

· 论著 ·

不同来源薰衣草中总黄酮及总多酚含量测定研究

袁苏宁 杜卫军 刘丛 卢晓丽 丁文欢 田树革

【摘要】 目的 建立测定薰衣草中总黄酮和总多酚含量的方法,比较不同来源薰衣草中总黄酮和总多酚的含量。**方法** 采用超声辅助溶剂提取,可见分光光度法测定薰衣草中总黄酮和总多酚的含量。**结果** 以芦丁和没食子酸分别作为测定总黄酮和总多酚含量的对照品,分别在浓度 18.51 ~ 55.54 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.9997$) 和 1.98 ~ 9.91 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.9969$) 范围内呈良好的线性关系,结果表明,不同来源的薰衣草中总黄酮和总多酚含量具有一定差异。**结论** 该法简单易行,重现性好,测定总黄酮和总多酚含量稳定、准确,可作为薰衣草总黄酮和总多酚的检测方法。本研究为薰衣草药材及其中成药质量评价提供参考依据。

【关键词】 薰衣草; 总黄酮; 总多酚

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.09.001

Determination of total flavones and total polyphenol of *Lavandula angustifolia* Miller from different origins YUAN Su-ning, DU Wei-jun, LIU Cong, et al. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medicine University, Urumqi 830011, China

Corresponding author: TIAN Shu-ge, E-mail: tianshuge@hotmail.com

【Abstract】 Objective To establish a method for the determination of total flavones and total polyphenol of *Lavandula angustifolia* Miller from different origins. **Methods** The active ingredients were extracted via ultrasonic-assisted method. The total flavones and total polyphenol content of *Lavandula angustifolia* Miller was determined by visible spectrophotometry. **Results** The method had a good linearity in the range of 18.51 ~ 55.54 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.9997$) and 1.98 ~ 9.91 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.9969$) with rutin and gallic acid as the reference substance. The results shows that the total flavones and total polyphenol content of certain differences between the different sources of *Lavandula angustifolia* Miller. **Conclusion** The result of detecting was reliably, and could be service as methods of detecting the total flavones and total polyphenol with good reproducibility in *Lavandula angustifolia* Miller. This study can offer credible quality assessment foundation for *Lavandula angustifolia* Miller and its Chinese traditional patent medicine.

【Key words】 *Lavandula angustifolia* Miller; Total flavones; Total polyphenol

薰衣草 (*Lavender*) 为唇形科植物狭叶薰衣草 (*Lavandula angustifolia* Miller) 的干燥地上部分,原产于地中海沿岸,世界各地以保加利亚最多,其次

是法国、南斯拉夫、意大利、西班牙等地^[1]。中国新疆伊犁自 1965 年首次从法国引种,目前已成为全国薰衣草的主产区。薰衣草在维吾尔族名为“吾斯提库都斯”,维吾尔医认为薰衣草性质为二级湿热,能消散寒气、补胃理脑、燥湿止痛,用于治疗胸腹胀痛、感冒咳喘、头晕头痛、心悸气短、关节骨痛等症^[2]。含有维药薰衣草的维吾尔复方制剂有益脑吾斯提库都斯口服液、爱维心口服液、异常黑胆质成熟颗粒等。其中异常黑胆质成熟剂是维吾尔医用于治疗 and 预防多种肿瘤的处方之一,疗效显著^[3]。薰衣草作为异常黑胆质成熟剂中主要组成

基金项目:长江学者与创新团队专项基金(IRT0977)

作者单位:830011 乌鲁木齐,新疆医科大学中医学院中药系[袁苏宁(硕士研究生)、卢晓丽(硕士研究生)、丁文欢(硕士研究生)、田树革];新疆师范大学化学化工学院(杜卫军、刘丛)

作者简介:袁苏宁(1986-),女,2010 级在读硕士研究生。研究方向:中药活性成分筛选。E-mail:215345545@qq.com

通讯作者:田树革(1968-),教授,硕士生导师。研究方向:中药活性成分筛选。E-mail:tianshuge@hotmail.com

文献标引:

袁苏宁,杜卫军,刘丛,等.不同来源薰衣草中总黄酮及总多酚含量测定研究[J].环球中医药,2012,5(9):641-644.

