

水松叶的总黄酮含量研究

斯缨, 王晖, 龚复俊, 丁时东, 王有为^{*}

(中国科学院武汉植物研究所/武汉植物园, 武汉 430074)

摘要: 杉科植物水松(*Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) Koch.)叶中含有丰富的黄酮类化合物, 采用分光光度法, 以芦丁为标准品, 测定秋季和春季的水松叶中总黄酮的含量。结果显示, 水松叶秋季总黄酮含量比春季总黄酮含量高。

关键词: 水松; 黄酮; 分光光度法

中图分类号: R 284.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X (2003) 06-0547-03

Study on the Total Flavonoids Content in Leaves of *Glyptostrobus pensilis*

SI Ying, WANG Wei, GONG Fu-Jun, DING Shi-Dong, WANG You-Wei^{*}

(Wuhan Botanical Garden/Wuhan Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

Abstract *Glyptostrobus pensilis* is rich of flavonoids compounds. Flavonoids in leaves was determined by UV spectrophotometry with rutin as a standard. The results indicated that the content of total flavonoids in autumn is higher than its in spring.

Key words: *Glyptostrobus pensilis*; Flavonoids; UV spectrophotometry

杉科水松属植物水松(*Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) Koch.), 为我国特有树种, 国家二级保护植物。主要分布于珠江三角洲和福建中部及闽江下游海拔1000 m以下地区, 南京、武汉、庐山、上海、杭州等地均有栽培^[1]。水松叶及其皮在我国民间作为药用, 水松叶主要用于治疗风湿性关节炎、高血压、皮炎(外用)。水松的干白皮外用于杀虫止痒, 治疗烫伤^[2]。

水松叶中含有丰富的黄酮类化合物。Mitsuo等^[3]从水松中分得一种山奈酚(Kaempferol)的葡萄糖甙Sequoystol和Avicularin, 用纸层析检测到Ditichin。Mitsuo等^[4]用纸层析检测到水松中有槲皮素(Quercetin)、山奈酚和异鼠李素(Isoquercetin)。Gadek和Quinn^[5]曾通过薄层对照和紫外分析, 在水松中检测到双黄酮Amentoflavone, 4',4''-dimethyl amentoflavone, 7,4'-dimethyl amentof-

lavone, 4',4''-dimethyl amentoflavone 和 Hinokiflavone 的存在。在杉科植物特征化学成分及活性的系统研究中, 我们对水松叶的化学成分进行了研究, 分离得到多种黄酮苷^[6], 分别为槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯吡喃糖苷, 槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯呋喃糖苷, 槲皮素-3-O- β D-半乳吡喃糖苷, 槲皮素-3-O- β D-木糖吡喃糖苷等。笔者用分光光度法^[7]对秋季和春季的水松叶总黄酮进行了含量测定。

1 材料与仪器

水松叶分别于2001年11月、2002年6月采自武汉大学树木园, 由中国科学院武汉植物研究所/武汉植物园分类室鉴定。芦丁(Rutin)由中国药品生物制品检定所提供。试剂为分析纯。7520紫外可见分光光度计(上海分析仪器厂); Sartorius BS-110S电子天平(德国)。

收稿日期: 2003-02-25, 修回日期: 2003-07-25。

作者简介: 斯缨(1973-), 女, 研究实习员, 现从事天然活性成分研究。

* 通讯作者(E-mail: wwy@zjwhb.ac.cn)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液和对照品溶液的制备

水松叶自然干燥, 粉碎, 过4号筛, 得粗粉。精密称取供试品粗粉1g, 用滤纸包裹置索氏提取器中, 加石油醚(60~90)60mL, 加热回流4h, 弃去石油醚提取液, 挥干滤纸包。加甲醇50mL, 索氏提取4h, 将甲醇提取液置50mL的容量瓶中, 甲醇定容, 摆匀, 作为供试品溶液。另取供试品, 用烘干法进行水分测定。

精密称取经干燥至恒重的芦丁对照品5mg置50mL的容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释到刻度, 得0.1mg/mL的溶液。

2.2 最大吸收波长的选择

吸取对照品溶液2mL, 5%的 AlCl_3 甲醇溶液1mL, 置10mL容量瓶中, 加甲醇至刻度, 放置5min。以甲醇及显色剂溶液作空白, 测定其在425nm处有最大吸收。因此选择425nm为测定波长。

