

# 金樱根总黄酮提取工艺优选

赖红芳, 韦瑞松, 黄秀香\*

(河池学院化学与生命科学系, 广西 宜州 546300)

**[摘要]** 目的: 优选金樱根总黄酮的最佳提取工艺。方法: 用正交试验法对金樱根总黄酮的半仿生法提取工艺进行优选。考察提取温度、提取时间、料液比对总黄酮提取率的影响, 采用分光光度法, 在 505 nm 测定金樱根总黄酮的含量。结果: 最佳工艺为分别以 pH 2, 7.5, 8.3 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液作为提取液, 固液比 1:20, 恒温水浴温度 60 ℃, 提取时间 20 min, 总黄酮提取率达到 9.67%, RSD 1.52%, 加样回收率为 97.10%。结论: 半仿生法提取金樱根总黄酮明显优于乙醇回流法。

**[关键词]** 金樱根; 总黄酮; 半仿生法; 正交试验; 提取工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0013-03

金樱根又名金樱菇、脱骨丹, 是广西特色妇科中药花红片的主味药材之一。《本草纲目》记载金樱子“性酸、涩、平、无毒; 主治脾泻下痢, 止水便利, 涩精气, 久服令人耐寒轻身, 补血益精, 有奇效<sup>[1]</sup>”。金樱子富含黄酮类成分<sup>[2]</sup>, 具有保护心血管系统、抗菌及抗病毒、抗肿瘤、抗氧化清除自由基等多种生

物活性<sup>[3-4]</sup>。半仿生提取法<sup>[5-7]</sup>模仿口服药物在胃肠道的转运过程, 采用选定 pH 的酸性水和碱性水依次连续提取, 尽可能地提取和保留原药中的有效成分, 具有绿色环保、高效安全、能缩短生产周期、降低生产成本等特点<sup>[8]</sup>。本文采用半仿生法提取金樱根总黄酮, 通过单因素试验和正交试验对金樱根提取工艺参数进行优选, 为金樱根的开发利用提供依据。

## 1 材料

金樱根购于宜州药材市场, 经河池学院邓晰朝副教授鉴定为蔷薇科植物金樱子 *Rosa laevigata* 的根或根皮。芦丁(购于中国生物制品检定所, 批号 2010-A0103, 含量 > 98%)、无水乙醇、氢氧化钠、亚硝酸钠、九水合硝酸铝、柠檬酸、磷酸氢二钠均为

**[收稿日期]** 20110505(011)

**[基金项目]** 广西教育厅科研立项项目(201010LX457); 广西科学基金项目(桂科青 0832091)

**[第一作者]** 赖红芳, 副教授, 从事天然产物提取及成分分析研究, Tel: 0778-3141892, E-mail: laihongfang263@tom.com

**[通讯作者]** \* 黄秀香, 副教授, Tel: 0778-3141892, E-mail: hxx1372@163.com

气导滞, 现代药理研究表明大腹皮对大鼠的胃排空运动有较强的促进作用<sup>[5]</sup>。丹参其性寒凉, 功善活血祛瘀止痛、凉血消痈, 可破宿血、生新血, 可抑制血小板聚集, 激活纤溶酶原-纤溶酶纤维蛋白原溶解。

小鼠甩尾实验结果表明阿司匹林组、枳朴方①、③、④组与蒸馏水空白组比较均能明显延长小鼠的甩尾反应时间, 枳朴方②组无统计学意义。小鼠二甲苯致耳肿胀实验结果表明阿司匹林组、枳朴方①与蒸馏水组比较均能显著抑制小鼠耳肿胀, 枳朴方②~④组与蒸馏水组比较无统计学意义。小鼠肠推进实验结果表明枳朴方给药组、西沙比利组与蒸馏水组比较均能显著促进肠蠕动。综合分析, 枳朴方 4 种工艺均具有一定的镇痛、抗炎、促肠蠕动作用可缓解腹部术后肠麻痹所致的腹痛、腹胀、不排气等症状。以水煎提取方法简单, 疗效确切。

## [参考文献]

- [1] 徐叔云, 卡如濂, 陈修. 药学与实验方法学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 885, 911.
- [2] 刘明洁, 王慧香, 包宏, 等. 蒙药别冲-15 的抗炎作用研究[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 3(3): 66.
- [3] 卡如濂, 陈修. 药学与实验方法学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1136.
- [4] 张启荣, 唐俊明, 彭吉霞, 等. 厚朴枳实煎剂对兔离体回肠运动的影响[J]. 中国中医药科技, 2009, 16(6): 453.
- [5] 刘汶, 张大炜. 中药对胃肠运动功曲的影响[J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1998, 6(3): 192.

