

Comparison of Techniques for the Extraction of Active Components from *Ajuga taiwanensis* and *Ajuga decumbens*

蕭久富、楊博文

E-mail: 9607764@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

Ajuga decumbens and *Ajuga taiwanensis* belongs to genus *Ajuga*(Labiatae). These two species of *Ajuga* have been used for the treatment of wounds, abdominal pain, fever, sore throat, lung disease, and often been used for the treatment of hepatitis in Taiwanese folk medicines. In this study, at first the content of ecdysterone and total flavonoids of flower, stem and leaf from *Ajuga decumbens* and *Ajuga taiwanensis* were analyzed. The results indicated that the leaves from *Ajuga decumbens* contained the largest amount of ecdysterone (150.7 ± 4.36 mg/100g), and the leaves from *Ajuga taiwanensis* contained the largest amount of total flavonoids(9.27 ± 0.13 QE-mg/g). In comparison of four different extraction techniques by using methanol as the solvent, the yield of ecdysterone (97.53 ± 2.34 mg/100g) and total flavonoids (8.89 ± 0.05 QE-mg/g) using microwave-assisted extraction(MAE)3 min were equivalent with ultrasonic-assisted extraction(UAE)50 min, stir extraction at room temperature(SERT)48 hours and heating reflux extraction(HRE)3 hours. It was obvious that MAE took much less time, which would save a large of energy for extraction.

Keywords : *Ajuga taiwanensis* ; *Ajuga decumbens* ; Labiatae ; Ecdysterone ; Total flavonoids ; Microwave-assisted extraction ; Ultrasonic-assisted extraction

Table of Contents

目錄 封面內頁 簽名頁 授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....	v
誌謝.....	vi	目錄.....	vii	圖目錄.....	xi
表目錄.....	xiv	第一章 前言.....	1	第二章 文獻回顧.....	3
第一節 筋骨草屬(<i>Ajuga</i>)植物簡介.....	3	第二節 台灣產筋骨草屬植物型態及分佈簡介.....	4	一、匍匐筋骨草.....	4
二、網果筋骨草.....	4	三、日本筋骨草.....	4	四、矮筋骨草.....	4
五、台灣筋骨草.....	5	第三節 筋骨草屬植物研究概況.....	11	一、筋骨草屬植物生理及藥理作用簡介.....	11
二、筋骨草屬植物相關成分研究進展.....	13	三、蛻皮甾酮.....	16	四、類黃酮化合物.....	16
第四節 中草藥植物其活性成分之不同萃取方法簡介.....	21	一、冷浸攪拌萃取.....	21	二、溶劑熱迴流萃取.....	22
三、超音波輔助萃取.....	22	四、微波輔助萃取.....	23	第五節 中草藥指紋圖譜.....	26
一、中草藥指紋圖譜發展及其應用價值.....	26	二、中草藥指紋圖譜種類簡介.....	26	第六節 直交實驗計劃法.....	27
一、直交實驗計劃簡介.....	27	二、直交表之符號意義.....	28	三、信號雜音比.....	28
第三章 材料與方法.....	30	第一節 材料.....	30	一、植物來源.....	30
二、藥品清單.....	30	三、儀器清單.....	30	第二節 實驗方法.....	31
一、樣品前處理.....	31	二、不同萃取方法之建立.....	32	(一) 標準萃取分析方法.....	32
(二) 不同萃取方式之條件探討.....	32	1. 超音波輔助萃取.....	32	2. 微波輔助萃取.....	33
3. 室溫冷浸攪拌萃取.....	34	4. 溶劑熱迴流萃取.....	34	三、成分分析.....	34
(一) 蛻皮甾酮分析.....	34	(二) 總黃酮分析.....	35	(三) 產量計算方式.....	36
四、筋骨草HPLC及FTIR指紋圖譜建立.....	39	(一) HPLC-UV指紋圖譜建立步驟.....	39	(二) FTIR指紋圖譜建立步驟.....	40
五、統計分析.....	40	第四章 結果與討論.....	41	第一節 兩種筋骨草其蛻皮甾酮及總黃酮含量分析... ..	41
第二節 超音波輔助萃取.....	44	一、超音波輔助萃取-時間對蛻皮甾酮與總黃酮萃取產量之影響.....	44	二、超音波輔助萃取-水及不同乙醇濃度對蛻皮甾酮與總黃酮萃取產量之影響.....	49
第三節 微波輔助萃取.....	52	一、微波輔助萃取-加熱方式探討結果.....	52	二、微波輔助萃取-不同功率探討結果.....	56
三、微波輔助萃取-液固比對蛻皮甾酮與總黃酮萃取產量之影響.....	59	四、微波輔助萃取-時間對蛻皮甾酮與總黃酮萃取產量之影響.....	61	五、微波輔助萃取-水及不同乙醇濃度對蛻皮甾酮及總黃酮產量之影響.....	65
六、微波輔助萃取-直交實驗結果討論.....	68	第四節 萃取時間對不同萃取技術之影響.....	73	一、冷浸攪拌萃取及溶劑熱迴流萃取.....	73
二、微波、超音波、熱迴流及冷浸攪拌萃取在不同萃取時間上之蛻皮甾酮及總黃酮產量差異性比較..	78	第五節 筋骨草HPLC及FTIR指紋圖譜.....	80	一、HPLC指紋圖譜.....	80
二、筋骨草之FTIR指紋圖譜.....	81	三、HPLC及FTIR指紋圖譜合討論.....	81	第五章 結論.....	93
參考文獻.....	94	附			

