

广西藤茶不同提取物中2种黄酮类成分的含量测定

洪江, 覃洁萍*, 奉艳花, 王淼
(广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的:测定藤茶不同提取物中2种主要活性成分双氢杨梅树皮素及杨梅树皮素的含量,为其研究开发提供科学依据。方法:采用反相高效液相色谱法。十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)柱,流动相甲醇-0.1%磷酸水溶液梯度洗脱,检测波长0~10 min,291 nm,10~30 min,375 nm。结果:藤茶嫩茎叶提取物中双氢杨梅树皮素含量高于地上部分提取物中的含量;藤茶嫩茎叶经炮制后其提取物中双氢杨梅树皮素的含量有较大提高;但随着煎煮时间延长,提取物中双氢杨梅树皮素的含量减少。结论:炮制及提取时间对藤茶提取物中活性成分的含量有较大影响。

[关键词] 藤茶;提取物;双氢杨梅树皮素;杨梅树皮素;高效液相色谱

[中图分类号] R284.1;R282.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)04-0056-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015040056

Determination of Contents of Dihydromyricetin and Myricetin in Ampelopsis Grossdentatae Caulis Extracts
HONG Jiang, QIN Jie-ping*, FENG Yan-hua, WANG Miao (College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To determine two main active constituents, dihydromyricetin and myricetin, in Tengchasu extracts which are derived from Ampelopsis Grossdentatae Caulis, and to provide scientific basis for the development and utilization of Ampelopsis Grossdentatae Caulis. **Method:** ODS was used as stationary phase, the mobile phase consisted of methanol and 0.1% H₃PO₄ water solution, and a gradient elution was used. The detection wavelengths were set at 291 nm for dihydromyricetin and 375 nm for myricetin. **Result:** The content of dihydromyricetin in the extract from the tender leave was higher than that from the aerial parts, and simple stir-fried can make the content of dihydromyricetin in the extract from the tender leave increased, but as the decocting time extended, the content of dihydromyricetin in the extract decreased. **Conclusion:** The preparation methods and decocting time have great influences on the content of the active ingredients in tengchasu extracts.

[Key words] Ampelopsis Grossdentatae Caulis; extract; dihydromyricetin; myricetin; RP-HPLC

广西藤茶又名藤茶,广泛分布于广西各地以及云南、广东、湖南等地。《中草药汇编》及《广西药用植物名录》记载,该药性味甘淡,具清热解暑等功效,主治黄疸型肝炎、感冒风热、咽喉肿痛,并具解酒作用^[1-2]。药理实验表明藤茶黄酮具有明显的抗炎和镇痛作用^[3],此外,还能明显增加小鼠胸腺和脾脏的质量,对氢化可的松所致胸腺和脾脏萎缩有一定的保护作用^[4],并有较好的降血糖、降血脂和抗氧化作用^[5-7]。藤茶中主要有效成分为黄酮类化合物^[8-9],前期研究建立了简便快速的藤茶黄酮(藤茶素)提取方

法,该提取物中主要活性成分双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素总含量高达90%以上^[10]。为考察该提取方法的适用性,本文测定了不同来源藤茶药材提取物中双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素的含量,为藤茶黄酮的规范化提取及其开发应用提供实验依据。

1 仪器与试剂

1100系列高效液相色谱仪(包括G1314A型VWD紫外检测器,G1313A型自动进样器,G1316A型智能化柱温箱,G1311A型四元梯度泵,G1322A型脱气机,美国安捷伦)。甲醇(优级纯,北京化工

[收稿日期] 20140505(015)

[基金项目] 广西科技攻关计划项目(桂科攻1355004-12);广西区中管局民族医药传承专项(GZBZ14-08)

[第一作者] 洪江,在读硕士,从事中药成分分析与质量控制研究,Tel:0771-2219877,E-mail:975337896@qq.com

[通讯作者] *覃洁萍,教授,硕士生导师,从事中药分析与质量控制研究,Tel:0771-2279189,E-mail:chinajqp6380@163.com

厂),水为二次重蒸水,其他试剂均为分析纯。双氢杨梅树皮素、杨梅树皮素对照品由广西中医药大学分析化学教研室提供,经 HPLC 进样 20 μg 按归一化法检测,双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素含量均达 > 99%,符合含量测定的要求。

