

艾叶总三萜的提取工艺优化及其抑菌活性

段丽萍^{1,2}, 孙炜炜¹, 苗丽坤¹, 陈胜¹, 朱颖¹, 李丽丽²

(1. 武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北武汉 430040) (2. 暨南大学食品安全与营养研究院, 广东广州 510632)

摘要: 本研究以湖北恩施艾叶为原料, 考察溶剂种类、溶剂浓度、提取温度、液固比及超声时间对艾叶总三萜得率的影响。在单因素的基础上, 根据 Box-Behnken 试验设计原理, 选取四因素三水平, 以艾叶总三萜得率为响应值进行响应面分析, 确定最优工艺参数, 并运用倍比稀释法研究艾叶总三萜提取物对 7 种常见致病菌的最小抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC), 分析了艾叶中三萜类物质的抑菌活性。实验结果表明, 超声波辅助提取艾叶总三萜的最佳提取工艺参数为: 乙醇浓度 72%, 提取温度为 73 °C, 液固比 20:1 mL/g, 超声时间 42 min。此条件下艾叶总三萜实际得率为 6.51%, 其中超声时间、提取温度对艾叶总三萜得率影响较大。艾叶总三萜对所选 7 种致病菌均有较好的抑制作用, 尤其是金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌, 最小抑菌浓度为 3.00 mg/mL。本研究提供的提取方法操作简单、结果稳定, 且提取物具有一定的抑菌性能, 为艾叶总三萜的进一步开发提供科学依据。

关键词: 响应面; 超声波; 艾叶; 总三萜; 抑菌

文章编号: 1673-9078(2020)05-88-95

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.013

Extraction Optimization of Total Triterpenoids from *Artemisia argyi* and Its Antibacterial Activity

DUAN Li-ping^{1,2}, SUN Wei-wei¹, MIAO Li-kun¹, CHEN Sheng¹, ZHU Ying¹, LI Li-li²

(1. Wuhan Huanghelou Flavors&Frangrance Co., Ltd, Wuhan 430040, China)

(2. Institute of Food Safety and Nutrition, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The effects of solvent type, solvent concentration, extraction temperature, liquid-solid ratio and ultrasonic time on the degree of total triterpenoids yield were investigated using *Artemisia argyi* from Enshi. The four factors were further optimized using response surface methodology based on a three-level, four-variable Box-Behnken design. By analyzing the response surface plots, the optimal levels for total triterpenoids from *Artemisia argyi* were found. And the antibacterial activity of total triterpenoids was explored through testing the minimum inhibitory concentration (MIC) of different components on 7 test bacteria by the double dilution method. Results showed that the optimal process parameters of ultrasound extraction for total triterpenoids from *Artemisia argyi* were found to be ethanol concentration of 72%, extraction temperature of 73 °C, liquid- solid ratio of 20:1 (mL/g) and ultrasonic time of 42 min. Under these conditions, the actual total triterpenoids yield was 6.51%, and the ultrasonic time and temperature were significant to the total triterpenoids from *Artemisia argyi*. The total triterpenoids from *Artemisia argyi* had certain inhibitory effect on 7 common pathogenic bacteria, especially had inhibitory effects on *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*, the minimum inhibitory concentration (MIC) was 3.00 mg/mL. The process was simple and reasonable, while the extraction had a strong broad-spectrum antibacterial effect which provided a scientific basis for deeply research total triterpenoids from *Artemisia argyi*.

Key words: response surface methodology (RSM); ultrasonic-assisted; *Artemisia argyi*; total triterpenoids; antibacterial activity

引文格式:

段丽萍, 孙炜炜, 苗丽坤, 等. 艾叶总三萜的提取工艺优化及其抑菌活性[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 88-95

DUAN Li-ping, SUN Wei-wei, MIAO Li-kun, et al. Extraction optimization of total triterpenoids from *Artemisia argyi* and its antibacterial activity [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 88-95

收稿日期: 2019-12-03

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31901789)

作者简介: 段丽萍 (1994-), 女, 硕士研究生, 助理工程师, 研究方向: 天然香料提取与应用研究

通讯作者: 李丽丽 (1985-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品安全检测

恩施自治州地处湖北省鄂西南,适药面积广阔,药材品种繁多,如当归、党参、贝母、艾叶等,其品种和蕴藏量分别占全省的80%和70%,初步统计有药用植物两千余种。据《中国中药资源志要》记载,我国有药用植物11020种,恩施州境内2088种,占20%,全国可形成商品的中药材1200余种,恩施占23.5%^[1]。艾叶(*Artemisia argyi*),别名艾蒿、家艾,菊科植物艾的干燥叶,是我国传统中药之一,具有温经止血,散寒止痛,祛湿止痒的功效^[2-4],主要种植于中国、日本等亚洲国家^[5],国内分布于湖北、安徽、山东等地^[6],主要化学成分包括黄酮类、挥发油、鞣质类、三萜类、桉叶烷类、多糖类以及微量元素等^[7,8]。近年来,关于艾叶在生物医药、化学成分、药理作用、临床应用、工艺及质量控制等方面已有不少报道^[9-14]。三萜类化合物具有溶血、抗癌、抗炎、抗菌、抗病毒、降低胆固醇、杀软体动物与抗生育等多种生物活性,已成为学者们的研究热点^[15-17]。

