

## 黔产铁苋菜不同炮制品中活性成分含量比较

李雪莹<sup>1</sup>, 刘晓梦<sup>2</sup>, 余跃生<sup>1</sup>, 孙晓惠<sup>1</sup>, 魏学军<sup>1\*</sup>

(1. 黔南民族医学高等专科学校, 贵州 都匀 558003;

2. 贵阳医学院第三附属医院, 贵州 都匀 558004)

**[摘要]** 目的:比较铁苋菜不同炮制品中没食子酸、总黄酮的含量,探讨炮制方法对铁苋菜活性成分的影响。方法:采用HPLC测定没食子酸含量,流动相乙腈-0.05%磷酸(4:96),检测波长270 nm;以芦丁为指标成分,运用UV测定总黄酮含量,检测波长515 nm。比较铁苋菜炒黄品、炒焦品、炒炭品、酒炙品、醋炙品、生品中没食子酸和总黄酮的含量差异。结果:铁苋菜炮制前后没食子酸和总黄酮的含量发生了变化。各炮制品中没食子酸含量排序为炒黄品>酒炙品>醋炙品>炒焦品>生品>炒炭品;总黄酮含量排序为醋炙品>酒炙品>炒焦品>炒黄品>生品>炒炭品。结论:炮制方法对黔产铁苋菜中没食子酸和总黄酮含量具有一定影响,炒炭品中这2种成分含量最低。

**[关键词]** 铁苋菜; 炮制方法; 没食子酸; 总黄酮; 芦丁

**[中图分类号]** R283.3;R283.1;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)02-0033-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020033

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141204.1001.007.html>

**[网络出版时间]** 2014124 10:01

### Content Comparison of Active Ingredients in Different Processed Products of *Acalypha australis* in Guizhou

LI Xue-ying<sup>1</sup>, LIU Xiao-meng<sup>2</sup>, YU Yue-sheng<sup>1</sup>, SUN Xiao-hui<sup>1</sup>, WEI Xue-jun<sup>1\*</sup> (1. Qiannan Medical College for Nationalities, Duyun 558003, China; 2. The Third Affiliated Hospital of Guiyang Medical University, Duyun 558004, China)

**[Abstract]** **Objective:** By comparing contents of gallic acid and total flavonoids from different processed products of *Acalypha australis* to explore influence of processing methods on the content of active ingredients in *A. australis*. **Method:** HPLC was adopted to determine the content of gallic acid with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (4:96) and detection wavelength at 270 nm. UV was employed to determine the content of total flavonoids with rutin as index components and detection wavelength at 515 nm. Compared content differences of these two ingredients from different processed products of *A. australis*. **Result:** There were changes after concocted on contents of gallic acid and total flavonoids in *A. australis*. Order of the content of gallic acid in each product was fried yellow product > wine sunburn product > vinegar sunburn product > fried coke product > raw product > fried carbon product, the content of total flavonoids was in the order of vinegar sunburn product > wine sunburn product > fried coke product > fried yellow product > raw product > fried carbon product. **Conclusion:** Processing methods have a certain influence in contents of gallic acid and total flavonoids, the minimum contents of these two ingredients are both in fried carbon product.

**[Key words]** *Acalypha australis*; processing method; gallic acid; total flavonoids; rutin

铁苋菜主要成分包括黄酮类、生物碱类、鞣质等,具有清热利湿、收敛止血的功能<sup>[1]</sup>。由于资源丰富、疗效显著,在贵州苗族聚集区被广泛应用,是

一种重要的药食同源品种,苗药亦称海蚌含珠<sup>[2]</sup>,具有良好的开发应用前景。没食子酸和总黄酮是铁苋菜的重要活性成分,具有抗菌消炎、止泻、止血、平

**[收稿日期]** 20140517(011)

**[基金项目]** 贵州省教育厅自然科学研究项目(20090119);黔南民族医学高等专科学校项目(QNYZ201328)

**[第一作者]** 李雪莹,助教,从事天然药物质量控制研究,Tel:15285359735,E-mail:lixueying021@163.com

**[通讯作者]** \*魏学军,副教授,从事中药与民族药质量控制研究,Tel:0854-8308038,E-mail:qndywxj@163.com

喘、抗衰老和增强机体免疫等药理作用<sup>[3-7]</sup>。中药炮制作为增强天然药物疗效的重要技术手段,在药物的开发应用中意义显著。在前期研究基础上<sup>[8]</sup>,本实验为探讨炮制对铁苋菜活性成分和药效的影响,以总黄酮和没食子酸为指标成分,通过 HPLC 和 UV 分别测定并比较不同炮制品中指标成分含量,为该药材的药效学和炮制方法研究提供实验依据。

### 1 材料

LC-10ATvp 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),WMLSP 色谱工作站(南宁威玛龙公司),Cary 100 型双光束紫外-可见分光光度计(美国安捷伦公司),2.0R 型低速离心机(德国 Heraeus 公司),AE240 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