本实验中所用藤茶采于广西金秀县和贵港市,并经本院药用植物教研室蔡毅教授鉴定为葡萄科植物显齿蛇葡萄 *Ampelopsis grossedentata* 的嫩茎叶。药材经 60 °C 烘干或按传统炮制方法炮制后备用。

2 藤茶提取物的制备

取加工好的藤茶地上部分或嫩茎叶,按文献 [8] 方法水煎煮提取,制得藤茶素提取物 1-1 ~ 1-6。藤茶药材及提取物样品信息见表 1。取加工好的藤茶地上部分或嫩茎叶,按文献 [8] 方法水煎煮提取法,提取时煎煮时间延长 2 倍,制得表 1 中藤茶素提取物 2-1 ~ 2-3。

表 1 藤茶药材及提取物样品信息

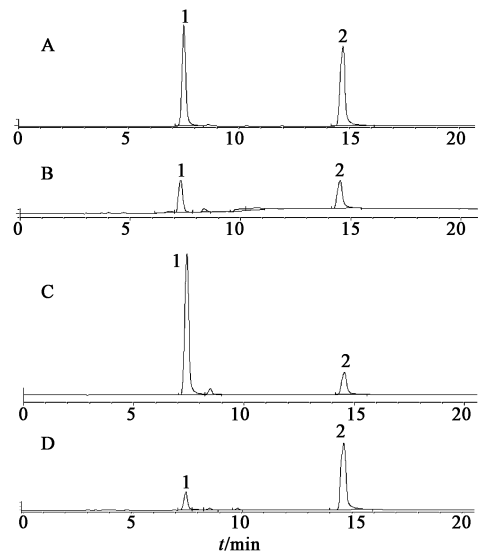
Table 1 Information of *Ampelopsis Grossdentatae* Caulis and the extracts

批次	产地	药材部位	加工方法	提取物性状	提取物得率/%
1-1	金秀长洞	地上部分	60 °C 烘干	土黄色	8.80
1-2	广西金秀	地上部分	60 °C 烘干	土黄色	8.90
1-3	广西金秀	地上部分	传统炮制	浅黄色	12.5
1-4	金秀长洞	嫩茎叶	60 °C 烘干	黄色	15.7
1-5	广西贵港	嫩茎叶	传统炮制	淡黄色	25.7
1-6	广西金秀	嫩茎叶	传统炮制	浅黄色	21.4
2-1	广西金秀	地上部分	传统炮制	黄色	8.80
2-2	广西金秀	嫩茎叶	传统炮制	黄色	19.1
2-3	广西贵港	嫩茎叶	传统炮制	黄色	23.3

3 方法与结果

3.1 色谱条件 Shimpack CLC ODS 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 磷酸, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 0 ~ 10 min, 291 nm; 10 ~ 30 min, 375 nm。见图 1。

3.2 检测波长的选择 从双氢杨梅树皮素、杨梅树皮素对照品的 UV 图谱, 可知双氢杨梅树皮素 λ_{max} 为 291 nm, 杨梅树皮素 λ_{max} 为 254 nm 和 375 nm。但 375 nm 处杨梅树皮素的吸收强度高于 254 nm 处, 为了同时测定 2 组分, 并获得最大测量灵敏度, 本实验选择 291 nm 和 375 nm 变换波长进行测定。在双氢杨梅树皮素的出峰时间 0 ~ 10 min 选择了 291 nm 作为检测波长, 而在杨梅树皮素的出峰时间



1. 双氢杨梅树皮素; 2. 杨梅树皮素; A. 混合对照品; B. 样品 1-2; C. 样品 1-3; D. 样品 2-1

图 1 藤茶样品 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Ampelopsis Grossdentatae* Caulis

10 ~ 20 min 选择 375 nm 作为检测波长。

3.3 对照品溶液的制备 精密称取双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素对照品适量, 置于量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 制成含双氢杨梅树皮素 1.15 g · L⁻¹, 杨梅树皮素 1.38 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液。

3.4 供试品溶液的制备 精密称取藤茶提取物 25 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加入甲醇 45 mL, 超声处理 40 min。放冷至室温后, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 过滤。精密移取续滤液 5 mL 到 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

