

不同地区市售香附饮片中总黄酮含量测定

李英霞^{1*}, 刘春农², 张泰³, 张新军¹

(1. 山东省中医药研究院资源开发室, 济南 250014; 2. 潍坊市药品检验所中药室, 山东 潍坊 261041;
3. 北京大学第一医院中西医结合科, 北京 100034)

[摘要] 目的: 对不同地区香附饮片中总黄酮含量进行测定。方法: 采用紫外分光光度法, 以芦丁为对照, 测定波长 507 nm。结果: 芦丁对照品在 3.0 ~ 50.0 mg · L⁻¹ 线性关系良好 ($r = 0.9998$)。10 个地区市售香附饮片中总黄酮质量分数一般在 0.81% ~ 1.75%, 只有上海的最少, 为 0.42%。结论: 香附饮片中总黄酮含量较高。总黄酮含量与香附炮制方法及外观性状有一定相关性。本研究为全面评价香附饮片的质量提供了理论依据。

[关键词] 香附饮片; 总黄酮; 紫外分光光度法; 含量

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0093-03

Determination of Total Flavonoids in Prepared Medical Herbs of Cyperi Rhizoma from Different Areas

LI Ying-xia^{1*}, LIU Chun-nong², ZHANG Tai³, ZHANG Xin-jun¹

(1. Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. Weifang Institute for Drug Control, Weifang 261041, China; 3. First Hospital of Peking University, Beijing 100034, China)

[Abstract] **Objective:** To determinate the contents of total flavonoids in the prepared medical herbs of Cyperi Rhizoma from different areas. **Method:** The contents of total flavonoids were detected by UV while rutin was used as controller and measurement wavelength was 507 nm. **Result:** The results showed that rutin had a good Linear relationship in the concentrations between 3.0 mg · L⁻¹ to 50.0 mg · L⁻¹ ($r = 0.9998$). The contents of total flavonoids in most areas were 0.81% - 1.75% except from Shanghai which was 0.42%. **Conclusion:** The contents of total flavonoids of the prepared medical herbs of Cyperi Rhizoma were higher and it may be used as one of quality index.

[Key words] The prepared medical herbs of Cyperi Rhizoma; total flavonoids; UV; content

香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎。具有理气解郁、调经止痛之功效。用于肝郁气滞, 胸肋胀痛, 消化不良, 月经不调, 经闭痛经之症^[1], 为妇科常用要药。主产于山东、浙江、河南等地, 以山东为道地药材^[2]。香附的化学成分复杂,

主要含有挥发油类、黄酮类、生物碱类、甾醇类等^[3-4]。以往香附的成分及质量研究多集中于挥发性成分, 对非挥发性成分及其药理作用研究较少^[5-9]。近来, 国外文献报道香附水醇提取物具有明显的降血脂、抗血栓作用^[10]。Soumaya 等从香附中提取了木犀草素、斛皮苷等总黄酮类成分, 并发现黄酮类成分和乙酸乙酯提取物具有较强的清除氧自由基作用^[11], 说明总黄酮为香附的活性部位。因木犀草素、斛皮苷均系色原酮的 2-苯基衍生物, 具有 C₆-C₃-C₆ 基本骨架结构, 分子结构中均含有 5-羟基, 侧链苯环上有邻二酚羟基, 能与铝离子在碱性条件下生成有色络合物, 在可见光区能获得稳定的特征吸

[收稿日期] 20100610(004)

[基金项目] 山东省中医药 2007 ~ 2008 年度科技发展计划项目 (2007-110)

[通讯作者] * 李英霞, 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事中药资源开发及质量控制研究工作, Tel: 0531-82949859107, E-mail: li-yx1964@163.com

收峰^[12]。故本研究采用紫外分光光度法,以芦丁为对照品,对 10 个不同地区香附饮片中总黄酮含量进行测定,为全面控制香附饮片的内在质量提供客观依据。

1 仪器与药品

UV-265FW 紫外-可见分光光度计(日本岛津),XS205DU 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。芦丁对照品(购于中国药品生物制品检定所,批号 10008-200306,供含量测定用),香附饮片购于山东菏泽、梁山及河北、海南、上海等 10 个地市,经山东省中医药研究院李英霞副研究员鉴定为莎草科植物莎草 *C. rotundus* 的干燥根茎。所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

