

## 目錄

圖目錄	2
表目錄	4
摘要	5
誌謝	6
壹、前言	7
貳、實驗步驟	
一、儀器	15
二、藥品	15
三、步驟	15
(一) 萃取芸香苷	16
1. 水萃取法	16
2. 鹼萃取沈澱法	19
(二) 芸香苷水解製槲皮素	23
(三) TLC 鑑定	25
(四) 分光光度計鑑定	25
參、結果與討論	26
肆、結論	31
參考文獻	32

## 圖目錄

圖 1 蕎麥中芸香苷的化學結構及其經酵素分解成槲皮素	10
圖 2 黃酮構造式	11
圖 3 芸香苷	11
圖 4 葡萄糖構造式	11
圖 5 鼠李糖構造式	11
圖 6 槲皮素構造式	11
圖 7 5-乙醯化槲皮素構造式	12
圖 8 芸香苷水解反應式	12
圖 9 槲皮素乙醯化反應式	12
圖 10 分光光度計	15
圖 11 回流裝置	15
圖 12 槐花米	16
圖 13 由水萃法得粗製芸香苷	16
圖 14 由水萃法得精製芸香苷	18
圖 15 由鹼萃法得粗製芸香苷	20
圖 16 由鹼萃法得精製芸香苷	21
圖 17 精製槲皮素	23
圖 18 不同時間芸香苷—產率直線圖	26
圖 19 芸香苷—吸收度曲線圖	27
圖 20 槲皮素—吸收度曲線圖	28
圖 21 標準品 TLC 片	29
圖 22 芸香苷鹼萃法	29
圖 23 芸香苷水萃法	29
圖 24 槲皮素鹼萃法	30

圖 25 檫皮素水萃法.....30

## 表目錄

表 1 水萃取法—不同時間之比較.....	26
表 2 鹼萃取法—不同時間之比較.....	26
表 3 芸香苷—以不同濃度算出吸收度的大小.....	27
表 4 槲皮素—以不同濃度算出吸收度的大小.....	28

## 摘要

芸香苷為生物類黃酮之一，在臨床上使用它治療各種出血性疾病，廣泛存在植物界中。本實驗以槐花米做芸香苷萃取之研究，採用水萃取法以及鹼萃取法，經實驗發現以鹼萃取法的產量多於水萃取法且純度高，以及時間的掌握在 40 分鐘最適當，以及萃取量最高。

關鍵字：芸香苷、生物類黃酮、槐花米、水萃取法、鹼萃取法

## 誌謝

本研究要感謝薛公邑老師的教誨與細心指導，尤其在暑假期間亦陪我們做實驗，使我們可以順利完成研究。

還有要感謝夥伴們的互助合作以及團隊間的默契十足，合作無間，終於完成了這一本論文，俗話說：「三個臭皮匠勝過一個諸葛亮」，這句話真的說的一點也沒錯，實驗過程中難免有疑問或遇到失敗與難題，大家會互相討論、一起研究解決的方法，一次又一次的去試，直到成功為止。

## 壹、前言

現今人類由於生活富裕三餐大魚大肉，以及不當飲食至於導致肥胖、血壓過高以及心血管疾病等問題越來越嚴重。

芸香苷屬多酚類物質，其作用是擴張毛血管，具有降低血管的異常通透性和脆性的作用，可以保持及恢復毛細血管的彈性。主要用於防治高血壓、腦溢血的治療，糖尿病及視網膜出血和出血性紫癜等…也可以用於食品抗氧化劑和色素等。<sup>(1)</sup>

槐花米是具有涼血藥作用，因此臨床上使用它治療各種出血性疾病，特別是痔瘡出血。許多的研究已指出槐花含有芸香9(querletin)，芸香苷是血管補強劑，能保持毛細血管正常的抵抗力，減少血管透過性，可使因脆性增加而出血的毛細血管恢復正常的彈性，用於高血壓、腦溢血、血壓異常亢進及出血症的治療及預防。<sup>(2)</sup>

在 Earl Mindell 博士(美國政府特許草藥師)著抗老化聖典有這麼一段描述：「有些生物類黃酮是強力抗氧化劑...生物類黃酮與維他命 C 合併使用，也能維護結締組織的健康。它們會改善小血管的強韌度。生物類黃酮——芸香苷，一直都被用來治療牙齦出血，頗具成效。自然療理師慣常以生物類黃酮來治療過敏症及喘。」又說：「最

近的研究指出，某些生物類黃酮可以抑制致癌物發生作用。」。其實黃豆也富含黃酮物質。<sup>[3]</sup>

昔偉松授教著台灣藥用植物誌主要陳述為：「芸香苷能減低毛細血管脆弱性及高血壓，故可防止中風；亦治糖尿病視網膜炎、肺出血、毛細管脆弱而引起之出血、由一切化學原質之有效放射性能而引起的血管硬化，破裂而出血者有效。」<sup>[4]</sup>

芸香苷和槲皮素（quercetin），銀杏葉的萃取物被認為有抗氧化傷害和抗血小板凝集的作用，已被廣泛的用來治療痴呆症或腦血管意外（cerebrovascular accident）。

銀杏葉的主要成分黃酮苷類（flavone glycosides）的物質有芸香苷（quercetin），有研究發現銀杏葉的萃取物具有抗氧化傷害和抗血小板凝集的作用，對心臟和神經細胞具有保護作用，已被廣泛使用於腦痴呆和腦中風的預防和治療。<sup>[4]</sup>

中醫典籍和一些研究認為槐花米有涼血作用，能被用來治療痔瘡出血，最近研究發現槐花和銀杏葉一樣含有芸香苷（quercetin）成分，槐花是傳統中藥的一種，它被認為有涼血藥作用，因此臨床上使用它治療各種出血性疾病，特別是痔瘡出血。許多的研究已知槐花米含有芸香苷（quercetin）。一些研究報告指出芸香苷具有降低膽固醇

和抗發炎、腫脹的作用，而芸香苷有抗氧化自由基和抗血小板凝集的作用。另外，有研究認為芸香苷能用來治療腦功能不全的症狀如注意力不易集中、記憶力不佳、憂慮，情緒低落和活動力減退。<sup>[5]</sup>

蕎麥已知含有多種藥用、保健的重要成分，例如維他命B1、B2、維他命E、膽鹼素、泛酸及菸鹼酸；另含有令人注目的水楊酸(salicylic acid)、N-水楊酸又替水楊酸胺(N-salicylidene-salicylamine)、4-羥基苯甲胺(4-hydroxybenzylamine)、芸香苷(quercetin)等皆是蕎麥未來以健康食品為號召，成為具競爭能力作物的條件。

芸香苷(quercetin)，它屬於植物體中二次代謝產物類黃素(flavonoids)之一種。芸香苷在醫學上已被確定對視網膜出血(retinal hemorrhage)、毛細管性中風(capillary apoplexy)及冠狀動脈阻塞(coronary occlusion)等疾病有顯著的療效。同時發現外殼中亦含有芸香苷與其他類黃素(flavonoids)衍生之抗氧化物質如兒茶酸(catechin)。

