

高孜万药材中总黄酮含量的测定

买买提·努尔艾合提^{1,3*}, 吐送江·阿不都艾尼², 木合塔尔·奴尔买买¹

(1. 新疆维吾尔医学专科学校, 新疆和田 848000;

2. 新疆和田地区药检所, 新疆和田 848000; 3. 复旦大学附属华山医院, 上海 200040)

[摘要] 目的: 测定几种不同来源的维吾尔药材高孜万中总黄酮含量, 为高孜万药材的筛选及推广提供技术支撑。方法: 以芦丁为对照品, 采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法, 在 510 nm 处利用紫外分光光度法测定意大利牛舌草、琉璃苣、糙草、倒提壶等 4 种不同来源的高孜万药材中总黄酮的含量。结果: 意大利牛舌草、琉璃苣、倒提壶、糙草等 4 种不同来源的高孜万中总黄酮的含量分别为意大利牛舌草 3.85 mg·g⁻¹、琉璃苣 3.72 mg·g⁻¹、倒提壶 2.35 mg·g⁻¹、糙草(和田)3.14 mg·g⁻¹、糙草(策勒)4.73 mg·g⁻¹、糙草(于田)3.67 mg·g⁻¹。其中策勒产糙草中总黄酮含量最高, 倒提壶含量最低。结论: 该方法准确、可靠、重复性好, 可以用作高孜万中总黄酮含量的测定。糙草、琉璃苣和意大利牛舌草中总黄酮的含量没有太大的差别。

[关键词] 高孜万; 意大利牛舌草; 琉璃苣; 糙草; 倒提壶; 总黄酮; 紫外分光光度法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)24-0134-03

Determination of Total Flavonoids in Several Gaoziban

买买提·努尔艾合提^{1,3*}, 吐送江·阿不都艾尼², 木合塔尔·奴尔买买¹

(1. Xinjiang Uighur Medical Collage, Hotan 848000, China;

2. Hotan Prefecture Institute for Drug Control, Hotan 848000, China;

3. Department of Integrative Medicine, Huashan Hospital Fudan University, Shanghai 200040, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of total flavonoids in several different sources of Gaoziban. **Method:** Using rutin as a reference substance, the content of total flavonoids in Gaoziban of *Asperugo procumbens* from Hetian, Cele, and Yutian, *Anchusa italicica*, *Borage officinales*, and *Cynoglossum officinales* were determined at 510 nm by UV spectrophotometry colored with sodium nitrite-aluminum nitrate-sodium hydroxide. **Result:** Content of total flavonoids in three Gaozibans of *Anchusa italicica*, *Borage officinales*, *Cynoglossum officinales* were 3.85, 3.72, 2.35 mg·g⁻¹; and three Gaozibans of *A. procumbens* from Hetian, Cele and Yutian were 3.14, 4.73, 3.67 mg·g⁻¹ respectively, among which the content of total flavonoids in Gaoziban was highest in *A. procumbens* from Cele and lowest in *C. officinales*. **Conclusion:** The method was accurate, reliable, repeatable, and could be used to determine the content of total flavonoids in Gaoziban. The content of total

[收稿日期] 20120507(012)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区中医民族医药青年科技人才专项课题(2007ZMY22)

[通讯作者] *买买提·努尔艾合提, 副教授, 硕士, 从事维吾尔药材资源开发与利用研究, E-mail: mamat-nur@163.com

- [7] 张大军, 王兆华. 高效液相色谱法测定复肾宁片中栀子苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 88.

- [8] 万军. 高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 78.

- [9] 王凌, 徐玲玲. HPLC 法同时测定银翘解毒合剂中栀

子苷与黄芩苷的含量[J]. 中国药师, 2011, 14(3): 375.

- [10] 侯志坚, 师永清. 双波长 HPLC 同时测定防风通圣丸中栀子苷和黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 80.

[责任编辑 顾雪竹]

flavonoids is not much different from *A. italicica*, *B. officinales* and *A. procumbens*.

