

枇杷叶中熊果酸的超声提取研究

李开泉¹, 兰平生² (1. 宜春学院化学与生物工程学院, 江西 宜春 336000; 2. 丰城市中医院, 江西 丰城 331100)

摘要:目的 用超声波辅助提取法考察不同处理方法对熊果酸的提取效果。方法 将枇杷叶及不同方法处理后的药渣,以乙醇为介质,用超声波辅助提取;同时用 HPLC测定提取液中熊果酸的含量。结果 枇杷叶中熊果酸的含量为 0.9%以上,不同方法处理后的药渣中熊果酸均有不同程度的残留。结论 熊果酸在水和油中几乎不溶;乙醇回流法的提取效果欠理想,增加提取次数,其得率无明显提高;枇杷叶中的熊果酸主要以游离形式存在。

关键词:超声波;热回流;枇杷叶;熊果酸;提取效果

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)03-0201-02

Study on the Extraction of Ursolic Acid from Loquat Leaf Via Ultrasonic Wave

LI Kai-quan¹, LAN Ping-sheng² (1. Chemical & Bioengineer College of Yichun University, Yichun 336000, China; 2. Chinese Medicine Hospital of Fengchen City, Fengchen 331100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of different treatment methods on extracting ursolic acid from Loquat Leaf with the aid of ultrasonic wave. **METHODS** After the precipitates obtained by the treatment of Loquat Leaf with different methods, ursolic acid is extracted by using ethanol as a medium under the ultrasonic wave. The content of ursolic acid is determined with HPLC method. **RESULTS** The content of ursolic acid in Loquat Leaf is above 0.9%. Some of ursolic acids remain in the precipitates after the different treatments. **CONCLUSION** Ursolic acid is almost indissoluble in water or oil; the effect of ethanol refluxing extraction is not satisfactory, even increase the extract cycle, the yield of ursolic acid will not enhance obviously; Ursolic acid in Loquat Leaf exists mainly in dissociative form.

KEY WORDS: ultrasonic wave; refluxing; Loquat Leaf; ursolic acid; extractive effect

枇杷叶为蔷薇科枇杷属植物枇杷 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.的干燥叶,具有清肺止咳,降逆止呕功能,主治肺热咳嗽、气逆喘急、胃热呕逆、烦热口渴^[1]。现代研究表明,枇杷叶中主要成分为熊果酸^[2]。我国医药工业中,枇杷叶主要用于水煎法生产抗炎止咳药枇杷糖浆等中成药制剂,药渣则被弃去。熊果酸不溶于水,传统的枇杷叶制剂均为水提取工艺,而乙醇回流法对熊果酸的提取效果不甚了解,在使用超声波提取时发现熊果酸的得率有所提高。为了考察各种方法对熊果酸的提取效果,笔者采用超声波辅助提取,

对枇杷叶及不同方法处理的药渣中熊果酸的含量进行了比较研究,现报告其结果。

1 原料、试剂与仪器

1.1 原料与试剂

枇杷叶购于本市万载县;95%乙醇,食用级(广西糖厂);“YCXY-1号”除杂剂(自制);活性炭,分析纯(上海豪申化学试剂有限公司);甲醇,色谱纯(上海陆忠试剂厂)。熊果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110742-200314,供含量测定用)。

基金项目:江西省教育厅科研计划项目[赣财教字(2004)69号]

作者简介:李开泉(1954-),男,江西丰城市人,研究员、教授、硕士。主要研究方向:天然药物化学与新药研究开发。电话:0795-3201987。

1.2 仪器

Waters-515型双泵高效液相色谱仪, 2996光电二极管阵列检测器(美国); Perkin-Elmer傅立叶变换红外光谱仪(美国); FC-204分析天平(上海天平分析仪器厂); KS-150D型超声清洗器, 功率150 W, 频率40 Hz(宁波科声仪器厂)。

2 检测方法

2.1 色谱条件

色谱柱为 Nova Pak C₁₈柱(3.9 mm × 300 mm, 5 μm, 美国 Waters公司), 柱温 25℃, 流动相为甲醇:水(88:12), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长为 210 nm。

2.2 线性关系考察

精确称取熊果酸对照品 11.4 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成含熊果酸 1.14 mg·mL⁻¹的对照品溶液。精密吸取对照品溶液 2, 5, 8, 11, 14 μL, 进样平行 3 次, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为: $Y = 5.99 \times 10^5 X - 1.09 \times 10^4$, $r = 0.99999$ 。结果表明, 当熊果酸进样量在 2.28 ~ 15.96 μg 时, 线性关系良好。

