

新疆产大叶白麻不同部位黄酮类成分含量分析

蔡卿龄, 张 勇, 魏原杰, 石秋梅*

(新疆大学生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830046)

摘要: 采用高效液相色谱法测定新疆产大叶白麻不同部位金丝桃苷、异槲皮苷、芦丁及总槲皮素的含量; 以NaAc-A1Cl₃体系为显色剂, 用分光光度法于波长420 nm处测定大叶白麻不同部位总黄酮的含量。结果表明: 大叶白麻叶、花、根和茎中的总黄酮含量分别为1.39%、0.89%、0.30%和0.13%。在所检测的3个主要黄酮类成分中, 异槲皮苷含量最高, 除根外, 在叶、花和茎中均可检测, 含量分别为0.4%、0.15%和0.07%; 芦丁和金丝桃苷含量较低。采用高效液相色谱法检测叶片和花中酸水解后总槲皮素含量, 结果表明, 叶和花中槲皮素含量分别为0.63%和0.34%。

关键词: 大叶白麻; 黄酮类成分; 高效液相色谱

Determination of Major Flavonoid Contents in Different Organs of *Poacynum hendersonii* (Hook.f.) Woodson Grown in Xinjiang

CAI Qing-ling, ZHANG Yong, WEI Yuan-jie, SHI Qiu-mei*

(College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Ürümqi 830046, China)

Abstract: The contents of hyperoside, isoquercitrin, rutin and total quercetin in different parts of *Poacynum hendersonii* (Hook.f.) Woodson from Xinjiang were determined by high performance liquid chromatography (HPLC), and the total flavonoids content was determined by spectrophotometry at 420 nm. The results showed that the total flavonoid content was 1.39% in leaves, 0.89% in flowers, 0.30% in roots, and 0.13% in stems. Among three major flavonoids identified in this plant, isoquercitrin was the most abundant and showed detectable levels (0.4%, 0.15% and 0.07% in leaves, flowers and stems, respectively) in all three other parts except for roots, along with very small amounts of hyperoside and rutin. The total quercetin content in leaves and flowers was 0.63% and 0.34% by HPLC following acidic hydrolysis, respectively.

Key words: *Poacynum hendersonii* (Hook.f.) Woodson; flavonoid contents; high performance liquid chromatography (HPLC)

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 22-0211-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201422041

大叶白麻 (*Poacynum hendersonii* (Hook.f.) Woodson) 又名大花罗布麻、罗布白麻, 为夹竹桃科白麻属多年生宿根半灌木, 与罗布红麻 (*Apocynum venetum* Linn.) 和白麻 (*Poacynum pictum* Schrenk) 三者常被统称为“罗布麻”^[1-2]。大叶白麻集中分布于新疆塔里木盆地、甘肃河西走廊、内蒙古西部、青海柴达木盆地等干旱、盐渍化区域。在新疆, 罗布红麻仅与农田杂草混生于田埂渠边, 成片分布区少, 而大叶白麻在塔里木河冲积平原广泛分布, 面积大, 具有开发潜力和开发价值^[3-4]。我国药典收录了罗布红麻叶, 黄酮类物质是其主要的药效成分, 主要有金丝桃苷、异槲皮苷、芦丁和槲皮素等, 已有大量有关其黄酮类成分含量测定的文献^[5-11]报道。大叶白麻亦具有较高的药用价值^[12-14]、有研究表明它也具有与罗布红麻相似的药效成分^[14-21], 其叶片常被用于

制作罗布麻茶、罗布麻降压片等的替代品, 但与罗布红麻相比, 其药理作用及其活性成分检测的研究较少。为更好地利用该药用植物, 有必要获取更多、更全面有关其体内黄酮类成分分布的信息。目前有关大叶白麻不同部位几种主要黄酮类成分含量的研究尚未见报道, 因此本研究采用高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 法对新疆产大叶白麻叶、花、茎和根不同部位主要黄酮类物质进行定性研究, 为更好地利用该植物资源提供理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

大叶白麻采集于新疆尉犁县野外, 新疆大学生命科

收稿日期: 2014-03-23

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2012211A021)

作者简介: 蔡卿龄 (1991—), 女, 本科生, 研究方向为植物次生代谢及调控。E-mail: 526595477@qq.com

*通信作者: 石秋梅 (1976—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为植物次生代谢及调控。E-mail: sqm06@sina.com

