

表 2 分心木中鞣酸测定结果 ($n=5$)Table 2 Determination of tannin in *Herb Seminis Juglantis Septum* ($n=5$)

批号	鞣质/%	RSD/%
031216	3.38	2.09
040209	3.46	4.53
040520	2.88	3.66

3.1 建立了千酪素法测定分心木中鞣质的方法,该方法能够有效检测出鞣质,可考虑以此作为药材质量标准。

3.2 近年来的文献研究表明了鞣质类化合物具有抗菌、抗 HIV-1 整合酶活性等多方面的生理活性^[3]。分

心木作为传统中药及维吾尔族民族用药,在临床中有较广泛的应用,但是对其化学成分及药理药效的研究一直未见报道,笔者将对此进行深入研究。

References:

- [1] Lei Q Y, Zhao Y P, Luo H H, et al. Detect tannin by TLC [J]. *China J Chin Mate Med* (中国中药杂志), 1997, 22 (5): 287-289.
- [2] Cheng L F, Tian Y. Test tannin contents of oriental arborvitae leafy twigs by casein method [J]. *Shizhen J Tradit Chin Med Res* (时珍国药研究), 1995, 6 (3): 13-14.
- [3] Zhang C F, Sun Q S, Wang Z T, et al. Inhibitory activities of tannins extracted from stem of *Lindera aggregate* against HIV-1 integrase [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2003, 38 (12): 911-914.

洋葱中总黄酮乙醇提取工艺的研究

王卓慧¹, 张沐新², 杨晓虹², 周小平²

(1. 吉林省食品药品监督管理局市场监督处, 吉林 长春 130051; 2. 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021)

洋葱, 别名玉葱(《植物学大词典》), 为百合科葱属植物的鳞茎。洋葱按鳞茎形态可分为洋葱 *Allium cepa* L.、分蘖洋葱 *A. cepa* var. *agrogatum* Don、顶球洋葱 *A. cepa* var. *viviparum* Merg. 通常所说的洋葱是指普通洋葱, 为多年生草本, 具强烈香气, 鳞茎较大, 呈球形或扁球形, 外包赤红色皮膜。洋葱含有多种有效成分, 以黄酮类化合物为主。洋葱总黄酮可减轻冠心病症状^[1,2], 诱导肿瘤细胞的凋亡, 具有抗癌活性^[3~6], 其在抗癌及防治心血管系统疾病方面极具开发价值。因此本实验对洋葱总黄酮提取工艺进行了研究。

1 材料、仪器和试剂

洋葱购于吉林省长春市, 产于辽宁省开原市, 经吉林大学药学院生药学教研室王广树教授鉴定。槲皮素对照品由吉林大学药物化学教研室提供, 质量分数为 99.8%。

756PC 紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司), RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), AR1140 电子天平(奥豪斯国际贸易上海有限公司), KQ3200DE 型医用数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), HH-2 数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司)。所用试剂均为 AR 级。

2 方法与结果

2.1 标准曲线的制定: 精密称取干燥至恒重的槲皮素对照品适量, 用无水乙醇配制成 54 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液。精密吸取该溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 置 25 mL 量瓶中, 精密加 5% 三氯化铝液 8.0 mL, 加无水乙醇稀释至刻度。同法另以空白作对照, 放置 10 min, 在 431 nm 处测定吸光度值。以质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 经线性回归得回归方程 $Y = -0.0261 + 0.08283X$, $r = 0.9998$ 。可见槲皮素质量浓度在 1.08~12.96 $\mu\text{g/mL}$ 与吸光度值的线性关系良好。

2.2 提取物中总黄酮的测定: 精密吸取浸膏溶液 5 mL 于 50 mL 烧瓶中, 加 7.5% 硫酸 10 mL, 水浴加热回流 40 min, 取出冷却后滤过。滤渣及滤纸水洗至中性, 剪碎后加入 50 mL 圆底烧瓶中加无水乙醇回流 2 次, 各加无水乙醇 25、15 mL, 分别回流 30、15 min。取出滤液, 定容在 50 mL 量瓶中。精密量取 8 mL 溶液 2 份, 分置 2 mL 量瓶中, 1 份加无水乙醇至刻度作对照, 另 1 份精密加入 5% 三氯化铝乙醇溶液 8 mL, 再加无水乙醇至刻度。在 431 nm 处测定吸光度值, 根据标准曲线计算总黄酮。

2.3 提取工艺的单因素考察

2.3.1 乙醇体积分数对提取效果的影响: 分别以 3 倍量 30%、40%、50%、60%、70%、80% 乙醇对 50 g

收稿日期: 2005-11-11

作者简介: 王卓慧(1970—), 女, 吉林省长春市人, 在读硕士从事天然药物的科研工作。Tel: (0431) 2725568 Fax: (0431) 8904887

