

UV法测定贵州产香薷和野草香药材中总黄酮的含量[△]

高 健*,王 静,陈 青*(贵州大学化学与化工学院化学系,贵阳 550025)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0805-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.29

摘 要 目的:建立测定贵州产香薷和野草香药材中总黄酮的含量测定方法。方法:采用紫外-可见分光光度法,以芦丁为对照品,在482 nm波长处对两种香薷属植物中的总黄酮进行含量测定。结果:芦丁的质量浓度在0.02~0.1 mg/ml范围内与吸光度值呈良好的线性关系;精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率为97.55%,RSD为0.66%(n=6)。香薷和野草香的花、茎叶及根中总黄酮的含量分别为0.704、0.438、0.247 mg/g和0.901、0.476、0.352 mg/g。结论:该方法操作简便、准确,重复性和稳定性良好,适用于香薷属植物总黄酮的含量测定。

关键词 香薷;野草香;总黄酮;提取;紫外-可见分光光度法;含量测定

Determination of Total Flavonoids Contents in *Elsholtzia ciliata* and *cypriani* Produced in Guizhou by UV

GAO Jian, WANG Jing, CHEN Qing (Dept. of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of total flavonoids content in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia cypriani* produced in Guizhou. METHODS: The total flavonoids contents in two *Elsholtzia* plants were determined by UV at 482 nm with the reference of rutinum. RESULTS: The concentration of rutinum had a good linear relationship with absorbance in the range of 0.02-0.1 mg/ml. The RSDs of precision, stability and repeatability test were less than 2%; the average sample recovery were 97.55%, RSD were 0.66% (n=6). The contents of total flavonoids in the flowers, stem leaf and root of *E. ciliata* and *E. cypriani* were 0.704, 0.438, 0.247 mg/g and 0.901, 0.476, 0.352 mg/g. CONCLUSIONS: This method is simple and accurate and has good repeatability and stability. It is applicable for the determination of total flavonoids contents in *Elsholtzia* plants.

KEYWORDS *Elsholtzia ciliata*; *Elsholtzia cypriani*; Total flavonoids; Extract; UV; Content determination

低了磷酸用量,分别考察了甲醇-磷酸水溶液、乙腈-磷酸水溶液等流动相体系,经过优化对比后采用0.1%磷酸水溶液-甲醇作为流动相获得了良好的分离效果,峰纯度经液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检验为单一峰^[12]。

目前,莽草酸主要是从中药八角茴香中提取,其莽草酸含量最高达9.88%~10.91%^[13],但八角茴香价格十分昂贵。而雪松的松针和嫩枝易得,再生速度快,且可持续利用。由本研究结果可知,雪松的松针和嫩枝所含的莽草酸较高,具有较高的开发价值。

参考文献

- [1] 张军民,石晓峰.天然产物莽草酸的研究进展[J].中国中医药信息杂志,2011,18(2):109.
- [2] 仇国苏.莽草酸与禽流感治疗药:达菲[J].化学教育,2006,27(2):1.
- [3] 边清泉,汪红,罗英,等.HPLC测定不同植物中莽草酸的含量[J].中国中药杂志,2007,14(32):1485.
- [4] 王东东,石晓峰,李冲,等.7种松柏科植物中莽草酸的含量测定[J].中国药房,2011,22(7):616.

- [5] 刘东彦,石晓峰,李冲,等.雪松松针中莽草酸的分离及其纯度检查[J].中国现代应用药学杂志,2011,28(7):637.
- [6] 石晓峰,刘东彦,沈薇,等.从雪松松针中提取、分离、纯化莽草酸的生产工艺:中国,201010174776.7[P].2010.
- [7] 刘新,马廉举,林於,等.正交试验优选侧柏叶中莽草酸提取工艺[J].中国药房,2010,21(43):4076.
- [8] 何冀川,李松,罗英.紫外分光光度法测定莽草酸的解离常数[J].绵阳师范学院学报,2006,25(5):40.
- [9] 张志琴,刘光明,杨永寿,等.云南松松针中莽草酸的含量测定[J].云南民族大学学报:自然科学版,2012,21(1):10.
- [10] 吴俊珠,周浓,周梅,等.RP-HPLC测定松龄血脉康胶囊中莽草酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):113.
- [11] 谢济运,陈小鹏,粟本超,等.高效液相色谱法测定松针中莽草酸的含量[J].化学研究与应用,2010,22(7):943.
- [12] 沈薇,石晓峰,王东东,等.正交试验优选雪松松针中莽草酸的提取工艺[J].中国现代应用药学杂志,2011,28(10):831.
- [13] 黄雪梅,覃小玲,蒋伟哲.八角茴香中莽草酸的含量测定[J].中国医院药学杂志,2008,28(2):130.

