

# 青叶胆总黄酮提取方法研究

张虹<sup>1</sup>, 计红旭<sup>1</sup>, 张江梅<sup>1</sup>, 王宝森<sup>1</sup>, 白红丽<sup>2</sup>, 郭俊明<sup>2</sup>

(1. 红河学院, 云南 蒙自 661100; 2. 云南民族大学, 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 云南 昆明 650500)

**摘要:**以红河州民族民间草药青叶胆为试材, 用紫外分光光度法对总黄酮含量进行分析, 以乙醇和甲醇为提取剂, 分别对青叶胆中总黄酮进行提取。结果表明:乙醇和甲醇浓度 80%, 浸提时间为 3 d 时, 总黄酮的提取效果较好, 以乙醇作为提取剂的提取效果优于甲醇, 总黄酮平均回收率为 102.2%, 相对标准偏差 RSD 为 1.85%, 结果可靠。

**关键词:**青叶胆; 总黄酮; 提取

**中图分类号:**S 567.23<sup>+</sup>9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)17-0159-02

青叶胆(*Swertia mileensis* T. N. Ho et W. L. Shi)为龙胆科獐牙菜属 1 a 生直立小草本植物, 别名肝炎草、苦胆草、走胆草等<sup>[1]</sup>, 主要分布在云南省红河哈尼族彝族自治州, 当地人用青叶胆治疗肝炎有较长的历史, 1970 年从云南红河哈尼族彝族自治州弥勒、开远等地民间发掘出来, 收载于 1985 年版《中华人民共和国药典》<sup>[2-4]</sup>。

青叶胆中含有黄酮、三萜、环烯醚萜苷类、内酯和齐墩果酸等化合物, 青叶胆味苦、甘、寒。具有清肝利胆、清热利湿的功效, 主治黄疸、尿赤、热淋涩痛<sup>[5-6]</sup>。黄酮类化合物具有多种生物活性和药理作用, 不仅对心血管系统有作用, 且具有抗炎、抗菌及抗病毒等作用<sup>[7-8]</sup>。

该试验采用冷浸法提取青叶胆中的总黄酮, 用不同浓度的乙醇和甲醇为提取剂, 分别提取不同时间后进行比较, 以得到总黄酮提取率最高的提取条件, 皆在为青叶胆的研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

新鲜青叶胆购于红河州蒙自草药市场。试验仪器:紫外分光光度计(UV-4802S 型紫外-可见分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司)。试剂:芦丁标准品, 乙醇、甲醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠等试剂均为分析纯。

### 1.2 试验方法

将新鲜青叶胆洗净、剪成小段, 置于电热恒温鼓风干燥箱中 60℃ 干燥 6 h, 高速粉碎机粉碎, 备用。

**第一作者简介:**张虹(1962-), 女, 本科, 教授, 现主要从事生物技术等研究工作。

**责任作者:**郭俊明(1962-), 男, 硕士, 教授, 现主要从事无机非金属材料及生物化学等研究工作。

**基金项目:**云南民族大学国家民族事务委员会教育部共建民族药资源化学重点实验室开放基金资助项目(MZY1105)。

**收稿日期:**2012-05-21

1.2.1 波长的选择 选取标准溶液和样品提取溶液进行波长扫描, 标准溶液和样品提取溶液在 510 nm 有最大吸收峰, 故选择 510 nm 作为测定波长。

1.2.2 标准工作曲线制备 准确称取于 120℃ 恒温干燥至恒重的芦丁标准品 25.0 mg 置于 100 mL 容量瓶中, 加入适量 60℃ 的 50% 乙醇或 50% 甲醇使其溶解。加 50% 乙醇或 50% 甲醇定容至刻度, 摇匀。此时标准品溶液浓度为 0.25 mg/mL。分别吸取标准品溶液 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中; 每个容量瓶中加入约 5 mL 50% 乙醇或甲醇, 摇匀; 分别加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min; 再加 10% 硝酸铝溶液 1 mL, 摇匀, 放置 6 min; 加 4% NaOH 溶液 10 mL, 加 50% 乙醇或甲醇定容至刻度, 摇匀, 放置 15 min。同时以试剂空白作参比。在 510 nm 波长处测定溶液的吸光度。以吸光度 A 为纵坐标, 浓度 C(μg/mL) 为横坐标, 绘制标准曲线, 分别得到乙醇和甲醇的线性回归方程:  $A = 0.009C - 0.0011$ ,  $R^2 = 0.9996$ ;  $A = 0.0091C - 0.0039$ ,  $R^2 = 0.9996$ 。

1.2.3 样品提取液的制备 准确称取 2 g 青叶胆干粉置于 100 mL 带塞三角瓶中, 分别加入浓度为 30%、50%、70%、80%、90% 的甲醇或乙醇 50 mL, 分别浸提 1、2、3、4 d 后过滤, 滤液用相应浓度的乙醇或甲醇溶液定容至 100 mL, 此液作为青叶胆样品的总黄酮提取液。

1.2.4 青叶胆总黄酮含量的测定 准确吸取样品提取液 1.0 mL, 置于 25.0 mL 容量瓶中, 按 1.2.2 方法操作, 在 510 nm 下平行测定 3 次, 同时以样品空白作参比。根据回归方程, 计算总黄酮的浓度。总黄酮得率% = [提取液浓度 × 稀释倍数 × 体积 / 样品干重 × 1 000] × 100%。

