

## 木姜叶柯总黄酮的提取工艺

蒋珍藕<sup>\*</sup>, 韦宝伟, 黄明桂, 邱宏聪, 陆国寿  
(广西中医药研究院, 南宁 530022)

[摘要] 目的: 优选木姜叶柯总黄酮的提取工艺。方法: 以总黄酮中主要有效成分根皮苷的提取量为考察指标, 采用对比试验与正交试验相结合的方法优选木姜叶柯总黄酮提取工艺条件。结果: 木姜叶柯总黄酮的最佳提取工艺为: 回流提取 3 次, 每次用 10 倍药材量的 70% 乙醇, 每次 2 h。结论: 该提取工艺科学、合理、可行。

[关键词] 木姜叶柯; 总黄酮; 根皮苷; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0014-03

## Study on Extraction Process of Total Flavones of *Lithocarpus litseifolius*

JIANG Zhen-ou<sup>\*</sup>, WEI Bao-wei, HUANG Ming-gui, QIU Hong-cong, LU Guo-shou  
(Guangxi Academy of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China)

**[Abstract] Objective:** To optimize the extraction process of the total flavones of *Lithocarpus litseifolius*. **Method:** Main effective component of phloridzin in total flavones was taken as indexes, and extraction process was optimized by comparative experiment and orthogonal test. **Result:** The optimum extraction process was determined as follows: extracting three times by refluxing, 10-fold drug amount and 70% alcohol added and extracted for two hours. **Conclusion:** The extraction process is scientific, reasonable and feasible.

**[Key words]** *Lithocarpus litseifolius*; total flavones; phloridzin; extraction process

木姜叶柯为壳斗科柯属植物 *Lithocarpus litseifolius* (Hance) Chun.<sup>[1]</sup> 的干燥嫩叶, 具有清热解毒, 化痰, 祛风, 降压的作用, 主治湿热泻痢、肺热咳嗽、痈疽疮疡、皮肤瘙痒、高血压<sup>[2]</sup>; 现代研究表明, 木姜叶柯中的黄酮类成分具有降血糖、降血压、降脂及抗过敏、抗炎等作用, 尤其根皮苷在糖尿病及其并发症的防治中具有独特的效果<sup>[3]</sup>, 故木姜叶柯将可能是一种新型的预防和治疗糖尿病的新药材。本研究对木姜叶柯有效部位总黄酮的提取工艺进行研究, 为进一步分离纯化木姜叶柯总黄酮打下基础。

### 1 材料

LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司)、SPD-

20A 紫外检测器(日本岛津公司)、威玛通用多媒体色谱数据工作站; LIBROR AEL-200 电子天平(日本岛津公司)。

根皮苷(SIGMA 公司, 批号 083K7072, 质量分数 98% 以上); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯; 乙醇为食用酒精(95%, 南宁市广耀实验装备有限责任公司)。

药材采自广西平果县海城乡荣芳村陆拥屯, 经广西中医药研究院中药资源研究所覃德海副研究员及饶伟源副研究员鉴定为壳斗科柯属植物木姜叶柯 *L. litseifolius* 的干燥嫩叶。

### 2 方法与结果

#### 2.1 根皮苷的含量测定

**2.1.1 色谱条件** Thermo HYPERSIL ODS-2(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相乙腈-0.1% 磷酸(21:79); 检测波长 280 nm; 柱温室温, 进样量 5 μL。理论塔板数按根皮苷峰计, 应不低于 2 000。色谱图见图 1。

[收稿日期] 20100916(006)

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 0718002-2-13)

[通讯作者] \* 蒋珍藕, 副主任中药师, 硕士, 研究方向: 中草药研究与开发, Tel: 0771-5869102; E-mail: zhenou\_jiang@yahoo.com.cn

