

马鞭草中总黄酮的含量测定

陈改敏, 张建业, 洪广峰, 刘宏民* (郑州大学新药研究开发中心, 郑州 450052)

摘要:目的 以芦丁标准品为对照测定马鞭草中总黄酮的含量。方法 采用紫外分光光度法于 502 nm 处测定。结果 吸光度 A 与芦丁的质量浓度 C 在 25.0 ~ 87.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内呈良好的线性关系, 平均加样回收率为 98.27% ($\text{RSD} = 1.29\%$)。结论 该方法操作简单, 结果准确, 重现性好, 为马鞭草的合理利用和质量控制提供了一定的科学依据。

关键词: 马鞭草; 总黄酮; 紫外分光光度法

中图分类号: R917.730.1

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2006)08-0798-02

Determination of Flavonoids Content for *Verbena officinalis*

CHEN Gai-min, ZHANG Jian-ye, HONG Guang-feng, LIU Hong-min (New Drug Research & Development Center, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of the total flavonoids in *Verbena officinalis* L. with rutin standard sample as control. **METHODS** The flavonoids content was determined by ultraviolet spectrophotometric method at 502 nm. **RESULTS** UV absorbance (A) showed a good linear relationship to the mass concentration of rutin (C) at the range of 25.0 ~ 87.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The average recovery was 98.27% and RSD was 1.29% ($n=6$). **CONCLUSION** The method is simple, stable, reliable and repeatable. It provides a referential method for the quality control, usage and exploitation of *Verbena officinalis* L.

KEY WORDS: *Verbena officinalis* L.; flavonoids content; UV

马鞭草 (*Verbena officinalis* L.) 系马鞭草科 (Verbenaceae) 植物, 药用部分为其全草或带根全草, 始载于《名医别录》^[1]。生于河岸、草地、荒地、路边、田边及草坡等处, 分布全国各地^[1,2]。马鞭草在中国作为传统中药, 具有清热解毒、利尿消肿、活血通经等功效, 广泛用于治疗伤风感冒、水肿、痢疾、黄疸等病症^[1]。现代研究发现马鞭草还具有抗癌^[3]、抗早孕^[4]以及免疫调节作用^[5]。

马鞭草主要成分有配糖体、黄酮类、三萜类、甾体类、糖类等。关于黄酮类成分的含量测定主要有: 药典以 HPLC 法测定柚皮苷含量; 蔡春等^[6]以芦丁为对照品, 用比色法测定化橘红总黄酮含量。因为比色法测定结果偏低, 我们参考文献^[7,8]的方法, 以芦丁为对照品, 建立了紫外可见分光光度法测定马鞭草中总黄酮含量的方法, 并测定了四种不同来源马鞭草总黄酮的含量, 为马鞭草的合理利用和质量控制提供了一定的科学依据。

1 仪器与材料

日本 JASCO V-550 型紫外分光光度计; METTLER AE 260 型电子天平; 马鞭草分别采自湖北房山、河南禹州、河南南召和河南鲁山, 并经河南省药材公司暨会峰执业药师鉴定为 *Verbena officinalis* L. 全草; 芦丁对照品由河南省药检所提供; 其他试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 对照品溶液的制备

精密称取干燥芦丁对照品 25.0 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加 95% 乙醇适量, 溶解后用 95% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 供试品的制备

精密称定马鞭草 5.0 g 置于烧瓶中, 加入 95% 乙醇 50 mL, 在 60°C 水浴中加热 12 h, 过滤, 残渣再以 95% 乙醇 50 mL 在相同条件下提取 2 次, 合并三次提取滤液置于 200 mL 量瓶中, 加 95% 乙醇定容至刻度, 摇匀, 待用。

2.3 测定波长的确定

取对照品溶液, 按“2.4”项下方法处理后在 200 ~ 700 nm 范围内扫描, 结果表明处理后的样品在 502 nm 处有最大吸收; 供试品溶液同法处理, 最大吸收波长也为 502 nm。因此检测波长确定为 502 nm。

2.4 标准曲线的绘制

精密量取对照品溶液 0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 各加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.4 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再加入 10% 硝酸铝溶液各 0.4 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液各 4 mL, 95% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 放置 15 min 后, 在 502 nm 波长处测定吸光度, 以吸光度 A 为纵坐标, 质量浓度 C 为横坐标绘制标准曲线, 回归方程为: $A = 11.452 C - 0.0198$, $r = 0.9993$, 因此在 25.0 ~ 87.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内吸光度 and 对照品的质量浓度呈良好的线性关系。