2.3 标准工作曲线的绘制

吸取对照品溶液0.05~2.0mL, 分别加入到10mL的容量瓶中, 再分别加入1mL5%的 AlCl_3 甲醇溶液, 用甲醇稀释到刻度, 然后放置5min, 于425nm处测定吸光度, 绘制标准曲线横坐标为对照品浓度(C), 纵坐标为吸光度(A), 得回归方程: $A = 49.22C - 0.0105$, $r = 0.9998$ 。线性范围在0.005~0.025mg/mL之间。

2.4 样品含量测定

取供试品溶液0.5mL, 加1mL5%的 AlCl_3 甲醇溶液, 甲醇定容至10mL, 在425nm波长处测定吸光度, 扣除水分, 计算总黄酮的含量, 结果见表1。

表1 不同季节水松叶总黄酮的含量

Table 1 Determination of total flavonoids content in *Glyptostrobus pensilis* leaves in different seasons

| 采集时间 Collection date | 称样量 (mg) Weight | 吸光度 OD | 浓度 (mg/mL) Concen- tration | 总黄酮含量 (%) Content |
|----------------------------|-----------------------|-----------|-------------------------------------|-------------------------|
| 2001年11月 | 1 000.0 | 0.860 | 0.0177 | 1.77 |
| 2002年6月 | 1 009.4 | 0.750 | 0.0155 | 1.54 |

2.5 加样回收率实验

精密称取6份已知含量的供试品粗粉各1g, 分别准确加入芦丁对照品。按2.1项下的制备方法及2.3项下的显色方法操作, 平均回收率为100.4%

($n=6$), RSD为2.0% (表2)。

表2 加样回收率实验
Table 2 Result of recovery rate

| 样品 Sample | 加入量 (mg) Added weight | 测得量 (mg) Measured weight | 回收率 (%) Recovery rate | 平均回收率 (%) Average recovery rate | RSD (%) |
|--------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------|------------|
| 1 | 10.2 | 10.25 | 100.5 | | |
| 2 | 4.5 | 4.56 | 101.3 | | |
| 3 | 9.4 | 9.37 | 99.7 | 100.4 | 2.0 |
| 4 | 3.6 | 3.48 | 96.8 | | |
| 5 | 5.3 | 5.43 | 102.5 | | |
| 6 | 12.6 | 12.81 | 101.7 | | |

2.6 稳定性实验

取上述供试的对照品溶液及样品溶液, 每隔20min测定一次, 60min内吸光度不变。放置3、6、12h后, 吸光度基本不变, 说明对照品及样品溶液均较稳定。

2.7 精密度实验

取供试样品溶液, 连续测定5次, RSD=0.59% ($n=5$), 表明仪器精密度良好。

2.8 重现性实验

精密称取相同样品5份, 按2.1项下的制备方法及2.3项下的显色方法平行制备5份供试品溶液, 测定总黄酮含量, 分别为1.799%、1.736%、1.753%、1.851%、1.821%, 平均值为1.792% ($n=5$), RSD=2.65%, 表明重现性良好。

3 小结

(1)水松叶未经石油醚脱脂, 其脂溶性成分对测定干扰较大。

(2)对水松叶的化学成分研究发现, 水松叶含有丰富的槲皮苷, 选用芦丁作为对照品是可行的。

(3)实验表明, 秋季水松叶的总黄酮含量稍高于春季水松叶的总黄酮含量。

(4)通过方法学考察, 认为采用分光光度法测定总黄酮含量的方法简便, 准确可靠, 对今后的研究和开发工作有一定的指导意义。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第7卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1978. 281~312.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977. 533.
- [3] Mitsu T, Tokuzo I, Akihiko M. Chemical constituents of the plants of *Coniferae* and allied orders.

- XXXIV. Studies on the structure of distichin and the components of Taxodiaceae plants *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng and others [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1960, **80**(11): 1 557—1 559.
- [4] Mitsu T, Tokuzo I, Akihiko M. Chemical constituents of the plants of *Coniferae* and allied orders XL III Distribution of flavonoids and stilbenoides of *Coniferae* leaves [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1960, **80**: 1 488—1 492.
- [5] Gadek P A, Quinn C J. Biflavones of Taxodiaceae [J]. *Biochem Syets Ecol*, 1989, **17**(5): 365—372.
- [6] 向瑛, 郑庆安, 张灿奎, 等. 水松叶的黄酮成分研究 [J]. 中草药, 2001, **7**(32): 588—590.
- [7] 张国琴, 刘延红, 潘田琅, 等. 侧柏叶中总黄酮成分含量测定 [J]. 西北药学杂志, 2001, **16**(3): 107—108.