DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2017.02.006

紫外分光光度法测定不同产地半枝莲总黄酮含量*

任　强[1]　薛　永[1]　聂其婷[1]　王亚楠[1]　夏天睿[2]
([1]济宁医学院药学院，日照 276826；[2]广东一方制药有限公司，佛山 528244)

摘　要　目的　建立紫外分光光度法，测定不同产地半枝莲中的总黄酮含量。**方法**　采用紫外分光光度法，以黄芩苷为对照品，对 15 个不同产地半枝莲中的总黄酮进行含量测定。**结果**　紫外分光光度法测定黄芩苷，在 2.4 ~12μg/ml 范围内呈良好的线性关系 C = 0.01593 ×（Abs）+ 0.00016（r = 0.9997），不同产地的 15 个半枝莲样品进行测定，总黄酮含量分别为 2.70%、1.85%、2.18%、2.36%、2.29%、2.30%、1.64%、1.99%、2.42%、2.22%、0.97%、1.99%、1.44%、2.11%、2.56% 。**结论**　不同产地半枝莲中的总黄酮含量差异明显，其中编号 1 产地含量最高，编号 11 地区含量最低。

关键词　半枝莲；总黄酮；紫外分光光度法；含量测定
中图分类号：R917　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1000-9760(2017)04-103-03

Determination of total flavonoids from different production areas of Scutellaria barbata D. Don by UV Spectrophotometry

REN Qiang[1], *XUE Yong*[1], *NIE Qiting*[1], *WANG Yanan*[1], *XIA Tianrui*[2]
([1]*School of Pharmaceutical, Jining Medical University, Rizhao* 276826, *China*;
[2]*Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan* 528244, *China*)

Abstract: ***Objective***　Establish a UV spectrophotometric method, determination of total flavonoids in Scutellaria barbata D. Don from different regions. ***Methods***　A total of flavonoids in Scutellaria barbata D. Don from 15 different places were determined by means of ultraviolet spectrophotometry, with baicalin as reference substance. ***Results***　Determination of baicalin by UV Spectrophotometry; the calibration curve C = 0.01593 × (Abs) + 0.00016 was linear in the range of 2.4 μg/ml ~ 12 μg/ml with good linearity (r = 0.9997), the total flavonoids content from different regions were 2.70%, 1.85%, 2.18%, 2.36%, 2.29%, 2.30%, 1.64%, 1.99%, 2.42%, 2.22%, 0.97%, 1.99%, 1.44%, 2.11%, 2.56%. ***Conclusion***　The different samples had obvious difference of the content, which No. 1 sample was highest No. 11 sample content was the lowest.

Keywords: Scutellaria barbata; Flavonoids; UV spectrophotometry; Determination

半枝莲（Scutellaria barbata D. Don）为唇形科黄芩属植物，收载于 2010 年版一部《中国药典》。半枝莲全草入药，具有清热解毒、活血祛瘀、消肿止痛、抗癌等功能。性寒味酸，全草具有凉血解毒，散瘀止痛，消肿和清热利湿的功效[1]。半枝莲中主要含有黄酮类[2-5]、二萜类[6-9]、多糖等化合物，目前已有文献表明黄酮类化合物是半枝莲的主要有效成分[10-12]，其含量高低能够直接影响半枝莲的临床疗效。本文采集了半枝莲的 3 个主要产区（河南、安徽、湖南）共 15 份样品，利用紫外分光光度法，对半枝莲中的总黄酮进行含量测定，为快速评价半枝莲的质量以及开发半枝莲药材提供理论基础和科学依据。

*［基金项目］山东省医药卫生科技发展计划项目（2014WS0508）；济宁医学院大学生创新创业训练计划资助项目（cx2015060）

1　仪器与材料

1.1　仪器

紫外可见分光光度计 TU-1901（北京普析通用有限责任公司）；KQ-500DB 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；TGL-185 台式高速

冷冻离心机（长沙平凡仪器仪表有限公司）；RE-2000A 旋转蒸发仪（上海亚荣）；Finnpipette F3 移液枪（Thermo Scientific）；Q-4110 石英狭缝比色皿（无锡本色环保科技公司）；SHIMADZU UX620H 电子天平（日本岛津）；10ml、25ml、100ml 容量瓶；50ml 锥形瓶。

