

## 刺果甘草中黄酮类化合物的提取与分析

马君义, 张继<sup>①</sup>, 王一峰, 姚健

(西北师范大学生命科学院, 甘肃 兰州 730070)

**Extraction and analysis of total flavonoids from roots of cultivated *Glycyrrhiza pallidiflora*** MA Jun-yi, ZHANG Ji<sup>①</sup>, WANG Yi-feng, YAO Jian (College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(1): 78-79

**Abstract:** With three different methods, the total flavonoids from the roots of cultivated *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim. were determined and compared by ultraviolet-visible spectrophotometry. The results showed that the extract yield of total flavonoids in crude extracts was 4.54% by direct determination method, 4.27% by  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  colorimetry method and 2.09% by  $\text{AlCl}_3$  colorimetry method. The content of total flavonoids in roots of cultivated *G. pallidiflora* was only 0.05%. The cultivated *G. pallidiflora* in Lanzhou is not unfit for the medicine source of flavonoids.

**关键词:** 刺果甘草; 总黄酮; 提取; 分析

**Key words:** *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim.; total flavonoids; extract; analysis

中图分类号: Q946.8; Q949.751.9 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2006)01-0078-02

刺果甘草(*Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim.)又名土甘草、野甘草,分布广泛,是干旱、半干旱地区重要的资源植物之一。甘草具有清热解毒、止渴祛痰、补脾和胃、调和诸药等功效,近年来对刺果甘草的营养成分、甘草酸、生物碱、精油等化学成分的分离、鉴定等方面进行了深入、细致的研究<sup>[1-8]</sup>,认为刺果甘草可以作为生物碱类药物的药源植物<sup>[8]</sup>。黄酮类化合物是植物中重要的次生代谢产物之一,具有广泛的开发前景,甘草黄酮具有明显的清除自由基、抗氧化作用,可以预防肿瘤的发生,对胃溃疡、肝损害、病原微生物、酶及抗炎和抗变态反应作用等方面都有明显的药理作用,尤其是发现其具有抗爱滋病毒作用后,甘草黄酮类化合物的研究引起了人们的广泛关注和重视<sup>[9-11]</sup>。有关刺果甘草总黄酮的提取、测定与分析尚未见有研究报道。本实验以兰州人工引种栽培的6年生刺果甘草为材料,对其干燥根中总黄酮类化合物的提取和测定方法进行了比较与探讨,以期对刺果甘草资源的综合开发利用提供科学依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

实验样品为西北师范大学植物研究所王镜泉教授引种栽培的6年生刺果甘草(*Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim.)的根,腊叶标本和生药标本均存放于西北师范大学植物研究所标本室。

#### 1.2 方法

1.2.1 总黄酮类化合物的提取 称取洗净、室温干燥后粉碎(60目)的刺果甘草根20g,加入200mL 95%乙醇室温浸提24h,共3次,合并提取液,抽滤,滤液于70℃水浴中减

压浓缩成稠膏状,加热水搅拌溶解后依次用石油醚、乙酸乙酯萃取3次。将乙酸乙酯萃取液减压浓缩至适量后用5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 水溶液萃取3次,碱水液用浓盐酸调至pH 5~6,乙酸乙酯萃取3次,减压浓缩乙酸乙酯,60℃恒温干燥至恒重,即获得棕黄色的刺果甘草总黄酮粗提物<sup>[12-15]</sup>。

1.2.2 芦丁标准曲线制备 以硝酸铝显色法于500nm处<sup>[16]</sup>、氯化铝显色法于410nm处<sup>[17]</sup>、直接测定法于360nm处分别测定不同浓度标准品芦丁溶液的吸光度,根据所测得的芦丁溶液的吸光度,用最小二乘法作线性回归,得芦丁浓度 $Y$ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )与吸光度 $A$ 的关系式分别为: $Y=0.1178A+0.0004$ ,  $R=0.9996$ ( $n=5$ );  $Y=0.0475A-0.0009$ ,  $R=0.9993$ ( $n=5$ );  $Y=0.0475A-0.0012$ ,  $R=0.9993$ ( $n=5$ )。

1.2.3 总黄酮含量的测定 称取10.0mg刺果甘草根的总黄酮粗提物,超声溶解于60%乙醇中,定容至25mL。分别取3mL总黄酮待测溶液,按前述制作标准曲线的方法测定吸光度,根据标准曲线线性回归方程计算样液中的总黄酮含量,再依下列公式计算样品中的总黄酮含量:

$$x = \frac{y \times V_1 \times \frac{V_2}{V_3}}{m} \times 100\%。式中, x 为样品中总黄酮含量, y$$

为样液中总黄酮含量( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),  $V_1$ 为样液体积(mL),  $V_2$ 为样品定容体积(mL),  $V_3$ 为显色反应测定时取用样品的体积(mL),  $m$ 为样品量(mg)。

收稿日期: 2005-08-25

基金资助: 甘肃省自然科学基金资助项目(ZS001-A25-011-Z)

作者简介: 马君义(1967-),男,甘肃宁县人,硕士,讲师,主要从事资源植物化学研究。

<sup>①</sup> 通讯作者

## 2 结果和分析

通过重量法分析可知,兰州人工引种栽培的刺果甘草根中总黄酮类粗提物的含量为1.193%。明显低于文献<sup>[12]</sup>记载的同法提取的药用乌拉尔甘草根粗提物中的总黄酮含量(4.54%~6.74%)。

