

微波技术提取并测定金钱草中总黄酮和多糖的含量

王自军^{1,2}, 代斌², 王富民¹ (1. 天津大学化工学院, 天津 300072; 2. 石河子大学化学化工学院, 新疆 石河子 832002)

摘要:目的 从金钱草中提取总黄酮和多糖,并测定其含量。方法 运用微波技术提取金钱草总黄酮和多糖,用比色法测定总黄酮和多糖含量。结果 测得金钱草中总黄酮含量为 1.36%,平均回收率为 100.4%,RSD为 1.56% ($n=5$);多糖含量为 8.46%,平均回收率为 101.6%,RSD为 1.23% ($n=5$)。结论 运用微波技术从金钱草中联合提取总黄酮和多糖,反应速度加快,提高了提取效率。

关键词:微波技术;金钱草;总黄酮;多糖;提取;含量测定

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2008)07-0621-02

Microwave Technique Extraction and Determination of Total Flavonoids and Polysaccharides in *Lysimachia Christinae* Hance

WANG Zi-jun^{1,2}, DAI Bin¹, WANG Fu-min² (1. School of Chemical Engineering and Technology of Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shihezi University, Shihezi 832002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To extract and determine total flavonoids and polysaccharides in *Lysimachia Christinae* Hance. **METHODS** Total flavonoids and polysaccharides in *Lysimachia Christinae* Hance were extracted by microwave technique and determined by colorimetry. **RESULTS** Total flavonoids in *Lysimachia Christinae* Hance was 1.36%, and recovery rate was 100.4%, RSD was 1.56% ($n=5$); Polysaccharides in *Lysimachia Christinae* Hance was 8.46%, and recovery rate was 101.6%, RSD was 1.23% ($n=5$). **CONCLUSION** Microwave Technique is applied to extracting total flavonoids and polysaccharides in *Lysimachia Christinae* Hance for the first time. The reaction speed is faster and the result is satisfactory.

KEY WORDS: Microwave Technique; *Lysimachia Christinae* Hance; total flavonoids; polysaccharide; extraction; determination

金钱草为报春花科珍珠菜属植物过路黄的新鲜或干燥全草^[1],又名大金钱草、对座草、路边黄、遍地黄等。主要分布于长江流域,北至陕西,南到贵州、四川、云南等省。其中以四川为主产地。金钱草含有酚性成分、黄酮类、甙类、鞣质、挥发油、氨基酸、胆碱、甾醇、氯化钾、内脂类等成分。金钱草味苦、酸,微寒。归肝、胆、肾、膀胱经。功能清热解毒,利尿排石,活血散瘀。用于肝、胆结石,胆囊炎,黄疸性肝炎,泌尿系结石,水肿,跌打损伤,毒蛇咬伤,及药物中毒;外用治化脓性炎症,烧烫伤。相传四川百草堂验方抄本中有金钱草治疗“黄沙走痕”的记载^[2],迄今至少已有二百余年的应用历史。近五十年,国内学者对金钱草的化学成分、药理作用及临床应用进行了大量研究,但对其提取方法的研究较少。

微波技术的应用,近年来得到很大发展。微波具有穿透力强、选择性高、加热效率高等特点。微波辐射(MWI)可以大幅度提高提取速度,缩短提取时间^[3]。微波技术应用于植物细胞破壁,有效地提高了收率^[4]。

本实验运用微波技术对金钱草中总黄酮和多糖进行联

合提取及含量测定^[5],为金钱草黄酮和多糖的研究和开发利用奠定基础。

1 仪器与试剂

UV-2401型分光光度计(日本岛津),MCL-3型连续微波反应器(四川大学无线电系)。芦丁对照品购自中国药品生物制品检定所,(+)葡萄糖(105℃干燥恒重),苯酚、浓硫酸均为分析纯。金钱草购自石河子中药店,粉碎后备用。

2 金钱草中总黄酮和多糖的含量测定

2.1 样品溶液制备 取金钱草约2g,精密称量,用滤纸包好,置于索氏提取器中,用石油醚(60-90℃)水浴回流脱脂2次(每次2h),弃去石油醚提取液。金钱草挥干石油醚后,置100mL烧瓶中,将此烧瓶放入MCL-3型连续微波反应器中,用80%乙醇回流提取两次,调整功率560,500,400,350W,每次反应时间20min,提尽黄酮。另用少量80%乙醇多次洗涤金钱草,并入提取液中,定量转移入100mL量瓶中,用80%乙醇定容,摇匀,即得测总黄酮之金钱草样品液。

将提尽黄酮后的金钱草置于100mL烧瓶中,放入MCL

-3型连续微波反应器中,用80%乙醇回流提取20 min,调整功率560,500,400,350 W,以除去单糖及一些甙类,弃去提取液。金钱草挥干乙醇后,再放入MCL-3型连续微波反应器中,继续以水回流提取2次(每次20 min),调整功率560,500,400,350 W,减压抽滤,合并滤液。水浴浓缩滤液后,用蒸馏水定容至250 mL,即为测多糖的金钱草样品液。

2.2 总黄酮含量的测定

2.2.1 标准曲线制备

精密称取芦丁对照品10 mg,置25 mL量瓶中,加80%乙醇溶解,定容,精密吸取0.0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,分置于10 mL量瓶中,加5%亚硝酸钠0.3 mL,放置6 min,再加10%硝酸铝0.3 mL,放置6 min,加4%氢氧化钠4 mL,加水至刻度,摇匀。进行全波长扫描,在510 nm处均有最大吸收。以510 nm处测得的吸收度A对浓度C回归,得回归方程: $A=11.225C+0.0027$, $r=0.9991$,在 $8\sim40\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的范围内,浓度与吸收度有良好的线性关系。