学与技术学院生物科学系鉴定为夹竹桃科白麻属大叶白麻, 成熟植株分叶、根、茎和花4个部位, 其中, 茎指植株的上半部分枝条。

金丝桃苷、芦丁、槲皮素、异槲皮苷(质量分数98%) 天津一方科技有限公司; 乙腈、甲醇为色谱纯美国Sigma-Aldrich公司; 磷酸、乙醇、盐酸等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-3600紫外-可见分光光度计 上海棱光技术有限公司; LC-2010A-VP高效液相色谱仪 日本岛津公司; BS200S电子天秤 北京赛利斯天平有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品供试液的制备

将成熟干燥的大叶白麻的根、茎、叶、花粉碎, 分别精密称取0.4 g, 置于150 mL圆底烧瓶中, 加体积分数60%乙醇50 mL, 80 °C水浴条件下回流提取1 h, 提取液放冷, 过滤, 用体积分数60%乙醇定容至50 mL, 摇匀备用, 每个样品做4个重复。

1.3.2 总黄酮含量的测定^[22]

对照品溶液制备: 精密称取金丝桃苷对照品4.8 mg, 用体积分数60%乙醇溶解并定容于100 mL容量瓶中, 制成含金丝桃苷0.048 mg/mL的溶液, 保存于4 °C冰箱中备用。

显色方法(AlCl₃-NaAc显色法): 精密量取样品供试液1.0 mL, 置10 mL容量瓶中, 加0.6 mol/L AlCl₃ 0.5 mL, 再加1 mol/L NaAc 1.5 mL, 摇匀, 放置20 min, 用体积分数60%乙醇定容。以零号管(不加样品供试液)为空白, 用分光光度计于波长420 nm处测吸光度。

标准曲线的制作: 精密量取金丝桃苷对照品溶液0.0、1.0、2.0、2.5、3.0、4.0 mL, 分别置10 mL容量瓶中, 采用上述分光光度法测吸光度。以吸光度 A (Y)为纵坐标, 质量浓度(X)($\mu\text{g/mL}$)为横坐标, 进行线性回归, 得吸光度-质量浓度标准曲线。

样品中总黄酮含量的测定: 分别精密移取叶、花、根和茎的提取液各10 mL, 置于10 mL容量瓶中, 采用上述显色方法(AlCl₃-NaAc显色法), 于420 nm波长处测定吸光度, 根据标准曲线计算含量。

$$\text{样品中总黄酮含量}/\% = \frac{1.09 \times (A - 0.0064)}{m} \times 100 \quad (1)$$

式中: A 为样品吸光度; m 为样品称样质量/g。

1.3.3 金丝桃苷、芦丁、异槲皮苷含量的测定

测定方法参考文献[23]。

1.3.4 酸水解后总槲皮素含量的测定

1.3.4.1 色谱条件

参考文献[24]方法, 并略有修改: 色谱柱为Agilent TC-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-0.4%磷酸溶液(50:50, V/V)为流动相; 检测波长360 nm; 流速

1.0 mL/min; 柱温30 °C; 经0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 进样10 μL 。

1.3.4.2 对照品溶液制备

精密称取槲皮素对照品5.0 mg, 用体积分数80%甲醇溶解并定容于100 mL容量瓶中, 制成含槲皮素0.050 mg/mL的溶液, 保存于4 °C冰箱中备用。

1.3.4.3 样品供试液酸水解

将花和叶样品供试液进行酸水解处理: 分别精密量取10 mL花和叶的供试液, 置于25 mL圆底烧瓶中, 加入盐酸1 mL, 90 °C水浴条件下回流1 h, 回流液放冷, 转移至25 mL容量瓶, 用体积分数80%甲醇定容, 摇匀备用, 每个样品4个重复。

1.3.4.4 标准曲线的制作

精密量取对照品溶液0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL, 分别置10 mL容量瓶中, 各加体积分数80%甲醇至刻度。按1.3.4.1节色谱条件各取10 μL 进样。以质量浓度(X)($\mu\text{g/mL}$)为横坐标, 峰面积 A (Y)为纵坐标进行线性回归, 得峰面积-质量浓度标准曲线。

1.3.4.5 样品中总槲皮素含量的测定

取1.3.4.3节中已制备好的样品提取液经0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 各取10 μL 按1.3.4.1节上述色谱条件进样。根据标准曲线计算含量。

$$\text{槲皮素含量}/\% = 7.4 \times 10^{-4} \times (Y + 28.4) / m \times 100 \quad (2)$$