△基金项目:贵州省科技计划课题(No.黔科合SY字[2011]3086)
* 硕士研究生。研究方向:天然药物化学。E-mail: 527795639@qq.com
通信作者:教授,博士。研究方向:天然药物化学。E-mail: cchen_qing@sina.com

(收稿日期:2014-06-10 修回日期:2014-09-13)

(编辑:孙 冰)

香薷 *Elsholtzia ciliata* 为香薷属多年生草本植物,常生于山坡、林内、路旁及沙滩河岸边。香薷全草可作药用,性味辛、微温,具有发汗解暑、行水散湿、温胃调中之功效,主治夏月感寒饮冷、头痛发热、恶寒无汗、胸痞腹痛、呕吐腹泻、水肿、脚气等症^[1]。据文献报道,香薷中主要含有5-羟基-7,4'-二甲氧基双氢黄酮、5-羟基-6,7-二甲氧基双氢黄酮及美五针松双氢黄酮等黄酮类化合物^[2],但关于其生物活性的研究甚少。野草香 *E. cypriani* 也为香薷属植物,分布于云南、贵州等地^[3]。野草香具有清热解毒、解表等功效,可用于治疗感冒、疔疮、鼻渊、喉蛾等;其花果提取的挥发油——木姜花油有特殊的清香气,民间常作为食品香料,关于其化学成分的文献报道仅见挥发油^[4]。挥发油和黄酮通常被认为是香薷属植物药理作用的物质基础^[5]。香薷属植物具有的消炎、止痛作用,主要是由黄酮类化合物和挥发油中的苯甲醇、芳樟醇等所产生^[6-7]。此外,黄酮类化合物作为一种功能成分,还具有其他许多有益的生物学活性,如治疗心脑血管系统、消化系统呼吸系统疾病及抗癌、抗病毒、抗菌、提高机体免疫力、消除自由基、抗氧化、抗衰老等作用^[8-9]。贵州省香薷及野草香资源丰富,目前对两种植物的黄酮类化学成分及生物活性的研究尚不充分。为此,笔者参考相关文献^[10-15],采用紫外-可见分光光度(UV)法对香薷属植物中的总黄酮进行了含量测定,以期为进一步开发利用香薷和野草香资源提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

WFZ UV-2000 型 UV 计(上海尤尼柯仪器有限公司); TP-114 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); FZ102 型微型植物试样粉碎机(北京市永明医疗仪器厂)。

1.2 试剂

芦丁对照品(上海晶纯生化科技股份有限公司,批号: B1411073,纯度>98%);试剂均为分析纯。

1.3 药材

香薷与野草香均于2013年10月采集于贵州省贵阳地区,经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为香薷 *E. ciliata* 和野草香 *E. cypriani*。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取芦丁对照品 10.0 mg,置于 50 ml 量瓶中,加 65% 的甲醇适量,振摇,并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 0.2 mg/ml 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取样品粉末 3.0 g,置于圆底烧瓶中,加入 65% 甲醇 50 ml,加热回流提取 60 min,减压浓缩后滤过,置于 50 ml 量瓶中,用少量 65% 甲醇洗涤圆底烧瓶,洗液合并至量瓶中,加 65% 甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.3 最大吸收峰的确定

精密吸取“2.1”项下芦丁对照品溶液 1.0 ml,置于 10 ml 量瓶中,加 65% 甲醇至 5 ml 处,摇匀;精密加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 ml,摇匀,放置 6 min;精密加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 ml,摇匀,放置 6 min;精密加入 4% 氢氧化钠溶液 4 ml,再加 65% 甲

醇定容至刻度,摇匀,即得。另取芦丁对照品溶液 1.0 ml,置于 10 ml 量瓶中,加 65% 甲醇稀释至刻度,作为空白对照溶液。将两种溶液于 400~600 nm 波长范围内进行扫描,结果在 482 nm 波长处有最大吸收。