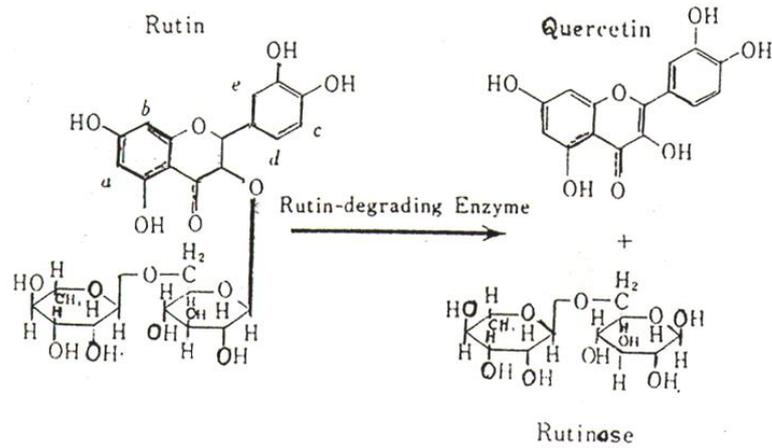


圖1 蕎麥中芸香苷的化學結構及其經酵素分解成槲皮素

芸香苷，發現它對脆弱性微血管導致之高血壓具有療效。芸香苷可抑制hyaluronidase(一種可增加組織滲透性的酵素)酵素活性，尤其與抗壞血酸之Vitamine C結合時，作用更大。目前市售用以治療高血壓，增強血管彈性的芸香苷藥劑(rutin)，有效成分即包括(維他命)Vitamine C。在中國，數世紀前就曾經使用槐樹的花芽在許多與現在醫學應用芸香苷相同之目的上。

如今，醫學上已確定芸香苷對視網膜出血(retinal hemorrhage)、毛細管性中風(capillary apoplexy)、冠狀動脈阻塞(coronary occlusion)等疾病有顯著的療效。<sup>(6)</sup>

芸香苷(quercetin)是一種廣泛存在於植物中的黃酮苷類，存在於芸香苷、煙草、橙皮、番茄等…而以槐花米內含量最為豐富，本實驗採取從槐花米中萃取芸香苷，再進行水解與乙醯化反應。<sup>(7)</sup>

芸香苷是生物類黃酮，生物黃酮、芸香苷、槲皮素及5-乙醯化

槲皮素構造式如下：

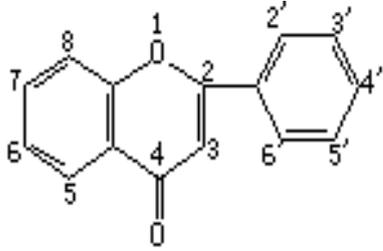


圖 2 黃酮構造式

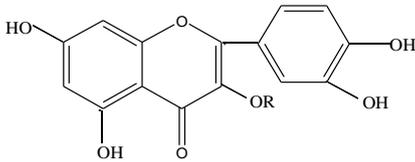


圖 3 芸香苷構造式 (R=葡萄糖-鼠李糖)

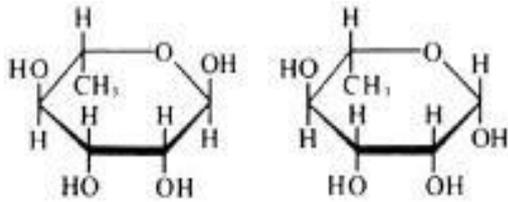


圖 4 葡萄糖構造式

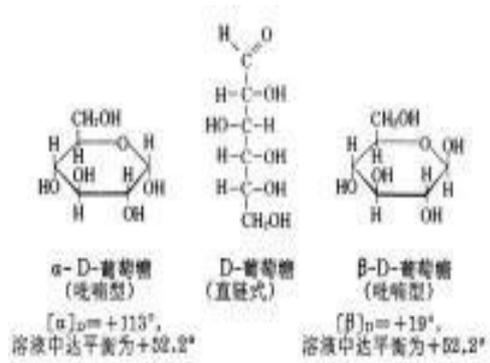


圖 5 鼠李糖構造式

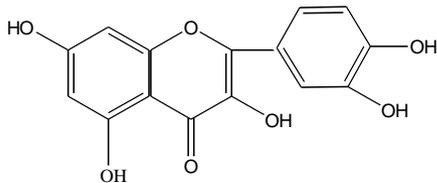


圖 6 槲皮素構造式

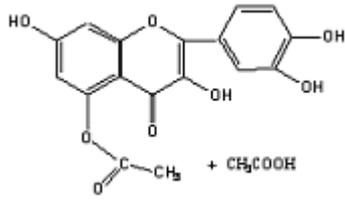


圖 7 5-乙醯化槲皮素構造式

芸香苷水解反應式如下：

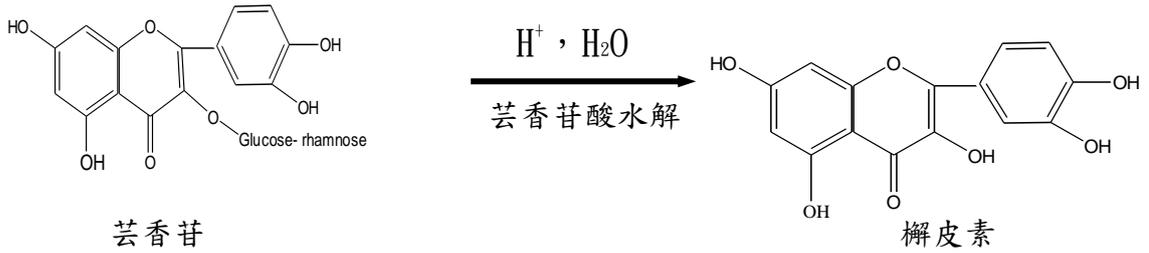


圖 8 芸香苷水解反應式

槲皮素乙醯化反應如下：

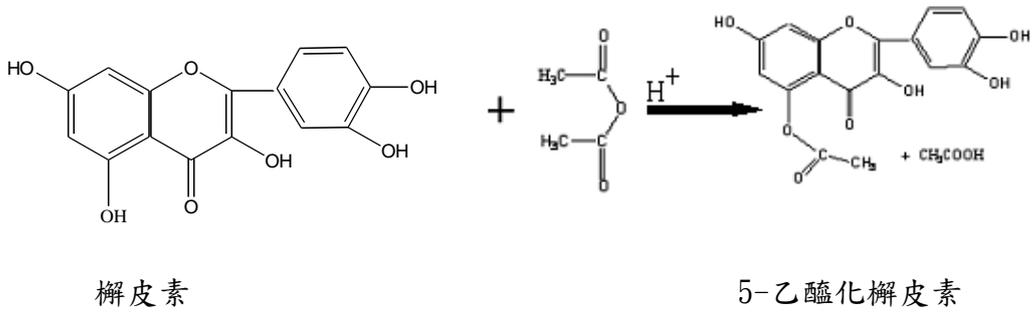


圖 9 槲皮素乙醯化反應式

### 芸香苷的特性

芸香苷(Rutinoside):針狀結晶,mp174~178°C,無水物為188~190°C。溶解度:冷水中1:8000,熱水中1:200,冷乙醇中1:300,熱乙醇中1:30,冷吡啶中1:12,微溶於丙酮、乙酸乙酯,不溶於苯、氯仿、石油醚等溶劑。易溶於鹼液,呈黃色,酸化後又析出,可溶於硫酸和鹽酸,呈棕黃色,加水稀釋又析出。UV  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  nm:259,299sh,359。<sup>[5]</sup>