式中: Y 为峰面积; m 为样品称样质量/g。

2 结果与分析

2.1 大叶白麻不同部位总黄酮含量

按1.3.2节进行标准曲线的制作, 其回归方程($n=6$)为 $Y=0.0456X+0.0064$, $R^2=0.999$ 。将样品相应的吸光度带入相应的回归方程, 即可按公式(1)计算出总黄酮的含量。

表1 大叶白麻不同部位的总黄酮含量

部位	叶	花	茎	根
总黄酮含量	1.39±0.072	0.89±0.028	0.30±0.019	0.13±0.004

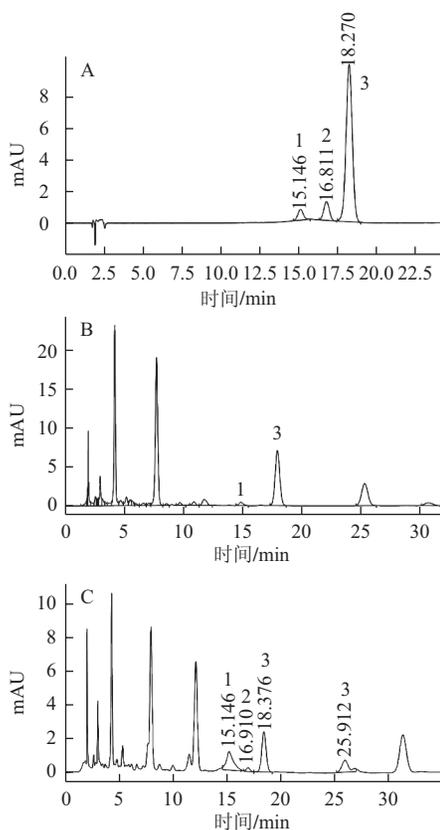
由表1可知, 叶片中总黄酮含量最高, 为1.39%, 根中含量最低, 仅0.13%, 不同部位中总黄酮含量的高低依次为叶>花>茎>根。

2.2 大叶白麻不同部位的金丝桃苷、异槲皮苷、芦丁含量

2.2.1 标准品和样品提取液色谱图

芦丁、金丝桃苷和异槲皮苷分别是槲皮素和芸香糖、半乳糖和葡萄糖形成的糖苷, 结构非常相近, 从图1A对照品色谱图可看出, 这3种黄酮醇得到了很好地分

离。叶和花提取HPLC图分别见图1B、C，叶和茎的黄酮类成分相似，但叶中含量较丰富，花中黄酮类成分较叶丰富，根中黄酮类成分很少。



1.芦丁; 2.金丝桃苷; 3.异槲皮苷。

图1 混合对照品(A)、大叶白麻叶(B)和花(C)的HPLC图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), and leaves (B) and flowers (C) of *P. hendersonii*

2.2.2 黄酮类成分含量

表2 大叶白麻不同部位3种主要黄酮类成分含量

Table 2 Contents of rutin, hyperin and isoquercetin in different organs of *P. hendersonii*

	%			
部位	叶	花	茎	根
金丝桃苷含量	—	0.02±0.000 6	—	—
异槲皮苷含量	0.40±0.008 2	0.15±0.001 2	0.07±0.002 8	—
芦丁含量	0.027±0.013	0.035±0.000 9	—	—

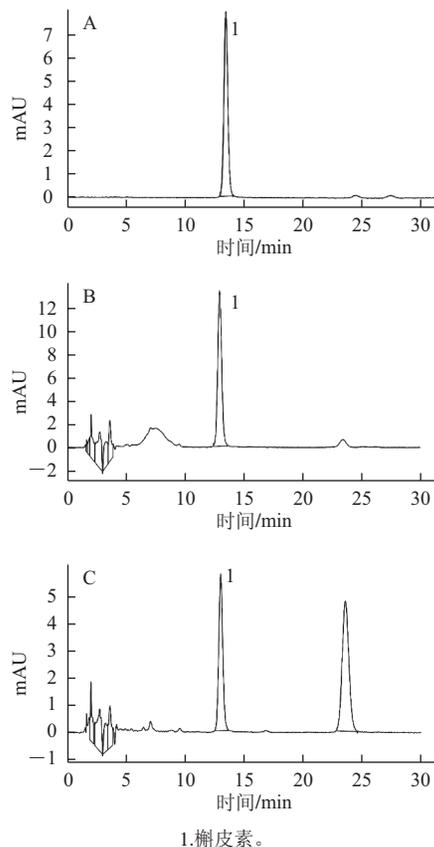
注: —.低于检测限。

从表2可看出,在这3种主要的黄酮类成分中异槲皮苷的含量较高,芦丁和金丝桃苷的含量很低。在大叶白麻的不同部位中,叶中异槲皮苷含量最高,而花中异槲皮苷亦较高,且花中芦丁及金丝桃苷含量也较其他部位高些。