1.2　实验材料

半枝莲分别来自 15 个不同产地的干燥全草药材，粉碎成过四号筛的粉末，详细信息详见表 1。

黄芩苷对照品（中国药品生物制品检定所）；甲醇（永大试剂，天津市永大化工有限公司，批号：20131012）；水，去离子水，购于杭州娃哈哈公司。

表 1　半枝莲样品来源信息

编号	地　点	样品信息	GPS 信息
1	河南确山石滚河娄庄村（种植地）	13 年二茬	113°71′812″E, 32°75′412″N, 海拔 129m
2	河南确山石滚河镇石滚河村（种植地）	13 年二茬	113°77′983″E, 32°74′206″N, 海拔 129m
3	河南确山石滚河镇（药材收购点）	13 年二茬	113°71′858″E, 32°74′271″N, 海拔 129m
4	河南确山竹沟镇京院（种植地）	13 年二茬	113°74′958″E, 32°79′113″N, 海拔 153m
5	河南确山瓦岗镇下沟（种植地）	13 年二茬	113°84′399″E, 32°78′036″N, 海拔 150m
6	河南确山瓦岗镇（药材收购点）	13 年二茬	113°83′735″E, 32°78′195″N, 海拔 150m
7	河南确山竹沟镇王岗村（药材收购点）	13 年二茬	113°78′519″E, 32°79′037″N, 海拔 154m
8	河南确山竹沟镇（药材收购点）	13 年一茬	GPS 信息未记录
9	河南确山竹沟镇（药材收购点）	13 年二茬	GPS 信息未记录
10	安徽临泉牛荘（药材收购点）	13 年二茬	115°33′843″E, 33°11′490″N, 海拔 23m
11	安徽临泉牛荘大曾张（种植地）	13 年二茬	113°33′925″E, 33°06′340″N, 海拔 18m
12	安徽临泉牛荘（种植地）	13 年二茬	115°34′129″E, 33°07′420″N, 海拔 17m
13	湖南新宁回龙镇（药材收购点）	13 年二茬	111°11′863″E, 26°74′813″N, 海拔 252m
14	湖南新宁回龙镇（药材收购点）	12 年三茬	111°11′863″E, 26°74′813″N, 海拔 252m
15	湖南新宁回龙镇（药材收购点）	13 年二茬	111°11′001″E, 26°74′081″N, 海拔 251m

2　方法与结果

2.1　对照品溶液的制备

精密称取，在 105 °C 下干燥至恒重的黄芩苷对照品 30 mg，置于 200 ml 的容量瓶中，加甲醇使溶解，定容至刻度，摇匀，配制成 150μg/ml 的黄芩苷对照品溶液。分别精密量取黄芩苷对照品溶液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 置于 25 ml 的容量瓶中，用甲醇定容至刻度线，配制成浓度为 2.4、4.8、7.2、9.6、12μg/ml 等系列浓度的对照品溶液。

2.2　供试品溶液的制备

称取半枝莲粉末 0.15g，分别置于 10ml 的容量瓶中，加入 75% 甲醇溶液 10ml，超声提取 1h，超声温度为 40℃，提取液，10000rpm/min 离心，移取 0.6ml 提取液置 10ml 的容量瓶，定容至刻度，即得供试品溶液。

2.3　最大吸收波长的确定

采用黄芩苷对照品溶液（7.2μg/ml），紫外分光光度计扫描（220 ~ 600nm），确定最大吸收峰波长在 277nm 处，所以选择 277nm 作为检测波长。

2.4　线性关系考察

分别精密量取黄芩苷对照品溶液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0ml 置于 25ml 的容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配制成浓度为 2.4、4.8、7.2、9.6、12μg/ml 等系列浓度的对照品溶液，用甲醇作为空白。测定吸光度（Abs），以吸光度为纵坐标，以浓度（C）为横坐标，得到回归方程为：C = 0.01593 × (Abs) + 0.00016，r = 0.9997，在 2.4 ~ 12μg/ml 范围内呈良好的线性关系。

2.5　精密度试验

采用黄芩苷对照品溶液（7.2μg/ml），在 277nm 波长处，连续测定 6 次，获得吸光度值，带入标准曲线计算含量，结果 RSD = 1.06%（n = 6），表明该方法精密度良好，可以满足含量测定的要求。