目前,已有学者从艾叶中分离出不同萜类化合物,张来宾等人从艾叶中分离出单萜和倍半萜内酯,并对其药理活性进行研究^[18]。但针对艾叶中三萜类化合物的总量、提取工艺及抗菌活性等方面的研究较少。本试验以恩施中药艾叶为研究对象,采用超声波提取技术对艾叶中的三萜类物质进行提取,以艾叶总三萜得率为评价指标,通过单因素试验和响应面法优化艾叶总三萜提取工艺,并进一步研究其抑菌活性,为艾叶中化合物的后续研究提供帮助,进一步拓宽药食两用中药艾叶的产业链,促进艾叶资源的有效利用与转化。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

艾叶,产自湖北恩施,由恩施自治州农科院提供;供试菌种:金黄色葡萄球菌、普通变形杆菌、大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、化脓性链球菌、肺炎链球菌、肺炎克雷伯氏菌,由暨南大学食品安全与营养研究院提供。

蛋白胨,牛肉膏,琼脂,美国Sigma公司;95%乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、氯仿、香草醛、冰乙酸、高氯酸,天津市大茂化学试剂厂,所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FW-200 高速万能粉碎机,北京中兴伟业仪器有限公司;UV-1800 CP 紫外分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;RE-52A1A 旋转蒸发仪,上海亚荣生化

精密科学仪器厂;HWS 恒温培养箱,宁波市科技园区新江南仪器有限公司;SW-CJ-2F 超净无菌操作台,苏州安泰空汽技术有限公司;GMSX-280 压力蒸汽灭菌器,北京市永光明医疗仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理

艾叶于60~70℃的干燥箱中干燥,高速粉碎机粉碎,过100目筛,再将其碎沫放进塑料袋中密封储存备用。

1.3.2 提取工艺流程

艾叶→干燥→粉碎→过筛→超声提取→抽滤→稀释定容→样品液→取样测定

1.3.3 艾叶总三萜得率的计算

取0.1 mL的艾叶总三萜提取物,70℃水浴蒸干,加入0.6 mL的5%香草醛-冰乙酸和1.2 mL的高氯酸,70℃水浴加热30 min,冷却至室温,加入5 mL冰乙酸,摇匀,室温下静置15 min,在550 nm处测吸光度。通过标准曲线计算艾叶总三萜的含量^[19],并按照公式计算艾叶总三萜的得率。

$$Y = [(M \times 5 \times n) \div (m \times 1000)] \times 100$$

式中,Y为样品总三萜得率(%),M为标准曲线上对应的样品总三萜质量(mg),n为稀释的倍数,m为样品的质量(g)。

1.3.4 单因素实验

分别改变溶剂种类(无水乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、氯仿、水)、溶剂浓度(50%、60%、70%、80%、90%)、提取温度(40、45、50、55、60℃)、液固比(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 mL/g)和超声时间(25、35、45、55、65 min),考察其对艾叶总三萜得率的影响。

1.3.5 响应面实验

在单因素试验基础上,根据Box-Behnken试验设计原理,以艾叶总三萜得率为响应值,进行响应面试验,并验证最佳工艺条件。

1.3.6 抑菌作用测定

1.3.6.1 菌悬液的制备

将上述7种供试菌接种至固体培养基中,30℃下培养1天,挑取单个菌落,混悬于液体培养基中,配制浓度为 $10^6 \sim 10^8$ CFU/mL的菌悬液,备用。

1.3.6.2 最小抑菌浓度测定

采用微量稀释法^[20]测定艾叶总三萜对常见7种致病菌的最小抑菌浓度。首先用0.22 μm滤膜过滤100 mg/mL母液,用制备好的液体培养基依次倍比稀释成9个浓度后,加入微量MIC测定板中,每孔0.1 mL;再分别加入“1.3.6.1”中的各种菌液,每孔0.1 mL。设

置阳性对照(加入 0.1 mL 菌液和 0.1 mL 液体培养基)和阴性对照(PBS 缓冲液)。测定板于 37 °C 恒温箱中培养 24 h, 培养至完全没有细菌生长时的最低浓度即为最小抑菌浓度。