2.3 大叶白麻不同部位总槲皮素含量

2.3.1 标准品(槲皮素)和样品提取液色谱图

由于根、茎中黄酮类成分含量过低(表2),所以提取液酸水解后总槲皮素含量时只做了叶片和花的检测。从图2可知,叶片和花提取液经酸水解后,成分非常单一,叶片(图2B)中几乎都是槲皮素,表明叶片中的黄酮类物质主要是槲皮素和不同糖形成的苷,酸水解后,糖苷键断裂,槲皮素游离出;但花(图2C)中除槲皮素外,在其右边还具有另一主峰,说明花中除含槲皮素类物质外,还富含另一类物质。



1.槲皮素。

图2 对照品(A)、大叶白麻叶(B)和花(C)的HPLC图谱

Fig.2 HPLC chromatograms of reference substance (A), and leaves (B) and flowers (C) of *P. hendersonii*

2.3.2 总槲皮素含量

按1.3.4.4节进行标准曲线的制作,其回归方程($n=7$)为 $Y=16.84X-28.4$, $R^2=0.976 9$ 。将样品相应的峰面积带入相应的回归方程,即可按公式(2)计算出总槲皮素的含量。

表3 大叶白麻不同部位总槲皮素含量

Table 3 Total quercetin contents in different organs of *P. hendersonii*

	%	
部位	花	叶
总槲皮素含量	0.34±0.017	0.63±0.007

从表3可知,大叶白麻叶中的总槲皮素含量较高,为0.63%;花中也具有一定的槲皮素,为0.34%。

3 结论与讨论

对不同部位色谱图(图1)进行分析可知,根中的黄酮类成分极少且含量很低,叶片中的黄酮类成分含量最高,但花中成分较丰富。由实验结果可知,在所检测的3个主要黄酮类成分中,异槲皮苷含量最丰富,除根外,在叶、花和茎中均可检测,含量分别为0.4%、0.15%和0.07%;芦丁和金丝桃苷含量均很微弱;对不同部位总黄酮含量的测定结果表明,新疆产大叶白麻叶、花、根和茎中的总黄酮含量分别为1.39%、0.89%、0.30%和0.13%;酸水解后总槲皮素含量较丰富,叶片和花中的含量分别为0.63%和0.34%。罗布麻叶在我国做茶饮和药用有悠久的历史,现代药理学研究表明罗布麻叶有明显的降压、降脂作用,且其药理作用与其中含有的黄酮类成分有关^[12-14]。目前的质量控制研究也是主要围绕黄酮类化合物进行的^[5-11]。《中国药典》(2005年版)中为罗布麻叶(罗布红麻叶)确定的含量限度是水解后槲皮素含量不低于0.6%^[24]。大叶白麻的叶水解后槲皮素含量刚好达到此标准,具有较好的药用价值。邓翻云^[22]、石秋梅^[23]、强静^[15]等的实验结果表明在大叶白麻的叶中可检测到金丝桃苷,而本实验在大叶白麻的叶中几乎未检测到金丝桃苷,这主要是因为大叶白麻叶中金丝桃苷含量微弱,含量仅0.01%左右,在本实验条件下低于检测限。现在新疆市场上销售的罗布麻茶有叶茶和花茶2种,前者主要以大叶白麻叶为原料,后者以大叶白麻花为原料。由本实验结果可知,大叶白麻叶中的总黄酮、异槲皮苷、总槲皮素含量较高,而花中的含量相对低。叶菊等^[25]对罗布麻不同部位总黄酮含量的测定结果也表明,叶中含量最高。大叶白麻花中黄酮类成分含量虽然较叶片中低,但其成分较丰富,另外花乙醇提取液经酸水解后,除槲皮素色谱峰外,还有另一响应值较强的色谱峰,参考文献[26],该物质应该是山奈酚,后期研究也表明其含量较高,与叶片中的槲皮素含量相当(未发表)。因此,花茶可能具有其特殊的功效。有关罗布麻花茶和叶茶功效的比较评价,还需进行提供更全面的活性成分测定。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物志编委会. 中国植物志: 第63卷[M]. 北京: 科学出版社, 1977: 157-165.
- [2] 张卫明, 肖正春, 顾龚平, 等. 罗布麻资源利用与罗布麻植物分类问题[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(2): 15-19.
- [3] 阿斯娅·曼力克, 孙韬, 塞里克·都曼, 等. 新疆大叶白麻资源及其开发利用前景[J]. 中国农业资源与区划, 2003, 24(3): 27-30.
- [4] 郝金标, 张福锁, 毛达如, 等. 新疆药用盐生植物及其利用潜力分析[J]. 中国农业科技导报, 2003, 5(1): 43-48.
- [5] 石雪萍, 吴亮亮. 高效液相色谱测定不同采收期罗布麻中黄酮含量[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(10): 1115-1119.
- [6] 梁珊珊, 赵亮, 张海. 优化的HPLC-DA法同时测定罗布麻中4种黄酮类成分的含量[J]. 第二军医大学学报, 2011, 32(7): 759-762.
- [7] 万近福, 杨新洲, 袁经权. 制备型高效液相色谱快速分离罗布麻花的黄酮类成分[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2011, 33(4): 463-468.
- [8] 郁韵秋, 龚伟珈, 李端, 等. 高效液相色谱法同时测定罗布麻浸膏粉中金丝桃苷、异槲皮苷、槲皮素的含量[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2007, 46(3): 417-420.