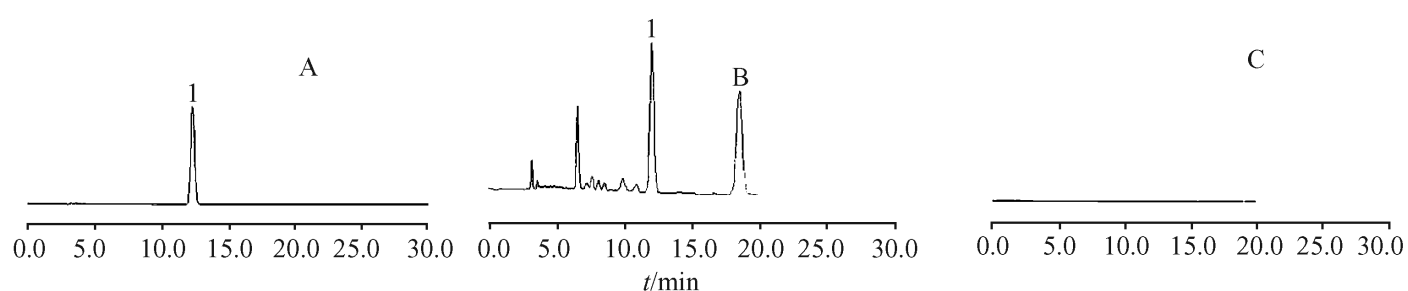


图 1 木姜叶柯根皮苷含量测定 HPLC

A. 对照品; B. 样品; C. 空白对照; 1. 根皮苷

**2.1.2 对照品溶液的制备** 取根皮苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液, 即得。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 取样品 20 mg, 精密称定, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 80 W, 频率 50 kHz) 10 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.4 线性关系考察** 精密称取根皮苷对照品 10.5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备溶液。精密量取对照品贮备溶液 0.5, 1, 2, 5, 10 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别作为对照品溶液, 按上述色谱条件测定。以根皮苷对照品进样量 ( $\mu\text{g}$ ) 为横坐标 ( $X$ ), 峰面积积分为纵坐标 ( $Y$ ) 绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 2067966X - 22031.9037$  ( $r = 0.9999$ ), 线性范围 0.105 ~ 2.10  $\mu\text{g}$ 。

**2.1.5 精密度试验** 对同一供试品溶液, 按上述色谱条件连续测定 5 次, 记录根皮苷峰面积。结果 RSD 1.67%。

**2.1.6 稳定性试验** 对同一供试品溶液, 于 0, 1, 2, 4, 10, 12 h 依法测定, 记录根皮苷峰面积, 结果 RSD 1.73%。

**2.1.7 重复性试验** 对同一批样品 6 份, 按 2.1.3 方法及上述色谱条件测定, 计算根皮苷含量, 结果 RSD 1.96%。

**2.1.8 加样回收率测定** 精密称取根皮苷对照品 33.0 mg, 置 500 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为回收对照溶液。精密称取重复性试验项下的样品约 10 mg, 平行取 6 份, 分别精密加入上述根皮苷回收对照溶液 50 mL, 按上述拟订的方法提取、测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 98.74%, RSD 1.70%, 符合定量分析的要求。见表 1。

表 1 根皮苷加样回收率测定结果

取样量 / g	样品含量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %
0.0106	3.1736	6.4450	99.13
0.0108	3.2335	6.4560	97.65
0.0113	3.383	26.6430	98.78
0.0101	3.0239	6.3351	100.34
0.0106	3.1736	6.4897	100.49
0.0115	3.4431	6.6131	96.06

注: 对照品加入量均为 3.3000 mg。

**2.2 提取溶剂的选择** 综合考虑各方面因素, 以木姜叶柯总黄酮中的根皮苷的提取量为考察指标, 优选提取溶剂。

**2.2.1 水煎煮提取** 取木姜叶柯嫩叶粗粉 100 g, 水煎煮提取 2 次, 每次加 10 倍量水, 每次 2 h, 合并提取液, 滤过, 滤液浓缩至稠膏, 真空干燥, 称重, 测定根皮苷含量, 按下式计算根皮苷提取量。

$$\text{根皮苷提取量} = \text{干膏量} \times \text{根皮苷含量}$$

**2.2.2 乙醇回流提取** 取木姜叶柯嫩叶粗粉 100 g, 加热回流提取 2 次, 每次加 10 倍量 70% 乙醇, 每次 2 h, 合并提取液, 滤过, 滤液减压浓缩至稠膏, 真空干燥, 称重, 测定根皮苷含量, 计算根皮苷提取量。

结果水煎煮和乙醇回流提取根皮苷的提取量分别为 6.42, 7.46 g, 故选择乙醇为提取溶剂。

**2.3 提取方法的选择** 用乙醇为提取溶剂, 以根皮苷的提取量为考察指标, 比较冷浸法、渗漉法、回流法、超声法等 4 种方法, 优选出较佳提取方法。

**2.3.1 冷浸法** 取木姜叶柯嫩叶粗粉 100 g, 室温浸渍 2 次, 每次加 10 倍量 70% 乙醇, 每次 24 h, 并时时搅拌, 合并浸提液, 滤过, 滤液减压回收乙醇浓缩至稠膏, 真空干燥, 称重, 测定根皮苷的含量, 计算根皮苷提取量。

**2.3.2 渗漉法** 取木姜叶柯嫩叶粗粉 100 g, 加入适量 70% 乙醇, 浸渍 24 h 后, 以  $1 \sim 3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  的速

