

宁夏不同产地野生与种植甘草中总黄酮的含量比较

张立明^{1,2*}, 张霞^{1,2}, 权洪峰^{1,2}, 钱志强^{1,3}, 纪涛^{1,3}, 杨丽^{1,3}, 鲍丹娜^{1,3}

(1. 宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 2. 宁夏回药现代化工程技术研究中心, 银川 750004;
3. 宁夏医药研究所, 银川 750004)

[摘要] 目的: 比较宁夏不同产地野生及种植甘草中总黄酮含量。方法: 采用紫外分光光度法测定总黄酮含量, 对宁夏各产地野生与种植甘草中总黄酮含量进行比较分析。结果: 甘草黄酮在 $4.36 \sim 43.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 成良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 0.013X + 0.054 (R = 0.9992)$; 宁夏不同产地甘草中总黄酮含量差异较大, 同一产地野生甘草的总黄酮含量大于种植品, 旱地种植甘草中总黄酮含量高于水地种植品。结论: 环境综合机制对甘草中总黄酮含量的影响明显, 该研究为宁夏甘草的可持续利用与研究提供参考。

[关键词] 甘草; 总黄酮; 野生; 种植;

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0091-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120731.1211.014.html>

[网络出版时间] 2012-07-31 12:11

Comparative Study on Total Flavonoids Content of Several Kinds of Wild and Cultivated Glycyrrhiza uralensis in Different Producing Regions in Ningxia

ZHANG Li-ming^{1,2*}, ZHANG Xia^{1,2}, QUAN Hong-feng^{1,2}, QIAN Zhi-qiang^{1,3},
JI Tao^{1,3}, YANG Li^{1,3}, BAO Dan-na^{1,3}

(1. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;
2. Ningxia Engineering and Technology Research Center for Modernization of
Hui Medicine, Yinchuan 750004, China; 3. Ningxia Pharmaceutical Institute, Yinchuan 750004, China)

[Abstract] **Objective:** The essay aims at making a comparative study on the total flavonoids content of

[收稿日期] 20111129(004)

[基金项目] 宁夏自然科学基金项目(NZ1091); 宁夏医科大学面上项目(XM201014); 宁夏大学生创新实践项目(宁教函[2010]381号)

[通讯作者] *张立明, 硕士, 教授, 从事天然药物研究, Tel:13995117389, E-mail:nyzlm@163.com

2.8 样品含量测定 按供试液溶液的制备及检测方法, 分别测定广西金秀、马山、大新 3 个产地的八角油样品, 其含量分别为 5.22%, 5.33%, 5.27%。

3 讨论

采用气相色谱面积归一化法测定的是组分的相对含量, 现行的八角茴香油的药典标准、国家标准和出口标准均有一定的局限性。八角茴香油中草蒿脑的实际含量测定未见文献报道, 本方法采用了毛细管气相色谱外标法建立了八角茴香油中草蒿脑的含量测定方法, 研究结果可为更好地控制八角茴香油

的质量提供参考依据。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 450.
- [2] 中国药典[S]. 一部, 2010: 4.
- [3] 中国药典[S]. 一部, 2010: 365.
- [4] GB 15068-2008, 八角茴香(精)油[S].
- [5] SN/T 0039-1992, 出口八角茴香油[S].

[责任编辑 顾雪竹]

several kinds of wild and cultivated *Glycyrrhiza uralensis* in different producing regions in Ningxia. **Method:** The content of total flavonoids was determined by UV. The total flavonoids of wild and cultivated *G. uralensis* in different producing regions in Ningxia were examined and analyzed. **Result:** The determination method had good linear relationship in the ranges of 4.36-43.6 mg·L⁻¹ for total flavonoids. As for the total flavonoids of wild *G. uralensis* in different producing regions, there is a remarkable difference in total flavonoids. The content of total flavonoids in wild was higher than that in cultivated in same producing regions, and the content in cultivated in dry land was higher than that in cultivated in irrigated land. **Conclusion:** It was important that the regional features influenced on the total flavonoids content of *G. uralensis*.