参考文献[13-14],采用紫外分光光度法对香附饮片中的总黄酮含量进行了测定。

2.1 对照品溶液的制备 精密称取芦丁对照品 25.0 mg,置 100 mL 量瓶中,加 95% 的乙醇溶解,并稀释至刻度,摇匀,精密吸取 10 mL 置 25 mL 量瓶中,制成每 1 mL 含 0.10 mL 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备 取香附粉末 1 g,精密称定,置三角瓶中,加 70% 乙醇 25 mL,80 °C 水浴回流提取 2 次,每次 2 h,放冷,过滤,滤液合并,减压回收乙醇,分别以石油醚(30 ~ 60 °C)萃取以除去挥发油,再以乙酸乙酯萃取 6 次(15, 15, 15, 15, 10, 10 mL),减压回收乙酸乙酯,残渣以 70% 乙醇溶解,定容于 10 mL 量瓶中,作为供试品溶液。

2.3 波长的选择 取对照品溶液 2 mL,供试品溶液 2 mL,在 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL 存在的碱性条件下,经硝酸铝显色后,以试剂为空白参比液,在 400 ~ 600 nm 扫描,结果对照品与样品均在 507 nm 左右处有最大吸收,故确定测定波长为 507 nm。

2.4 线性关系考察 精密量取芦丁对照液(质量分数为 0.10 g · L⁻¹)0.3, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 分别置 10 mL 量瓶中,分别加 5% 亚硝酸钠 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,再加 10% 的硝酸铝 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,再加 4% 的氢氧化钠 4 mL,用水稀释至刻度,摇匀,静置 12 min。以试剂作为空白参比液,于 507 nm 波长处测吸光度(A)。以浓度(C)为横坐标,以 A 为纵坐标,绘制标准曲线并进行回归分析,得回归方程为 $A = 0.0847C - 0.0048$, $r = 0.9998$ 。试验结果表明,芦丁在 0.003 ~ 0.050 g · L⁻¹ 线性关系良好。

2.5 精密度试验 取上述对照品溶液 4 mL,按上述显色方法显色,连续测定 5 次,结果其平均 $A = 0.526$, RSD 0.21%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密称取同一地区香附样品粉末 1 g,按 2.2 项下方法制备样品溶液,吸取样品溶液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中,按上述方法显色,分别于 0, 10, 20, 30, 40 min 测定吸光度,结果随时间延长,吸光度值逐渐降低,在 10 ~ 20 min 相对稳定, RSD 1.91%,这与文献报道显色 12 或 15 min 测定的结果是基本吻合的^[13-14]。故确定测定时间为 10 ~ 20 min。

2.7 重复性试验 精密称取同一地区香附样品 5 份,每份 1 g,按供试品溶液制备方法制备,显色后测吸光度,结果 5 份香附样品中总黄酮平均质量分数 1.212%, RSD 2.22%,表明该方法重现性符合要求。

2.8 回收率试验 精密称取香附粉末 0.5 g, 5 份,分别加已知浓度的对照品溶液(1.00 g · L⁻¹) 6.0 mL,按 2.2 项下方法制备样品溶液,显色后测吸光度,计算含量。结果 5 份样品中总黄酮的平均回收率 98.82%, RSD 1.09%,表明本法回收率符合要求。

2.9 样品测定 精密吸取样品溶液 0.5 mL 和对照品溶液 2 mL,分别置 10 mL 量瓶中,各加 5% 亚硝酸钠 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,再加 10% 的硝酸铝 0.3 mL,摇匀,静置 6 min,再加 4% 的氢氧化钠 4 mL,以 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,静置 12 min。以试剂作为空白参比液,于 507 nm 波长处测 A,计算含量。见表 1。

表 1 不同地区市售香附饮片总黄酮含量(n = 2)