1.3.7 数据分析

所有样品均平行 3 次, 取平均值。运用 Origin 8.0 和 Design Expert 8.0.6 软件处理数据。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 提取溶剂的选择

由图 1 可知, 无水乙醇和氯仿作为提取溶剂时, 提取效果较其他三种溶剂差异较大。相对而言, 选用无水乙醇作为提取溶剂时, 艾叶中三萜类化合物得率最高, 故确定无水乙醇为提取溶剂。

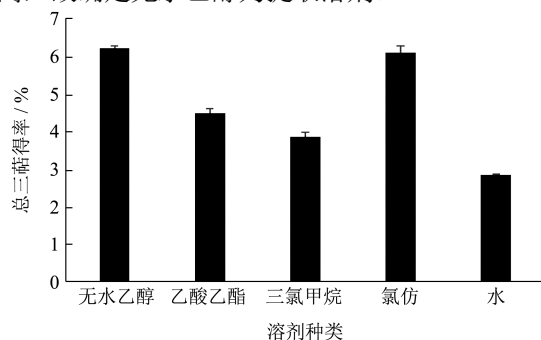


图 1 不同溶剂对艾叶总三萜得率的影响

Fig.1 Effects of extracting solvent on the extraction efficiency about total triterpenoids from *Artemisia argyi*

2.1.2 工艺参数对艾叶总三萜得率的影响

从图 2a 可以看出, 当乙醇体积分数较小时, 三萜类化合物的提取率随着乙醇体积分数的增大而增大, 但当使用体积分数大于 70% 时, 提取率却随着体积分数的增加而逐渐下降, 可能是因为随着乙醇体积分数增大, 其中的醇溶性杂质、亲脂性强成分的溶出量增加, 这些成分与三萜物质竞争溶剂, 导致目标组分的得率下降, 所以其最适溶剂浓度为 70%。随着温度(图 2b) 的升高, 艾叶中三萜类化合物的得率明显增大, 这可能是伴随着温度的升高分子的热运动加剧, 溶剂分子更易于进入到药材内部, 同时药材内部的三萜类物质的溶出量也增大当温度超过 70 °C 后, 三萜类化合物的得率的趋于平缓, 提取温度设置为 70 °C。料液比的变化对艾叶总三萜得率影响较弱, 如图 2c, 当液固比达到 20:1 mL/g 时, 得率达到最大值, 继续增加原料, 得率则开始下降, 故液固比为 20:1 mL/g 左右时, 三萜类化合物已得到充分提取, 液固比继续增加时,

溶剂与溶质的有效碰撞面积逐渐减弱, 使得提取量下降。如图 2d 所示, 三萜类化合物的得率随着超声时间的延长而增大, 在 45 min 时最高, 随后出现下降的趋势, 应该是因为三萜类化合物在长时间受热的情况下其结构发生了变化, 导致其提取率下降, 所以提取时间设定为 45 min 为宜。