2.4 提取方法的选择

2.4.1 提取溶剂的选择 精密称取香薷花粉末 3.0 g,置于圆底烧瓶中,加入 35 ml 甲醇,多次提取至溶剂无色,减压浓缩,滤过,滤液转移至 50 ml 量瓶中,用少量甲醇多次洗涤圆底烧瓶,洗液合并至量瓶中,加甲醇定容。精密吸取上述溶液各 0.2 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,用移液管移取 4.8 ml 甲醇加至 5 ml,摇匀;精密加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 ml,摇匀,放置 6 min;精密加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 ml,摇匀,放置 6 min;再加入 4% 氢氧化钠溶液 4 ml,加甲醇稀释至刻度,摇匀。采用同样的方法,将提取溶剂分别换成 50%、65%、80% 的甲醇和无水乙醇。分别在 482 nm 波长处测定其吸光度值,结果见表 1。由表 1 可见,65% 甲醇提取效率较高,因此本研究最终选择了 65% 甲醇作为提取溶剂。

表 1 不同提取溶剂对吸光度值的影响

Tab 1 Effect of different extraction solvent on the absorbance

吸光度	50% 甲醇	65% 甲醇	80% 甲醇	乙醇
A ₁	0.610	0.626	0.505	0.430
A ₂	0.614	0.635	0.532	0.423
A ₃	0.605	0.641	0.524	0.419

2.4.2 溶剂用量的选择 精密称取香薷花粉末 3.0 g,共 3 份,置于圆底烧瓶中,分别加入 25、50、75 ml 65% 甲醇,多次回流至溶剂无色,减压浓缩,滤过,滤液转移至 50 ml 量瓶中,用少量溶剂洗涤圆底烧瓶,洗液合并至量瓶中,加 65% 甲醇定容。精密吸取上述 3 种溶液各 0.2 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,在 482 nm 波长处测定其吸光度值,结果见表 2。由表 2 可见,50、75 ml 65% 甲醇提取效率较高,考虑到节约溶剂用量,本研究最终将提取溶剂用量定为 50 ml。

表 2 不同溶剂用量对吸光度值的影响

Tab 2 Effect of different solvent dosage on the absorbance

溶剂用量,ml	称样量,g	吸光度
25	3.000 6	0.581
50	3.000 7	0.654
75	3.000 8	0.656

2.4.3 提取时间的选择 精密称取 4 份香薷花粉末各 3.0 g,置于圆底烧瓶中,加入 65% 甲醇 50 ml,分别加热回流 20、40、60、80 min,滤过,滤液转移至 50 ml 量瓶中,用少量 65% 甲醇洗涤圆底烧瓶,洗液合并至量瓶中,加 65% 甲醇定容。精密吸取上述 4 种溶液各 0.2 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,在 482 nm 波长处测定吸光度值,结果见表 3。由表 3 可见,提取 60 min 时提取效果较好。

2.5 线性关系考察

精密吸取“2.1”项下对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,加 65% 甲醇至 5 ml 处,摇匀;精密加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 ml,摇匀,放置 6 min;精密加入 10% 硝酸铝溶液 0.3 ml,摇匀,放置 6 min;精密加入 4% 氢氧化钠溶液 4

表3 不同提取时间对吸光度值的影响

Tab 3 Effect of different extract time on the absorbance

提取时间,min	称样量,g	吸光度
20	3.000 7	0.619
40	3.000 6	0.631
60	3.000 7	0.659
80	3.000 4	0.658

ml,再加65%甲醇溶液定容,摇匀。以相应试剂为空白,采用UV法,在482 nm波长处测定吸光度值。以对照品的质量浓度为横坐标(x,mg/ml)、吸光度值为纵坐标(y),进行线性回归,得回归方程 $y=1.598x-0.0014$ ($r=0.9997$)。结果表明,芦丁质量浓度在0.02~0.1 mg/ml范围内与吸光度值呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验

精密量取“2.1”项下芦丁对照品溶液适量,分别配制成质量浓度为0.02、0.06、0.1 mg/ml的溶液,在482 nm波长处测定吸光度值,连续6次。结果,RSD分别为2.05%、1.91%、1.85%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2”项下供试品溶液各适量,分别于配制0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 h时在482 nm波长处测定吸光度值,重复6次。结果,RSD分别为香薷花1.04%、茎叶1.03%、根1.04%,野草香花1.03%、茎叶1.04%、根1.04%,表明供试品溶液在5 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