2.3 精密度试验

以同一对照品溶液重复进样 5 次, 每次 10 μL, 分别测定峰面积。结果熊果酸峰面积 RSD 为 0.3%。

2.4 重复性试验

精密称取干燥至恒重的同一批枇杷叶样品 5 份(每份 2.0 g), 用乙醇回流提取, 提取液经处理后进样。进样量 15 μL, 测定峰面积。结果熊果酸峰面积 RSD 为 1.8%。

2.4 加样回收率试验

精密称取已知熊果酸含量的枇杷叶 5 份, 每份 2.0 g, 加入熊果酸对照品适量。样品经超声提取 1 h^[3], 提取液经处理后进样, 用外标法计算熊果酸的含量, 结果熊果酸的平均回收率为 99.6%, RSD 为 1.3%。

3 样品制备及测定结果

3.1 提取时间的选择

精密称取烘干后的枇杷叶原粉(20目)3 g, 置具塞三角烧瓶中, 加入 40 mL 95%乙醇, 超声提取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 h。在各时间点取样 2 mL(原液中补充 95%乙醇 2 mL), 过滤, 于离心机(3000 r·min⁻¹)中离心 5 min, 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 进样检测, 测得熊果酸含量在 1.0 h 后基本不变, 故提取时间确定为 1.0 h。

3.2 样品溶液的制备

取枇杷叶原粉及各法处理后的干燥药渣分别于 60℃ 烘干 24 h。精密称取样品各 3 g, 照“3.1”的方法提取, 过滤, 分别定量转移至 50 mL 量瓶中, 以乙醇定容, 摇匀后取滤液各 2 mL, 离心 5 min, 上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 得样品溶液。

3.3 样品的测定

吸取样品溶液各 15 μL 进样, 测定熊果酸的峰面积, 用

外标法计算含量。结果见表 1。

表 1 熊果酸残留量的测定结果

Tab 1 Determination results of ursolic acid residual quantity

样号	处理方法	熊果酸含量 /%
1	原药	0.928
2	水提 2 次, 每次 1 h	1.036
3	乙醇提 2 次, 每次 1 h	0.359
4	乙醇提 3 次, 每次 1 h	0.335
5	酸性乙醇提 2 次, 每次 1 h	0.370
6	溶剂汽油提 1 次, 1 h	0.893

4 讨论

4.1 利用超声波辅助技术提取各样品中的熊果酸, 结果表明原料药中熊果酸的含量在 0.9% 以上。水提后的药渣中熊果酸的含量较原药高, 表明熊果酸不溶于水, 同时大量水溶性物质被水提出, 从而使药渣中熊果酸的相对含量有所提高。

4.2 传统的乙醇回流法提取后的药渣中, 熊果酸的含量仍在 0.3% 以上, 表明乙醇对熊果酸的提取效率较差, 仅为三分之一左右。

4.3 用乙醇回流提取时, 提取次数增加, 其效率并无明显提高, 从节约角度考虑, 提取 2 次即可视为提取完全。

4.4 熊果酸在植物体内可以游离或结合形式存在。本实验研究结果, 加酸并未提高其得率, 表明枇杷叶中的熊果酸主要以游离形式存在。

4.5 乙醇回流提取法被认为是有效成分提取的适宜方法, 随着科学技术的不断进步, 现代高新提取技术有了快速发展^[4-5]。超声波辅助提取技术具有省时、节能、对有效成分损害小、提取效率高等优点, 在现代药物制剂生产中的应用备受关注。

参考文献

- [1] Chp(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 163.
- [2] LI K Q, CHEN W, ZOU S Q, *et al.* Study on extraction technology of ursolic acid from *eriobotrya japonica* lindl [J]. *J Yichun Univ (宜春学院学报)*, 2004, 26(4): 1-2.
- [3] ZOU S Q, CHEN W, LI K Q. Preparation and HPLC analysis of ursolic acid from *Eriobotrya japonica* Lindl [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis (江西农业大学学报)*, 2004, 26(5): 808-810.
- [4] WANG Y H, LU Z H, JIANG T F, *et al.* Extraction and determination of polysaccharides in the holothuria [J]. *J Ocean University of China (中国海洋大学学报)*, 2005, 35(6): 987-990.
- [5] DING C M, ZAN L H, QIU T Q, *et al.* Study on the extraction of flavonoids from *toona sinensis* leaves [J]. *Chin Tradit Pat Med (中成药)*, 2005, 27(12): 1370-1372.

收稿日期: 2006-06-30