

扁蓄总黄酮提取方法的比较

代容春, 何文锦, 刘萍, 郑凌凌, 陈由强, 朱锦懋

(福建师范大学生物工程学院, 福建 福州 350007)

Comparison of extracting procedure of total flavones in *Polygonum aviculare* L. var. *aviculare* DAI Rong-chun, HE Wen-jin, LIU Ping, ZHENG Ling-ling, CHEN You-qiang, ZHU Jin-mao (Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2003, 12(3): 53-54

Abstract: The factors which effected the extraction of total flavones from *Polygonum aviculare* L. var. *aviculare* were discussed with respects to solvent, concentration and the extracting temperature. The rutin was used as a standard compound, the total flavones extracted by the different extracting procedure were quantitated by measurement of absorbance at 510 nm. The results show that 80 °C and 35% alcohol are optimal and the extracting rate of the total flavones is as high as 4.349%.

关键词: 扁蓄; 黄酮类化合物; 提取方法

Key words: *Polygonum aviculare* L. var. *aviculare*; flavones; extraction

中图分类号: R284.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2003)03-0053-02

扁蓄 (*Polygonum aviculare* L. var. *aviculare*) 异名多茎扁蓄、异叶扁蓄等^[1], 全草入药, 有清热利尿、消炎解毒之功效^[1,2], 含多种药用有效成分, 主要为黄酮类化合物扁蓄甙 (avicularin) 和槲皮甙 (quercitrin)。其中扁蓄甙具有抗病毒、抗炎和利尿降压的作用; 槲皮甙具有抗病毒作用, 可作为抗炎和利尿剂^[3-5]。现代临床学报道, 在非胰岛素依赖性糖尿病患者的治疗中扁蓄是 1 种理想的药物, 疗效显著而持久, 且无毒副作用^[6]。扁蓄也是福建省民间常见中草药。因此, 具有极大的开发利用价值, 但迄今为止尚未见对扁蓄黄酮类化合物提取工艺的研究。为此, 作者对扁蓄全草黄酮类化合物的提取方法进行了比较, 以期扁蓄黄酮提取工艺的优选提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 仪器与设备 752 型分光光度计 (上海分析仪器总厂)、旋转蒸发仪、恒温水浴锅、砂芯层析柱、索氏抽提装置。

1.1.2 试剂 芦丁 (上海试剂二厂产品)、5% NaNO₂、10% Al(NO₃)₃、1 mol/L NaOH、聚酰胺粉 (80-100 目, 以 70% 乙醇预处理)。

1.1.3 材料 扁蓄采自福建省福州市盖山镇, 由福建师范大学生物工程学院刘剑秋教授鉴定。全草洗净稍晾干, 置于 80°C 恒温箱中干燥后, 粉碎, 过 60 目筛, 待用。

1.2 方 法

1.2.1 总黄酮的提取

(1) 乙醇浸提法: 称取样品干燥粉末 10 g, 加入一定浓度的乙醇溶液 100 mL (料液比为 W:V=1:10), 水浴回流 1 h, 过滤后, 滤渣重复浸提 2 次。合并滤液, 减压浓缩至 100 mL, 置冰箱中过夜 (使叶绿素沉淀)。将浓缩液过滤并定容至 100 mL, 得总黄酮提取液。乙醇溶液浓度分别为 60%、80% 和

95%, 水浴温度分别为 60°C 和 80°C。

(2) 水浸提法: 称取样品干燥粉末 10 g, 加入 100 mL (料液比为 W:V=1:10) 蒸馏水, 水浴 (温度分别为 60°C 和 80°C) 回流 1 h, 过滤, 滤渣重复浸提 2 次。合并滤液, 减压浓缩至适量, 放冷后过滤并定容至 100 mL, 得总黄酮提取液。另外一组在自然温度 (20°C) 下浸提 12 h, 其他步骤同上。

1.2.2 总黄酮的纯化 准确吸取提取液 5 mL, 加 200 mg 聚酰胺粉搅匀, 转移到装有 400 mg 聚酰胺粉的砂芯层析柱中, 用乙醇梯度洗脱: 35% 乙醇 (20 mL) → 55% 乙醇 (20 mL) → 75% 乙醇 (20 mL) → 95% 乙醇 (20 mL) → 无水乙醇 (20 mL)。收集各级洗脱液, 合并浓缩, 用 30% 乙醇定容至 100 mL, 备测。

1.2.3 最大吸收波长的选择 以 NaNO₂、Al(NO₃)₃ 和 NaOH 为显色剂, 分别作各样品提取液以及芦丁标准品的吸收曲线, 在 510 nm 处均有 1 个强吸收峰, 因此选择 510 nm 为测定波长。

1.2.4 芦丁标准曲线绘制 精确配制 0.1 mg/mL 的芦丁标准液, 分别取 0、1.0、2.0、3.0、4.0 和 5.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 各加 30% 乙醇使成 5 mL, 加入 5% NaNO₂ 溶液 0.3 mL 摇匀, 放置 6 min 后, 加 10% Al(NO₃)₃ 溶液 0.3 mL, 摇匀放置 6 min 后加入 1 mol/L NaOH 溶液 4 mL, 再加蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 放置 15 min 后于 510 nm 波长处测定 OD 值, 绘制标准曲线。

1.2.5 总黄酮含量的测定 分别吸取 1.0 mL 上述各备测液于 10 mL 容量瓶中, 按芦丁标准品测定方法, 于 510 nm 波长下测定 OD 值, 计算各提取液中总黄酮含量, 即为得率。计算

收稿日期: 2003-02-17

基金项目: 福建省教育委员会资助项目 (JB01099)