[责任编辑 全燕]

分析纯。

FZ102 型微型植物粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),UV-2102PCS 型紫外分光光度计(尤尼科仪器有限公司),AE240S 型电子分析天平(梅特勒-托利多),PHS-3B 型精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。

## 2 方法及结果

### 2.1 黄酮含量测定

**2.1.1 样品的制备及处理** 金樱根粉碎,过 20 目筛,准确称取 5.0 g 至 250 mL 圆底顶烧瓶中,分别加入 pH 2.0,7.5,8.3 缓冲溶液,加热回流一定时间,过滤,合并 3 次滤液至 500 mL 量瓶中,定容,备用。

**2.1.2 标准曲线的绘制** 精确称取芦丁对照品 5 mg,用 50% 乙醇溶解,转移至 50 mL 量瓶中,制成 0.1 g·L<sup>-1</sup> 的芦丁对照品溶液。分别吸取上述溶液 0.0,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL 于 25 mL 的比色管中,用 50% 乙醇稀释至 10 mL,加入 5% NaOH 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,再加 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,然后加 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 2.0 mL,用 50% 乙醇定容至 25 mL,摇匀,静置 15 min。以空白液作参比液,测定吸光度。

得回归方程  $Y = 0.087X + 0.0002$  ( $r = 0.9995$ ),结果表明芦丁在 4~20 mg·L<sup>-1</sup> 与吸光度线性良好。

**2.1.3 总黄酮的含量测定** 精确吸取金樱根提取液 1 mL 于 25 mL 的比色管中,按照 2.1.2 的方法进行显色,用空白的 NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH 溶液调零,在 505 nm 测吸光度,代入回归方程计算总黄酮质量浓度。

**2.1.4 回收率试验** 精密量取已知总黄酮含量的提取液 6 分,分别加入 0.1 mL·g<sup>-1</sup> 芦丁对照品溶液 0.5 mL,按 2.1.2 项下方法,测定吸光度,算出黄酮提取率。结果见表 1。

表 1 金樱根总黄酮提取液芦丁加样回收率试验

样品总黄酮含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%
0.3813	0.4291	95.60	97.10
0.3813	0.4291	95.60	
0.4030	0.4509	95.80	
0.4030	0.4530	100.00	
0.3878	0.4356	95.60	
0.3878	0.4378	100.00	

注:芦丁加入量均为 0.05 mg。

**2.1.5 精密度试验** 精确吸取提取液 1 mL 置于 25 mL 比色管中,按 2.1.2 项下方法测定平均吸光度 0.1755, RSD 0.48%。

### 2.2 单因素考察

**2.2.1 固液比对总黄酮提取率的影响** 精确称取金樱根粉 5.00 g,恒温水浴温度 60 ℃,固液比分别 1:5,1:10,1:15,1:20,1:25,1:30,分别用 pH 2.0,7.5,8.3 缓冲液各回流 10 min,冷却,过滤,合并 3 次滤液。按 2.1.2 方法测吸光度,计算总黄酮提取率分别为 7.192%,7.248%,7.354%,7.889%,8.060%,7.410%,固液比 1:25 时总黄酮提取率最大,故选择 1:25。

**2.2.2 温度对总黄酮提取的影响** 精确称取金樱根粉 5.00 g,固液比 1:10,分别在温度 30,40,50,60,70 ℃,用 pH 2.0,7.5,8.3 缓冲液各提取 10 min,冷却,过滤,合并 3 次滤液。按 2.1.2 方法,测定吸光度,计算总黄酮提取率分别为 7.628%,7.629%,7.954%,7.516%,7.194%。由结果可知随温度的升高提取率增大,50 ℃ 是急剧增大,随后再升高温度其提取率快速下降。综合各方面因素,提取温度以 40~60 ℃ 为宜。

