

槐枝中总黄酮的含量测定

赵超^{a,b} 陈华国^{a,b} 靳凤云^c 周欣^{a,b} 龚小见^{a,b}

^a(贵州师范大学天然药物质量控制研究中心 贵阳市宝山北路 116 号 550001)

^b(贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室 贵阳市 550001)

^c(贵阳中医学院 贵阳市 550002)

摘要 采用索氏提取法提取槐枝中的总黄酮, 芦丁为对照, 分光光度法测定其含量。样品浓度在 16 104—96 624 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 相关系数 $r = 0.9996$, 该方法简便、准确, 可用于槐枝中总黄酮的含量测定。

关键词 槐枝; 黄酮; 芦丁; 分光光度法

中图分类号: O 657. 32 文献标识码: B 文章编号: 1004-8138(2010)01-0188-04

1 前言

槐 (*Sophora aponica* L.) 为豆科 (*Leguminosae*) 植物, 槐枝为槐的嫩枝, 其作为药用历史悠久, 用于治崩漏带下, 心痛, 目赤, 痔疮, 疥疮等具有较好的疗效^[1]。槐枝中的主要化学成分为黄酮类化合物, 黄酮类化合物具有多种生物活性, 有抗溃疡、抗过敏、抗菌、抗炎、抗氧化、抗衰老、降血脂、治疗心脑血管疾病等功能。随着研究方法的不断更新和提高, 新的黄酮类化合物不断被发现, 出现了许多新的应用, 尤其在抗自由基和抗癌、防癌方面的应用意义重大^[2]。

本实验就槐枝中总黄酮的含量测定方法作了初步研究探讨, 为槐枝的进一步利用提供了科学依据。

2 实验部分

2.1 仪器与设备

DU-70 型可见紫外分光光度计 (美国贝克曼公司); AL 204 型十万分之一天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); HU 102660B 超声波清洗机 (天津市恒奥科技有限公司); HX-200 中药粉碎机 (江苏省永康市溪岸五金药具厂); R 210 型旋转蒸发仪 (瑞士步琪公司)。

2.2 试剂与溶液

95% 乙醇, 石油醚, 硝酸铝, 亚硝酸钠, 氢氧化钠, 三氯化铝, 乙酸乙酯等, 均为分析纯; 实验用水为重蒸水; 芦丁对照品由中国药品生物制品检定所提供 (批号: 110832-200508)。

贵州省中小企业局平台建设项目黔中小发[2008]76号; 贵州省发展和改革委员会黔科合带帽字[2008]5005号

联系人, 手机: (0) 13984806004; (0) 13984301492; Email: chaozhao@126.com; chenhuaguo1980@163.com

作者简介: 赵超(1976—), 男, 贵阳市人, 硕士, 讲师, 主要研究方向为天然产物化学。

周欣(1962—), 女, 贵阳市人, 博士, 教授, 主要研究方向为中药、民族药质量控制, 中药指纹图谱以及中药新药。

收稿日期: 2009-07-02; 接受日期: 2009-08-18

2.3 样品处理

称取槐枝粉末 1.0006g, 加入 80mL 95% 乙醇, 用索式提取法提取至提取液无色, 过滤, 用 95% 乙醇定容于 100mL 容量瓶中, 备用。

2.4 样品测定

取上述溶液 2mL 置于 25mL 容量瓶中, 加入 5% NaNO_2 溶液 1mL, 摇匀后放置 6min, 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1mL, 摇匀, 再放置 6min, 加 20% NaOH 试液 10mL, 再加水定容至刻度, 摇匀, 放置 15min, 在波长 500nm 处测定吸光度。

3 结果与讨论

3.1 测定波长的选择^[3]

取芦丁对照品 0.02013g, 用 95% 乙醇溶解, 并定容至 50mL, 移取该对照品液 4mL 置于 25mL 容量瓶中, 加 5% NaNO_2 溶液 1mL, 摇匀后放置 6min, 加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1mL, 摇匀, 再放置 6min, 加 20% NaOH 试液 10mL, 再加水定容至刻度, 摇匀, 放置 15min, 以 95% 乙醇为空白参比, 用分光光度计在 400—700nm 范围内扫描, 最大吸收波长为 500nm (见图 1)。

