison of technology for SFE-CO ₂ and solvent extraction of Dragon's Blood constituents						
提取方法	温度 /℃	压力 /MPa	提取时间 /h	得率 /%	D ₅₀	抑制活力提高率 /%
SFE-CO ₂	40	15	2	98.2	3.13	27.9
索氏提取	85		30	95.0	3.85	11.3

3 讨论

超临界流体萃取技术作为一种新型的绿色化工技术,在中药有效成分的分离提取领域中具有广阔的应用前景。本实验采用超临界 CO₂ 流体萃取血竭中降血糖有效成分具有明显的优势,同时确立的工艺路线可作为工业化大生产的参考,具有较强的经济效益和社会效益。

References

[1] Huang M H. The fingerprints establishment of Dragon's Blood and their inhibitive activity to α-galactosidase [A]. Dissertation of Master Degree of Shanghai University (上海大学硕士学位论文) [D]. Shanghai School of Life Science, Shanghai University, 2002.

[2] Ling A P, Tu P F, Zheng J H. Study on pharmacopoeia of Dragon's Blood [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1994, 19(11): 648-649.

GCM S法测定麻黄汤不同配伍对桂皮醛含量的影响

魏凤环*, 罗佳波*, 陈飞龙, 贺 丰*

(第一军医大学 中药制剂重点实验室, 广东 广州 510515)

摘要: 目的 建立气相色谱-质谱法(GC-MS)测定麻黄汤中桂皮醛含量的方法, 研究配伍对桂皮醛含量的影响。方法 GC-MS 法测定桂皮醛的含量, 并用 MS 鉴定其他色谱峰。采用 L₈(2⁷) 正交设计安排试验, 统计软件

* 收稿日期: 2003-06-12
基金项目: 国家自然科学基金重点项目: 麻黄汤配伍规律的研究 (30030150)
作者简介: 魏凤环 (1976-), 女, 山东人, 中药药剂专业博士研究生, 2001 年获山东中医药大学中药药剂专业硕士学位, 研究方向为中药基础研究及中药新药的研究开发。Tel (020) 61648265 E-mail awag8486@sohu.com
* 通讯作者 Tel (020) 61648266 E-mail lj@fimmu.edu.cn