铁苋菜于 2013 年 7 月采自本校植物园试验田,经本校药理学系朱文仁副教授鉴定为大戟科植物铁苋菜 *Acalypha australis* 的干燥全草。绍兴黄酒、山西陈醋均购自当地超市,没食子酸、芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110831-200803,100080-200707),乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 铁苋菜炮制品的制备** 将新鲜净制的铁苋菜摘取全叶,切成 5 mm 宽丝;根、茎切成 10 mm 长段,干燥后混匀,得生品。另按《中国药典》2010 年版一部附录 II D 炮制通则制备得炒黄品、炒焦品、炒炭品、酒炙品、醋炙品。

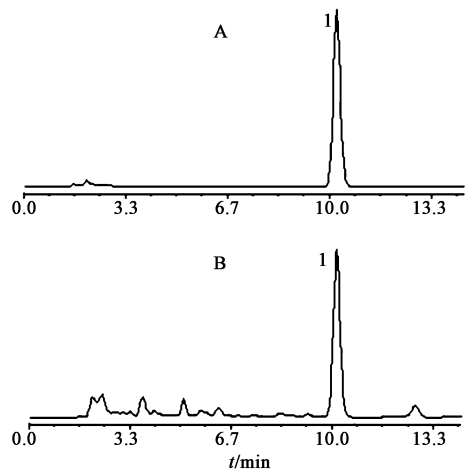
#### 2.2 没食子酸和总黄酮的含量测定<sup>[8]</sup>

**2.2.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05% 磷酸(4:96),检测波长 270 nm,柱温室温,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 20 μL。理论塔板数按没食子酸峰计算应不低于 6 000,见图 1。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 精密称取过 3 号筛并干燥至恒重的不同铁苋菜炮制品粉末 2.0 g,加 20 倍量水于 80 °C 回流提取 2 次,每次 3 h,合并提取液,过滤,离心(3 000 r·min<sup>-1</sup>, 5 min),浓缩后加水定容至 100 mL 量瓶中,摇匀,冷藏备用。

**2.2.3 对照品溶液的制备** 精密称取没食子酸对照品 22 mg,用流动相定容至 100 mL 量瓶中,摇匀,得没食子酸对照品溶液。精密称取芦丁对照品 22 mg,加 60% 乙醇溶解并定容至 100 mL 量瓶中,摇匀,得芦丁对照品溶液。

**2.2.4 标准曲线的制备** 精密移取没食子酸对照品溶液 1 mL 至 10 mL 量瓶中,用流动相定容至刻



A. 对照品; B. 供试品; 1. 没食子酸

图 1 铁苋菜生品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of raw product of *Acalypha australis*

度,精密移取不同体积对照品溶液按 2.2.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得线性方程  $Y = 3.412 \times 10^7 X - 3\ 192.454$  ( $r = 0.999\ 9$ ),线性范围 0.022 ~ 0.22 μg。

精密移取芦丁对照品溶液 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,加 60% 乙醇稀释至 5 mL,加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.5 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% 硝酸铝溶液 0.5 mL,摇匀,放置 5 min;加 4% 氢氧化钠溶液 4 mL,摇匀放置 12 min。以第 1 管溶液作为空白对照,于 515 nm 处测定吸光度(A),以芦丁质量浓度(C)为横坐标,A 为纵坐标,得线性方程  $A = 5.724C - 0.005$  ( $r = 0.999\ 2$ ),线性范围 11 ~ 66 μg。

**2.2.5 精密度试验** 取没食子酸对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算没食子酸峰面积的 RSD 1.1%。另取芦丁对照品溶液 2.0 mL,按 2.2.4 项下标准曲线制备条件连续测定 6 次,计算 RSD 0.9%,表明仪器精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算没食子酸峰面积的 RSD 1.4%,说明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。另取同一供试品溶液 2.0 mL,按 2.2.4 项下芦丁标准曲线制备条件在 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 min 各测定 1 次,计算 A 的 RSD 1.3%,说明供试品溶液在 180 min 内稳定。

**2.2.7 重复性试验** 取铁苋菜生品 5 份,按 2.2.2 项下制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算没食子酸含量的 RSD 1.4%。另取同一供试品溶液 2.0 mL,按 2.2.4 项下芦丁标准曲线制备条件

测定,计算A的RSD 2.1%。

**2.2.8 加样回收率试验** 取已知没食子酸含量(7.28 mg·g<sup>-1</sup>)的铁苋菜生品6份,各加入没食子酸对照品2.20 mg,按2.2.2项下制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,结果没食子酸平均回收率100.23%,RSD 2.4%。另取已知总黄酮含量(4.17 mg·g<sup>-1</sup>)的铁苋菜生品6份,各加入芦丁对照品2.20 mg,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,取供试品溶液2.0 mL,按2.2.4项下芦丁标准曲线制备条件测定,平均回收率98.87%,RSD 1.4%。

**2.2.9 样品测定** 取铁苋菜不同炮制品适量,按2.2.2项下制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定没食子酸含量。另取不同炮制品的供试品溶液2.0 mL,按2.2.4项下芦丁标准曲线制备条件测定总黄酮含量,结果见表1。