### 槲皮素的特性

槲皮素(Quercetin): $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,黃色結晶,mp313~314°C,無水物為316°C。溶解度:冷乙醇中1:290,沸乙醇中1:23,可溶於甲醇,乙酸乙酯、吡啶、丙酮等溶劑,不溶於水、乙醚、苯、氯仿、石油醚。UV  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  nm:255,269sh,301sh,370。<sup>[8]</sup>

本實驗是要從槐花米中利用水萃取法及鹼萃取法,並控制時間以及找出最高產率之方法,實驗萃取方法如下:

#### (一) 水萃取法

原理:利用水加熱法,把物質溶於水中達到萃取效果。

芸香苷的溶解度為:冷水中1:8000、熱水中1:200。

[8]

## (二) 鹼萃取法

原理：芸香苷分子中具有酚羥基，顯弱酸性，在鹼水中成鹽增大溶解能力，用鹼水為溶劑煮沸提取，提取液加酸，酸化後又成為游離的芸香苷而析出。

## 貳、實驗步驟

### 一、儀器

漏斗，燒杯，滴管，錐形瓶，量筒，抽濾瓶，藥鉢，  
布氏漏斗，精密天平，廣用試紙，抽濾裝置，烘箱，  
TLC 片，封膜，紗布。



圖 10 分光光度計



圖 11 回流裝置

廠牌：ThermoSpectronic

型號：GENESYS 20

### 二、藥品

甲醇，乙醇，硫酸，乙酸乙酯，醋酸酐，石灰乳，  
冰醋酸，鹽酸，濃硫酸，冰，槐花米。

### 三、步驟

#### (一) 萃取芸香苷

##### 1. 水萃取步驟

##### (1) 芸香苷粗製

稱取槐花米約 20 克（把每顆種子搗碎），加入 300ml 的沸水中，煮 20min（或 30min；40min）後，用雙層紗布趁熱過濾，過濾完後，再將殘渣以同樣步驟操作一次，將兩次取得的濾液合併在一起，等待冷卻後，放入冰浴中等待結晶析出，全部析出後，進行抽濾，用少量蒸餾水將芸香苷結晶洗滌，抽乾後，放入烘箱中乾燥，乾燥後，取得粗製芸香苷（顏色為淡黃色），稱重、記錄。



圖 12 槐花米

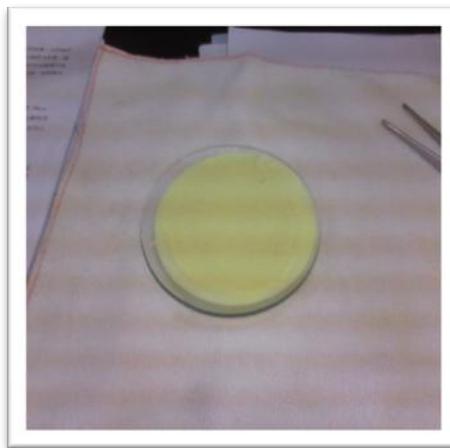
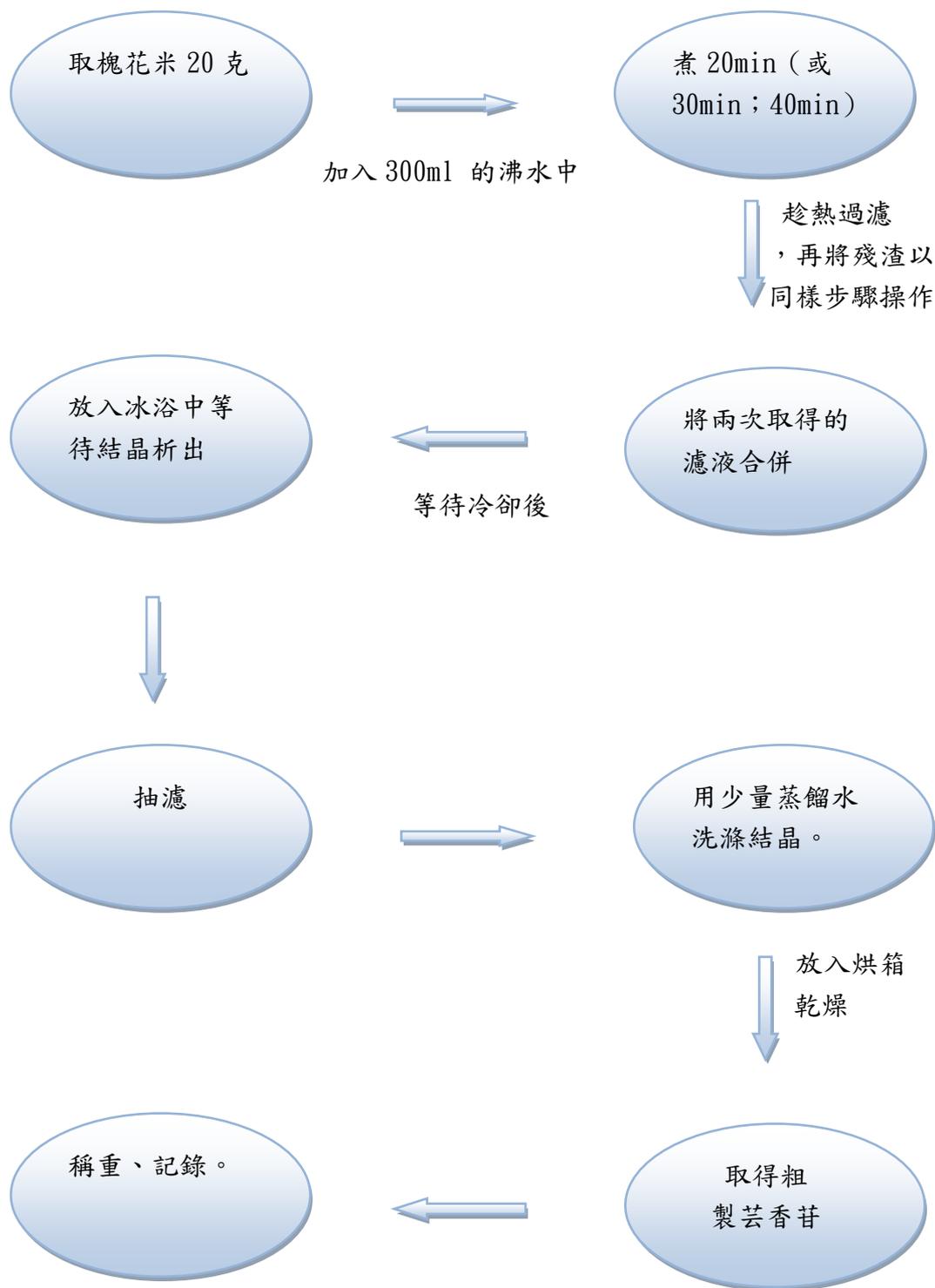