刺果甘草根粗提物和根中总黄酮的含量以及芦丁加样回收率见表1。用3种方法测定刺果甘草根粗提取物中总黄酮含量,以直接测定法为最高,硝酸铝显色法次之,氯化铝显色法最低,分别为4.54%、4.27%和2.09%。用直接测定法测定样品中的总黄酮含量,因不受显色剂干扰,测定结果偏差较小。3种测定方法的相对标准偏差RSD为1.65%~2.67%,说明测定结果稳定可靠。

表1 3种不同方法测定的刺果甘草根中总黄酮含量的比较<sup>1)</sup>  
Table 1 The contents of total flavonoids of the roots from *Glycyrrhiza pallidiflora* Maxim. determined with three different methods<sup>1)</sup>

方法 Method	I	II	III
硝酸铝显色法 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ colorimetry method	4.27	0.05	98.15
氯化铝显色法 $\text{AlCl}_3$ colorimetry method	2.09	0.02	103.69
直接测定法 Direct determination method	4.54	0.05	97.20

<sup>1)</sup> I: 刺果甘草根粗提物中总黄酮含量(%) The contents of total flavonoids in crude extracts from roots of *G. pallidiflora*; II: 刺果甘草根中总黄酮的含量(%) The contents of total flavonoids in roots of *G. pallidiflora*; III: 芦丁回收率(%) Rutin recovery rate. 数据为3次重复的平均值 The data are the average values of three replications.

用硝酸铝显色法、氯化铝显色法和直接测定法测定刺果甘草根中总黄酮类化合物的含量,测定结果分别为0.05%、0.02%和0.05%。明显低于用同法测定的药用乌拉尔甘草根中的总黄酮含量(0.240%~0.386%)<sup>[18]</sup>。

以刺果甘草根总黄酮粗品为供试样,加入芦丁标准品,用标准物加入法进行回收率测定,回收率达97.20%~103.69%,RDS在1.89~2.95之间,说明实验方法可靠。

## 3 讨论

用3种分光光度法测定刺果甘草根提取物总黄酮含量,总黄酮含量以直接测定法为最高,硝酸铝显色法次之,氯化铝显色法最低,这一差异可能与不同分析测定方法所采用的显色试剂的干扰有关,而直接测定法不受其他显色试剂的干扰,偏差较小,测定结果可靠。

张继等通过比较同一生长环境下生长时间相同的人工栽培的各种药用甘草类植物的生物碱、甘草酸含量,认为刺果甘草可以作为生物碱类药物的药源植物<sup>[8]</sup>,但不能作为甘

草酸类药物的药源植物<sup>[7]</sup>。本实验结果表明,在兰州人工引种栽培的刺果甘草根中总黄酮含量甚微,仅为0.05%,不适宜作为黄酮类药物的药源植物,也不适宜作为药用甘草的代用品。

## 参考文献:

- [1] 张继,杨永利,白贞芳,等. 乌拉尔甘草与刺果甘草茎叶营养成分的比较[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2002, 38(3): 61-63.
- [2] 张继,马君义,杨永利,等. 刺果甘草根化学成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(12): 902-904.
- [3] 张继,马君义,王一峰,等. 刺果甘草叶挥发性化学成分的分析研究[J]. 草业学报, 2004, 13(3): 103-105.
- [4] Li W, Asada Y, Koike K, et al. Flavonoids from *Glycyrrhiza pallidiflora* hairy root cultures [J]. Phytochemistry, 2001, 58(4): 595-598.
- [5] 阙毓铭,赵海宝,刘训江,等. 刺果甘草化学成分的研究[J]. 中草药, 1994, 25(1): 3-9.
- [6] 柳江华,杨松松,付玉琴,等. 刺果甘草化学成分的研究[J]. 药学报, 1990, 25(9): 689-693.
- [7] 张继,杨永利. 相同条件下的5种甘草中甘草酸含量的比较研究[J]. 西北植物学报, 1997, 17(6): 111-114.
- [8] 张继,姚健,杨永利,等. 甘草生物碱成分的分析及含量测定[J]. 西北植物学报, 2001, 21(6): 1259-1262.
- [9] 汪秋安. 天然黄酮类化合物的生理功能及其应用[J]. 香料香精化妆品, 1999, 3(1): 28-33.
- [10] 邢国秀,李楠,王童,等. 甘草中黄酮类化学成分的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7): 593-597.
- [11] 丛景香,高丽娟,林炳昌. 中药现代化技术甘草黄酮类化合物研究进展[J]. 精细化工, 2004, 21(增刊): 121-124.
- [12] 高素莲,王雪梅. 甘草中皂甙和总黄酮类化合物的提取分离与测定[J]. 安徽大学学报, 2000, 24(4): 70-74.
- [13] 景谦平,尉芹,董娟娥. 影响植物有效成分提取的因素评述[J]. 西北林学院学报, 2001, 16(3): 29-33.
- [14] 刘成梅,游海. 天然产物有效成分的分离与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003. 172-175.
- [15] 杨云,张晶,陈玉婷. 天然药物化学成分提取分离手册[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003. 168-169.
- [16] 于村,俞莎,沈向红. 保健食品中总黄酮测定方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(4): 401-402.
- [17] 张进棠,姚本林,刘伏焯,等. 银杏叶提取物中总黄酮的紫外分光光度测定[J]. 武汉化工学院学报, 1998, 20(1): 26-28.
- [18] 王振荣,邓立育,郭伟玲,等. 黑龙江、新疆、安徽产甘草中糖、总皂甙及总黄酮成分的比较研究[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2000, 17(2): 82-84.