- [9] 杨红, 杨凤梅, 刘海青. 罗布麻叶类药材中3个黄酮苷成分HPLC定量分析[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(11): 2051-2054.
- [10] 李奇, 张月婵, 宋建平, 等. 不同产地罗布麻叶黄酮类成分分析[J]. 中药材, 2009, 32(9): 1359-1362.
- [11] 张群林, 吴亮, 言安定, 等. HPLC同时测定罗布麻叶药材及其提取物中6种黄酮的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(5): 589-593.
- [12] 钱曾年, 顾振伦, 金黎清, 等. 大花罗布麻叶的药理学研究: 3.对心血管系统的影响[J]. 中成药, 1991, 13(7): 27-29.
- [13] 堵年生, 马成, 张烜. 大花罗布麻叶提取物及其中两个化学成分的降血脂作用: 中国, CN200410079913.3[P/OL]. (2006-03-22)[2014-10-13]. <http://www.patent-cn.com/2006mar/CN1749263.shtml>.
- [14] LIANG Taigang, YUE Wenyan, LI Qingshan, et al. Comparison of the phenolic content and antioxidant activities of *Apocynum venetum* L. (Luo-Bu-Ma) and two of its alternative species[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11(11): 4452-4464.
- [15] 强静, 李奇, 刘训红, 等. 大花罗布麻叶黄酮类成分的分析[J]. 新疆中医药, 2009, 27(5): 31-34.
- [16] AN Haijuan, WANG Hong, LAN Yuexiang, et al. Simultaneous qualitative and quantitative analysis of phenolic acids and flavonoids for the quality control of *Apocynum venetum* L. leaves by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MS and HPLC-DAD[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 85: 295-304.
- [17] 韩利文, 侯晋军, 李云兰, 等. 高效液相色谱法比较不同种属和产地罗布麻叶中金丝桃苷的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(5): 392-394.
- [18] 张云峰, 魏东, 郭祀远, 等. 大花罗布麻的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(6): 954-957.
- [19] 严秀珍, 胡昌奇, 周军良, 等. 白麻和红麻化学成分的测定[J]. 中成药研究, 1987(12): 27-29.
- [20] MA Miao, HONG Chenglin, AN Shuqing, et al. Seasonal, spatial, and interspecific variation in quercetin in *Apocynum venetum* and *Poacynum hendersonii*, chinese traditional herbal teas[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(8): 2390-2393.
- [21] KAGAWA T, NAKAZAWA Y, TAKAHASHI Y, et al. Chemical identification of luobuma and quantitative analysis of flavonoids in luobuma[J]. Natural Medicines, 2004, 58(4): 295-298.
- [22] 邓翻云, 吴敏言, 尹传华, 等. 罗布麻和大叶白麻黄酮类成分的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(7): 23-25.
- [23] 石秋梅, 邓翻云, 吴敏言. HPLC法同时测定新疆产2种罗布麻叶中芦丁、金丝桃苷及异槲皮苷含量[J]. 中草药, 2014, 45(9): 1326-1329.
- [24] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 147.
- [25] 叶菊, 苏印泉, 吕建荣, 等. 罗布麻总黄酮含量的研究[J]. 西北林学院学报, 2006, 21(3): 114-115.
- [26] 杜小伟, 王京辉, 肖斯婷, 等. 高效液相色谱法测定不同来源罗布麻叶中槲皮素和山奈素的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(1): 51-53.