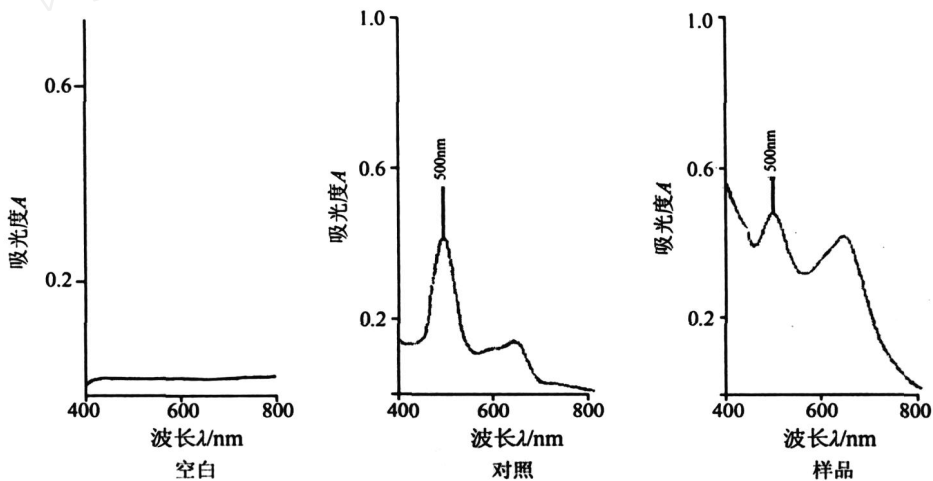


图 1 测定波长选择图

3.2 校准曲线的绘制

吸取 $0.4026\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的芦丁对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0mL, 分别置于 25mL 容量瓶中, 加入 5% NaNO_2 溶液 1mL, 摇匀后放置 6min, 加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1mL, 摇匀, 再放置 6min, 加 20% NaOH 试液 10mL, 再加水定容至刻度, 摇匀, 放置 15min, 以 95% 乙醇为空白参比, 在 500nm 波长处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制校准曲线。所得回归方程为 $y = 0.0218x + 0.0159$, $r = 0.9996$, 表明样品浓度在 $16.104\text{—}96.624\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好。

3.3 精密度实验

准确吸取 $0.4026\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的芦丁对照品溶液 4mL, 置于 25mL 容量瓶中, 共 6 份, 按“3.2”项下操作, 分别测定吸光度。结果: $\text{RSD} = 0.88\%$, 表明本法精密度良好。

3.4 稳定性试验

按“3.2”项下操作制备供试品溶液,在波长 500nm 处测定吸光度,每隔 30min 测定 1 次。结果 4h 内测得吸光度的 RSD=1.4%,表明样品溶液在 4h 内基本稳定。

3.5 重现性试验

取粉末样品,按“3.2”项下方法制备成样品溶液 6 份,在 500nm 处测定吸光度。结果, RSD=1.8%,表明本法重现性良好。

3.6 回收率试验

采用加样回收法,取已知含量的样品,准确称定,分别加入一定量的芦丁对照品,按“3.2”项下方法制备成样品溶液,测定吸光度,计算回收率,结果见表 1。

表 1 芦丁回收率试验

(n=9)

序号	样品称量 (g)	理论含量 (mg)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.5013	14.04	11.20	25.74	104.5		
2	0.4989	13.97	11.20	25.27	100.9		
3	0.5055	14.15	11.20	25.25	99.1		
4	0.5012	14.03	14.00	28.13	100.7		
5	0.4929	13.80	14.00	27.67	99.1	100.4	1.9
6	0.5007	14.02	14.00	28.14	100.9		
7	0.5046	14.13	16.80	31.10	101.0		
8	0.4976	13.93	16.80	30.43	98.2		
9	0.5022	14.06	16.80	30.68	98.9		