3.5 线性关系考察 分别精密吸取 3.3 项下的混合对照品溶液 1, 2, 3 μL 和稀释 10 倍后的混合对照品溶液 1, 3, 6 μL, 按 3.1 项下的色谱条件进行测定, 以对照品的进样量 X (μg) 对峰面积的积分值 Y 进行线性回归分析, 结果表明, 双氢杨梅树皮素在 0.115 ~ 3.44 μg, 杨梅树皮素在 0.138 ~ 4.13 μg, 与其峰面积之间均呈良好的线性关系, 双氢杨梅树皮素的回归方程为 Y = 2 901.06X - 2.1 (r = 0.999 9); 杨梅树皮素的回归方程为 Y = 2 409.08X - 73.3 (r = 0.999 9)。

3.6 精密度试验 精密吸取样品 1-5 的供试品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 5 μL 测定, 结果表明双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素色谱峰面积的 RSD 分别为 1.6%, 1.7%, 表明仪器精密度良好。

3.7 稳定性试验 取样品 1-5 的供试品溶液, 避强

光放置,每隔 2 h 进样测定 1 次,连续测量 12 h,结果双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素峰面积的 RSD 分别为 1.4%、2.2%。表明供试品溶液中双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素在 12 h 内稳定。

3.8 重复性试验 精密称取样品 1-5 的提取物粉末 25 mg 各 6 份,按 3.4 项下方法制备供试品溶液,再按 3.1 项下的色谱条件进行测定。结果 6 份样品测得双氢杨梅树皮素含量平均值为 $0.883 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 0.9%; 杨梅树皮素的含量平均值为 $78.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 2.7%。表明该法重复性较好。

3.9 加样回收率试验 取样品 1-5 的藤茶提取物约 12 mg 共 6 份,精密称定,分置于 6 个 50 mL 量瓶中,然后在每个量瓶中精密加入双氢杨梅树皮素 ($4.43 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), 杨梅树皮素 ($0.386 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的对照品储备液 2.5 mL,按 3.4 项下方法制备,按 3.1 项下的色谱条件进行测定,计算加样回收率^[11],结果见表 2。

表 2 藤茶提取物样品中 2 种黄酮类成分的加样回收率测定
Table 2 Recoveries for 2 constituents in Ampelopsis Grossdentatae Caulis extract

成分	取样量 /mg	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
双氢 杨梅素	11.8	10.4	11.1	21.5	100.0	99.6	2.0
	12.7	11.2	11.1	22.5	100.0		
	12.6	11.1	11.1	21.9	101.8		
	12.7	11.2	11.1	22.4	98.2		
	12.6	11.1	11.1	21.8	100.9		
杨梅素	12.0	10.6	11.1	21.7	96.4		
	11.8	0.93	0.92	1.88	103.6	99.4	2.8
	12.7	1.00	0.92	1.91	99.1		
	12.6	0.99	0.92	1.87	95.7		
	12.7	1.00	0.92	1.92	100.2		
	12.6	0.99	0.92	1.89	97.0		
	12.0	0.94	0.92	1.87	100.8		

3.10 样品含量测定 取藤茶提取物 25 mg,精密称定,按 3.4 项下方法制备供试品溶液,再按 3.1 项下的色谱条件进行测定,进样 5 μL ,测定,计算样品中双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素的含量。结果见表 3。

4 讨论

中药材及其提取物中主要活性成分的含量,直接影响其后续产品的质量与疗效。对中药材及其提取物中与其主治相吻合的主要活性成分进行定量分

表 3 藤茶提取物样品中 2 种黄酮类成分含量测定

Table 3 Results of 2 constituents in Ampelopsis Grossdentatae

Caulis	$\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	
批次	双氢杨梅树皮素	杨梅树皮素
1-1	0.087 6	0.161
1-2	0.103	0.171
1-3	0.658	0.126
1-4	0.116	0.231
1-5	0.883	0.078 6
1-6	0.852	0.064 2
2-1	0.096 3	0.347
2-2	0.651	0.093 6
2-3	0.751	0.097 2

析,以评价其质量是中药现代化及中药走向世界的关键问题之一。研究表明,广西藤茶中主要活性成分为双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素。本文应用高效液相色谱法测定了广西藤茶不同药材来源提取物中这两个主要活性成分的含量,旨在为藤茶提取物的规范化提取及其开发应用提供实验基础和依据。

实验结果显示,在相同提取条件下,藤茶嫩茎叶提取物的收率明显高于地上部分茎叶提取物的收率,且藤茶嫩茎叶提取物中双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素的总含量也较高。这可能是由于藤茶嫩茎叶中这两种成分含量较高所致。

