

使用微波法提取丹参素与原儿茶醛,提取时间分别为传统的 1/2。

用微波法提取丹参所得丹参素、原儿茶醛及丹参酮的量均高于传统提取法,说明中药材资源得到了充分地利用,而提取时间又大大缩短,因此可节省大量可观的能量。在国际能源价格上涨、世界能源资源危机的今天,节约能源意味着可以降低中药成本,有利于占领国内与国际市场。本实验研究为中试提

供了很好的依据。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.  
 [2] Chen L, Yang Y, Zhang X X, et al. Studies on the microwave-assisted extraction of efficacious ingredients in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2004, 25 (1): 35.  
 [3] Zhang D J, Liu C B, Xiu Z L, et al. Application of microwave technology to the extraction of active constituents in plants [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (9): S-vi.

### 正交试验法优选雀儿舌头提取工艺的研究

龙 跃<sup>1</sup>, 陈彦君<sup>1</sup>, 杜 坡<sup>1</sup>, 赵清治<sup>1</sup>, 潘 彦<sup>1</sup>, 张 旭<sup>2</sup>, 孙希孟<sup>1</sup>, 张宇虹<sup>1</sup>

(1. 郑州大学 化学系, 河南 郑州 450052; 2. 郑州大学医学院 生物教研室, 河南 郑州 450052)

摘 要:目的 优化雀儿舌头中抗癌活性成分的提取工艺。方法 选择乙醇体积分数、乙醇用量、加热温度作为因素,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表,以抗癌活性为指标进行正交优选。结果 最佳提取工艺为 25 ℃,加 8 倍量的 75%乙醇提取。结论 该优化的提取工艺抗癌活性高,稳定性好,适用于产业化。

关键词:雀儿舌头;提取工艺;正交试验

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)11-1642-02

#### Optimum extracting technology for *Leptopus chinensis* by orthogonal test

LONG Yue<sup>1</sup>, CHEN Yan-jun<sup>1</sup>, DU Po<sup>1</sup>, ZHAO Qin-zhi<sup>1</sup>, PAN Yan<sup>1</sup>, ZHANG Xu<sup>2</sup>, SUN Xi-meng<sup>1</sup>, ZHANG Yu-hong<sup>1</sup>

(1. Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Department of Biology, Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Key words: *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark; extracting technology; orthogonal test

雀儿舌头 *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark 系大戟科黑钩叶属植物,别名黑钩叶、草桂花、黄杨皮(湖北)、一叶秋(神农架),为一年生草本植物,广泛分布于吉林、湖北、河南、陕西、山西、甘肃、山东、湖北、四川、云南、西藏等地。其根性温,具有理气止痛,治疗胃病,腹泻下痢等作用。民间还用来治疗黄疸、胃炎、水肿等多种疾病<sup>[1,2]</sup>,在河南汝州甚至用它来治疗癌症。雀儿舌头的乙醇提取物和水提取物对食管癌 Eca-109 细胞株进行体外实验,观察到雀儿舌头提取物均有较强的肿瘤抑制作用<sup>[3~5]</sup>。为深入研究其药用价值,提高其提取工艺的科学性和合理性,本实验以雀儿舌头的乙醇提取物对肿瘤细胞的杀伤效能为指标,采用正交试验优选其最佳提取工艺,为生产提供科学依据。

#### 1 试剂与仪器

雀儿舌头药材由河南省禹州市外贸局提供,郑州大学药学院潘成学鉴定。试剂均为分析纯。实验所用食管癌 Eca-109 细胞株来自郑州大学医学院重点实验室。

电热恒温水浴锅(北京市西城区医疗器械厂), Rc-52-99 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), ZK-82A 型真空干燥箱(上海市实验仪器总厂),超净工作台(苏州净化设备工业公司),BH2-RFC-5 荧光显微镜(湖北众友科技实业有限公司),CO<sub>2</sub> 培养箱(日本三洋)。

#### 2 方法与结果

##### 2.1 提取方法的选择

2.1.1 水提取法:将药材粉碎,过 10 目筛,称取粗

收稿日期:2005-02-04

基金项目:河南省科委攻关项目(0224630011)

作者简介:龙 跃(1960—),男,湖南湘潭人,教授,硕士,1982 年毕业于湖南师范大学化学系,研究方向为有机合成和天然产物化学研究。E-mail: longyue@zzu.edu.cn

粉 15 g,加水 150 mL,常温浸泡提取 5 d,滤过。低温浓缩至 50 mL,吸取适量的浓缩液,加到 100 mL 量瓶中备用。

2.1.2 乙醇提取法:将药材粉碎,过 10 目筛,称取粗粉 15 g,加 75%乙醇 150 mL 常温浸泡提取 5 d,滤过。低温浓缩至 50 mL,吸取适量的浓缩液,加到 100 mL 量瓶中备用。