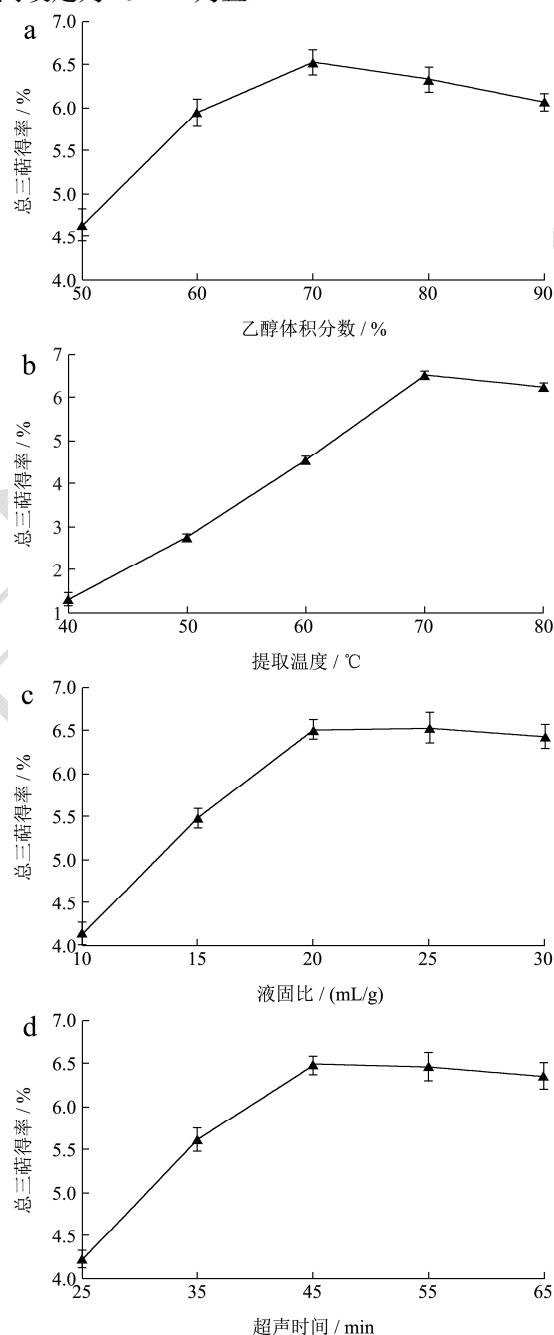


图 2 不同乙醇体积分数(a)、提取温度(b)、液固比(c)、超声时间(d)对艾叶总三萜得率的影响

Fig.2 Effects of ethanol volume fraction (a), extracting temperature (b), liquid/solid ratio (c), ultrasonic time (d) and on the extraction efficiency about total triterpenoids from *Artemisia argyi*

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面试验设计及结果

在单因素试验基础上,以乙醇体积分数(A)、提取温度(B)、液固比(C)和提取时间(D)为自变量,总三萜得率为响应值,根据 Box-Behnken 试验设计原理,利用 Design-Expert 8.0.6 软件进行四因素三水平的响应面分析试验,试验因素及水平设计见表1,试验设计方案与结果如表2所示。

表1 响应面因素分析水平表

Table 1 Experiment design of response surface factor

因素	水平		
	-1	0	1
A 乙醇体积分数/%	60	70	80
B 提取温度/℃	60	70	80
C 液固比/(mL:g)	15:1	20:1	25:1
D 超声时间/min	35	45	55

表2 响应面设计方案和试验结果

Table 2 Experiment design and results of total triterpenoids from *Artemisia argyi* by response surface methodology

试验号	A 乙醇体积分数/%	B 提取温度/℃	C 液固比/(mL:g)	D 超声时间/min	艾叶总三萜得率/%
1	-1	-1	0	0	4.26±0.31
2	1	-1	0	0	4.69±0.28
3	-1	1	0	0	5.12±0.21
4	1	1	0	0	5.62±0.36
5	0	0	-1	-1	4.27±0.31
6	0	0	1	-1	4.75±0.25
7	0	0	-1	1	4.96±0.31
8	0	0	1	1	5.36±0.24
9	-1	0	0	-1	4.2±0.18
10	1	0	0	-1	5.46±0.22
11	-1	0	0	1	5.62±0.24
12	1	0	0	1	5.47±0.28
13	0	-1	-1	0	4.27±0.22
14	0	1	-1	0	4.34±0.21
15	0	-1	1	0	4.12±0.26
16	0	1	1	0	5.72±0.18
17	-1	0	-1	0	4.52±0.26
18	1	0	-1	0	4.82±0.24
19	-1	0	1	0	4.85±0.24
20	1	0	1	0	5.52±0.28
21	0	-1	0	-1	4.08±0.22
22	0	1	0	-1	4.96±0.26
23	0	-1	0	1	4.72±0.23
24	0	1	0	1	5.67±0.22
25	0	0	0	0	6.52±0.24
26	0	0	0	0	6.48±0.26
27	0	0	0	0	6.5±0.27
28	0	0	0	0	6.46±0.20
29	0	0	0	0	6.5±0.21

采用 Design expert 8.0.6 软件对表2中实验结果进行多项拟合回归,得到艾叶总三萜得率对乙醇体积分数(A)、提取温度(B)、液固比(C)超声时间(D)的二次多项回归模型方程:

$$Y=+6.49+0.25*A+0.44*B+0.26*C+0.34*D+0.017*AB+0.092*AC-0.35*AD+0.38*BC+0.018*BD-0.020*CD-0.62*A^2-0.94*B^2-0.95*C^2-0.70*D^2。$$

2.2.2 试验模型方差分析

表3 回归方程系数显著性检验和方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
模型	17.72	14	1.27	601.83	<0.0001	**
A	0.76	1	0.76	359.06	<0.0001	**
B	2.33	1	2.33	1109.03	<0.0001	**
C	0.82	1	0.82	390.74	<0.0001	**
D	1.39	1	1.39	659.71	<0.0001	**
AB	1.225×10 ⁻³	1	1.225×10 ⁻³	0.58	0.4580	
AC	0.034	1	0.034	16.28	0.0012	**
AD	0.50	1	0.50	236.37	<0.0001	**
BC	0.59	1	0.59	278.32	<0.0001	**
BD	1.225×10 ⁻³	1	1.225×10 ⁻³	0.58	0.4580	
CD	1.600×10 ⁻³	1	1.600×10 ⁻³	0.76	0.3978	
A ²	2.47	1	2.47	1176.88	<0.0001	**
B ²	5.73	1	5.73	2726.68	<0.0001	**
C ²	5.84	1	5.84	2777.67	<0.0001	**
D ²	3.15	1	3.15	1496.11	<0.0001	**
残差	0.029	14	2.103×10 ⁻³			
失拟项	0.020	10	2.736×10 ⁻³	5.26	0.0619	
纯误差	2.080×10 ⁻³	4	5.200×10 ⁻³			
总和	17.75	28				