实验中发现,在相同提取条件下,炮制后藤茶提取物的收率明显高于未经炮制藤茶提取物的收率,且经炮制后的藤茶提取物中双氢杨梅树皮素含量明显提高。显然炮制对广西藤茶中主要活性成分的含量有较大影响,经传统炮制后可使藤茶提取物中主要活性成分双氢杨梅树皮素含量大大提高。

延长煎煮时间试验显示,水煎煮时间超过 3 h,藤茶提取物的收率明显减少,提取物中双氢杨梅树皮素含量也明显减少,但杨梅树皮素含量稍有提高。实验结果显示,水煎煮时间过长,可能会造成部分活性成分的损失,但有利于提高提取物中杨梅树皮素的含量。

以上研究结果显示,炮制及提取时间对广西藤茶提取物中主要活性成分的含量有较大影响。因此,在利用广西藤茶及提取物开发藤茶相关产品时,必须首先规范藤茶药材的来源及提取物的制备方法,才能有效地保证相关产品的质量。

本实验采用变换波长法同时测定双氢杨梅树皮素和杨梅树皮素的含量,目的是使藤茶中这两种活性成分都能在其最大吸收波长下进行测定,从而在

使各成分都能获得最大的检测灵敏度。

[参考文献]

[1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编. 下册[M]. 北京:人民卫生出版社,1978;788.
[2] 广西医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁:广西民族出版社,1974;202-206.
[3] 林建峰,李双官,朱惠,等. 藤茶的抗炎镇痛研究[J]. 福建医药杂志,1995,17(4):39-40.
[4] 钟正贤,周桂芬,陈学芬,等. 藤茶总黄酮药理作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2004,11(4):224-225.
[5] 钟正贤,覃洁萍,周桂芬,等. 广西藤茶总黄酮降血糖的实验研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(9):687-689.
[6] 陈玉琼,倪德江,程倩,等. 藤茶总黄酮及二氢杨梅树

皮素降血脂作用研究[J]. 茶叶科学,2007,27(3):221-225.
[7] 罗祖友,严奉伟,薛照辉,等. 藤茶多糖的抗氧化作用研究[J]. 食品科学,2004,25(11):291-294.
[8] 覃洁萍,梁山丹,何翠薇. 差示分光光度法测定广西瑶族藤茶中黄酮类成分的含量[J]. 中草药,2002,33(7):607-609.
[9] 易海燕,何桂霞,欧阳文,等. 大孔吸附树脂分离纯化藤茶总黄酮的研究[J]. 中草药,2011,42(1):74-77.
[10] 覃洁萍,王乃平,陈卫卫,等. 藤茶素分散片的制备方法及其用途(ZL200610018462.1)[P]. 中国,2010-01-06.
[11] 蒋孝琳. 关于回收率的计算问题[J]. 药物分析杂志,1984,4(4):238.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国医药导报》杂志
欢迎订阅 欢迎投稿

《中国医药导报》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管、中国医学科学院主办的医药卫生期刊,现为旬刊,国内统一刊号:CN11-5539/R,国际标准刊号 ISSN1673-7210,邮发代号:80-372,本刊系中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、美国化学文摘(CA)收录期刊、解放军医学图书馆中文生物医学期刊文献数据库收录期刊,所刊登的文章被万方数据、中国知网、中文科技期刊数据库全文收录。每期定价20元,全年36期优惠价540元。

本刊设专家论坛、综述、论著、实验研究、药理与毒理、临床研究、药物与临床、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、病例报告、医疗器械、中医中药、生物医药、药品检验、制剂与技术、药师与临床、不良反应监测、药物经济学、调查研究、护理研究、教育研究、科研管理、法规与标准、卫生研究、医疗管理、产业与市场、医药监管、工作探讨等栏目。是广大医药卫生科研、教育、医护、药事、经营管理等人员了解医药研究进展、发展动态,展示医药科研成果,学习先进经验,探讨工作难题,交流和提高业务学术水平的得力助手,也是发表医药学术论文的阵地。在本刊发表的论文可获得继续教育学分。本刊订户凭订阅单复印件投稿优先发表。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-601 邮编:100025

投稿热线:010-59679061 59679063 发行热线:010-59679533

传真:010-59679056 投稿邮箱:yydb@vip.163.com

网址:www.yiyaodaobao.com.cn