E-mail: wangzhuohui@jldu.gov.cn

洋葱进行2 d 3次浸泡,结果所得总黄酮的质量为0.618 0、0.812 2、0.955 0、0.826 8、0.906 7、0.724 3 g,表明洋葱在50%乙醇中提取效果较好。

2.3.2 不同提取次数对提取效果的影响:以3倍量50%乙醇浸泡50 g洋葱2 d,分别浸泡1、2、3、4次。结果所得总黄酮的质量为7.058 9、15.013 2、21.810 3、22.440 6 mg,表明洋葱在提取3~4次时效果较好。

2.3.3 不同时间对提取效果的影响:以3倍量50%乙醇对50 g洋葱浸泡3次,结果提取0.5、1、2、3、4 d所得总黄酮的质量为14.344 4、25.376 2、25.828 5、28.680 7、28.843 7 mg,表明物料浸泡时间过短,黄酮类化合物溶出不完全,物料浸泡3~4 d效果较好。

2.3.4 不同溶媒用量对提取效果的影响:分别以3、6、9、12倍的50%乙醇对洋葱进行3 d 3次浸泡,所得总黄酮的质量为27.200 7、33.759 3、33.894 5、34.165 0 mg,表明洋葱在6倍量溶媒浸泡时提取效果较好。

2.4 正交试验优化:在单因素试验的基础上选取乙醇体积分数、提取时间、提取次数、溶媒用量4个对提取效果有影响的主要因素(表1),选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表(表2)设计试验,并对结果进行直观分析、方差分析(表3)。

表1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素			
	A 提取时间/d	B 乙醇体积分数/%	C 溶媒用量/倍	D 提取次数/次
1	2	50	6	2
2	3	60	9	3
3	4	70	12	4

2.5 验证试验:最佳的工艺条件为:6倍量的50%乙醇提取3次,每次3 d。在此工艺条件下提取黄酮类化合物的质量分数为0.042 8 mg/g。

3 讨论

为了充分利用葱属植物,开发和利用洋葱总黄酮类化合物,本实验通过正交试验优化了乙醇提取洋葱总黄酮类化合物的工艺条件。试验结果及直观分析、方差分析表明:乙醇冷浸法从洋葱中提取总黄

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验乙醇提取的设计及结果Table 2 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	A	B	C	D	总黄酮/g
1	1	1	1	1	0.031 4
2	1	2	2	2	0.026 9
3	1	3	3	3	0.034 7
4	2	1	2	3	0.037 5
5	2	2	3	1	0.024 3
6	2	3	1	2	0.038 1
7	3	1	3	2	0.028 1
8	3	2	1	3	0.035 1
9	3	3	2	1	0.026 3
K_1	0.093 0	0.097 0	0.104 6	0.082 0	
K_2	0.099 9	0.086 3	0.090 7	0.093 1	
K_3	0.089 5	0.099 1	0.087 1	0.107 3	
R	0.003 5	0.004 3	0.005 8	0.008 4	

表3 正交试验结果的方差分析

Table 3 Variance analysis of orthogonal test

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F值	显著性
A(误差)	0.018 6	2	0.009 3		
B	0.031 4	2	0.015 7	1.26	
C	2.880 4	2	1.440 2	115.22	$P<0.01$
D	0.107 2	2	0.053 6	4.33	

$$F_{0.01}(4,2)=18.00 \quad F_{0.05}(4,2)=6.94$$

酮类的最佳条件为6倍量的50%乙醇提取3次,每次3 d。影响因素的大小依次为:溶媒用量、提取次数、乙醇体积分数、提取时间。本研究为进一步开发利用洋葱黄酮类化合物奠定了坚实基础。

References:

- [1] Hertog M L G, Feskens E J M, Hollman P C H, et al. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study [J]. *Lancet*, 1993, 342: 1007-1011.
- [2] Hertog M L G, Kromhout D, Aravanis C, et al. Flavonoids intake and the long term risk of coronary heart-disease and cancer in the seven countries study [J]. *Archs Intern Med*, 1995, 155: 381-386.
- [3] Verma A K, Johnson J A, Gould M N, et al. Inhibition of 7, 12-dimethylbenzanthracene and N-nitro-methylurea induced rat mammary cancer by dietary flavonol quercetin [J]. *Cancer Res*, 1988, 48: 5773-5774.
- [4] Wattenburg L. Inhibition of carcinogenesis by minor anutrient constituents of the diet [J]. *Proc Nutr Soc*, 1990, 49: 173.
- [5] Wattenburg L W. Chemoprevention of cancer [J]. *Cancer Res*, 1985, 45: 1-5.
- [6] Wer H, Tye L, Bresnick E, et al. Inhibitory effect of apigenin, a plant flavonoid, on epidermal ornithine decarboxylase and skin tumour promotion in mice [J]. *Cancer Res*, 1990, 50: 499-503.