$R^2=0.9983$, $R_{Adj}^2=0.9967$, $CV=0.89\%$

注: ** $p<0.01$ 为极显著; * $p<0.05$ 为显著。

为检验回归方程的有效性,对回归模型进行了方差分析,结果见表3。模型的 $F=601.83$, $p<0.0001<0.01$,差异极显著;失拟项的 p 值为0.0619,不显著,说明数据没有异常点;决定系数 $R^2=0.9983$,调整确定系数 $R_{Adj}^2=0.9967$,响应值的变化有99.67%来源于所选因素,即来源于乙醇体积分数(A)、提取温度(B)、液固比(C)超声时间(D),说明模型拟合度好,回归方程能很好的描述各因素与响应值之间的关系,实验方法可靠。 CV 值表示试验的精度, CV 值越小,试验的可靠性越高,该模型 CV 值为0.89%,表明试验操作的可信度高,具有实际指导意义。回归模型中一次项A、B、C和D的 p 值均小于0.01,达到极显著;二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 和 D^2 的 p 值亦小于0.0001,中4个因素的二次项都具有极显著影响;交互项AC、AD、BC极显著,但AB、BD不显著,说明实验因素对响应值不是简单的线性关系,而是一种非线性关系。考察 P 值与 F 值大小大小,可得各因素影响的主次顺序为:提取温度(B)>超声时间(D)>液固比(C)>乙醇体积分数(A)。

2.2.3 响应面分析

响应曲面坡度表明响应值对于操作条件改变的敏感程度,曲面越陡峭,表明响应值对于操作条件的改变越敏感;反之曲面坡度越平缓,操作条件的改变对响应值的影响也就越小。图3为各因素交互作用对响应值的影响。

由图3a可知,在液固比和超声时间一定条件下,随着乙醇体积分数和提取温度的升高,响应值先升高后下降,当乙醇体积分数约至70%、提取温度约至70℃时,响应值存在最大值。图3e、图3f同理。由图3b知,在提取温度、超声时间一定条件下,液固比、分数响应曲面较陡峭,说明存在较显著的交互影响,当乙醇浓度约为70%、液固比21:1 mL/g时,响应值达最大。图3c、图3d同理可得。综上可得,艾叶总三萜得率随乙醇体积分数、提取温度增大、超声时间和液固比的增大先升高后下降,但提取温度和超声时间的影响更加显著。同时,乙醇体积分数和液固比、乙醇体积分数和超声时间、提取温度和超声时间交互作用极显著,曲面较陡,与方差分析结果保持一致。