之一,经研究其提取物具有明显降低 HL-60 癌细胞的存活率并抑制其增殖等作用^[4]。

薰衣草富含挥发性成分,近年国内外主要集中在对其挥发性化学成分的研究^[5-7]。吴霞等^[8]从薰衣草中分离得到芹菜素等 7 个黄酮类化合物。杨洁等^[9]对新疆狭叶薰衣草中总黄酮抗氧化活性进行研究,研究表明薰衣草总黄酮具有较强的抗氧化活性,具有开发利用价值。

植物多酚类化合物在自然界分布广泛,具有抗氧化、清除自由基、与金属离子发生络合、与蛋白质形成多种生理学活性^[10]等功能,是有效的肿瘤化学预防剂^[11]。有些多酚类化合物本身具有抗肿瘤作用^[12]。目前对薰衣草植物药材中的多酚类化合物的研究甚少。

本实验比较 4 种不同来源薰衣草药材中总黄酮和总多酚的含量,建立薰衣草的总黄酮和总多酚含量测定方法,为薰衣草药材及其成方制剂质量评价研究提供基础数据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

U-3310 紫外可见分光光度计(日本株式会社日立高新技术);KQ2200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 实验材料

原料:伊犁 70 团薰衣草(2012 年 1 月购于紫精灵薰衣草公司),伊犁 70 团薰衣草(2012 年 1 月购于解忧公主薰衣草公司)、伊犁 62 团薰衣草(2012 年 1 月购于远香薰衣草公司)、巴基斯坦薰衣草(2012 年 2 月购于新疆麦迪森维药有限公司,产品批号 20100701)。以上原料经新疆医科大学中医学院中医系李永和主任药师鉴定为唇形科植物狭叶薰衣草(*Lavandula angustifolia* Miller)的干燥地上部分,样品标本保存于新疆医科大学中药民族药标本馆。原料粉碎,过 40 目筛,即得。

试剂:5% 亚硝酸钠溶液、10% 硝酸铝溶液、4% 氢氧化钠溶液、钨酸钠、钼酸钠、磷酸、浓盐酸、硫酸锂、双氧水、甲醇、石油醚(沸程 60~90℃)。以上试剂均为分析纯,实验用水为自制蒸馏水。

没食子酸对照品(天津市光复精细化工研究所,含量:99%)、芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100080-200707,含量:92.5%)。

2 实验方法

2.1 试剂的制备

福林酚试剂的制备^[13]:称取钨酸钠 100.0 g,钼酸钠 25.0 g,用 700 ml 蒸馏水溶解于圆底烧瓶中,加入磷酸($\geq 85\%$) 50 ml 和 100 ml 浓盐酸充分混匀,小火加热回流 12 小时,放冷,再加入 150 g 硫酸锂,50 ml 蒸馏水及 0.2 ml 双氧水,开口继续沸腾 15 分钟,使得双氧水完全挥发,冷却后用蒸馏水定容至 1000 ml,过滤,于棕色瓶中避光储存。试液应呈亮黄色,如放置后变为绿色,可加双氧水 0.2 ml,煮沸 15 分钟即可。

对照品储备液的制备:精密称取 10.008 mg 芦丁化学对照品于 100 ml 容量瓶中,用 80% 甲醇定容,制成浓度为 0.0926 mg/ml 芦丁对照品溶液作为总黄酮对照品储备溶液;精密称取 10.008 mg 没食子酸化学对照品于 100 ml 容量瓶中,用蒸馏水定容,制成浓度为 0.0991 mg/ml 总多酚对照品储备溶液。

