

六月霜不同采收时期及各部位的总黄酮考察*

吴巧凤 缪才刚¹ (杭州 310053 浙江中医学院药理学系;² 萧山 311200 萧山第一人民医院中药房)

摘要 目的:对不同采收期的六月霜及其茎、叶、花不同部位中的总黄酮进行了含量测定。方法:采用分光光度法测定总黄酮的含量。结果:总黄酮含量次序为:开花期(63.10 mg/g) > 花蕾期(41.33 mg/g) > 幼苗期(21.32 mg/g);花(95.74 mg/g) > 叶(53.12 mg/g) > 茎(21.14 mg/g)。结论:本法简便、快速、结果可靠。可为指导六月霜药材的收购提供一定的理论根据。

关键词 六月霜;总黄酮;分光光度法;含量测定

Investigation of general flavonoids content from *Artemisia anomala* with its different collecting time and from different part

Wu Qiaofeng(Wu QF), Miao Caigang(Miao CG) Dept of Pharmacy, Zhejiang College of TCM, Hangzhou 310053)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** Determination the general content flavonoids in *Artemisia anomala* with different collection time and from stem, leaf and flower. **METHODS:** Spectrophotometry is used to determine the general flavonoids. **RESULTS:** The order of contents of general flavonoids is: florescence time(63.10 mg/g) > flower bud time(41.33 mg/g) > seedling time(21.32 mg/g), flower(95.74 mg/g) > leaf(53.12 mg/g) > stem(21.14 mg/g). **CONCLUSION:** The method is simple, rapid and reliable. It was useful basis for the purchasing of *Artemisia anomala*.

KEY WORDS *Artemisia anomala*, general flavonoids, spectrophotometry, content determination

六月霜为菊科多年生草本植物奇蒿(*Artemisia anomala* S. Moore)的全草,习称南刘寄奴。具有破血通经、散瘀止痛、消食化积之功效,主治血滞经闭、产后瘀阻腹痛、食积不化^[1]。据报道:六月霜全草呈黄酮苷反应^[2],但对其全草及各部位的定量分析研究尚未见报道。为合理开发和利用这一自然资源,本文对不同采收期的六月霜全草及茎、叶、花各部位中的总黄酮进行了提取并对其含量进行测定。现报道如下。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Lambda-12 紫外分光光度计(PE公司)。

1.2 试剂 六月霜采自浙江省浦江縣,并经浙江中医学院中药资源教研室熊跃康教授鉴定为 *Artemisia anomala* S. Moore。芦丁标准品(中国生物制品检定所)。其它试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果^[3,4]

2.1 标准品溶液的制备 精密称取 105℃烘至恒重的芦丁标准品 24.3 mg,置 100 ml 量瓶中,加 50%乙醇适量,水浴加热,使之溶解,放冷后用 50%乙醇稀释至刻度,即得 0.243 mg/ml 的芦丁标准品溶液。

2.2 样品液的制备 取六月霜全草粉末 10 g,于 60℃干燥 6 h,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚 300 ml 加热回流至提取液无色,放冷,弃取乙醚液,加 200 ml 85%乙醇加热回流至提取液无色,放冷后过滤于 200 ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 ml 置 50 ml 量瓶中,加 50%乙醇至刻度,待用。

2.3 最大吸收波长的确定 取 3 个 25 ml 量瓶,1 号不加,后两个分别加入 1 ml 标准品液和 2 ml 样品液,3 个瓶中再加 50%乙醇至 6 ml,加 5%亚硝酸钠 1 ml,摇匀后放置 6 min,加 10%硝酸铝 1 ml,摇匀放置 6 min 后,加 10%氢氧化钠 10 ml,再加 50%乙醇至刻度,摇匀放置 15 min 后,以 1 号为空白,在 400~600 nm 波长范围内对标准品和样品进行扫描。结果表明标准品和样品液均在 508.7 nm 处有最大吸收,故实验确定 509 nm 为测定波长。

2.4 标准曲线的绘制 精密吸取标准品液 0.0,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 和 6.0 ml,分别置于 25 ml 量瓶中,其余操作同“2.3”,以 1 号为空白,在 509 nm 波长处测定吸光度。结果表明在 0~1.2 mg 浓度范围内,吸光度与浓度成线性关系。吸光度与浓度的回归方程为: $A = 0.4502c - 0.1044$ ($r = 0.9992$)。