[**Key words**] *Glycyrrhiza uralensis*; total flavonoids; wild and cultivated; UV

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., 胀果甘草 *G. inflata* BAT. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的根及根茎, 具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药之功效^[1]。研究表明, 甘草中主要含三萜类、黄酮类、生物碱和氨基酸等成分, 具有广泛的生理活性^[2]。现代药理研究结果表明, 甘草中黄酮类化合物具有较强的生理活性, 具有抗炎、抗病毒、利胆、强心、镇静和镇痛等功效, 具有许多潜在的药用价值^[3-5]。由于甘草种类多, 来源广, 因此甘草黄酮在不同产地的甘草中含量差别较大。本研究对不同产地种植和野生甘草以及不同种植条件甘草中总黄酮的含量进行比较, 为甘草资源的充分、合理利用及甘草新药物的研发提供科学依据。

1 仪器与试剂

UV-2550 型紫外分光光度计(岛津公司); AL104 型电子分析天平(梅特勒-托利多); KQ-500 型超声波清洗器(江苏昆山超声仪器厂); FW100 型中药材粉碎机(天津泰斯特); 甘草苷对照品, 批号 111610-200503 含量 ≥98%, 购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯试剂, 其他试剂均为分析纯。

供试甘草分别采自固原、同心、盐池、中宁, 自然干燥, 经宁夏医科大学药学院王建寰副教授鉴定为甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 根及根茎; 药材粉碎, 过四号筛, 备用。

2 方法与结果

2.1 甘草总黄酮含量测定方法

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取甘草苷对照品 10.9 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 制得质量浓度为 0.436 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取甘草样品约 0.3 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 加 70% 乙醇 12 mL, 超声提取 40 min 后, 滤过, 滤液转移至 50 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇至刻度, 摇匀。

2.1.3 测定方法 精密量取供试品溶液 0.1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加入 10% 的 KOH 溶液 0.5 mL, 放置 5 min 后, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 放置 100 min。同法量取供试品溶液 0.1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 作为空白溶液, 在 400 nm 波长^[6]处测定吸收度。

2.1.4 线性关系考察 精密吸取 0.436 g·L⁻¹ 的甘草苷对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加入 10% 的 KOH 溶液 0.5 mL, 放置 5 min 后, 用 70% 的乙醇稀释至刻度, 放置 100 min。精密量取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 分别置 10 mL 的量瓶中, 用 70% 的乙醇稀释至刻度, 作为空白溶液。在 400 nm 波长处测定吸光度, 以溶液浓度(X)对吸光度值(Y)进行线性回归。回归方程为 $Y = 0.013X + 0.054$ ($R = 0.9992$), 总黄酮在 4.36 ~ 43.6 mg·L⁻¹ 成良好的线性关系。

甘草总黄酮提取率按下式计算:

$$\text{甘草总黄酮提取率} = \frac{(Y - 0.054) \times 50}{0.013 \times 0.1 \times 1000 \times 1000 \times m} \times 100\%$$

其中: Y 为吸光度; M 为称取的药材质量(g)

2.1.5 精密度试验 取同一对照品溶液, 照上述测定方法显色稳定 100 min 后连续测定吸收度 6 次, RSD 0.6%。

2.1.6 重复性试验 取同一批野生甘草粉末 6 份, 各约 0.3 g, 精密称定, 按同一方法制备供试品溶液, 测定吸收度并计算, 结果总黄酮提取率的 RSD 1.8%。

2.1.7 稳定性试验 精密量取供试品溶液和对照品溶液各 0.2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加入 10% 的 KOH 溶液 0.5 mL, 放置 5 min 后, 加溶剂稀释至刻度, 分别在 130 min 内每隔 10 min 在 400 nm 的波长处进行测定, 发现吸收度值随时间的变化而变化, 到 100 min 后趋于稳定, 100 ~ 130 min 测定的吸光度的 RSD 1.0% ($n = 4$), 因此, 溶液显色后应在 100 min

后进行测定。

2.1.8 加样回收率试验 取同一批甘草粉末6份,各约0.15 g,精密称定,各加入对照品甘草苷4.002 mg,平行制备供试品溶液,按上述方法显色后测定,计算回收率,见表1。结果表明本法回收率良好。