名称	No.	购买地	总黄酮/%
醋香附	080428-2	山东菏泽	0.81
醋香附	080601	山东梁山	1.30
醋香附	071201	广西	1.75
醋香附	070601	枣庄(浙江产)	1.25
醋香附	080905	沈阳(浙江产)	1.07
制香附	080704	上海(湖北产)	0.42
醋香附	080906	河北廊坊	1.05
醋香附	080907	海南	1.47
醋香附	080914	北京	1.27
醋香附	080710	济南建联	0.81
醋香附	091121	济南建联	0.97

3 讨论与小结

文献报道香附采用超声法提取^[13],本研究对超声法与回流法进行了对比,结果超声法测得的总黄

酮质量分数为0.80%，而回流法为1.20%，回流法高于超声法，因此，本研究采用回流法提取。

本研究曾以乙醇体积分数（95%，85%和70%）、提取次数和时间为3因素，各设3个水平，以总黄酮含量为指标对香附提取工艺进行了正交实验优选，最终确定的最佳提取条件为：以70%乙醇提取3次，每次3h。由于提取次数和时间为主要因素，提取3次，每次3h与提取2次、每次2h相差无明显，故本文供试品以70%乙醇提取2次，每次2h。

从测定结果可以看出，各地香附饮片中总黄酮含量较高。不同地区含量略有差别，大多数含量在0.81%~1.75%，只有上海的制香附含量最低，为0.42%，这与其炮制方法可能有关^[15]，上海炮制法将香附以酒、醋煮后又蒸制，可能对黄酮类成分损失较大。

黄酮含量与饮片外观性状有一定相关性，购买的菏泽、建联饮片呈深黑色，其总黄酮含量偏低；而其他地区饮片外观颜色为棕褐色或黑褐色，总黄酮含量较高。

香附饮片总黄酮含量测定方法的建立，为香附的质量控制提供了一种新方法，也为香附资源的进一步开发利用提供了客观依据。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海人民出版社,1977:1672.
[2] 山东卫生干部进修学院. 山东中药[M]. 济南:山东人民出版社,1959:101.
[3] 黄险峰,彭国平. 香附的化学成分及药理研究进展

[J]. 中药材,2003,26(1):65.
[4] 吴希,夏厚林,黄立华,等. 香附化学成分研究[J]. 中药材,2008,31(7):990.
[5] 徐黔江,王颖,李寒,等. 醋炙香附与生品香附挥发油成分的比较[J]. 贵阳医学院学报,2006,31(5):413.
[6] 陈胜璜,蒋孟良,袁于军,等. 香附不同炮制品中 α -香附酮的含量测定[J]. 中成药,1999,21(7):349.
[7] 贾宜军,莫结丽. HPLC内标法测定香附中 α -香附黄酮的含量[J]. 中药材,2005,28(8):722.
[8] 温东婷,张蕊,陈世忠. 香附化学成分的分离及对未孕大鼠离体子宫肌收缩的影响[J]. 北京大学学报:医学版,2003,35(1):110.
[9] 刘国卿,王秋娟,谢卓亚. 香附挥发油药理研究[J]. 1989,20(1):48.
[10] S A Mengi, P P Patel, C U Shah. Assessment of hydroalcoholic extract of *Cyperus rotundus* in high fat diet induced hyperlipidaemia in rats [J]. Atherosclerosis Supplements, 2008, 9(1):222.
[11] Soumaya Kilani, Ribai Ben Ammar, Ines Bouhleb, et al. Investigation of extracts from (Tunisian) *Cyperus rotundus* as antimutagens and radical scavengers [J]. Envir Toxicol Pharmacol, 2005,20:478.
[12] 林启寿. 中草药成分化学[M]. 北京:科学出版社,1977:267,270,306.
[13] 黄锁义,罗建华,张丽丹,等. 香附总黄酮的超声波提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(1):141.
[14] 张美玲,甄汉深. 了哥王片总黄酮含量测定方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(7):3.
[15] 上海市卫生局. 上海市中药饮片炮制规范[S]. 上海:上海科学技术出版社,1980:76.

[责任编辑 邹晓翠]