分别精密称取香薷和野草香的花、茎叶和根的粉末各3.0 g,各6份,置于圆底烧瓶中,加入65%甲醇50 ml,加热回流60 min,滤过,置于50 ml量瓶中,加65%甲醇定容。精密吸取提取液各0.2 ml,置于10 ml量瓶中,在482 nm波长处测定吸光度值。结果,RSD分别为香薷花1.02%、茎叶1.04%、根1.01%,野草香1.05%、茎叶1.03%、根1.01%,表明该方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量(0.700 mg/g)的香薷花粉末1 g,共6份,分别精密加入质量浓度为0.13 mg/ml的芦丁对照品溶液5 ml,挥干溶剂,按“2.2”项下方法制备供试品溶液。以相应试剂为空白,在482 nm波长处测定吸光度值,计算加样回收率,结果见表4。

表4 加样回收率试验结果($n=6$)Tab 4 Results of sample recovery test($n=6$)

称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
1.002 7	0.701 9	0.65	1.333 2	97.12		
1.004 1	0.702 9	0.65	1.330 4	96.54		
1.002 3	0.701 6	0.65	1.339 3	98.11		
1.003 5	0.702 5	0.65	1.335 3	97.35	97.55	0.66
1.007 3	0.705 1	0.65	1.341 6	97.92		
1.006 4	0.704 5	0.65	1.343 1	98.25		

2.10 样品含量测定

精密称取香薷和野草香的花、茎叶和根粉末各3.0 g,按

“2.2”项下方法制备供试品溶液。以相应试剂为空白,在482 nm波长处测定吸光度值,计算样品含量,结果见表5。

表5 样品含量测定结果(mg/g)

Tab 5 Results of content determination of sample(mg/g)

样品	香薷	野草香
花	0.704	0.901
茎叶	0.438	0.476
根	0.247	0.352

3 讨论

本研究结果表明,两种香薷属植物的花、茎叶和根中都含有一定量的黄酮类化合物,两种植物中花的总黄酮含量较高,根中的总黄酮含量较低;此外,野草香不同部位的总黄酮含量均比香薷相应部位的要高。香薷和野草香均可作为提取黄酮类化合物的来源。本研究建立的方法操作简便、准确,重复性和稳定性良好,适用于香薷属植物总黄酮的含量测定。

参考文献

- [1] 江苏新医学院.中药大辞典:下册[M].上海:上海科技出版社,1985:2329.
- [2] 郑尚珍,沈序维,吕润海,等.香薷中的化学成分[J].植物学报,1990,32(3):215.
- [3] 《贵州植物志》编委会.贵州植物志:第八卷[M].成都:四川民族出版社,1988:462.
- [4] 郑尚珍,宋志军,胡浩斌,等.木姜花挥发油化学成分的研究[J].西北师范大学学报:自然科学版,2004,40(4):52.
- [5] Liu AL, Lee SM, Wang YT, et al. Elsholtzia: review of traditional uses, chemistry and pharmacology[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2007, 16(2):73.
- [6] 丁晨旭,纪兰菊.香薷化学成分及药理作用研究进展[J].上海中医药杂志,2005,39(5):63.
- [7] 吕金顺,张景琼,郑尚珍,等.香薷属植物药用成分的研究进展[J].中国医学生物技术应用杂志,2002(4):15.
- [8] 陈国有,齐鹤,徐东花.黄酮类化合物的生物活性研究进展[J].黑龙江医药,2008,21(3):81.
- [9] 华辉,郭勇.黄酮类化合物药理研究进展[J].广东药学,1999,9(4):9.
- [10] 李丹涛,周伟明.沙溪凉茶中总黄酮的提取及含量测定[J].广东化工,2010,37(3):185.
- [11] 胡宗礼,黄晓萍,陈珺霞.甘木通不同部位总黄酮含量的测定[J].中国现代中药,2010,12(3):26.
- [12] 邹江冰,孔秋玲,陈龙浩,等.不同产地紫果西番莲叶中总黄酮的含量测定[J].医药导报,2012,31(3):348.
- [13] 岐琳,牛晓峰.小飞蓬中总黄酮的含量测定[J].医药导报,2013,32(8):1088.
- [14] 高宏,贡亚波,兀江波,等.紫外分光光度法测定甘草中总黄酮的含量[J].中国药房,2012,23(7):642.
- [15] 蒋伟哲,周燕文,李锦.6种广西产绞股蓝中总黄酮的含量测定[J].中国药房,2006,17(1):74.

(收稿日期:2014-05-16 修回日期:2014-08-26)

(编辑:孙冰)