圖 13 由水萃法得粗製芸香苷

## 水萃取—芸香苷粗製流程圖



## (2) 芸香苷精製

稱取粗製芸香苷約 2 克，加蒸餾水 400ml，煮沸至芸香苷溶解，趁熱抽濾，放入冰浴冷卻，冷卻後，就有結晶析出，抽濾，抽乾後，即可取得精製芸香苷（顏色為淺黃色）。

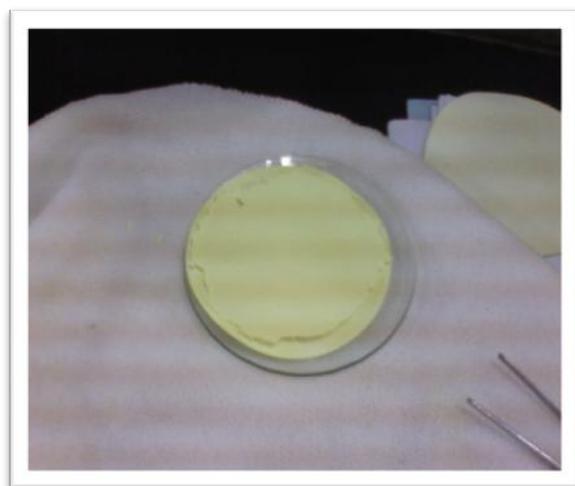
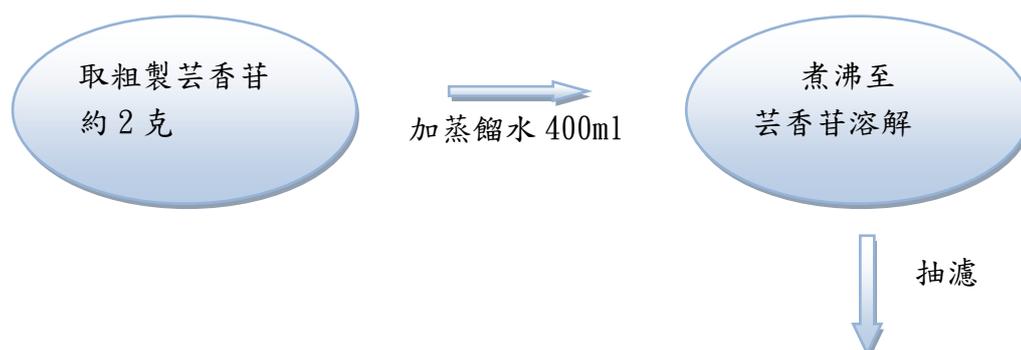
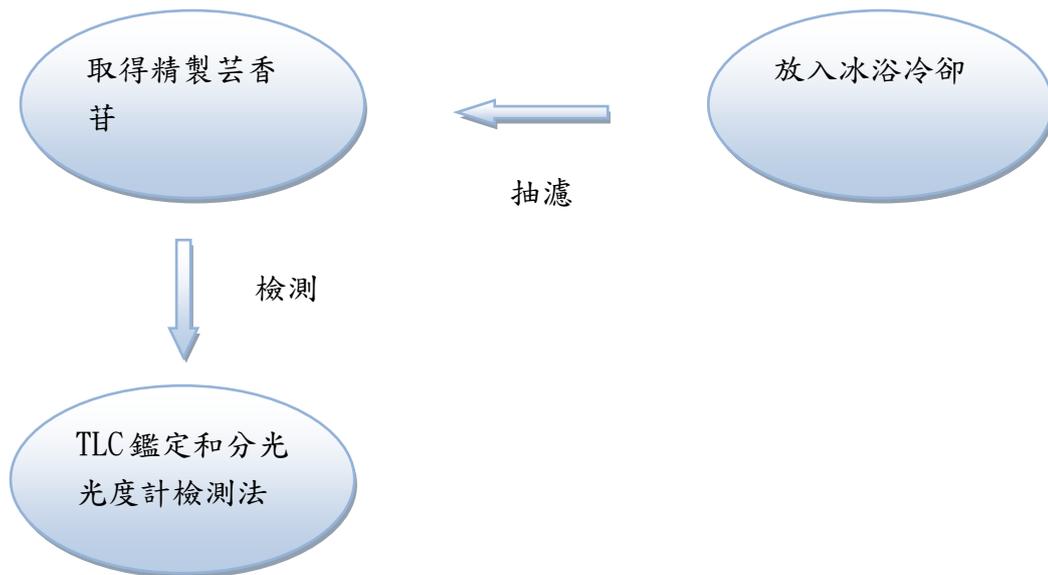


圖 14 由水萃法得精製芸香苷

### 水萃取－芸香苷精製流程圖





## 2. 鹼萃取酸沉澱步驟

### (1) 芸香苷粗製

於 1000ml 燒杯中加入 500ml 蒸餾水，煮沸，稱取 20g 槐花米（把每顆種子搗碎），加入沸水中，加熱煮沸約 5min，在攪拌下小心加入石灰乳調至 pH 8-9，加熱微沸 30min 後，注意添加水，保持原體積並維持 pH8-9，趁熱過濾，濾渣再加入 200ml 水，加石灰乳調 pH8 -9，煮 10min，趁熱過濾，合併兩次濾液，稍冷（60 ~70°C），用濃 HCl 調至 pH4-5，放置後析出沉澱，抽濾，用水洗 3 ~ 4 次，乾燥得淡黃色粗製芸香苷。