试验结果表明:该方法回收率良好,稳定可靠。

3.7 槐枝提取液中黄酮类化合物的定性分析

取芦丁对照品加 95% 乙醇溶解,配成 $6\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,将对照品溶液和上述样品溶液分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶板上,以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:5)为展开剂展开,取出,挥去溶剂,喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液显色后,置于紫外灯下观察,得在同一位置有黄色荧光斑点。以上表明,制备的样品溶液中含黄酮类化合物。

3.8 样品含量测定

本试验共测定了不同产地的槐枝样品 10 份,其中总黄酮的平均含量为 2.82%,最高为 3.61%,最低为 2.26%,说明不同产地的槐枝中总黄酮的含量具有明显差异。

4 结论

建立的方法能准确测定提取液中总黄酮的含量,该方法简便、准确,可用于槐枝中总黄酮的含量测定。

参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. DB521YC382-2003 贵阳:贵州科技出版社,2003:390
- [2] 李志平,李辉,石爱华等.茵陈总黄酮的提取及初步纯化[J].湖南城市学院学报,2005,14(3):60—61.
- [3] 魏福华,张永忠,井乐刚等.紫外分光光度法测定大豆中大豆异黄酮[J].理化检验(化学分册),2006,(6):33—35.

Detem ination of Total Flavonoids from the Branch of *Sophora aponica* L.

ZHAO Chao^{a,b} CHEN Hua-Guo^{a,b} J N Feng-Yun^c ZHOU Xin^{a,b} GONG Xiao-Jian^{a,b}

a(The Research Center for Quality Control of N atural M edicine, Guizhou N omal University, Guiyang 550001, P. R. China)

b(Key L aboratory for Inf omation System of M ountainous Areas and Protection of Ecological Environment,
Guiyang 550001, P. R. China)

c(Guiyang College of TCM, Guiyang 550002, P. R. China)

Abstract The total flavonoids of the branch of *Sophora aponica* L. were detemined by spectrophotometry with the Soxhlet's extraction method and rutin as the quality control standard. The relationship between the absorbance and the concentration of sample was linear in the range of 16.104—96.624 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the correlation coefficient was 0.9996. This method is simple, accurate and can be applied to detemine the content of total flavonoids from the branch of *Sophora aponica* L.

Key words The Branch of *Sophora aponica* L.; Flavonoids; Rutin; Spectrophotometry

本刊编辑部再次忠告: 请作者勿将联系地址省略! 尽管你单位的名称和你的姓名大名鼎鼎, 但并非人人皆知

某作者只告诉了本编辑部他所在单位的所在城市, 未告知街道名称和门牌号数。确实, 他单位是该城市鼎鼎有名的大单位, 所以编辑部发给他的信每次都能收到, 但是后来给他寄样刊时, 印刷品却被退回了, 邮局在上盖了个戳: 地址不详, 退! 可见, 虽然你单位大名鼎鼎, 但还并不是邮局人人皆知。“退”! 这还是一个好运。因为“退”! 毕竟你还遇上一个邮局负责任的人, 他还要花费人力物力来“退”! 也好让邮件寄出者清楚“退”的缘故。若碰上一个不负责任的, 将邮件丢进了垃圾箱, 你到哪儿去叫苦呢! 有的作者联系地址只写上他单位的大名, 好像他在本单位也是大名鼎鼎, 本单位人人皆知的, 但情况往往并非如此。这种邮件, 单位的收发室, 也通常予以退回, 甚至丢进垃圾箱。所以, 请各位作者勿将你单位的地址(县、区、街道名称, 门牌号)和你自己的地址(院、部、系、室、组)省略, 举手之劳, 何乐不为? 邮件丢失才是一件大事, 请勿因小失大。

以上意见也是邮局对我们的要求。

若作者对我们的再次忠告和邮局的要求置之不理(甚至还同我们辩论), 本刊不得不停发邮件, 直到作者补齐详细地址后恢复。因此而延误出版的责任, 只好由您自己负责。

《光谱实验室》编辑部