[Key words] Gaoziban; *Anchusa italicica*; *Borage officinales*; *Cynoglossum officinales*; *Asperugo procumbens*; total flavonoids; UV spectrophotometry

高孜万(维文名)是维吾尔医常用的心脑血管疾病首选药材之一,有生湿生热、调节异常黑胆质、生湿补脑、祛寒补心、爽心悦志、润燥消炎、止咳平喘等功效,主要用于干寒性或黑胆质性疾病,如平性脑虚、心悸、抑郁症、干性脑膜炎、高血压、肺炎及结核疾病、寒性咳嗽、感冒、气喘等疾病的治疗^[1],有悠久的应用历史。从维吾尔医用药信息调查所知,维吾尔医现用的高孜万药材种类可达6种(均为紫草科植物),分别为意大利牛舌草 *Anchusa italicica* Retz、琉璃苣 *Borage officinales* L.、药用牛舌草 *Anchusa officinales* L.、倒提壶 *Cynoglossum officinales* L.、糙草 *Asperugo procumbens* L 和牛舌草 *Anchusa azurea* Mill 等植物的地上部分。通过用药信息、药材市场和产地调查,我们发现维吾尔医把意大利牛舌草名以“高孜万印地”用的较普遍,此外糙草在和田地区名以“耶尔力克 高孜万”用,牛舌草在叶城县当高孜万用,市场上还有倒提壶和琉璃苣的药材,维文名分别为“多日力克 高孜万”和“高孜万 其尼”,虽然药材种类不同、但用药目的大致相同。意大利牛舌草主要从巴基斯坦药材市场进口,药材价格昂贵,有时还出现断货情况。为了解决药材资源问题,我校开展高孜万药材的种植技术研究,从药材资源的调查和有关文献可知倒提壶、糙草和牛舌草在新疆天山、昆仑山区有野生^[2-3],琉璃苣在和田地区已成功引种栽培,而意大利牛舌草的药材资源问题尚未解决。

有关文献表明,高孜万药材中含多种黄酮类化合物^[4],而黄酮类化合物具有多种生物活性,如抗菌、消炎、抗突变、降压、清热解毒、镇静、利尿等作用外,在抗氧化、抗癌、防癌、抑制脂肪酶等方面也有显著效果^[5]。为了对比这几种高孜万药材,本课题组测定了这几种高孜万药材中总黄酮的含量,为进一步提高这类药材的开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 试药 意大利牛舌草、琉璃苣、糙草、倒提壶均购自新疆和田市维吾尔药材市场,由新疆维吾尔自治区药物研究所已故研究员张彦福鉴定分别为意大利牛舌草 *A. italicica*、琉璃苣 *B. officinales* 倒提壶 *C. officinales* L 和糙草 *A. procumbens* 等植物的地上部分。芦丁对照品由中国药品生物制品检定所提供,

批号 008-9705;其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器 EL-204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),T6 型新世纪紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),RE-5298A-旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),111-型二两装高速中药粉碎机(浙江瑞安环球药械厂),HH-S2 数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取在 120 ℃ 干燥至恒重的芦丁对照品 17 mg 放到 50 mL 量瓶中,用 70% 乙醇溶解并定容至刻度,即得($0.34 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)。

2.2 供试品溶液的制备^[6] 精密称取高孜万药材 10 g,置 500 mL 烧杯中,用 60 mL 75% 乙醇水浴加热回流提取 2 次,每次 1.5 h,过滤,合并滤液,滤液在旋转蒸发器上蒸发浓缩并转入到 50 mL 的量瓶,用 75% 乙醇定容至刻度,备用。

2.3 标准曲线绘制^[6] 精密量取对照品溶液 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL 分别装入 10 mL 量瓶中,加 5% 亚硝酸钠 0.4 mL,放置 6 min 后加入 10% 硝酸铝溶液 0.4 mL,放置 6 min,再加入 4% 的氢氧化钠溶液 4 mL,加水至刻度,摇匀,放置 15 min 后在 510 nm 波长处测定吸光度^[7-8],以吸光度(A)为纵坐标,芦丁对照品浓度(C)为横坐标作标准曲线,得回归方程为 $A = 88.96C - 1.500 (r = 0.9990)$,表明芦丁在 $0.0068 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $0.136 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.4 供试品溶液测定 精密量取供试品溶液 0.5 mL,置 10 mL 量瓶中,照标准曲线项下的方法,制备供试品溶液,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中芦丁的量,计算即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 精密吸取 $0.34 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液 0.2 mL 共 5 份,照标准曲线制备项下方法处理后,测定吸光度,结果 RSD 0.16%,表明该法精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 精确吸取对照品 0.2 mL,供试品溶液 0.5 mL,照测定方法项处理后,分别于 0, 20, 40, 60, 80 min 时测定吸光度,结果标准品 RSD 0.23%,样品 RSD 1.82%,表明对照品和供试品在 80 min 内基本稳定。