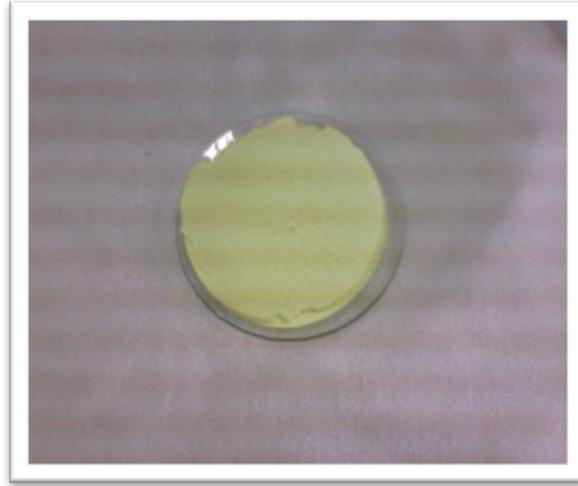
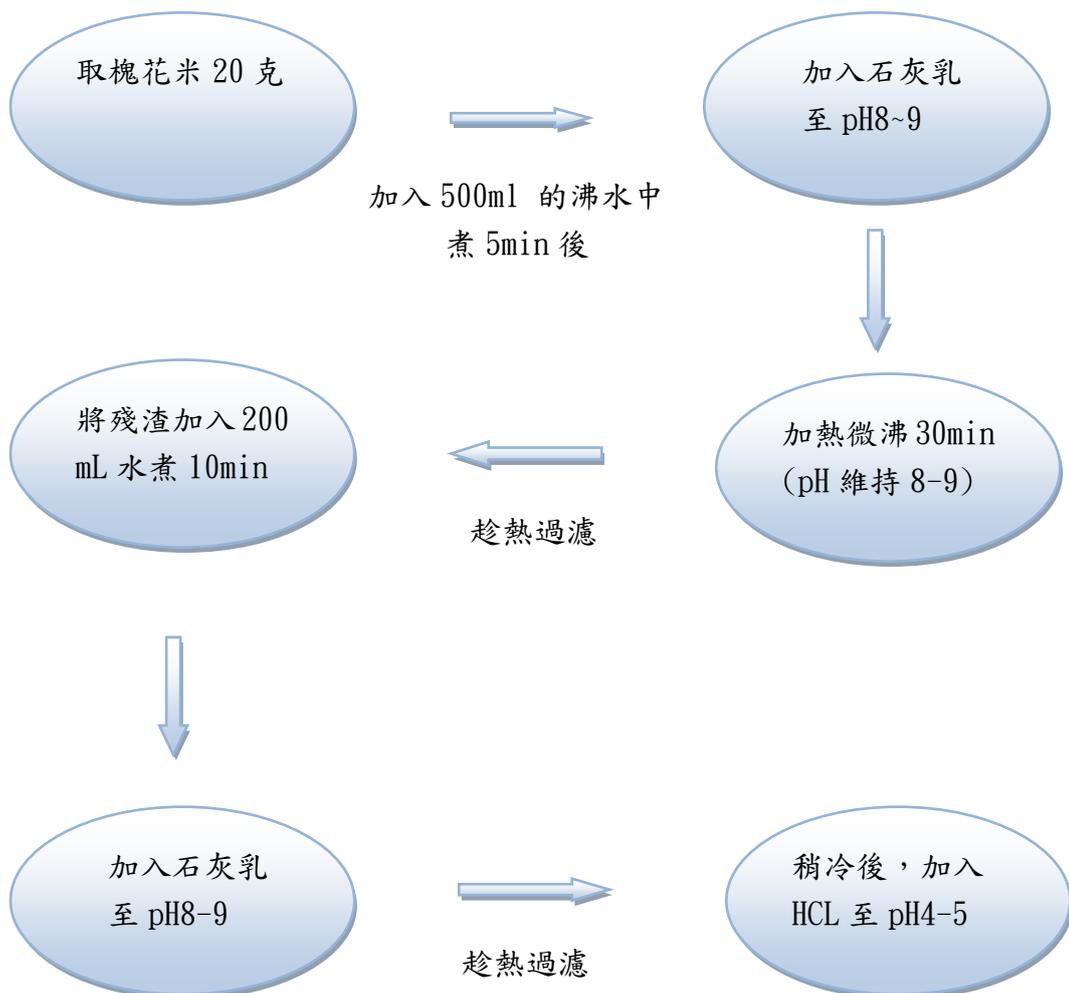
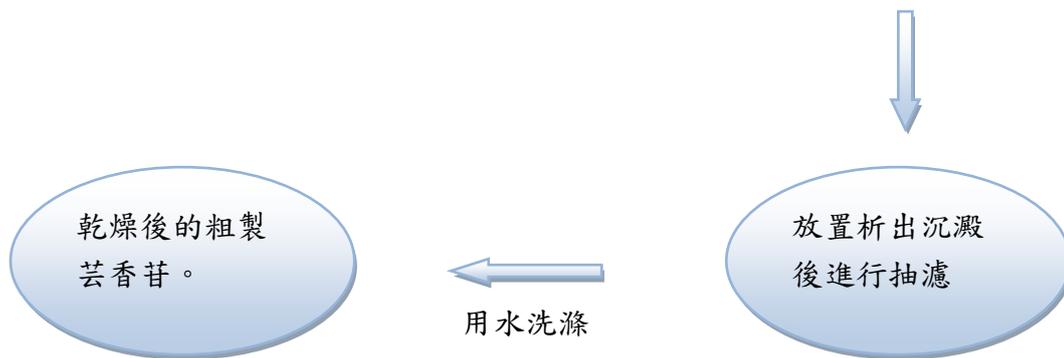


圖 15 由鹼萃法得粗製芸香苷

### 鹼萃取—芸香苷粗製流程圖





## (2) 芸香苷精製

將粗製芸香苷 2g 置 500ml 燒杯中，加 100ml 蒸餾水，再用石灰水調至 pH8-9。加熱煮沸數分鐘，使充分溶解。趁熱抽濾，濾液滴加 3mol/L HCl 調至 pH7，放置 18 小時以上，即析出沉澱。減壓過濾，用少量蒸餾水洗滌沉澱 2 ~ 3 次。然後用少量乙醇洗 1 次。抽乾，於 60°C 乾燥，即得精製芸香苷。稱重，計算產率。