REFERENCES

- 1.王初、周曉芳和陳偉英。2003。白毛夏枯草鮮汁治療燙傷的實驗研究。中國現代應用藥學雜誌20(4):311-312。
- 2.王艷和張鐵軍。2005。微波萃取技術在中藥有效成分提取中的應用。中草藥(36)3:470-473。
- 3.甘尉棠。2004。現代化工分離技術講座。精細石油化工4:63-65。
- 4.白雪蓮和章華偉。2005。微波萃取技術及在食品化學中的應用。食品工業科技(26)11:182-185。
- 5.朱國輝、邱泰球和黃卓烈。2001。超聲波在萃取中的應用。聲學技術20(4):188-190。
- 6.李岡榮。2005。實用台灣草藥百科。第108頁。漢宇國際文化有限公司。臺北。台灣。
- 7.吳立軍。2006。中藥化學。第1-33頁。科技圖書館。台北。台灣。
- 8.吳旭、王武軍、張軍花、熊俊和侯量。2006。植物藥有效成分-蛻皮激素抑制血管內皮細胞的凋亡。中國臨床康復10(19):72-73。
- 9.吳德峰。1997。淺析筋骨草的藥用價值。福建畜牧獸醫(1):32-33。
- 10.李明、彭艷麗和田永云。2006。指紋圖譜技術在中藥鑑定中的應用。衛生職業教育24(7):105-107。
- 11.李靈霞和師伯省。2006。指紋圖譜技術的應用概況。健康大視野-醫學分冊(8):42-43。
- 12.沈明來。2005。試驗設計學第三版。第349-363頁。九州圖書文物有限公司。台北。台灣。
- 13.林進和唐仕榮。2005。論天然黃酮類化合物及其抗氧化作用。徐州工程學院學報20:187-190。
- 14.武繼彪、隋在雲和張玲。2001。蛻皮甙酮延緩衰老的初步實驗研究。天然產物研究與開發13(5):28-29。
- 15.邱年永和張光雄。2001。原色台灣藥用植物圖鑑(6)。第181及184頁。南天書局有限公司。台北。台灣。
- 16.邱明華和邢其毅。1998。具有生理活性的天然有機化合物。化學進展10(3):265-272。
- 17.金繼曙和都述虎。1994。筋骨草中黃酮類成份的研究。安徽醫學15(2):51-52。
- 18.徐世清、戈志強、戴漩穎、喬洪根、司馬楊虎和鄭必平。2005。20-羥基蛻皮酮的藥理作用和醫學應用研究進展。科技通報21(1):56-62。
- 19.袁珂和俞莉。2006。超聲提取與微波萃取冬凌草甲素的工藝比較。中國中藥雜誌(31)9:778-779。
- 20.馬志平和黃榕。2002。筋骨草有效部位黃酮類粗品的保肝試驗。海峽藥學14(5):40-41。
- 21.張英、俞卓裕和吳曉琴。2004。中草藥和天然植物有效成分提取新技術-微波協助萃取。中國中藥雜誌29(2):104-108。
- 22.張英、韋異和粟暉。2002。超聲提取-反相高效液相色譜法測定牛膝中蛻皮甙酮。光譜實驗室19(5):668-671。
- 23.張曉東、潘國鳳和呂圭源。超聲提取在中藥化學成分提取中的應用研究進展。2004。時珍國醫國藥15(12):861-862。
- 24.都拉娣和于化東。2005。正交試驗設計表的使用分析。編輯學報17(5):334-335
- 25.陳莉莉、吳紅權、李穎和帥琴。2002。漏蘆中蛻皮甙酮提取方法研究。中藥材(25)3:195-197。
- 26.曾茂貴、賈鉞和吳符火。2003。筋骨草對小鼠S180肉瘤的抑瘤試驗。福建中醫學院學報13(2):30-31。
- 27.單文軍、郭芳齡、王科軍和徐建平。2006。微波技術在天然產物生物活性成份提取中的應用研究。江西化工(4):46-49。
- 28.項昭保、霍丹群和任紹光。2002。超音波在中草藥化學成分提取中的應用。自然雜誌23(5):289-291。
- 29.馮年平、范廣平、吳春蘭和韓朝陽。2002。微波萃取技術在中藥提取中的應用。世界科學技術-中藥現代化(4)2:49-52。
- 30.楊遠波、劉和義、彭鏡毅、施炳霖和呂勝由編著。1999。臺灣維管束植物簡誌第四卷，行政院農業委員會，台北，臺灣。
- 31.褚小蘭和王漢章。1997。筋骨草的本草考証。中藥材20(11):586-587。
- 32.劉斌、石任兵、葛小俠、周瑩和周靜。2001。筋骨草屬植物化學成分與藥理活性。國外醫藥(植物藥分冊)16(3):96-101。
- 33.蔡旻都和陳皓君。2006。蔬果中類黃酮之抗氧化作用與生物活性。化學64(3):315-353。
- 34.蔡寶昌和劉訓紅。2005。常用中藥材HPLC指紋圖譜測定技術。第1-33頁。化學工業出版社。北京。中國。
- 35.鄧湘慶和龔盛昭。2006。微波輔助萃取中藥有效成分的研究進展。廣東化工33(164):89-92。
- 36.黎或、高虹和歐步青。2004。應用微波技術提取紫荊花色素的提取。林產化學與工業24(2):80-82。
- 37.龍春、高志強、陳鳳鳴和王林。2006。黃酮類化合物的結構-抗氧化活性關係研究進展。重慶文理學院學報(自然科學版)5(2):13-17。
- 38.薛聰賢。2003。台灣原生景觀植物圖鑑。第149頁。台灣普綠有限公司出版部。彰化。台灣。
- 39.謝宗欣。1998。台灣筋骨草屬植物介紹。自然保育季刊21:21-27。
- 40.謝明勇和陳奕。2006。微波輔助萃取技術研究進展。食品與生物技術學報25(1):105-114。
- 41.鍾錠全。1997。青草世界-彩色圖鑑。第273頁。協聯印書館有限公司。台北。台灣。
- 42.蕭培根。1990。中國本草圖錄。第123頁。台灣商務印書館股份有限公司。台北。台灣。
- 43.譙斌宗、楊元和高玲。2002。微波萃取在衛生檢驗中的應用。中國衛生檢驗雜誌12(5):632-634。
- 44.蘇朝墩。2002。品質工程。清華大學工業工程與工程管理系。新竹，台灣
- 45.嚴偉、李淑芬和田松江。2002。超聲波協助提取技術。化工進展21(9):649-651。
- 46.Chen, Q., Xia, Y.P. and Qiu, Z.Y. 2006. Effect of ecdysterone on glucose metabolism in vitro. Life Sciences 78(10):1108-1113.
