

桑叶药材中总黄酮含量的测定

吕丹*,王海波,邸学,张振秋*(辽宁中医药大学药学院,辽宁大连 116600)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)06-0844-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.06.40

摘要 目的:建立测定桑叶中总黄酮含量的方法。方法:采用紫外可见分光光度法。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处测定桑叶中总黄酮的含量。结果:芦丁检测质量浓度线性范围为0.031 2~0.156 mg/ml($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD $<2\%$;加样回收率为95.7%~101.0%(RSD=2.1%, $n=6$)。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,可用于桑叶中总黄酮含量的测定。

关键词 桑叶;总黄酮;紫外可见分光光度法

Content Determination of Total Flavonoids in *Morus alba*

LYU Dan, WANG Haibo, DI Xue, ZHANG Zhenqiu (College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Liaoning Dalian 116600, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of total flavonoids in *Morus alba*. METHODS: UV-visible spectrophotometry was performed with $Al(NO_3)_3-NaNO_2-NaOH$ color-test at the wavelength of 510 nm with the reference of rutin. RESULTS: The linear range of rutin was 0.031 2-0.156 mg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 95.7%-101.0% (RSD=2.1%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible, and can be used for the content determination of total flavonoids in *M. alba*.

KEYWORDS *Morus alba*; Total flavonoids; UV-visible spectrophotometry

桑叶始载于《神农本草经》,为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥叶,具有疏散风热、清肺润燥、清肝明目之功,临床常用于治疗风热感冒、肺热燥咳、头晕头痛、目赤昏花等证^[1]。现代药理研究表明,桑叶中含有黄酮、生物碱、多糖、维生素、氨基酸等成分,其中黄酮类成分如芦丁、槲皮素、异槲皮苷等具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗肿瘤和抗菌等作用^[2-4]。本试验旨在测定不同来源桑叶药材中总黄酮含量(以芦丁计),为其质量控制提供参考和依据。

1 材料

1.1 仪器

AR2140型分析天平(美国AVS公司);CP225D型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);SG330H型超声清洗仪(上海冠特超声仪器有限公司);UV-1240型紫外分光光度计(日本Shimadzu公司)。

1.2 试剂

芦丁对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号: MUST-10060,纯度 $>98.5\%$);乙醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

1.3 药材

10批桑叶药材样品(见表1)经辽宁中医药大学许亮副教授鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 取芦丁对照品适量,精密称定,加75%乙醇制成每1 ml含芦丁0.156 0 mg的对照品溶液。

* 硕士研究生。研究方向:中药分析。E-mail: lvdan219@hotmail.com.

通信作者:教授,博士。研究方向:中药分析。E-mail: zhangzhenqiu@sina.com

表1 桑叶药材样品来源

Tab 1 Sources of *M. alba*

编号	样品来源	采购时间
1	辽宁大连(购买)	2013.06
2	山西(购买)	2013.05
3	沈阳和平区(采集)	2013.10
4	辽宁大连大黑山(采集)	2013.11
5	辽宁大连(购买)	2013.06
6	辽宁大连(购买)	2013.06
7	山西(购买)	2013.05
8	山西(购买)	2014.05
9	辽宁大连董牛岭(采集)	2013.10
10	安徽(购买)	2013.01

2.1.2 供试品溶液 取样品粉末(过20目筛)约5.0 g,精密称定,置于锥形瓶中,加75%乙醇25 ml,超声(功率:250 W,频率:40 kHz)提取2次,每次30 min,滤过,合并滤液,置于50 ml量瓶中,用75%乙醇定容,即得。

2.2 检测波长的选择

精密量取“2.1.2”项下供试品溶液0.1 ml,置于10 ml量瓶中,加75%乙醇定容。取“2.1.1”项下对照品溶液作对照,在紫外-可见分光光度计200~600 nm波长范围内进行扫描,以75%乙醇为空白试剂。结果,供试品和对照品均在510 nm波长处有最大吸收,表明510 nm为最适检测波长。

2.3 线性关系考察

精密吸取“2.1.1”项下对照品溶液0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,分别置于10 ml量瓶中,分别加75%乙醇稀释至5 ml,加5%亚硝酸钠溶液0.3 ml,摇匀,放置3 min;然后加10%亚硝酸铝溶液0.3 ml,摇匀,放置3 min;再加4%氢氧化钠溶液4 ml后加水定容,摇匀,放置5 min后,在510 nm波长处测定吸光度。以芦丁质量浓度(x , mg/ml)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标进