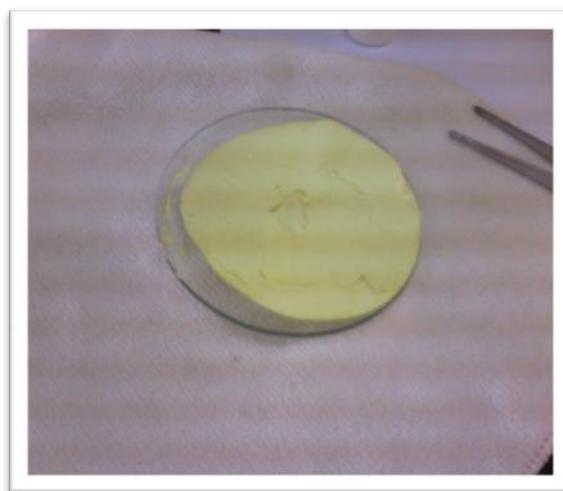
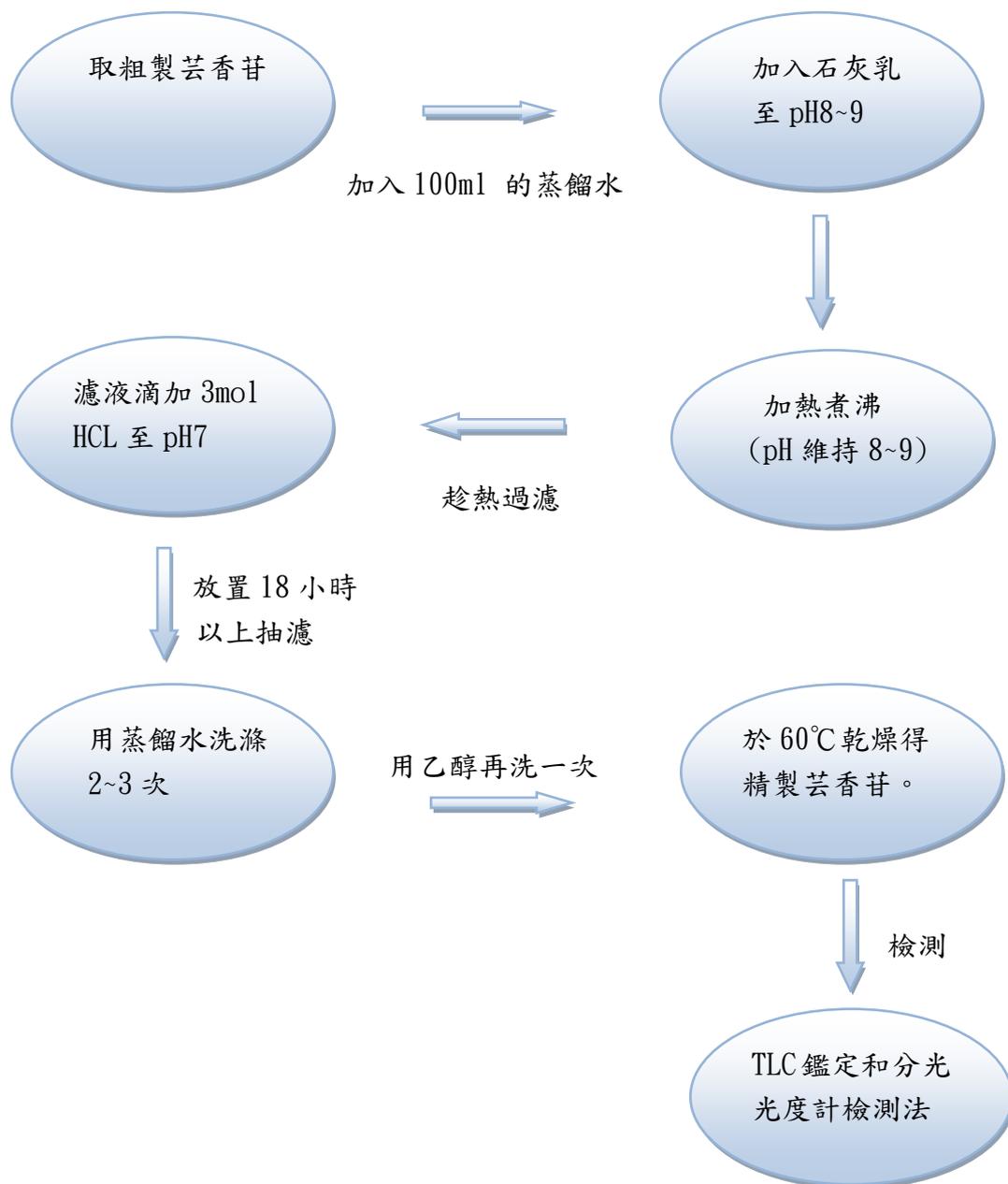


圖 16 由鹼萃法得精製芸香苷

### 鹼萃取—芸香苷精製流程圖



## (二) 芸香苷水解製槲皮素

稱取精製芸香苷約 1 克，置入於 50ml 圓底燒瓶中，加入 2 % 硫酸 80ml，加熱沸騰後，回流 30min，溶液從混濁變為澄清的棕黃色液體，最終生成為鮮黃色液體，底部有稍微沉澱。等待完全沉澱冷卻，抽氣過濾，沉澱物品為槲皮素，用少量蒸餾水洗滌，洗至中性，抽乾水分，放入烘箱烘乾後，秤重，此時得到粗製槲皮素，再用乙醇重結晶得到精製槲皮素。

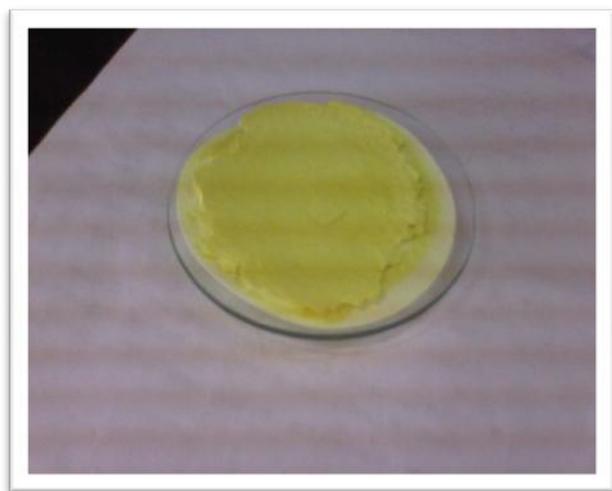
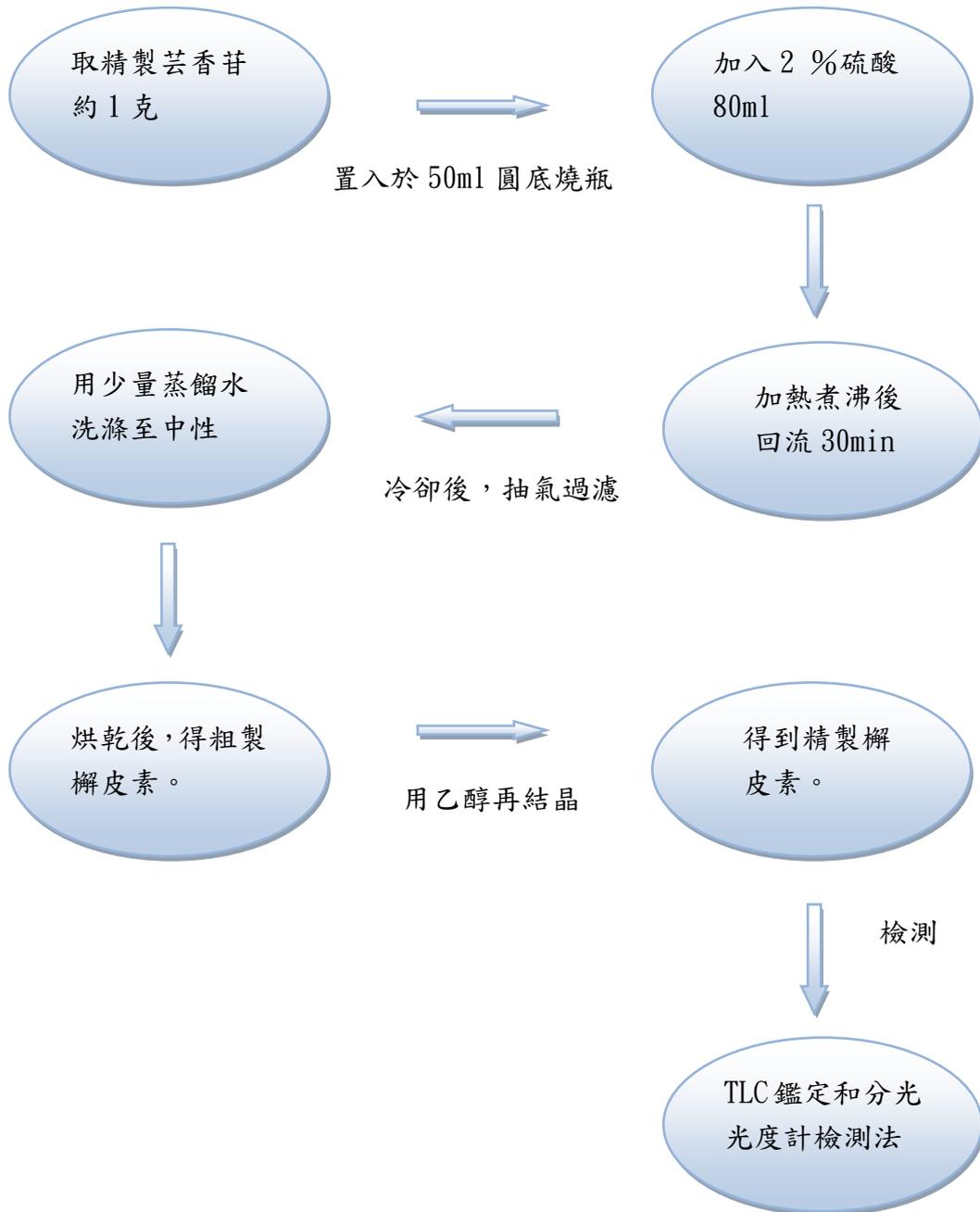