表1 甘草苷加样回收率试验

样品/g	样品中含有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
0.153 8	4.137	4.002	7.807	91.7	94.3	2.0
0.151 4	4.073	4.002	7.871	94.9		
0.148 7	4.000	4.002	7.722	93.0		
0.158 1	4.253	4.002	8.098	96.1		
0.146 9	3.952	4.002	7.698	93.6		
0.153 7	4.135	4.002	8.005	96.7		

2.2 不同产地甘草中总黄酮含量比较 取不同产地的甘草样品约0.3 g,置50 mL具塞锥形瓶中,按2.1.2和2.1.3项下“供试品溶液的制备”和“测定方法”测定并计算,结果见表2。

从表2中可以看出,宁夏不同产地野生甘草中总黄酮含量差异较大,按高低顺序排列依次为:固原>盐池>同心>中宁,而每个产地野生甘草中总黄酮的含量均高于种植品;对盐池种植甘草进行比较,旱地种植甘草的总黄酮含量高于水地种植品,说明旱地种植甘草更适宜于黄酮类成分的累积。3年种植期甘草中总黄酮含量高于2年期,甘草叶中总黄酮含量高于茎,茎中总黄酮含量远低于根及叶。

表2 样品中总黄酮测定 %

No.	样品	总黄酮含量	RSD
1	同心	4.58	1.5
2	固原野生	6.78	0.76
3	固原家种	1.90	0.96
4	中宁野生	2.16	1.2
5	中宁家种	1.92	1.4
6	盐池野生	5.85	1.6
7	盐池旱地种植2年	2.69	1.1
8	盐池旱地种植3年	3.09	0.93
9	盐池水地种植2年	1.68	0.85
10	盐池水地种植3年	2.02	1.6
11	盐池旱地种植2年甘草叶	3.94	1.0
12	盐池旱地种植2年甘草茎	0.50	1.9

3 讨论

随着甘草开发利用的不断深入,宁夏野生甘草资源遭到了严重破坏,有的地方甚至面临枯竭,而甘草的栽培育种还未形成规范的体系。本研究选取了宁夏代表产地的甘草样品,分析比较不同产地野生及栽培甘草中总黄酮的含量,为宁夏甘草的合理开发和有效利用提供依据。

结果表明,宁夏不同产地野生甘草中总黄酮含量差异较大,固原野生甘草含量最高,盐池次之,再次为同心及中宁所产甘草。而每个产地野生甘草中总黄酮的含量均高于种植品;对盐池种植甘草进行比较,旱地种植甘草的总黄酮含量高于水地种植品,说明旱地种植甘草更适宜于黄酮类成分的累积。3年种植期甘草中含量高于2年期。本实验结果与课题组前期进行的《宁夏不同产地甘草中甘草甜素含量比较》研究结果相似,表明不同产区的地理位置、气候特点、土壤特性等环境综合机制对甘草中甘草甜素、总黄酮等主要有效成分的影响大体相同。但甘草叶中总黄酮含量高于根,茎中的含量远低于根及叶,这一点与甘草甜素在甘草不同部位的含量差异较大。本研究为甘草资源的充分、合理利用及甘草新药物的研发提供科学依据,为宁夏甘草的可持续利用与研究提供参考。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010.
- [2] 李明.甘草的研究概况[J].甘肃中医学院学报,2000,17(3):59.
- [3] Shibata S. Inhibitory effects of licochalcone A from *Glycyrrhiza inflata* root on inflammatory ear edema and tumour promotion in mice [J]. *Planta Med*, 1991, 57(3):221.
- [4] 陈红.甘草药理作用概述[J].海峡药学,2005,17(4):37.
- [5] 梁旭霞,刘莉,张文新,等.甘草黄酮- β -CD包合物的制备及增溶作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,12(7):1.
- [6] 马玲,安瑜,王坤,等.甘草中总黄酮含量测定的方法学研究[J].宁夏医学杂志,2010,32(5):428.

[责任编辑 顾雪竹]