2.5.3 重复性试验 取同一批供试品 5 份,照供试

品测定方法项处理后测定吸光度,结果 RSD 1.78%,表明该法重复性良好。

2.5.4 加样回收率试验 取已知总黄酮含量的样品 6 份,每份 5 g,分别精密加入芦丁对照品溶液 ($0.34 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 2,4,6 mL,按照供试品溶液的制备方法和测定方法操作,测定吸光度,结果见表 1。

2.6 供试品含量测定结果 取各类高孜万药材 10 g,按照供试品溶液的制备项制备供试品溶液,每类药材分别准备 3 分供试品,按照测定项下测定吸光度,结果见表 2。

表 1 总黄酮加样回收率试验

称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
5.002 8	15.71	0.68	16.02	97.75		
5.006 0	15.72	0.68	16.16	98.54		
5.008 4	15.73	1.36	16.91	98.97		
5.003 0	15.71	1.36	17.16	100.5	99.05	1.16
5.004 5	15.71	2.04	17.43	98.17		
5.003 4	15.71	2.04	17.81	100.3		

表 2 高孜万总黄酮含量测定($n=3$)

药材	产地	总黄酮 $/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
琉璃苣	校园药材种植实验田	3.72	0.19
意大利牛舌草	进口	3.85	0.15
倒提壶	新疆伊犁地区	2.35	0.67
糙草	新疆和田县朗如乡	3.14	1.06
糙草	新疆策勒县恰哈乡	4.73	1.65
糙草	新疆于田县阿羌乡	3.76	0.39

3 讨论

结果表明,策勒县野生的糙草含量明显高于其他类药材,而倒提壶中的含量明显低于其他品种,琉璃苣、意大利牛舌草,和田县朗如乡和于田县阿羌乡的糙草含量大致相同,在 3.14~3.85。从总黄酮含

量来看除了倒提壶含量较低外,其他品种都可当高孜万用。

按照文献[6],吸收波长按照文献[7-8]的方法来进行,本次实验没有进行这些因素的比较。此外牛舌草和药用牛舌草在市场上未能找到,因此本实验没有测定其总黄酮的含量。

黄酮类化合物由于具有广谱的药理作用而引人瞩目,对人体内的自由基有明显的清除作用,并可抑制细胞的凋亡,是治疗心血管疾病药物的主要成分。但是中药材含多种成分,其作用不一定是单一黄酮类成分的作用,而其他类化合物的复合作用,又可能是其中的某一单体起主要的作用。因此为了进一步提高高孜万药材的利用价值,应有更可靠的实验数据,需要跟踪药理寻找其药理作用的物质基础后,测定其有效成分的含量更具可参考性。

[参考文献]

- [1] 《中华本草》编委会. 中华本草·维吾尔药卷 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2005:99.
- [2] 张彦福. 维吾尔药材真伪鉴别 [M]. 乌鲁木齐:新疆电子音像出版社, 2007:40.
- [3] 新疆革命委员会卫生局. 新疆中草药 [M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社, 1974:118.
- [4] 刘勇民. 维吾尔药志 [M]. 乌鲁木齐:新疆人民出版社, 1999:(上册)554,(下册)673,953.
- [5] 肖坤福,廖晓峰. 黄酮类化合物研究进展及应用 [J]. 食品研究与开发, 2003, 4:14.
- [6] 木合塔尔. 奴尔买买提,杨武亮,吐尔洪·艾买尔,等. 维吾尔药牛舌草中总黄酮提取工艺的研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6):1303.
- [7] 王隶书,王海生,高军,等. 山刺玫不同药用部位中总黄酮的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 56.
- [8] 何祯,何明,代向阳,等. 不同产地树头菜中总黄酮含量的测定 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(22):13398.

[责任编辑 顾雪竹]