2.1.3 抗癌活性的测定:取对数生长的食管癌 Eca-109 细胞株,配成浓的细胞混悬液,检查存活率 (Trypan Blue Exclusion Stain 法),存活率 > 95% 的用于实验。稀释成  $(3\sim 5)\times 10^4$  mL 的细胞混悬液,在 24 孔的细胞培养板中,每孔加入混悬液 1.0 mL,然后分别加入上述药物溶液 0.1 mL,空白对照组加入 0.1 mL 的培养液,在含有 50% CO<sub>2</sub>+95% 空气,37 °C 的培养箱内培养。培养 72 h 后,将细胞制成细胞混悬液,利用细胞计数板,显微镜下计数,按下式计算抗癌活性。见表 1。

抗癌活性 = (空白细胞数 - 实验组细胞数) / 空白细胞数 × 100%

表 1 雀儿舌头提取条件与抗癌活性的关系 (n=6)

Table 1 Relationship between extracting condition and anticancer activity (n=6)

提取条件	抗癌活性/%	RSD/%
水提取法	28.43±0.642	2.15
乙醇提取法	43.32±0.536	1.06

2.2 最佳醇提参数的考察:乙醇提取法优于水提取法,根据预试验,选乙醇体积分数、乙醇用量、加热温度,作为观察的 3 个因素,每个因素选择 3 个水平,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行实验设计优化。结果见表 2~4。

表 2 因素水平

Table 2 Factors and levels

水平	因 素		
	A 乙醇用量/倍	B 乙醇体积分数/%	C 加热温度/°C
1	8	55	25
2	10	75	50
3	12	95	75

由 R 值可以看出,各因素指标对实验结果的重要性次序为 B>C>A,方差分析表明,乙醇体积分数对实验结果有显著性的影响,乙醇的用量对抗癌活性无显著性的影响。因此,权衡利弊,雀儿舌头中抗癌活性成分的最佳提取工艺为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>1</sub>,即乙醇体积分数为 75%,稀释倍数为 8,温度为 25 °C。

2.3 验证试验:采用优化筛选后的工艺路线技术重复试验 3 次,测定抗癌活性以考查工艺技术路线的稳定性。结果平均抗癌活性为 52.39%,表明 3 次试验的抗癌活性无显著性的差异,本研究制定的工艺

表 3 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验结果

Table 3 Results of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	抗癌活性/%
1	1	1	1	1	37.08
2	1	2	2	2	42.51
3	1	3	3	3	32.26
4	2	1	2	3	37.16
5	2	2	3	1	41.37
6	2	3	1	2	40.25
7	3	1	3	2	35.37
8	3	2	1	3	50.03
9	3	3	2	1	36.23
K <sub>1</sub>	37.283	36.511	42.453	38.227	
K <sub>2</sub>	39.593	44.337	38.633	39.377	
K <sub>3</sub>	40.543	36.247	36.333	39.817	
R	3.260	8.390	6.120	1.590	

表 4 方差分析

Table 4 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	P 值
A	16.866	2	8.433	4.171	
B	136.086	2	68.043	33.651	P<0.05
C	51.337	2	25.668	14.178	
D(误差)	4.044	2	2.022		

F<sub>0.05</sub>(2,2)=19.00 F<sub>0.01</sub>(2,2)=99.00

路线具有较好的稳定性。

### 3 讨论

本实验选择与雀儿舌头功效相对应的抗癌活性为指标,以对抗癌活性有较大影响的乙醇体积分数、乙醇用量、加热温度为 3 个主要因素,采用正交法优化了雀儿舌头的提取工艺。该提取工艺具有稳定性好,抗癌活性高,操作简单,生产成本较低的优点,适用于产业化,为进一步开发打下了良好基础。

本品提取工艺中温度升高,抗癌活性降低,可能是由于温度升高使抗癌活性成分分解加速所致,具体原因还有待进一步探讨和研究。

致谢:药理活性实验由郑州大学基础医学院曲全智教授及硕士研究生文彩虹帮助测定。

### References:

- [1] Ran X D. *Comprehensive Lexicon of Chinese Materia Medica* (中华药海) [M]. Harbin: Harbin Publishing House, 1993.
- [2] Xie Z W, Yu Y C. *Taxonomy of Nation wide Chinese Herbal Medicine* (全国中草药名鉴) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1996.
- [3] Long Y, Lu J S, Chen X L, et al. The elementary analysis on herbal medicine *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark [J]. *J Henan Med Univ* (河南医科大学学报), 2000, 35 (1): 53-54.
- [4] Long Y, Chen X L, Lu J S, et al. Determination of the content of amino acids in *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark. [J]. *J Henan Med Univ* (河南医科大学学报), 2000, 35 (4): 325-326.
- [5] Long Y, Lu J S, Chen X L. The analysis of volatile oils of *Leptopus chinensis* (Bunge) Pojark [J]. *J Chin Med Marter* (中药材), 2002, 25 (3): 181-182.