

· 中药与天然药物 ·

产地对桑叶中黄酮类成分含量的影响

张如松 许静怡¹ 叶益萍 戚宝凤(杭州 310013 浙江省医学科学院药物所;¹ 杭州 310013 浙江医科大学药学院 93 届毕业生)

摘要 目的:对浙江省不同产地桑叶中黄酮类成分的含量进行了比较。方法:采用分光光度法测定了嘉兴、金华、临安、温州、湖州①、宁波、仙居、余杭、湖州②9个产地桑叶中黄酮的含量。结果:①黄酮含量差异明显,范围在0.753%~4.849%之间。②在9个产地中,以临安产的桑叶中黄酮类成分含量最高,嘉兴的最低。结论:产地对桑叶中黄酮类成分含量影响较大。

关键词 桑叶;黄酮;含量测定

Effect on the content of flavonoids in Morus Leaf by different growing area

Zhang Rusong(Zhang RS), Xu Jingyi(Xu JY), Ye Yiping(Ye YP), *et al*(Zhejiang Academy of Medical Sciences, Institute of Materia Medica, Hangzhou 310013)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the contents of flavonoids in Morus Leaf from different growing places. **METHOD:** The contents of flavonoids in Morus Leaf from Jianxing, Jinhua, Lin'an, Wenzhou, Huzhou ①, Ningbo, Xianju, Yuhang and Huzhou ②, was determined by spectrophotometry. **RESULTS:** ①The contents differed greatly within the range of 0.753%~4.849%. ②The content of flavonoids in Morus Leaf producing in Linan was the highest and that in Jiaying was the lowest among the nine samples. **CONCLUSION:** Growing places have great influences on the contents of flavonoids in Morus Leaf.

KEY WORDS Morus Leaf, flavonoid, assay

桑叶始载于《神农本草经》,为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶,全国大部分地区均产,尤以江苏、浙江一带为多。本品性寒,味甘、苦,具有疏散风热,清肺润燥,清肝明目的功能,是常用中药之一。桑叶含有的成分比较复杂,黄酮类是其主要的有效成分^[1]。为了更好地开展桑叶药材质量标准化研究,本文以分光光度法测定桑叶中黄酮成分的含量,对不同产地桑叶中黄酮类成分的含量进行了比较研究。

1 材料、仪器及试剂

1.1 材料

本试验所用桑叶经鉴定为 *Morus alba* L. 的干燥叶,采自嘉兴、临安、宁波、余杭、温州、湖州①、湖州②、仙居、金华九个产地,采集日期均在1996年12月(霜降后)。采集后阴干,含量测定前研为粗粉,充分混匀,备用。

1.2 仪器

HITACHI UV-2000 分光光度计。

1.3 试剂

乙醚、石油醚、甲醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠(均为分析纯)、芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用,0080-9504)。

2 实验方法与结果

2.1 提取条件的研究

2.1.1 脱脂条件的比较 ①称取60℃干燥6h的桑叶粗粉2份,各约1g,分别置索氏提取器中,其中一份加入石油醚,另一份加入乙醚,平行操作,加热回流1.5h至提取液无色,弃去醚液,挥干。加入甲醇加热回流8h至提取液无色,放冷,滤过,滤液移入100ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度。精密量取50ml置100ml量瓶中,用水稀释至刻度。精密量取3.0ml,置25ml量瓶中,加水至6.0ml,加入5%亚硝酸钠1ml,摇匀,放置6min,加10%硝酸铝1ml,摇匀,放置6min,加氢氧化钠试液

10 ml,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min,在 400 ~ 600 nm 波长范围内进行扫描,结果表明,由于 2 份样品溶液较浑浊,使最大吸收峰不明显。②采用上述同样的方法,而脱脂时间为 10h,得到的样品溶液澄清,在 504 nm 波长处有最大吸收(图 1)。并且比较了乙醚和石油醚的脱脂效果,结果表明,乙醚的脱脂效果优于石油醚。