圖 17 精製槲皮素

## 芸香苷水解製槲皮素流程圖



### (三) TLC 鑑定

芸香苷和槲皮素的 TLC 色譜鑑定

層析材料：層析 TLC 片。

樣品：萃取的芸香苷及槲皮素的甲醇溶液(1%)和對照品的甲醇溶液(1%)。

展開劑：乙酸乙酯：甲醇（9：1）混合液 5mL，再加 2 滴冰醋酸。

觀察記錄：記錄圖譜及斑點顏色，算  $R_f$  值。

### (四) 分光光度計鑑定

以甲醇調至最大波長，再用蒸餾水歸零。

以不同濃度檢測吸收度。

### 參、結果與討論

#### 一、水萃取法：

表 1 不同時間萃取率之比較

時間 (min)	槐花米 (g)	產量 (g)	萃取率 (%)
20	20.11	0.64	3.18
30	20.10	1.65	8.21
40	20.00	2.7	13.5

#### 二、鹼萃取法：

表 2 不同時間萃取率之比較

時間 (min)	槐花米 (g)	產量 (g)	萃取率 (%)
20	20.07	2.01	10.01
30	20.01	2.99	14.94
40	20.25	3.72	18.55

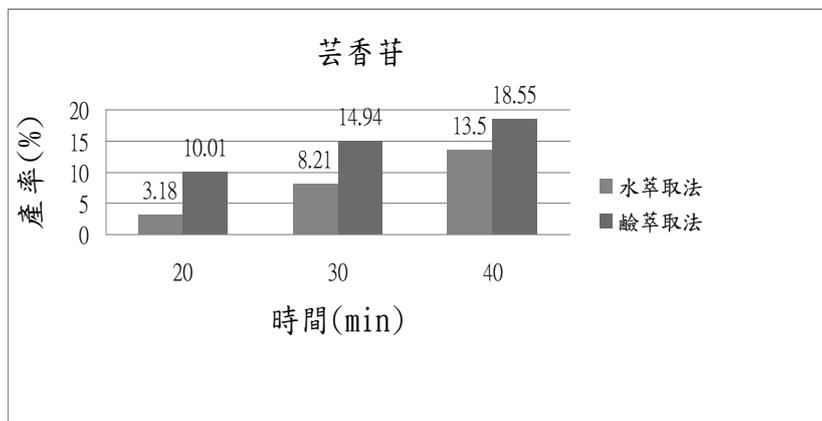


圖 18 不同時間芸香苷—產率直線圖

※ 由表 1 和表 2 來看，結果證明煮沸時間 40min 的產率是最高的。

※ 由圖 18 產率直線圖來看，結果證明用鹼萃取法所獲得的產率比用水萃取法來得高。

### 三、分光光度計檢測法

表 3 不同濃度芸香苷分光光度計吸收度的比較

芸香苷							
濃度(ppm)	500	400	300	200	100	50	25
吸收度							
標準品	1.232	1.060	0.878	0.688	0.383	0.222	0.131
水萃取法	1.080	0.953	0.779	0.604	0.338	0.198	0.092
鹼萃取法	1.175	1.024	0.837	0.653	0.412	0.236	0.125