行线性回归,得回归方程为 $y=5.0067x+0.0097$ ($r=0.9999$)。结果表明,芦丁检测质量浓度线性范围为0.0312~0.156 mg/ml。

2.4 精密度试验

取“2.1.1”项下对照品溶液适量,连续进样测定6次,记录吸光度。结果,芦丁吸光度的RSD=0.28%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取“2.1.2”项下供试品溶液(编号:2)适量,分别于放置0、10、20、30、40、50、60 min进样测定,记录吸光度。结果,芦丁吸光度的RSD=0.9%($n=7$),表明供试品溶液在60 min内基本稳定。

2.6 重复性试验

精密称取同一批样品(编号:2)适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,进样测定,记录吸光度。结果,芦丁吸光度的RSD=1.2%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量样品(编号:2)适量,共6份,分别加入一定质量的芦丁对照品,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery test($n=6$)

取样量,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,%
0.5034	3.435	3.120	6.621	101.0		
0.5019	3.425	3.120	6.275	95.7		
0.5042	3.440	3.120	6.313	96.3	97.7	2.1
0.5028	3.431	3.120	6.381	97.3		
0.5031	3.433	3.120	6.438	98.2		
0.5036	3.429	3.120	6.439	96.5		

2.8 样品含量测定

取10批样品各适量,分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,计算样品含量,结果见表3(总黄酮含量以芦丁计)。

表3 样品含量测定结果

Tab 3 Results of contents determination of samples($n=3$)

编号	总黄酮,mg/g	编号	总黄酮,mg/g
1	14.34	6	11.96
2	14.20	7	9.306
3	15.11	8	6.823
4	14.44	9	14.410
5	13.61	10	5.305

3 讨论

桑叶是我国传统的中药材,也是药食两用的重要资源,黄酮类化合物是其重要的活性成分,约占干叶质量的3.3%,是植物茎叶中黄酮类化合物含量较多的植物^[5-6]。现代药理表明,

桑叶黄酮类成分中芦丁具有多种药理作用^[7-10];桑叶总黄酮可抑制肠道对胆固醇的吸收,降低血液黏度,因此降血脂效果较为显著^[11]。由此可见,总黄酮的含量对桑叶药材质量有较大影响,由于不同来源桑叶药材总黄酮含量可能不同^[10],有必要对其进行测定。

本试验通过测定不同来源的桑叶药材中总黄酮含量发现,其总黄酮含量在5.305~15.11 mg/g之间,其中安徽产桑叶中总黄酮含量最低,沈阳产桑叶中总黄酮含量最高。由此可见,不同来源的桑叶药材质量存在显著差异,在开发利用时应注意总黄酮含量对桑叶药材质量的影响^[12]。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:279.
- [2] Doi K, Kojima T, Makino M, *et al.* Studies on the constituents of the leaves of *Morus alba* L. [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(2): 151.
- [3] 李明聪,杨丹,郭英,等.桑叶中黄酮类化学成分及药理作用研究进展[J].辽宁中医杂志,2012,39(2):377.
- [4] 谭秦莉,刘冬,李玉宝,等.总黄酮化合物药理作用研究进展[J].安徽中医学院学报,2009,28(3):62.
- [5] 王艳.荧光分析法测定桑叶中总黄酮含量的研究[J].中国酿造,2008(6):90.
- [6] 刘杰,潘见,张文成,等.HPLC法分析桑叶提取物总黄酮苷的水解条件研究[J].天然产物研究与开发,2009,21(5):109.
- [7] 金越,吕勇,韩国柱,等.槲皮素及异槲皮素,芦丁抗自由基活性的比较研究[J].中草药,2007,38(3):408.
- [8] 郭旭东,刁其玉,郭宇廷,等.芦丁对大鼠免疫器官指数的影响[J].动物医学进展,2011,32(11):70.
- [9] 王素琴,汤玲君,王艳.芦丁对糖尿病肾病大鼠的保护作用及其机制探讨[J].医学研究杂志,2012,41(10):144.
- [10] Volate SR, Davenport DM, Muga SJ, *et al.* Modulation of aberrant crypt foci and apoptosis by dietary herbal supplements (quercetin, curcumin, silymarin, ginseng and rutin)[J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(8): 14 50.
- [11] 白永亮,段金廛,宿树兰,等.桑叶干燥过程中黄酮类和生物碱类成分动态变化分析[J].中药材,2014,37(7):1 158.
- [12] 游元元,万德光,杨文字,等.HPLC法比较不同产地桑叶药材品质差异[J].中国药房,2010,21(35):3 314.

(收稿日期:2015-04-14 修回日期:2015-08-11)

(编辑:张静)