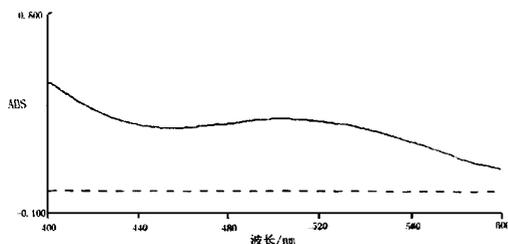


图 1 样品溶液(乙醚脱脂 10h)的吸收图谱

2.1.2 提取时间的比较 以 HCl-Mg 反应对不同提取时间的提取液进行定性试验(表 1);另外,取提取 8h 的提取液,在 500 nm 处的吸收度为 0.002,仅为总提取液的 0.49%。

表 1 提取时间的比较结果*

提取时间/h	HCl-Mg 粉反应
2	淡黄色
3	淡黄绿色
4	淡黄绿色
5	淡黄绿色
6	淡黄绿色
7	近无色
8	无色
9	无色

注: * 芦丁对照品与 HCl-Mg 粉反应黄略带绿色

上述结果表明,提取 8h,桑叶中的黄酮类成分可以提取完全。

2.1.3 叶绿素等成分的干扰试验 用乙醚脱脂,取脱脂后的乙醚溶液适量置蒸发皿中,挥干乙醚,残渣用甲醇溶解,过滤,滤液照上述 2.1.1 ①项下的方法,自“移入 100 ml 量瓶中”起,依法在 300 ~ 800 nm 波长范围内进行扫描,结果表明叶绿素等脂溶性成分在 500 nm 左右的波长处基本无吸收(图 2),故不会干扰黄酮类成分的含量测定。

上述试验表明:用乙醚脱脂约 10h,再用甲醇提取 8h 的提取方法可行。

2.2 最大吸收波长的选择

精密称取芦丁对照品 0.1401 g,置 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度。精密吸取 10 ml 置 100 ml 量瓶中,加水稀释至刻度。精密吸取 3.0 ml,置 25 ml 量瓶

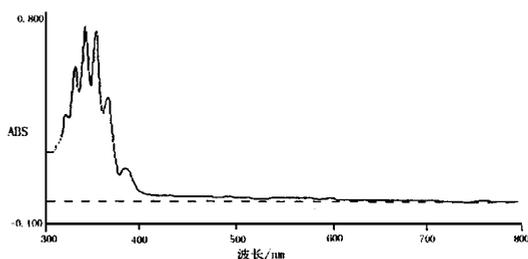


图 2 脱脂后的乙醚溶液的吸收图谱

中,照上述脱脂条件的比较项下的方法,自“加水至 6 ml”起,依法在 400 ~ 600 nm 的波长范围内进行扫描,结果在 504 nm 的波长处有最大吸收。另取样品提取液依法进行扫描,结果在 504 nm 的波处有最大吸收。故本实验最大吸收波长定在 500 nm。

2.3 标准曲线的制备

精密称取 112 °C 干燥至恒重的芦丁对照品 0.1730 g,置 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀。精密吸取 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 和 6.0 ml,分别置 25 ml 量瓶中,各加水至 6.0 ml,加 5% 亚硝酸钠 1 ml,摇匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝 1 ml,摇匀,放置 6 min,加氢氧化钠试液 10 ml,加水至刻度,摇匀,放置 15 min,在 500 nm 处测定吸收度(表 2),以吸收度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线(图 3)。

表 2 线性关系考察结果

吸收度/A	样品浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$
0	0
0.030	3.46
0.075	6.92
0.153	13.84
0.233	20.76
0.307	27.68
0.392	34.60
0.464	41.52