2.5 回收率试验 精密称取 5 份已知总黄酮含量的全草样品 10.00 g,各加入一定量的芦丁标准品,同法制得样品液,总黄酮的含量测定按“标准曲线”项下进行,计算回收率,结果见表 1。

2.6 稳定性考查 在显色后 0,10,20,30,40,50 和 60 min 测定,吸收度分别为 0.375,0.374,0.376,0.375,0.375,0.380 和 0.385。故选择显色后 40 min 内测定。

2.7 重现性试验 取同一样品按含量测定方法重复取样测

* 浙江省卫生厅课题(96-048 号)

表 1 回收率试验结果

序号	所加芦丁 / mg	回收芦丁 / mg	回收率 / %	平均回收 率/ %	RSD / %
1	10 .5210	10 .6157	100 .9		
2	10 .5032	10 .3351	98 .40		
3	10 .5392	10 .3073	97 .80	98 .82	1 .45
4	10 .5528	10 .2784	97 .40		
5	10 .5192	10 .4771	99 .60		

定 6 次 ,其平均含量为 63 .11 mg/ g , RSD = 1 .53 % 。

2.8 提取条件的选择 为探索乙醇浓度对六月霜总黄酮的影响 ,各取六月霜全草干燥粉末 10g ,置索氏提取器中 ,加乙醚 300ml 加热回流至提取液无色 ,放冷 ,弃去乙醚液 ,分别加 75 % ,85 %和 95 %三个浓度的乙醇各 200 ml ,加热回流至提取液无色 ,放冷后过滤于 200ml 量瓶中并定容。各吸 5 ml 提取液置 50 ml 量瓶中 ,加 50 %乙醇稀释至刻度。再各取 2 ml 置 25 ml 量瓶中 ,按标准曲线下操作 ,测定总黄酮的含量 ,结果见表 2 。

表 2 六月霜全草总黄酮含量/ $n = 5$

序号	乙醇浓度/ %	总黄酮含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/ %
1	75	52 .10	1 .30
2	85	63 .10	1 .28
3	95	41 .66	1 .48

2.9 六月霜不同采收时期及部位的总黄酮的含量测定 各取不同采收时期六月霜的全草及茎、叶、花不同部位干燥粉末各 10g ,置索氏提取器中 ,加乙醚 300 ml 加热回流至提取液无色 ,放冷 ,弃取乙醚液 ,加 85 %浓度的乙醇各 200 ml ,其余操作同“ 2 .8 ” ,测得总黄酮含量见表 3 。

3 讨 论

3.1 由实验可知 85 %的乙醇提取效果最佳 ,符合黄酮类化

表 3 六月霜全草及不同部位总黄酮的含量/ $n = 5$

样 品	总黄酮含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/ %
幼苗期	21 .32	0 .53
花蕾期	41 .33	1 .03
开花期	63 .10	1 .28
茎	21 .14	0 .98
叶	53 .12	0 .87
花	95 .74	0 .75

合物在 80 % ~ 90 %乙醇中溶解度最大的报道^[5]。实验中曾考察提取时间对总黄酮的影响 ,发现提取的最佳时间为 3 h ,且再延长时间也不会明显提高总黄酮的含量。故实验提取时间为 3 h 。

3.2 本研究表明 ,以芦丁为对照品 ,采用分光光度法测定六月霜不同部位的总黄酮含量 ,经扫描最大吸收波长为 509 nm ,与文献稍有不同 ,加显色剂前样品溶液颜色很浅 ,不必对样品进行纯化处理。本法简便、准确、稳定、线性关系良好。

3.3 根据测定结果 ,六月霜开花期总黄酮含量最高 ,花蕾期次之 ,幼苗期的含量最少 ;各部位花的含量最高 ,叶次之 ,茎的含量最低。可能是花的药价值最大。建议六月霜宜于开花时期采集。在药材收购时应引起注意。

参考文献

1 凌一葵 .中药学 .上海 :科学技术出版社 ,1994 : 166
2 冉先德 ,徐和根 ,侯献平等 .中华药海 .哈尔滨市出版社 ,1996 : 1184
3 薛德华 ,赵健 ,王春根等 .鬼针草茎叶和果实中总黄酮的含量测定 .基层中药杂志 ,1996 ,10(1 : 39)
4 中国药典 .广东科技出版社 .1995 : 311
5 王敦清 ,李先春 .草珊瑚根茎叶中总黄酮成分的研究 .中草药 ,1996 ,27(6) : 337