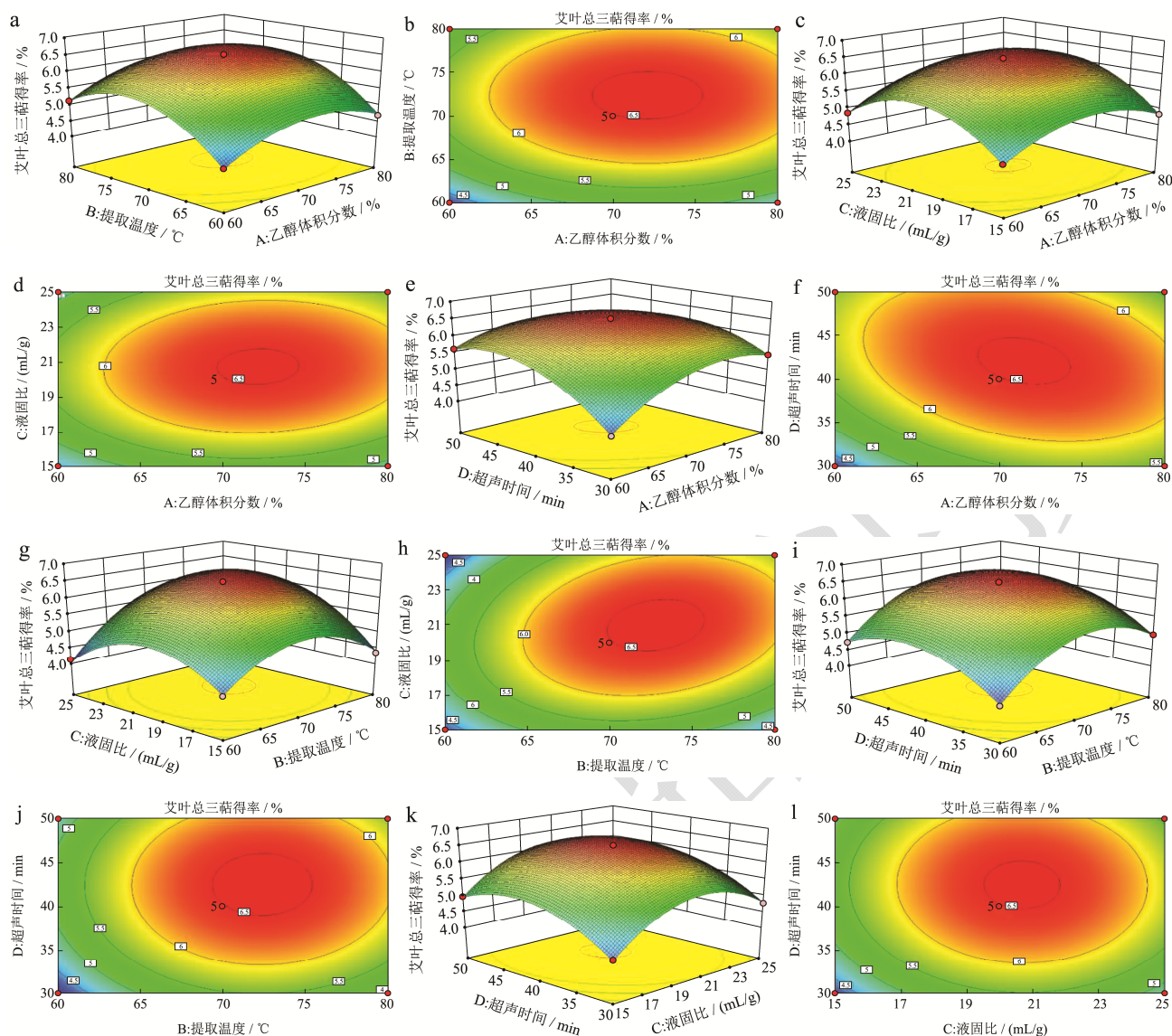


图3 各因素交互作用对艾叶总三萜得率影响的响应面及等高线

Fig.3 Response surface and contour plots showing the interactive effects of variables on total triterpenoids from *Artemisia argyi* yield

2.2.4 工艺验证

通过回归模型预测得到超声波辅助提取艾叶总三萜的最佳工艺条件为: 乙醇体积分数 71.64%、提取温度 72.79 °C、液固比 21:1 mg/L、超声时间 42.03 min, 此条件下艾叶总三萜得率 6.63%。考虑实际操作的限制性, 调整为乙醇体积分数 72%、提取温度 73 °C、液固比 21:1 mL/g、超声时间 42 min, 设置 5 组平行试验进行试验验证。结果表明, 艾叶总三萜得率 6.51%, 与理论值非常接近, 说明该回归模型得到的优化参数准确性高。

2.3 艾叶总三萜抑菌活性测定结果

最小抑菌浓度(MIC)显示抗菌活性的好坏, 浓度越低说明抗菌活性越强。下表 4 抑菌实验结果说明艾

叶总三萜对 7 种供试菌的抑制效果较好, 最小抑菌浓度(MIC)范围在 3.00~24.00 mg/mL, 分别为化脓性链球菌 24.00 mg/mL<鼠伤寒沙门氏菌 12.00 mg/mL<肺炎克雷伯氏菌 6.00 mg/mL=普通变形杆菌 6.00 mg/mL=大肠杆菌 6.00 mg/mL<肺炎链球菌 3.00 mg/mL=金黄色葡萄球菌 3.00 mg/mL, 对革兰氏阳性菌和阴性菌均表现出良好的抑制活性, 尤其是对金黄色葡萄球菌和肺炎链球菌抑制作用最强。与其他常用中药如金银花、紫苏叶、王不留行等三萜类化合物的抑菌能力相当^[21-23], 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌效果优于紫芝^[24], 可开发为广谱抗菌剂。且含量高于茯苓、金银花、炒王不留行等中药^[21,23,25,26], 但低于富士苹果^[27]。

表4 艾叶总三萜对7种常见致病菌MIC的测定结果

Table 4 Minimum inhibitory concentration of total triterpenoids from *Artemisia argyi* against seven kinds of pathogenic strains