※純度換算

以 500ppm 為例：標準品  $y=0.002x+0.135$   $R^2=0.982$

水萃取法  $1.080=0.002x+0.135$   $x=472.5$

$$(472.5/548.5)*100\%=86.1\%$$

鹼萃取法  $1.175=0.002x+0.135$   $x=520$

$$(520/548.5)*100\%=94.8\%$$

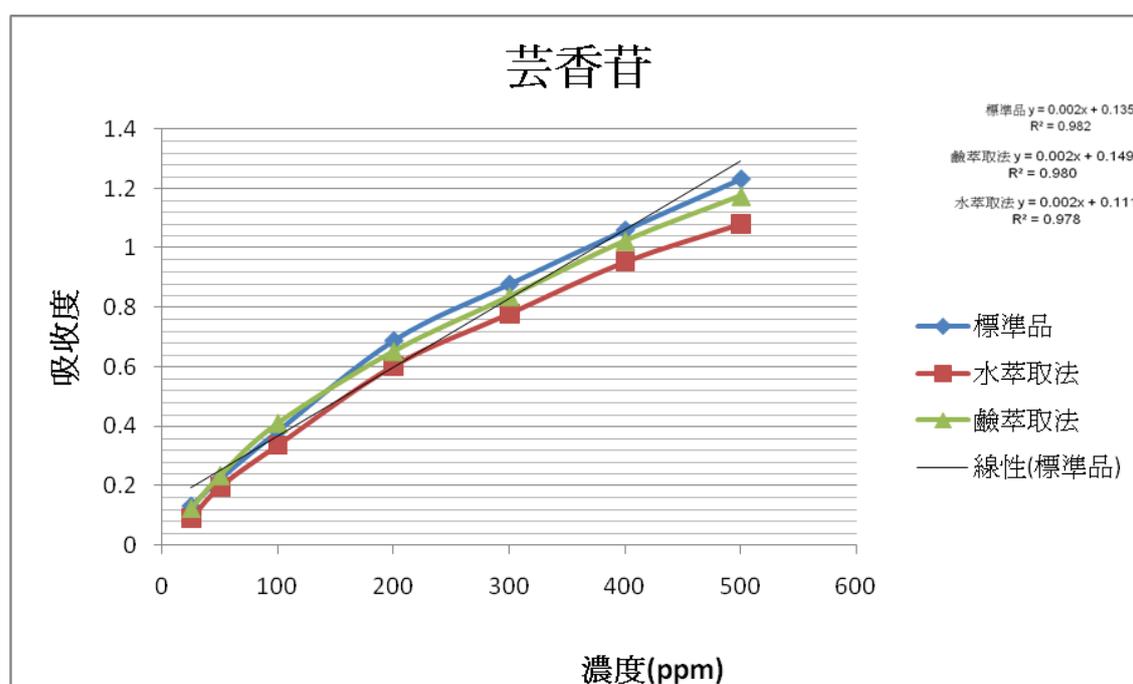


圖 19 芸香苷—吸收度曲線圖

表 4 不同濃度槲皮素吸收度的比較

槲皮素							
濃度(ppm)	500	400	300	200	100	50	25
吸收度							
標準品	2.243	1.875	1.467	1.042	0.548	0.388	0.284
槲皮素	1.915	1.648	1.286	0.865	0.354	0.187	0.113

※純度換算

以 500ppm 為例：標準品  $y=0.004x+0.174$   $R^2=0.998$

槲皮素  $1.915=0.004x+0.174$   $x=435.25$

$(423.25/517.25)*100=81.82\%$

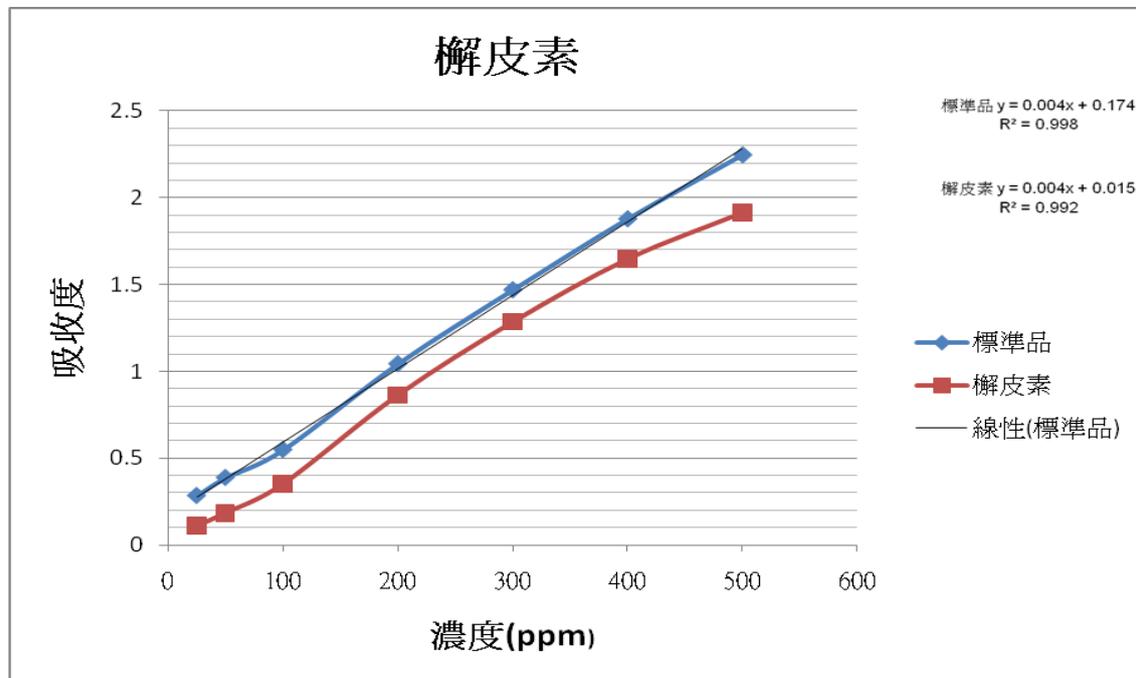


圖 20 槲皮素—吸收度曲線圖

#### 四、TLC 片鑑定



圖 21 標準品 TLC 片  
左-芸香苷 右-槲皮素



圖 22 芸香苷鹼萃法

左-標準芸相苷  $R_f=0.1126$

右-芸香苷(鹼萃)  $R_f=0.1126$



圖 23 芸香苷水萃法

左-標準芸相苷  $R_f=0.1126$

右-芸香苷(水萃)  $R_f=0.1126$



圖 24 檫皮素鹼萃法

左-標準檫皮素  $R_f=0.7820$

右-檫皮素(鹼萃)  $R_f=0.7820$



圖 25 檫皮素水萃法

左-標準檫皮素  $R_f=0.7820$

右-檫皮素(水萃)  $R_f=0.7820$

※由 TLC 片可以看的出來標準品與做出來的樣品相較之下， $R_f$  值都一樣，表示做出來的樣品很標準，只有(圖 23)水萃法樣品中含有稍微的檫皮素。

## 肆、結論

本研究設定的時間數據差異發現，無論是水萃取法或鹼萃取酸沈澱法，再 40 分鐘的產率顯然都是比較多的，至於兩種萃取方法相較之下，鹼提取酸沈澱法的產率大約多出 5%，是最佳的萃取方法。

芸香苷可降低出血性疾病和高血壓導致的微血管脆弱性，並具有強化血管，預防腦中風等作用，值得探討與深入的研究；本實驗的鹼萃取法採用石灰乳，沒有使用其他鹼液萃取，例如碳酸鈉、氫氧化鈉等，希望在未來能給予後人參考之研究，或許會有不一樣的成果。

## 參考資料及文獻

- [1] 艾爾·敏德爾 譯者：賴翠玲 “營養補充品聖典” 笛藤  
1999年01月23日 P.211
- [2] 婁芝瑞 博士論文 “丹參與槐花對大鼠腦缺血-再灌流損傷引發  
之腦梗塞的效用” 2005
- [3] EARL MINDELL R. Ph. Ph. D 譯者：賴翠玲 “特選100種天然食  
物的藥效” 笛藤 1995年12月19日
- [4] (明)李時珍 新訂本草綱目(全套) 世一 2005年10月13日
- [5] 唐娜櫻、錢添發、李采娟、江素瑛、李珮端、林昭庚及謝慶良  
“槐花對 Ibotanic acid 誘發大白鼠學習記憶障礙效用之研究”  
JChin Med 15(2): 99-108, 2004
- [6] 張隆仁 “蕎麥的二次代謝產物芸香苷 1 臺中區農業改良場研  
究彙報” 64:41-56 (1999)
- [7] <http://big5.enet.com.cn/gate/big5/www.enet.com.cn/life>
- [8] 芸香甙的提取、分離和鑒定  
<http://3oDMTE1MDc0Z3MxBHN1YwNzcgRwb3MDNQRjb2xvA3RwMgR2dG>