- 47.Chen, Y., Xie, M. Y. and Gong, X. F. 2007. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from Ganoderma atrum. Journal of Food Engineering 81:162-170.
- 48.Chenni, A., Ait Yahia, D., Boukourt, F. O., Prost, J., Lacaille-Dubois, M. A. and Bouchenak, M. 2007. Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesterol diet. Journal of Ethnopharmacology 109(2):207-213.
- 49.Hilaly El, J., Lyoussi, B., Wibo M. and Morel, N. 2004. Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. Journal of Ethnopharmacology 93(1):69-74.
- 50.Hilaly El, J. and Lyoussi, B. 2002. Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 80(2):109 – 113.
- 51.Fishman, M. L., Chau, H. K., Hoagland, P. D. and Hotchkiss, A. T. 2006. Microwave-assisted extraction of lime pectin. Food Hydrocolloids 20:1170-1177.
- 52.Fulzele, D. P. and Satdive, R. K. 2005. Comparison of techniques for the extraction of the anti-cancer drug camptothecin from *Nothapodytes foetida*. Journal of Chromatography A 1063:9-13.
- 53.Ganzler, K., Salg?, A. and Valk?, K. 1986. Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography. Journal of Chromatography 371:299-306.
- 54.Guo, Z., Jin, Q., Fan, G., Duan, Y., Qin, C. and Wen, M. 2001. Microwave-assisted extraction of effective constituents from a Chinese herbal medicine *Radix puerariae*. Analytica Chimica Acta 436:41-47.
- 55.Kariba, R. M. 2001. Antifungal activity of *Ajuga remota*. Fitoterapia 72:77-178.
- 56.Konoshima, T., Takasaki, M., Tokuda, H. and Nishino H. 2000. Cancer chemopreventive activity of an iridoid glycoside, 8-acetylharpagide, from *Ajuga decumbens*. Cancer Letters 157(1):87-92.
- 57.Labbozzetta, S., Valvo, L., Bertocchi, P. and Manna, L. 2005. Focused microwave-assisted extraction and LC determination of the active ingredient in naproxen-based suppositories. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 39:463-468.
- 58.Naczki, M. and Shahidi, F. 2004.

Extraction and analysis of phenolics in food (Review). *Journal of Chromatography A* 1054:95-111. 59. Pan, X., Liu, H., Jia, G. and Shu, Y. Y., 2000. Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. *Biochemical Engineering Journal* 5:173-177. 60. Shu, Y. Y., Ko, Y. M. and Chang, Y. S. 2003. Microwave-assisted extraction of ginsenosides from ginseng root. *Microchemical Journal* 74:131-139. 61. Terahara, N., Callebaut A., Ohba R., Nagata T., Ohnishi-Kameyama M. and Suzuki M. 2001. Acylated anthocyanidin 3-sophoroside-5-glucosides from *Ajuga reptans* flowers and the corresponding cell cultures. *Phytochemistry* 58:493-500.