**2.2.3 时间对总黄酮提取的影响** 精确称取金樱根粉 5.00 g,恒温水浴温度 60 ℃,固液比 1:10,用 pH 2.0,7.5,8.3 的缓冲液各提取 10,20,30,40,50,60 min,冷却,过滤,合并 3 次滤液。按 2.1.2 方法测吸光度,结果总黄酮提取率分别为 7.248%,7.781%,8.062%,7.574%,7.083%,7.030%,30 min 提取率最大。

**2.3 正交试验** 对各单因素的固液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)三因素对黄酮提取工艺进行正交试验,并以总黄酮含量作为提取工艺的判断指标。根据设置选用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表,试验方案设计及结果见表 2,3。

表 2 金樱根总黄酮提取工艺正交试验因素水平

水平	A 固液比 /g·mL <sup>-1</sup>	B 提取温度 /℃	C 提取时间 /min
1	1:20	40	20
2	1:25	50	30
3	1:30	60	40

从结果可知影响因素主次 C > B > A,即提取时间对金樱根总黄酮的提取结果影响最大,提取温度次之,料液比的影响最小。通过正交试验得出最优方案为固液比 1:20,提取温度 60 ℃,提取时间 20

min,即  $A_1B_3C_3D_1$ 。

**2.4 验证试验** 精确称取 5.00 g 金樱根药粉,按优选最佳工艺进行提取,冷却,过滤,合并 3 次滤液,按 2.1.2 方法,测定吸光度,算出黄酮平均提取率 9.67%,RSD 1.52%,说明该工艺稳定。

表 3 金樱根总黄酮提取工艺正交试验安排

No.	A	D	B	C	黄酮提取率/%
1	1	1	1	1	8.39
2	1	2	2	2	8.44
3	1	3	3	3	8.66
4	2	1	2	3	8.12
5	2	2	3	1	8.72
6	2	3	1	2	8.23
7	3	1	3	2	8.17
8	3	2	1	3	8.23
9	3	3	2	1	8.50
$K_1$	8.50	8.23	8.28	8.57	
$K_2$	8.37	8.46	8.35	8.28	
$K_3$	8.30	8.46	8.52	8.34	
R	0.59	0.71	0.70	0.77	

**2.5 乙醇提取法** 称取样品 3.00 g,用 95% 乙醇 100 mL 回流提取 3 h,过滤后定容为 100 mL,吸取提取液 1 mL 置于 25 mL 比色管中,按 2.1.2 方法测定吸光度,黄酮提取率分别为 0.54%,0.55%,0.56%,RSD 1.82%。可知半仿生法提取金樱根中总黄酮明显优于传统的浸提法。

### 3 结论

本文探讨半仿生法提取金樱根中总黄酮的工艺,以磷酸氢二钠-柠檬酸为溶剂,在 pH 2.0,7.5,8.3 各提取 1 次,合并 3 次滤液。通过考察固液比、提取时间、恒温水浴温度三因素,用正交试验确定了最佳工艺为固液比 ( $g \cdot mL^{-1}$ ) 1:20,恒温水浴温度 60 ℃,提取时间 20 min,总黄酮提取率达到 9.67%,RSD 1.52%。

半仿生法在提取过程中保留较多的有效成分,得到含药理指标高的活性混合成分,在提取金樱根总黄酮明显优于传统的浸提法,是一种行之有效的提取方法。

### [参考文献]

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典. 上册[M]. 上海:上海科技出版社,2006:1408.
- [2] 顾志平,张曙明,刘东,等. 金樱子资源的开发利用[J]. 中国野生植物资源,1994(4):30.
- [3] 徐任生. 天然产物化学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,2004:562.
- [4] 陈丛瑾,黄克瀛,王贵武,等. 香椿叶总黄酮不同提取方法的比较[J]. 食品研究与开发,2008,29(3):57.
- [5] 张兆旺,孙秀梅. 试论“半仿生提取法”制备中药口服制剂[J]. 中国中药杂志,1995,20(11):670.
- [6] 璃亭,张兆旺,孙秀梅. 思维方式的转换与中药半仿生提取法[J]. 中国中药杂志,1997,22(9):542.
- [7] 张兆旺,孙秀梅. 半仿生提取法的特点与应用[J]. 世界科学技术——中药现代化,2000,2(1):35.
- [8] 陈晓娟,周春山. 酶法及半仿生法提取杜仲叶中绿原酸和黄酮[J]. 精细化工,2006,23(3):257.

[责任编辑 仝燕]