作者简介: 代容春 (1973-), 女, 福建仙游人, 硕士, 讲师, 从事植物生理学和植物分子生物学研究。

公式如下:总黄酮含量(以芦丁计)(%) = $\frac{CV_1 V_3}{1000 W V_2 V_4}$, 式

中: C: 测定液黄酮含量(mg/L); W: 称样量(g); V₁: 提取定容体积(mL); V₂: 聚酰胺处理时取样液体积(mL); V₃: 聚酰胺处理后定容体积(mL); V₄: 显色反应取样液体积(mL)。

2 结果与分析

2.1 芦丁标准曲线

以 OD 值对芦丁标准品含量作图(见图 1), 标准曲线回归方程为 $y = 0.01007x + 0.00230$, 其线性范围 0-50.0 mg/L, 相关系数 $R = 0.999$ 。

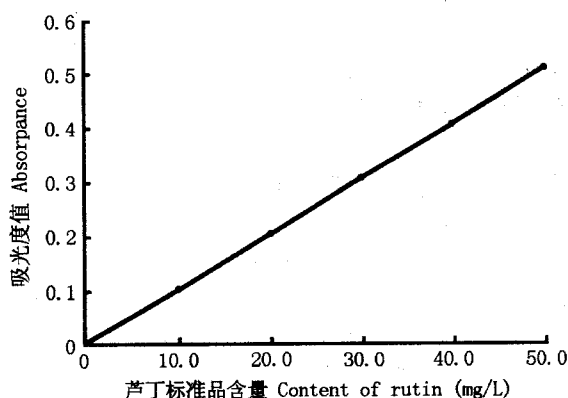


图 1 芦丁标准曲线
Fig. 1 Standard curve of rutin

2.2 不同提取方法总黄酮含量的比较

不同方法提取的扁蓄总黄酮含量测定结果见表 1 和表 2。水浸提法的总黄酮得率较低, 最高也仅为 1.689%。而乙醇浸提法的得率相对较高, 并且随着温度的上升而提高, 其中以 80℃ 水浴和 60% 乙醇浸提的得率最高, 平均为 3.563%。由于乙醇浸提法所用的 3 种乙醇浓度均较高, 故又补充测定了 80℃ 水浴下较低浓度乙醇(20%~50%)作为浸提溶剂所得的总黄酮得率, 测得数据如表 3。结果表明, 80℃ 水浴下 8 种乙醇浓度中以 35% 乙醇为最佳, 得率达 4.349%。

表 1 乙醇浸提法提取扁蓄总黄酮的得率(按芦丁计)

Table 1 The yield of flavones in *Polygonum aviculare* L. var. *aviculare* extracted with ethanol (using rutin as a standard)

提取温度 Temperature (°C)	乙醇浓度 Conc. of ethanol (%)	得率 Yield (%)				S (%)	CV (%)
		1	2	3	均值 Average		
60	60	2.537	2.616	2.446	2.533	0.085	3.356
	80	2.386	2.225	2.423	2.345	0.105	4.478
	95	1.683	1.781	1.784	1.749	0.057	3.259
80	60	3.442	3.610	3.638	3.563	0.106	2.975
	80	3.346	3.330	3.256	3.311	0.048	1.450
	95	1.256	1.306	1.251	1.271	0.030	2.360

表 2 水浸提法提取扁蓄总黄酮的得率(按芦丁计)

Table 2 The yield of flavones in *Polygonum aviculare* L. var. *aviculare* extracted with water (using rutin as a standard)

提取温度 Temperature (°C)	得率 Yield (%)				S (%)	CV (%)
	1	2	3	均值 Average		
20	1.020	1.085	1.060	1.055	0.033	3.128
60	1.330	1.401	1.410	1.380	0.044	3.188
80	1.607	1.752	1.709	1.689	0.074	4.381

表 3 80℃ 不同浓度乙醇浸提扁蓄总黄酮的得率(按芦丁计)

Table 3 The yield of flavones in *Polygonum aviculare* L. var. *aviculare* extracted with ethanol in 80°C (using rutin as a standard)

乙醇浓度 Conc. of ethanol (%)	得率 Yield (%)				S (%)	CV (%)
	1	2	3	均值 Average		
20	2.729	2.698	2.670	2.699	0.030	1.111
30	3.601	3.690	3.640	3.644	0.045	3.128
35	4.351	4.301	4.396	4.349	0.048	1.104
40	3.952	4.202	4.001	4.052	0.132	3.188
50	3.384	3.726	3.593	3.568	0.172	4.821

3 讨论

用水浸提法提取扁蓄总黄酮, 提取率较低, 且提取液在存放过程中易腐败变质, 后续的过滤、浓缩和纯化等操作困难费时, 由于水提取液中含有较多的蛋白质和糖类等易溶于水的成分, 因此也易霉变。乙醇浸提法提取温度以 80℃ 为佳, 温度高时, 浸提液粘度减少, 扩散系数增加, 浸提速度加快; 采用低浓度的乙醇作为提取溶剂, 对工业化生产具有重要意义, 成本较低又安全。作者也曾以丙酮和甲醇溶液作为提取溶剂, 总黄酮得率与以乙醇溶液作为提取溶剂相当, 由于其他有机溶剂毒性较大, 并且成本较高, 因此在工业化生产中不宜采用。因此, 扁蓄总黄酮的提取应采用 80℃ 水浴, 35% 乙醇作为浸提剂, 总黄酮的得率可达 4.349%。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 第二十五卷 第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 9-10.
- [2] 第二军医大学药系生药教研室. 中国药用植物图鉴[M]. 上海: 上海教育出版社, 1960. 829.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典(下册)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977. 2329-2331.
- [4] 周荣汉. 药用植物化学分类学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988.
- [5] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.
- [6] 赵荣芳. 扁蓄治疗糖尿病 25 例临床观察[J]. 南通医学院学报, 1995, 15(2): 274-275.