菌种名称	MIC/(mg/mL)	
	艾叶	其他
金黄色葡萄球菌	3.00	20.00 ^[24]
普通变形杆菌	6.00	/
大肠杆菌	6.00	20.00 ^[24]
鼠伤寒沙门氏菌	12.00	7.75 ^[23]
化脓性链球菌	12.00	5.00 ^[22]
肺炎链球菌	3.00	6.00 ^[21]
肺炎克雷伯氏菌	6.00	20.00 ^[23]

3 结论

随着国家对中医药行业的重视,中药材已成为国际国内热点研究对象。艾叶作为常见中草药之一,其活性成分复杂,加之艾叶总三萜含量、提取工艺及抗菌活性研究较少。本试验以湖北恩施艾叶为研究对象,考察了溶剂种类、乙醇体积分数、提取温度、液固比以及超声时间对艾叶总三萜得率的影响,并结合响应面法优化提取工艺,确定的最佳工艺为:乙醇体积分数72%、提取温度73℃、液固比21:1(mL:g)、超声时间42 min,此条件下,艾叶总三萜实际得率6.51%,与预测值接近,说明该工艺操作简单、耗时短、科学性强,具有较强的实际应用价值。抑菌实验表明艾叶总三萜对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、普通变形杆菌、鼠伤寒沙门氏菌、化脓性链球菌等常见致病菌均存在抑制作用,可开发为天然抗菌剂或作为复配防腐剂原料使用,对肺炎链球菌、肺炎克雷伯氏菌等的抑制效果也说明其具有潜在的医疗价值。本研究尚未明确三萜化合物中具体抑菌成分,但为进一步拓宽艾叶三萜化合物应用范围、提高艾叶资源综合利用提供基础性数据支撑。

参考文献

- [1] 中国药材公司.中国中药资源志要[M].北京:科学出版社,1994
- [2] LI Shuang, ZHOU Shao-bo, YANG Wei, et al. Gastro-protective effect of edible plant *Artemisia argyi* in ethanol-induced rats via normalizing inflammatory responses and oxidative stress [J]. Ethnopharmacology, 2018, 214: 207
- [3] FU Xiang, BAI Jin-hai, TAN Xiao-bei, et al. Antimicrobial activities and mechanism of the essential oil from *Artemisia argyi* lev. et Van. var. *argyi* cv. Qiai [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 125: 582-587
- [4] CHEN Lin-lin, ZHANG Hao-jun, CHAO jung, et al. Essential oil of *Artemisia argyi* suppresses inflammatory responses by inhibiting JAK/STATs activation [J]. Ethnopharmacology, 2017, 204: 107-117
- [5] T Akihisa, K Kawashima, M Orido, et al. Antioxidative and melanogenesis-inhibitory activities of caffeoylquinic acids and other compounds from moxa [J]. Chemistry & Biodiversity, 2013, 10: 313-327
- [6] 李静,熊维政,李磊,等.2种不同方法提取艾叶挥发油的效果比较[J].中国药房,2016,27(28):3982-3984
- [7] LI Jing, XIONG Wei-zheng, LI Lei, et al. Comparative study on the effects of two extraction methods of volatile oil from *Artemisia argyi* [J]. Chinese Pharmacy, 2016, 27(28): 3982-3984
- [8] LYU Jie-li, LI Zhen-zhen, ZHANG Lai-bin. Two new flavonoids from *Artemisia argyi* with their anticoagulation activities [J]. Natural Product Research, 2018, 32(6): 632-639
- [9] 李华生,骆航,孙兴力,等.加压同步萃取艾叶挥发油、总黄酮和多糖的工艺研究[J].中国食品添加剂,2016,10:83-89
- [10] LI Hua-sheng, LUO Hang, SUN Xing-li, et al. Study on pressurized extraction of volatile oil, total flavonoids and polysaccharides from *Artemisia argyi* [J]. China Food Additives, 2016, 10: 83-89
- [11] LIU Dian-gang, CHEN Yu-jie, WAN Xiang-luan, et al. *Artemisiae argyi* folium and its geo-authentic crude drug, qi ai [J]. Traditional Chinese Medical Sciences, 2017, 4(1): 20-23
- [12] WANG Shu, LI Jun, SUN Jian, et al. NO inhibitory guaianolide-derived terpenoids from *Artemisia argyi* [J]. Fitoterapia, 2013, 85: 169-175
- [13] HAN Bin-song, XIN Zhong-quan, MA Sha-sha, et al. Comprehensive characterization and identification of antioxidants in folium *Artemisiae argyi* using high-resolution tandem mass spectrometry [J]. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Science, 2017, 1063: 84-92
- [14] SONG Xiao-wan, WEN Xiang, HE Jing-wen, et al. Phytochemical components and biological activities of *Artemisia argyi* [J]. Functional Foods, 2019, 52: 648-662
- [15] TSENG Ching-Ping, HUANG Yu-Ling, CHANG Yao-Wen, et al. Polysaccharide-containing fraction from *Artemisia argyi* inhibits tumor cell-induced platelet aggregation by blocking