## 2 结果与分析

2.1 提取溶剂浓度和浸泡时间对青叶胆总黄酮得率的影响

由表 1、2 可知, 在相同浸提时间内, 乙醇浓度和甲

醇浓度为 30%~80%时,均表现出随浓度的增加总黄酮得率也随之增加,在以乙醇浓度和甲醇浓度为 90%时总黄酮得率均略有减少,乙醇浓度 80%和甲醇浓度 80%时总黄酮得率为最高,其次是乙醇浓度和甲醇浓度为 90%的,乙醇浓度和甲醇浓度为 30%得率为最低。

在相同浓度下,浸提时间不同,总黄酮得率不同。在以乙醇和甲醇为提取剂时,所有浓度均表现出浸提时间为 3 d 时的总黄酮得率最高,浸提 1 d 的总黄酮得率最低。以乙醇和甲醇为青叶胆总黄酮提取剂时,在相同浓度下,乙醇的提取效果比甲醇好,在相同浓度,相同提取时间,乙醇和甲醇的总黄酮得率最低相差 1.14%,最高相差 1.59%。

表 1 乙醇提取青叶胆总黄酮得率的测定结果 %

浸泡时间/d	乙醇浓度/%				
	30	50	70	80	90
1	3.06	3.40	4.00	4.63	4.54
2	3.20	3.51	4.22	5.13	4.88
3	3.27	3.59	4.32	5.14	5.02
4	3.19	3.41	4.31	4.98	4.99

表 2 甲醇提取青叶胆总黄酮得率的测定结果 %

浸泡时间/d	甲醇浓度/%				
	30	50	70	80	90
1	1.55	1.85	2.41	3.05	2.97
2	1.73	1.97	2.77	3.89	3.66
3	1.85	2.14	3.18	3.92	3.70
4	1.80	2.03	3.12	3.73	3.55

## 2.2 稳定性试验

准确量取 1.0 mL 70%乙醇的提取液,按 1.2.2 方法操作,放置 0、1、2、3、4、5 h,每隔 20 min 测定 1 次吸光度,结果表明,2 h 内稳定性良好,RSD 为 1.02%。

## 2.3 加标回收率试验

取已知样品总黄酮含量的提取液 1.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中,加入芦丁标准溶液 2.0 mL,余下部分按 1.2.2 方法操作,平行测定 5 次,计算加标回收率,其平均回收

率为 102.2%,相对标准偏差 RSD 为 1.85%,表明测定结果准确可靠,测定精密度符合要求。

## 3 结论与讨论

该试验结果表明,乙醇浓度 80%和甲醇浓度 80%时,浸提时间为 3 d 时的总黄酮得率最高为 5.15%和 3.92%,乙醇浓度和甲醇浓度均为 30%时,浸提 1 d 的总黄酮得率最低为 3.06%和 1.55%。在相同浓度下,浸提时间不同,总黄酮得率不同。在乙醇和甲醇为提取剂时,所有浓度均表现出浸提 1 d 的总黄酮得率为最低。以乙醇和甲醇为提取剂中,以乙醇的提取效果最好。该试验与钟方丽等<sup>[9]</sup>的把青叶胆加水煎煮,制成浸膏,再测定总黄酮含量的研究方法比较,其总黄酮得率要低于他们的研究结果,可能是不同的提取剂和提取方法对青叶胆总黄酮提取率有差异导致的。

## 参考文献

- [1] 云南省药物研究所. 云南重要天然药物[M]. 昆明:云南科技出版社, 2006:235.
- [2] 宋万志. 龙胆科的资源植物“青叶胆”和“藏茵陈”[J]. 中药材, 1991, 14(7):15-17.
- [3] 杨永红, 杨林福, 范建, 等. 青叶胆可持续利用策略研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2003, 61(2):48-50, 65.
- [4] 任丽华, 谢华通. 龙胆科植物獐牙菜属药用植物的研究及应用概况[J]. 中医儿科杂志, 2007, 3(1):50-52.
- [5] 郭爱华, 李军, 付宏征, 等. 青叶胆酮类化合物的成分研究[J]. 中草药, 2003, 34(2):107-109.
- [6] 李旭山, 江志勇, 王福生, 等. 青叶胆化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(23):2790-2792.
- [7] 裴凌鹏, 惠伯棣, 金宗彦. 黄酮类化合物的生理活性及其制备技术研究进展[J]. 食品科学, 2004, 25(2):203-207.
- [8] 刘玉芬, 夏海涛, 杨树平. 紫外分光光度法测定剑麻花中总黄酮的含量[J]. 食品科学, 2005, 26(9):418-419.
- [9] 钟方丽, 王慧竹, 祝波. 青叶胆中总黄酮的提取工艺研究[J]. 吉林化工学院学报, 2010, 27(3):11-13.

## Study on the Extraction Method of Total Flavonoids in *Swertia mileensis*

ZHANG Hong<sup>1</sup>, JI hong-xu<sup>1</sup>, ZHANG Jiang-mei<sup>1</sup>, WANG Bao-sen<sup>1</sup>, BAI Hong-li<sup>2</sup>, GUO Jun-ming<sup>2</sup>

(1. Honghe University, Mengzi, Yunnan 661100; 2. Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Chemistry, State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Yunnan University of Nationalities, Kunming, Yunnan 650500)

**Abstract:** *Swertia mileensis* herbal medicine of National Folk in Honghe local were used as materials. The total flavonoids in *Swertia mileensis* were determined by ultraviolet spectrophotometry. The results showed that while alcohol 80% and 80% methanol as extractant, the extracting time was 3 d, the extraction of total flavonoids had good effect. Alcohol had better effect than methanol. The average recovery of this method was 102.2%, the relative standard deviation (RSD) of the method was 1.85%. Its results were reliable.

**Key words:** *Swertia mileensis*; total flavonoids; extraction