度渗漉(共用 20 倍量 70% 乙醇浸渍、渗漉), 收集渗漉液, 渗漉液减压回收乙醇浓缩至稠膏, 真空干燥, 称重, 测定根皮苷的含量, 计算根皮苷提取量。

**2.3.3 回流法** 取木姜叶柯嫩叶粗粉 100 g, 加热回流提取 2 次, 每次加 10 倍量 70% 乙醇, 每次 2 h, 合并提取液, 滤过, 滤液减压回收乙醇浓缩至稠膏, 真空干燥, 称重, 测定根皮苷的含量, 计算根皮苷提取量。

**2.3.4 超声处理法** 取木姜叶柯嫩叶粗粉 100 g, 超声处理(功率 80 W, 频率 50 kHz) 2 次, 每次加 10 倍量 70% 乙醇, 每次 1 h, 合并提取液, 滤过, 滤液减压回收乙醇浓缩至稠膏, 真空干燥, 称重, 测定根皮苷的含量, 计算根皮苷提取量。

结果: 以上 4 种提取方法根皮苷的提出量分别为 6.52, 7.20, 7.46, 7.57 g, 超声法 > 回流法 > 渗漉法 > 冷浸法。超声法提取效果最好, 但超声波设备目前难以工业化, 只适合实验室研究, 而不适合大批量的工业生产。回流法的提取效果在上述比较中仅次于超声法, 且所用设备也较简单, 易开展较大规模的工业生产, 故综合考虑, 选择回流提取法。

## 2.4 乙醇回流提取工艺条件的优化

**2.4.1 正交试验设计与因素水平选择** 在材料粉碎度以及所用溶剂一定条件下, 溶剂的浓度、回流时间、提取温度、提取次数以及溶媒量等因素都会对提取产生影响, 本试验选用乙醇为提取溶剂, 为了尽可能不破坏有效成分, 回流提取温度控制在 80 ~ 90 °C, 因此, 选取乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间、提取次数作为考察因素, 以根皮苷的提取量为考察指标, 按  $L_9(3^4)$  进行试验。因素水平表见表 2。

表 2 乙醇回流提取工艺因素水平

水平	A 乙醇体积分数 / %	B 乙醇用量 / 倍	C 提取时间 / h	D 提取次数 / 次
1	60	8	1	1
2	70	10	2	2
3	80	12	3	3

**2.4.2 试验方法** 称取同一批木姜叶柯嫩叶粗粉 9 份, 每份 100 g, 按正交设计  $L_9(3^4)$  进行回流提取, 提取液回收乙醇浓缩至稠膏, 真空干燥, 称重, 计算干膏得率, 测定根皮苷的含量, 计算根皮苷提取量。结果见表 3。

表 3 乙醇回流提取工艺  $L_9(3^4)$  正交试验结果

No.	A	B	C	D	根皮苷提取量 / g
1	1	1	1	1	3.56
2	1	2	2	2	5.37
3	1	3	3	3	6.49
4	2	1	2	3	7.92
5	2	2	3	1	8.05
6	2	3	1	2	6.73
7	3	1	3	2	5.86
8	3	2	1	3	7.28
9	3	3	2	1	7.31
$K_1$	15.42	17.34	17.57	18.92	
$K_2$	22.70	20.70	20.60	17.96	
$K_3$	20.45	20.53	20.40	21.69	
$R$	2.43	1.12	1.01	1.24	

经直观比较分析正交试验结果, 同时结合生产实际, 木姜叶柯总黄酮提取的最佳工艺条件为  $A_2 B_2 C_2 D_3$ , 即木姜叶柯, 加 10 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h。

**2.4.3 验证试验** 取同一批木姜叶柯嫩叶粗粉, 称取 100 g, 共 3 份, 按上述优选的最佳工艺条件进行提取后, 浓缩、干燥, 测定根皮苷的含量。结果根皮苷提取量分别为 7.69, 7.61, 7.58 g, RSD 0.74%。表明按优选得到的工艺条件进行提取, 根皮苷的含量稳定, 说明优选得到的工艺条件合理、稳定、可行。

## 3 讨论

该提取工艺简单, 耗能低, 在工艺过程中主要采用乙醇提取, 使原料中有害溶剂的残留量少, 符合国家对食品及药品的要求。

本研究对木姜叶柯总黄酮的提取工艺进行了比较系统的研究, 从提取溶剂、提取方法到提取工艺条件都进行了优选, 因此, 该提取工艺是科学、合理、可行的, 可用于工业化生产。

## [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 22 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1998, 22: 201.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草. 2 卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 431.
- [3] Joel R L, Ehrenkranz, Norman G Lewis, et al. Phlorizin: a review [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2005, 21: 31.

[责任编辑 全燕]