2.2 供试品溶液的制备

2.2.1 总黄酮供试品溶液的制备^[14] 准确称取薰衣草样品粉末 20.0 g,以石油醚为溶剂,于索氏提取器中加热回流 6 小时除酯,取药渣挥去石油醚。取 1.0 g 除酯后的药材粉末,加 30 ml 的 80% 甲醇溶液超声提取 15 分钟,过滤,重复 3 次,合并滤液,定容至 100 ml 容量瓶中制成总黄酮供试品溶液。

2.2.2 总多酚供试品溶液的制备 取 1.0 g 药材粉末,加 30 ml 的蒸馏水超声提取 15 分钟,过滤,重复 3 次,合并滤液,定容至 100 ml 容量瓶中,制成总多酚供试品溶液。

2.3 最佳测量波长的选择

准确吸取 5.0 ml 总黄酮对照储备液于 10 ml 容量瓶中,分别加入 5% 的 NaNO_2 0.4 ml,混匀,静置 6 分钟,10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 0.4 ml,混匀,静置 6 分钟,4% 的 NaOH 4 ml,用 80% 甲醇定容,摇匀,静置 15 分钟。以 80% 甲醇为空白对照,在 400~600 nm 波长下扫描其吸光度值,结果表明芦丁在 494 nm 处有强吸收峰,故选择 494 nm 作为总黄酮的测定波长。

准确吸取 2.0 ml 总多酚对照储备液于 25 ml 容量瓶中,分别加入 18.0 ml 蒸馏水、福林试剂 1 ml,用 15% Na_2CO_3 定容,于 30℃ 水浴中恒温 1.5 小时。以蒸馏水为空白对照,在 650~800 nm 波长下扫描其吸光度,结果表明没食子酸在 752 nm 处有强吸收峰,故选择 752 nm 作为总多酚的测定波长。

3 结果

3.1 标准曲线

3.1.1 准确量取总黄酮对照储备液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 于 10.0 ml 容量瓶中,以 80% 甲醇为空白对照,分别加入 5% 的 NaNO_2 0.4 ml,混匀,静置 6 分钟,10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 0.4 ml,混匀,静置 6 分钟,4% 的 NaOH 4 ml,用 80% 甲醇定容,摇匀,静置 15 分钟,于 494 nm 处测定吸光度,以黄酮质量浓度 C 为横坐标,以吸光度值 A 为纵坐标,计算得到回归方程 $A = 0.0127C - 0.0022$ ($r = 0.9997$),线性范围 18.51 ~ 55.54 $\mu\text{g/ml}$ 。

3.1.2 取总多酚对照储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml 于 25 ml 容量瓶中,分别加入蒸馏水 19.5、19.0、18.5、18.0、17.5 ml,以蒸馏水为空白对照,再加入福林试剂 1 ml,15% 的 Na_2CO_3 定容至刻度,30 $^\circ\text{C}$ 水浴 1.5 小时,于 752 nm 下测定吸光度,以多酚质量浓度 C 为横坐标,以吸光度值 A 为纵坐标,绘制标准曲线,计算得到回归方程 $A = 0.0973C + 0.0386$ ($r = 0.9969$),线性范围 1.98 ~ 9.91 $\mu\text{g/ml}$ 。

3.2 方法学考察

3.2.1 稳定性试验 精密吸取同一份总黄酮供试品溶液 3 ml,分别于 0、10、20、30、40、50、60 分钟按照“3.1.1”方法显色后测定吸光度值,计算得到薰衣草总黄酮含量的 RSD 为 2.66%,样品在 60 分钟内显色稳定。

精密吸取同一份总多酚供试品溶液 1.5 ml,加入蒸馏水 18.5 ml,分别于 0、10、20、30、40、50、60 分钟按照“3.1.2”方法显色后测定吸光度值,计算得到薰衣草总多酚含量的 RSD 为 2.05%,样品在 60 分钟内显色稳定。