表1 铁苋菜不同炮制品中没食子酸及总黄酮含量的比较(n=3)

Table 1 Comparison of gallic acid and total flavonoids in different processed products of *Acalypha australis*(n=3)

样品	没食子酸	RSD	增加率	总黄酮	RSD	增加率
	/mg·g <sup>-1</sup>	/%	/%	/mg·g <sup>-1</sup>	/%	/%
生品	7.37	1.44	0	4.19	2.36	0
炒黄	8.92	1.67	21.03	4.63	1.41	10.50
炒焦	7.67	2.38	4.07	4.68	2.43	11.69
炒炭	5.61	1.51	-23.88	3.64	1.35	-13.13
酒炙	8.54	1.78	15.88	4.71	1.62	12.41
醋炙	8.13	1.63	10.31	4.82	1.54	15.04

### 3 讨论

本文铁苋菜炮制品的选择,一方面是基于当地苗医有酒泡、醋泡铁苋菜内服治疗哮喘和腹泻、红白痢疾症,将其炭化(程度不一)治疗外伤出血的应用;另一方面结合辛散酸收的性味与疗效关系,炒炭增强止血作用的理论基础,故选择酒炙品、醋炙品和炒炭品为考察对象。同时考虑到炭化程度存在不统一的状况,继而扩展考察炒黄品和炒焦品。

供试品溶液的制备选择水为提取溶媒,比较回流法、超声法、微波法的提取效率,结果以回流法为最佳。采用正交试验对影响回流提取的料液比、提取温度、提取时间和提取次数进行优化,最终确定了提取方法。铁苋菜含有芦丁<sup>[9]</sup>,故选择芦丁为总黄酮含量测定的指标成分。

不同炮制方法对铁苋菜中没食子酸和总黄酮量有一定影响。没食子酸量除炒炭制品较生品降低外,其余制品均有不同程度增高,顺序依次为炒黄品>酒炙品>醋炙品>炒焦品>生品>炒炭品,原因可能与没食子酸作为可水解鞣质的结构单元和辅料性质有

关。炒黄品、酒炙品及醋炙品均用文火炒制,温度较低,有利于鞣质水解,故含量较高;随着炒制温度的升高,水分大量蒸发,不利于鞣质水解,故炒焦品(中火、温度较高)增加不明显,炒炭品(武火、温度高)降低明显。前期研究表明乙醇是提取没食子酸的良好溶剂<sup>[10]</sup>,因而酒炙品中没食子酸含量相对较高,醋炙品亦有一定相关性;炒炭过度或灰化可能是导致炒炭品中该成分含量降低的相关因素。

总黄酮量除炒炭品较生品降低外,其余炮制品均有不同程度增高,顺序依次为醋炙品>酒炙品>炒焦品>炒黄品>生品>炒炭品,原因可能与辅料性质<sup>[11]</sup>和温度对总黄酮的溶出有关。辅料醋、酒有利于总黄酮的溶出,因而含量较生品增高;温度升高一定范围,药材质变酥脆,利于总黄酮的溶出,过高温度则破坏总黄酮的结构,故炒焦品和炒黄品中总黄酮含量有所增加,但炒炭品中则降低明显。

#### [参考文献]

[1] 卫生部药典委员会. 卫生部颁药品标准:中药材. 第1册[M]. 北京:卫生部药典委员会出版社,1992:71.

[2] 邱德文,杜江. 中华本草:苗药卷[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2005:456-457.

[3] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社,2006:2601-2602.

[4] Kimura Y, Okuda H, Okuda T, et al. Studies on the activities to tannins and related compounds on arachidonate metabolism in human polymorph onuclear leukocytes[J]. J Nat Prod, 1987, 50(3):392-399.

[5] 杨养贤,王晋源. 中药铁苋菜的药理研究概况[J]. 现代中医, 1997, 10(2):109-111.

[6] 梁曾恩妮,蒋道松,刘作梅,等. 铁苋菜总黄酮提取工艺优化及其抑菌效果的初步鉴定[J]. 湖南农业科学, 2008, (2):110-112.

[7] 王春景,刘高峰,李晶,等. 铁苋菜黄酮类化合物的提取及清除羟自由基作用的研究[J]. 光谱实验室, 2010, 27(3):797-802.

[8] 魏学军,林先燕,李雪营,等. 铁苋菜适宜产地加工方法研究[J]. 中成药, 2014, 36(5):1030-1033.

[9] Fan J D, Song B A, Yang S. Phenolic compounds from *Acalypha australis* [J]. Chem Nat Compd +, 2012, 48(3):489-490.

[10] 魏学军,陈明,余跃生,等. 正交试验优选黔产铁苋菜中没食子酸的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21):27-29.

[11] 覃文慧,黄克南,黄慧学. 不同炮制法对广西五月艾总黄酮含量及镇痛作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):51-53.

[责任编辑 刘德文]