2.2.2 黄酮含量测定 分别将测总黄酮之各样品液定量稀释5倍后,再精密吸取各稀释液适量于10 mL量瓶中,照标准曲线制备项下方法操作,测定吸收度,由回归方程求出稀释液中总黄酮浓度,然后计算百分含量,结果见表1。

表1 金钱草中总黄酮和多糖含量

Fig 1 The content of total flavonoids and polysaccharides in *Ly-simachia Christinac Hance*

测定 次数	总黄酮			多糖		
	含量/%	$\bar{x}\pm s$	RSD/%	含量/%	$\bar{x}\pm s$	RSD/%
1	1.40			8.56		
2	1.34	1.36 ± 0.023	2.38	8.39	8.46 ± 0.091	1.07
3	1.35			8.42		

2.2.3 回收率试验 取已知总黄酮含量的供试品溶液1.0 mL于10 mL量瓶中,再加入 $0.2\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的芦丁对照品溶液0.5 mL,依法测定,结果平均回收率为100.4%, $\text{RSD}=1.56\%$ ($n=5$)。

2.2.4 稳定性试验 按样品测定方法操作,测定同一供试液在不同时间吸收度。结果表明,吸收度值在5~45 min内基本不变,因此测定应控制在40 min内完成。

2.3 多糖含量测定

2.3.1 标准曲线制备 精密量取 $100.0\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 标准葡萄糖溶液0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7 mL置于干燥试管中,分别加水使成1.0 mL,再分别加入5%苯酚溶液1.6 mL,摇匀,然后加浓硫酸7.0 mL,充分摇匀,室温放置25 min,在490 nm处测定其最大吸收度,同时做一空白。结果浓度在 $10.05\sim75.56\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈线形关系,实验数据做回归处理得回归方程: $A=0.0691C+0.003$, $r=0.9990$ 。

2.3.2 换算因素测定 金钱草粉碎后,称取100 g,置于500 mL烧瓶中,将此烧瓶放入MCL-3型连续微波反应器中,依次用250 mL石油醚(60~90℃)、乙醚和80%乙醇回流提取两次,调整功率560,500,400,350 W,反应时间20 min。减压

抽滤,残渣挥干溶剂后,再放入MCL-3型连续微波反应器中,调整功率630,600,560,450 W,继续以水回流提取两次,每次20 min。减压过滤,合并滤液。将滤液减压浓缩至一半体积,加入适量活性炭,脱色两次,过滤,滤液加5倍量95%乙醇,放置过夜,抽滤后的沉淀以100 mL水溶解重复醇沉一次。过滤,残渣用乙醚、无水乙醇反复洗涤,60℃干燥,即得金钱草多糖。精确称取60℃干燥恒重的金钱草多糖20.00 mg,水溶解后定容到100 mL量瓶中,摇匀,做为多糖储备液。精确量取多糖储备液0.2 mL,加水至1 mL,按测定标准曲线同样的方法测其吸收度。按下式计算换算因素: $f=W\cdot C^{-1}\cdot D^{-1}$ 式中: W 为多糖重量(μg), C 为多糖液中葡萄糖的浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), D 为多糖的稀释因素。测得 $f=0.914$ 。

2.3.3 多糖含量测定 精确吸取样品液1 mL,按标准曲线制备项下方法测定其吸收度值,按下式计算多糖含量,多糖含量= $C\cdot D\cdot f\cdot W^{-1}\times100$ (C 为样品溶液的葡萄糖的质量, D 为样品溶液的稀释倍数, f 为换算因素),结果见表1。

2.3.4 回收率测定 精密称取金钱草适量,加入精制金钱草多糖适量,按样品液制备和多糖含量测定方法操作,测得多糖平均回收率为101.6%, $\text{RSD}=1.23\%$ ($n=5$)。

2.3.5 稳定性试验 用硫酸-苯酚法测定同一样品液在不同时间的吸收度,吸收度值在48 h内基本不变。

3 讨论

黄酮类化合物具有降脂、抗血栓、抗氧化、降糖等多种生理活性^[6]。多糖广泛存在于自然界,是多种中草药的有效成分之一,具有多种生物活性,是理想的免疫增强剂。它能提高机体免疫系统的功能,而对正常细胞没有毒副作用,在抗肿瘤、抗病毒、抗衰老等药物研究中,多糖类药物的研制已成为当今世界新药的发展方向之一^[7]。我们运用微波技术从金钱草中提取出金钱草总黄酮和多糖,并对其含量(总黄酮为1.36%,多糖为8.46%)进行了测定,反应时间缩短,金钱草黄酮和多糖的结构组成和生理活性有待进一步研究和探讨。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典编委会. 中华人民共和国药典[M]. 广州: 广东科技出版社; 化学工业出版社, 1995, 646.
[2] 冉先德. 中华药海(上册)[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 1993, 157.
[3] 曾昭钧, 李香文. 微波有机化学进展[J]. 沈阳药科大学学报, 1999, 10: 304-309
[4] 张代佳, 刘传斌, 修志龙等. 微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用[J]. 中草药, 2000, 31(9): 附5-6.
[5] 席先蓉, 李寿星. 蒲黄及不同炮制品中总黄酮和多糖含量分析[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(1): 25-28.
[6] 韩公羽, 沈企华. 植物药有效成分的研究与开发[M]. 杭州: 杭州大学出版社, 1991: 94-102.
[7] 田庚元, 冯宇澄, 林颖. 植物多糖的研究进展[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 441.

收稿日期: 2007-02-09