3.2.2 精密度试验 取 6 份总黄酮对照品溶液,每

份 3.0 ml,按照“3.1.1”方法显色后测定吸光度值,计算得到薰衣草总黄酮含量的 RSD 为 1.79%,说明该方法测定薰衣草总黄酮含量精密度良好。

取 6 份总多酚对照品溶液,每份 1.0 ml,按照“3.1.2”方法显色后测定吸光度值,计算得到薰衣草总多酚含量的 RSD 为 2.05%,说明该方法测定薰衣草总多酚含量精密度良好。

3.2.3 重现性试验 取同一批薰衣草样品 6 份,分别按照“2.2.1”方法制成总黄酮供试品溶液,每份精密吸取 3.0 ml,按照“3.1.1”方法显色后测定吸光度值,计算得到 RSD 为 4.05%,表明该方法测定薰衣草总黄酮含量重现性良好。

取同一批薰衣草样品 6 份,分别按照“2.2.2”方法制成总多酚供试品溶液,每份精密吸取 1.0 ml,按照“3.1.2”方法显色后测定吸光度值,计算得到 RSD 为 3.88%,表明该方法测定薰衣草总多酚含量重现性良好。

3.2.4 加样回收率试验 精密吸取已知浓度的总黄酮供试品溶液 9 份分成 3 组,每份 1.5 ml,分别精密加入高、中、低不同浓度的总黄酮对照品溶液适量,按照“3.1.1”方法显色后测定吸光度值,并计算回收率,结果见表 1。

精密吸取已知浓度的总多酚供试品溶液 9 份分成 3 组,每份 1.5 ml,分别精密加入高、中、低不同浓度的总多酚对照品溶液适量,按照“3.1.2”方法显色后测定吸光度值,并计算回收率,结果见表 2。

3.3 样品含量测定

3.3.1 不同来源薰衣草中总黄酮的含量测定 取总黄酮供试品溶液各 3 份,按照“3.1.1”方法显色后测定吸光度值,计算薰衣草中总黄酮含量。结果见表 3。

表 1 薰衣草中总黄酮的回收率

	样品含量(mg)	对照品加入量(mg)	吸光度	测得量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	0.152	0.093	0.311	0.247	102.9		
2	0.152	0.093	0.309	0.245	101.3		
3	0.152	0.093	0.315	0.250	106.4		
4	0.152	0.139	0.368	0.292	101.0		
5	0.152	0.139	0.370	0.293	101.8	102.4	3.19%
6	0.152	0.139	0.359	0.284	95.5		
7	0.152	0.185	0.431	0.341	102.5		
8	0.152	0.185	0.441	0.349	106.5		
9	0.152	0.185	0.434	0.343	103.7		

文献标引:

袁苏宁,杜卫军,刘丛,等.不同来源薰衣草中总黄酮及总多酚含量测定研究[J].环球中医药,2012,5(9):641-644.

表 2 薰衣草中总多酚的回收率

	样品含量(mg)	对照品加入量(mg)	吸光度	测得量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	0.060	0.023	0.359	0.082	100.54		
2	0.060	0.023	0.359	0.082	100.89		
3	0.060	0.023	0.358	0.082	100.09		
4	0.060	0.045	0.451	0.106	102.76		
5	0.060	0.045	0.448	0.105	101.39	102.3	3.28%
6	0.060	0.045	0.444	0.104	98.94		
7	0.060	0.068	0.537	0.128	101.44		
8	0.060	0.068	0.546	0.130	104.87		
9	0.060	0.068	0.560	0.134	110.08		

表 3 不同来源薰衣草总黄酮和总多酚含量(n=3)

	S1	S2	S3	S4
总黄酮的含量(mg/g)	15.03±1.25	10.31±3.26	10.91±1.15	10.85±0.66
总多酚的含量(mg/g)	7.96±0.06	6.16±0.30	8.67±0.67	11.90±0.37

注: S1:伊犁 70 团(紫精灵) S2:伊犁 70 团(解忧公主) S3:伊犁 62 团(远香) S4:巴基斯坦(麦迪森维药)