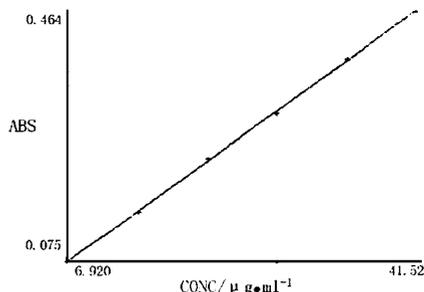


图 3 标准曲线图

结果在 0 ~ 1038 μg 范围内呈线性关系,回归方程为: $c = 88.30 A + 0.34$, $r = 0.9998$ 。

2.4 重复性试验

取临安产桑叶粗粉 5 份,各约 1g,于 60℃干燥 6h,精密称定,分别置索氏提取器中,加乙醚各 100 ml,加热回流 10h 至提取液无色,弃去醚液,挥干,加甲醇各 90 ml,加热回流 8h 至提取液无色,滤过,滤液移至 100 ml 量瓶中,用甲醇少量洗涤容器,洗液并入量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。照上述脱脂条件的比较项下的方法,自“精密量取 50 ml 置 100 ml 量瓶中”起,依法在 500 nm 波长处测定吸收度,结果含量分别为 5.176%,5.000%,4.927%,4.942% 和 4.972%,平均含量 5.003%,RSD 为 2.009%。

2.5 稳定性试验

精密称取经 60℃干燥 6h 的临安产桑叶粗粉,按上述重复性试验项下的方法提取,及制备样品溶液,并分别于 6,10,15,20,25,30,40,50,60 和 70 min 测定其吸收度分别为 0.461,0.449,0.425,0.418,0.408,0.399,0.390,0.381,0.368 和 0.357,结果表明在 15~50 min 内吸收度基本保持不变,15~50 min 内吸收度值的 RSD=4.149%。

2.6 精密度试验

称取经 60℃干燥 6h 的宁波产桑叶粗粉 1.0g,照上述重复性试验项下的方法,依法提取及制备样品溶液,分别重复测定 5 次,结果吸收度的 RSD 为 2.852%。

2.7 回收率试验

采用加样回收,照上述重复性试验项下的方法,依法提取、测定,结果平均回收率为 93.21%,RSD 为 1.253%(表 3)。

表 3 回收率试验结果($n=5$)

相当于样品中所含芦丁量/mg	加入芦丁对照品量/mg	实测值/mg	回收率/%
8.168	7.7	15.48	94.96
8.753	7.6	15.78	92.46
8.753	8.0	16.22	93.33
8.753	7.2	15.48	93.43
8.753	7.8	15.92	91.88

2.8 样品含量测定

精密称取经 60℃干燥 6h 的 9 个产地的桑叶粗粉,分别照上述重复性试验项下的方法,依法提取、测定,结果见表 4。

表 4 样品测定结果($n=3$)

产地	含量			平均含量/%	RSD/%
临安	4.679	4.927	4.942	4.849	3.046
湖州①	2.732	2.878	2.805	2.805	2.602
金华	2.778	2.646	2.529	2.651	4.699
余杭	2.250	2.353	2.323	2.309	2.295
湖州②	2.146	2.234	2.205	2.195	2.043
仙居	1.665	1.635	1.562	1.621	3.269
宁波	1.372	1.357	1.328	1.352	1.654
温州	0.889	0.904	0.933	0.909	2.462
嘉兴	0.758	0.729	0.773	0.753	2.969

3 结果与讨论

用分光光度法测定桑叶中黄酮类成分的含量,其方法可行,重复性试验 RSD 为 3.642%,精密度试验 RSD 为 2.852%,加样平均回收率为 94.00%($n=5$, RSD=1.05%)。表明本方法稳定,准确,实用。

应用分光光度法测定浙江省不同产地桑叶中黄酮类成分的含量,结果其含量差异较为明显,含量范围在 0.753%~4.849%之间,其中以临安产的最高,而嘉兴产的则最低,可见产地对桑叶中黄酮类成分含量的影响较大。

参考文献

- 1 中国医学科学院药用植物资源开发研究所,等.中药志(V).北京:人民卫生出版社,1994:98.
- 2 卫生部药典委员会.中国药典(二部).广州:广东科技出版社,1995:311.