2.6　稳定性试验

将半枝莲样品，按照“2.2 项下”方法制备供试品溶液，室温放置，分别于 0、2、4、8、12、24h，在 277nm 波长处，测定获得吸光度值，代入标准曲线

计算含量,结果 RSD 均小于 1.01%,表明供试品溶液,在室温放置 24h 稳定性。

2.7 加样回收率试验

精密称取半枝莲样品 6 份,每份各 0.05g,分别精密加入黄芩苷对照品溶液(150μg/ml)各 4ml,置于通风橱下,待溶液挥干,按照"2.2 项下"供试品溶液制备方法处理后,测定紫外吸光度值,带入标准曲线,结果回收率在 94.3% ~96.8% 范围内,RSD 小于 1.10%,表明该方法能够较好的对黄酮类成分进行含量测定准确度较高。

2.8 样品中的总黄酮含量测定

取不同产地的半枝莲样品 15 份,按照"2.2 项下"方法制备供试品溶液,在 277nm 波长处,测定紫外吸光度值,带入相应的线性回归方程计算浓度,结果见图 1。

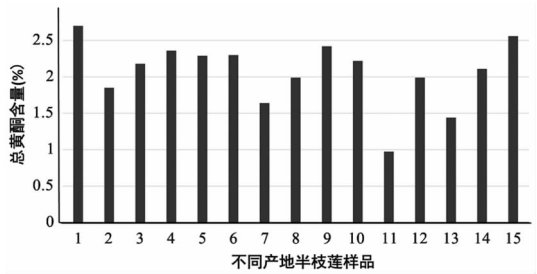

图 1　不同产地半枝莲中总黄酮的含量

3　讨论

采用紫外分光光度法对半枝莲中的总黄酮含量的测定,方法简单、准确、快捷。此次实验通过检测 15 个不同产地的半枝莲药材,比较不同产的半枝莲中总黄酮的含量差异,可以用来作为半枝莲质量评价参考依据。实验结果显示,不同产地的药材总黄酮含量有明显差异。15 个不同产地半枝莲总黄酮含量分别为 2.70%、1.85%、2.18%、2.36%、2.29%、2.30%、1.64%、1.99%、2.42%、2.22%、0.97%、1.99%、1.44%、2.11%、2.56% 。由实验结果可见 1 号地区含量最高,11 号地区含量最低。原因可能是半枝莲产地的土壤、气候、光照等多种因素导致总黄酮含量的差异,其中 1、4、6、13 号产地含量比较高,由于半枝莲中的总黄酮化合物是临床疗效的主要有效成分,因此在药材采购、药理研究时应在选择含量较多的地区药材从而控制半枝莲的质量稳定性。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版第三增补本[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:109-110.

[2] 任强. 半枝莲化学成分及药理作用研究进展[J]. 济宁医学院学报,2014,37(3):157-161. DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2014.03.002.

[3] Tomimori T, Miyaichi Y, Imoto Y, et al. Studies on the constituents of Scutellaria species. IV. On the flavonoid constituents of the root of Scutellaria baicalensis Georgi (4)[J]. Yakugaku Zasshi, 1984, 104(5): 529-534. DOI:10.1248/cpb.38.3488.

[4] 李萍,张国刚,左甜甜,等. 半枝莲的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2008,25(7):549-552. DOI:10.3969/j.issn.1006-2858.2008.07.010.

[5] 何枢衡,张祎,葛丹丹,等. 中药半枝莲黄酮类成分的分离与结构鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2011,28(3):182-185.

[6] Zhu F, Di YT, Liu LL, et al. Cytotoxic neoclerodane diterpenoids from Scutellaria barbata[J]. J Nat Prod, 2010,73(2):233-236. DOI:10.1021/np900309p.

[7] Qu GW, Yue XD, Li GS, et al. Two new cytotoxic ent-clerodane diterpenoids from Scutellaria barbata[J]. J Asian Nat Prod Res, 2010, 12(10): 859-864. DOI: 10.1080/10286020.2010.507546.

[8] 8Lee H, Kim Y, Choi I, et al. Two novel neo-clerodane diterpenoids from Scutellaria barbata[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(1): 288-290. DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.10.116.

[9] 郭丽华,齐聪,杨红,等. 半枝莲黄酮类单体对人卵巢癌 SKOV3 细胞增殖的影响[J]. 上海中医药杂志,2013,47(1):61-65.

[10] 赵铁华,邓淑华,杨鹤松,等. 半枝莲总黄酮抗甲型 H1N1 流感病毒感染的药效学研究[J]. 中国药理学通报,2014,30(1):147-148. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2014.01.034.

[11] 肖兰青,熊小虎. 半枝莲中的黄酮抗幽门螺杆菌作用研究[J]. 第三军医大学学报,2011,33(15):1643-1644.

(收稿日期　2016-11-19)
(责任编辑:石俊强)