3.3.2 不同来源薰衣草中总多酚的含量测定 取总多酚供试品溶液各 3 份,按照“3.1.2”方法显色后测定吸光度值,计算薰衣草中总多酚含量。结果见表 3。

4 结论

从研究结果可以看出,薰衣草中具有较为丰富的总黄酮和总多酚,采用可见分光光度法测定薰衣草中总黄酮和总多酚含量,简单易行,重现性好,结果稳定可靠,可作为测定薰衣草药材总黄酮和总多酚含量的检测方法。

本研究收集 4 种不同来源的薰衣草样品,对其中的总黄酮和总多酚含量进行分析,发现不同来源的薰衣草中总黄酮和总多酚含量均有一定差异,这可能与药材的生长环境、采收季节、加工炮制方法及贮存条件有一定关系。

本文探讨了薰衣草总黄酮和总多酚的提取及含量分析方法,旨在为今后薰衣草中黄酮类和多酚类成分的提取与分离、药效等研究,尤其是对薰衣草全草的化学成分进行更深入的研究,以及进一步开发和利用薰衣草资源提供一定依据和基础。

参 考 文 献

- [1] 刘勇民. 维吾尔药志(下)[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社, 1999, 905.
- [2] 新疆维吾尔自治区卫生厅. 维吾尔药材标准(上册)[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社, 1991:394-397.
- [3] 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔医气质、体液论及其现代研究

- [M]. 乌鲁木齐:新疆科学技术出版社, 2003.
- [4] 木拉提·克扎衣别克, 哈木拉提·吾甫尔, Brigitte Kopp, 等. 异常黑胆质成熟剂中各单味药对 HL-60 细胞增殖的抑制作用[J]. 科技导报, 2009, 27(19):94-98.
- [5] 徐洁华, 文首文, 邓君浪. 薰衣草精油与精油化学成分的比较[J]. 西南农业学报, 2012, 25(1):103-106.
- [6] 谢成喜, 王强, 崔晓明. 薰衣草挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 新疆大学学报(自然科学版), 2002, 19(3):294-296.
- [7] 王新玲, 热娜·卡斯木, 胡君萍, 等. 薰衣草不同部位中挥发油化学成分的比较[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(3):361-362.
- [8] 吴霞, 刘净, 于志斌, 等. 薰衣草中黄酮类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(9):821-823.
- [9] 杨洁, 高峰林. 新疆狭叶薰衣草总黄酮抗氧化活性的研究[J]. 中国食品添加剂, 2010, (2):162-165.
- [10] Zi X, Grasso A W, Kung HJ, et al. A flavonoid antioxidant, silymarin, inhibits activation of erbB1 signaling and induces cyclin-dependent Kinase inhibitors, G1 arrest, and anticarcinogenic effects in human prostate carcinoma DU145 cells [J]. Cancer Res, 1998, 58(9):1920-1929.
- [11] 陈敏, 刘晓芳, 李秋娟, 等. 白藜芦醇对乳腺癌 MCF-7 细胞的抗增殖作用[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(11):1341-1342.
- [12] Zi X, Feyes DK, Agarwal R, et al. Anticarcinogenic effect of a flavonoid antioxidant, silymarin, in human breast cancer MDA-MB468; induction of G1 arrest through an increase in Cpl/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of cyclin-dependent kinases and associated cyclins [J]. Clin Cancer Res, 1998, 4(4):1055-1064.
- [13] 陈孝娟, 顾政一, 徐芳, 等. 不同产地的石榴皮总多酚的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3):541-543.
- [14] 张帆, 刘宏炳, 田树革, 等. 药桑中黄酮和多糖的超声提取与含量测定[J]. 西北药学杂志, 2008, 23(5):282-283.

(收稿日期: 2012-07-16)

(本文编辑: 刘群)

文献标引:

袁苏宁, 杜卫军, 刘丛, 等. 不同来源薰衣草中总黄酮及总多酚含量测定研究[J]. 环球中医药, 2012, 5(9):641-644.