2.5 测定方法

精密量取供试品溶液 2 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.4 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再加入 10% 硝酸铝溶液 0.4 mL, 摇匀, 放置 6 min, 加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 4 mL, 95% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 放置 15 min 后, 在 502 nm 波长处测定吸光度, 计算。

作者简介: 陈改敏, 女, 硕士研究生, 专业方向: 天然药物化学

通讯作者: 刘宏民, Tel/Fax: (0371)67767200, E-mail: liuhm@zzu.edu.cn

2.6 溶液稳定性试验

按上述供试品制备方法,取采自南召的马鞭草样品 5.0 g,经提取显色后测定吸收度,每 0.5 h 测定一次。3 h 内吸收度的 RSD = 2.76% ($n=6$),但 3 h 后溶液的吸收度明显降低,表明样品的测定应在 3 h 内完成。

2.7 精密度测定

按上述供试品制备方法,取采自南召的马鞭草样品 5.0 g,依次显色后连续测定 5 次,吸收度的 RSD = 0.07%,表明仪器精密度能够满足测定要求。

2.8 重现性试验

按上述供试品制备方法,取采自南召的马鞭草样品 5 份分别提取显色并测定,吸收度的 RSD = 2.36%,表明该方法的重现性好,结果可靠。

2.9 回收率试验

采用加样回收法,取 6 份已知含量的南召供试品溶液各 1 mL,分别置于 10 mL 的量瓶中,分别加入 0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6 mL 芦丁标准液,依次显色后测得吸收度,用回归方程计算总黄酮含量,结果见表 1,表明该方法测定结果准确。

表 1 回收率测定结果

Tab 1 The results of recovery test

编号	样品中总黄酮量/ μg	加入对照品/ μg	测得量/ μg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	266.9	150.0	412.8	97.27		
2	266.9	200.0	467.4	100.25		
3	266.9	250.0	509.5	97.23	98.27	1.29
4	266.9	300.0	565.3	99.47		
5	266.9	350.0	608.7	97.66		
6	266.9	400.0	657.9	97.75		

2.10 样品的测定

样品的测定按供试品的制备及测定方法,测定 4 种不同来源马鞭草总黄酮的含量,每种样品平行测定 5 次,结果见表 2。

3 讨论

3.1 本文采用紫外分光光度法测定马鞭草中总黄酮的含量,研究结果表明,样品加入各显色剂后,吸收度在 3 h 后明

表 2 样品中总黄酮含量测定结果

Tab 2 The results of sample determination

样品来源	平均含量(mg/g)	RSD(% , $n=5$)
河南南召	10.68	1.19
河南鲁山	5.73	3.54
河南禹州	4.04	3.58
湖北房山	2.70	1.68

显减弱,影响测定结果,因此溶液显色后不宜放置时间过长,以 3 h 内测定为宜。

3.2 紫外分光光度法准确度较高,为马鞭草中总黄酮的含量测定提供了一种切实可行的方法,为其质量控制提供了评价手段。

3.3 马鞭草为传统中药,其研究开发应用前景甚为广泛,马鞭草含有较多的药用成分,但就黄酮而言,本测定结果表明河南南召马鞭草中总黄酮含量较高。

参考文献

- [1] 江苏新医学院编著. 中药大词典[M](上册). 上海: 上海科技出版社, 1979:303.
- [2] 肖培根. 新编中药志[M](第三卷). 北京: 化学工业出版社, 2002:32.
- [3] 徐兰芳. 马鞭草合剂治疗晚期肝癌 13 例报告[J]. 海峡药学, 1995, 7(4): 84.
- [4] 徐昌芬, 卢晓东, 周亚东, 等. 人早孕绒毛滋养层细胞的分离纯化及马鞭草对其分泌绒毛膜促性腺激素的影响[J]. 中国医科大学学报, 1998, 29(2): 145.
- [5] 刘玉琴. 中西医结合治疗女性免疫不孕 645 例效果分析[J]. 中原医刊, 2004, 31(18): 32.
- [6] 蔡春, 莫丽儿, 李小凤. 不同产地橘红黄酮含量的比较[J]. 时珍国医国药, 1996, 7(1): 27.
- [7] 徐孝东, 梁卫文, 徐燕, 等. 土茯苓喷雾干燥粉总黄酮含量测定[J]. 中药材, 2003, 26(9): 671.
- [8] 郭春燕, 李振良, 张力. 分光光度法测定桃红四物汤中总黄酮含量[J]. 中草药, 2002, 33(4): 320.

收稿日期: 2006-03-19