- interaction of podoplanin with C-type lectin-like receptor 2 [J]. Food and Drug Analysis, 2020, 28(1): 115-123
- [14] Akarm Taleghani, Seyed AhmadEmami, Zahra Tayarani-Najaran. *Artemisia*: A promising - plant for the treatment of cancer [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1937, 44(3): 289-291
- [15] LEI Chun, HUANG Qing-hua, ZHAO Ting, et al. New triterpenoids and PTP1B inhibitory constituents of *Pseudolarix amabilis* [J]. Fitoterapia, 2019, 139: 104414
- [16] ADITI Wagle, SU Hui-seong, Maria Julia-castro, et al. Influence of functional moiety in lupane-type triterpenoids in BACE1 inhibition [J]. Computational Biology and Chemistry, 2019, 83: 107101
- [17] Zhang Lai-Bin, Lyu Jie-Li. Sesquiterpenoids from *Artemisia argyi* and their COXs inhibitory activities [J]. Fitoterapia, 2019, 139: 104372
- [18] Zhang Lai-Bin, Lv Jie-Li, Chen Hong-Li, et al. Chemical constituents from *Artemisia argyi* and their chemotaxonomic significance [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2013, 50: 455-458
- [19] Wei Lei, Zhang Wei, Yin Li, et al. Extraction optimization of total triterpenoids from *Jatropha curcas* leaves using response surface methodology and evaluations of their antimicrobial and antioxidant capacities [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2015, 18(2): 88-95
- [20] Gossan D P A, Alabdul Magid A, Yao-Kouassi, et al. Antibacterial and cytotoxic triterpenoids from the roots of *Combretum racemosum* [J]. Fitoterapia, 2016, 110: 89-95
- [21] Chen Yi, Xie Ming-yong, Gong Xiao-feng. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum* [J]. Food Engineering, 2007, 81(1): 162-170
- [22] 常霞,景炳年,范毅,等.金银花总三萜提取工艺及其抗菌抗氧化活性[J].江苏农业科学,2019,47(16):198-202
- CHANG Xia, JING Bing-nian, FAN Yi, et al. Study on extraction technology of total triterpenes from *Lonicera japonica* Thunb and its anti-oxidation and bacteriostatic [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(16): 198-202
- [23] 魏磊,李晓,王学方,等.紫苏叶总三萜超声提取工艺优化及对 10 种常见致病菌的抑菌作用研究[J].中国药房,2018,29(16):2193-2197
- WEI Lei, LI Xiao, WANG Xue-fang, et al. Optimization of the ultrasonic extraction technology of total triterpenoids from the leaves of *Perilla frutescens* and study on its antibacterial activities against 10 kinds of common pathogens [J]. China Academic, 2018, 29(16): 2193-2197
- [24] 景炳年,魏磊,王学方,等.超声波提取炒王不留行总三萜的工艺优化及其抑菌活性研究[J].食品工业科技,2018,39(40): 157-163
- JING Bing-nian, WEI Lei, WANG Xue-fang, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total triterpenoids from fried *Vaccaria segetalis* and its antibacterial activity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(40): 157-163
- [25] 王晓玲,刘高强,周国英,等.紫萸酸性三萜类化合物体外抑癌和抑菌作用的研究[J].菌物学报,2009,28(6):838-845
- WANG Xiao-ling, LIU Gao-qiang, ZHOU Guo-ying, et al. *In vitro* anti-tumor and antimicrobial activity of acidic triterpenoids from submerged culture of *Ganoderma sinense* [J]. Mycosystema, 2009, 28(6): 838-845
- [26] 方毅,许凤清,吴德玲,等.响应面法优化茯苓总三萜超声波提取工艺[J].辽宁中医药大学学报,2019,19(11):57-59
- FANG Yi, XU Feng-qing, WU De-ling, et al. Optimization of ultrasonic extraction process of total triterpenoids from *Poria cocos* (Schw.) wolf by response surface methodology [J]. Liao Ning University of TCM, 2019, 19(11): 57-59
- [27] 张爽,任亚梅,刘春利,等.响应面法优化苹果渣总三萜超声提取工艺[J].食品科学,2015,16(36):44-50
- ZHANG Shuang, REN Ya-mei, LIU Chun-li, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total triterpenoids from apple pomace by response surface methodology [J]. Food Science, 2015, 16(36): 44-50