

文章编号:1001-6880(2014)Suppl-0083-04

# 不同产地猫爪草药材中总糖与黄酮含量比较

李自红,范毅,魏悦,郭唯\*

河南省生物技术开发中心,郑州 450002

**摘要:**比较不同产地中猫爪草药材中总糖和黄酮的含量。以葡萄糖为观测指标,采用蒽酮-硫酸比色法,测定猫爪草中总糖的含量;以芦丁为观测指标,采用  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$  为显色体系,利用分光光度法测定其黄酮的含量。河南信阳、安徽、浙江、山西、山东等地猫爪草中多糖含量分别为:18.93%、15.46%、11.78%、9.21%、9.46%,黄酮含量分别为:0.95%、0.32%、0.47%、0.19%、0.28%。不同产地猫爪草中总糖和黄酮含量差异明显,其中以河南信阳猫爪草中总糖和黄酮含量都最高。

**关键词:**猫爪草;总糖;黄酮;分光光度法;含量测定

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

## Comparison of Total Sugar and Flavone Contents in *Radix Ranunculi ternati* from Different Places

LI Zi-hong, FAN Yi, WEI Yue, GUO Wei \*

Biotechnology Developing Center, Henan Academy of Sciences, Zhengzhou 450002, China

**Abstract:** To compare total sugar and flavone contents in *Radix Ranunculi Ternati* from different places. Anthrone-vitriol colorimetry was used to determine total sugar content in *Radix Ranunculi ternati* using glucose as observation index. Spectrophotometry was used to determine flavone contents using rutin as observation index and  $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$  as coloration system. The contents of total sugar in *Radix Ranunculi Ternati* derived from Xinyang Henan, Anhui, Zhejiang, Shanxi and Shandong were 18.93%, 15.46%, 11.78%, 9.21%, 9.46%, the contents of flavone were 0.95%, 0.32%, 0.47%, 0.19%, 0.28%, respectively. Total sugar and flavone contents in *Radix Ranunculi ternati* from different places are significantly different, and the highest is the one from Xinyang Henan.

**Key words:** *Radix Ranunculi Ternati*; total sugar; flavone; spectrophotometry; content determination

猫爪草(*Radix Ranunculi Ternati*)原为无名野草,是50年代河南省信阳地区新发现的一种草药,后经信阳专区中医院依据其根形及能治疗鼠疮的特点而定名为猫爪草<sup>[1-3]</sup>。猫爪草以根入药,有散结消肿功能,是一种抗癌中草药<sup>[4-6]</sup>。猫爪草主产于河南信阳地区的横川、息县及驻马店地区的正阳、确山;另外,我国长江中、下游(包括浙江、江苏、安徽、江西、广西、河南、湖北、湖南、四川、云南、贵州等省)以及台湾地区均有分布,在日本本州、四国、九州也有分布<sup>[7-10]</sup>。本实验比较了不同产地猫爪草中总糖及黄酮的含量,为优质高效道地药材的规范化提供一定的理论依据。

## 1 材料与仪器

**实验材料:**猫爪草购于河南信阳、安徽、浙江、山西和山东;芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号100080-200707);葡萄糖对照品、乙醇、硫酸、蒽酮、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠:分析纯。

**仪器:**TU-1810PC 紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限公司;SK2200H 超声波提取器:上海科导超声仪器有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 总糖含量测定

#### 2.1.1 标准曲线的制备

精密称取干燥至恒重的葡萄糖对照品适量,置子100 mL容量瓶中,用水溶解并定容至刻度,摇匀,制成质量浓度为0.2 mg/mL的对照品溶液。精密吸取对照品溶液0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6、2.0

mL 分别于 10 mL 具塞试管, 各加水至 2.0 mL, 置冰水浴中, 精密加入硫酸葱酮溶液 6 mL, 摆匀, 置沸水浴中加热 15 min, 取出, 放入冰浴中冷却 15 min, 以相应的试剂为空白, 按《中国药典》2010 版一部附录 VA 紫外—可见分光光度法, 在 625 nm 波长处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 对照品溶液的浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程:  $A = 0.0357 C + 0.0501, r = 0.9999$ , 在 5~50 mg/L 范围内线性关系良好。

### 2.1.2 供试品溶液的制备

取干燥至恒重的 5 个不同产地的药材粉末(过 20 目筛)各 0.1 g, 精密称定, 置 250 mL 烧瓶中, 精密加入 100 mL 蒸馏水, 摆匀, 称重, 于 80 °C 回流提取 60 min, 冷却, 称重, 补足重量, 滤过, 弃 5 mL 前滤液, 精密吸取续滤液 2 mL 于 10 mL 具塞试管中, 作为供试品储备液(I)。

### 2.1.3 精密度试验

取同一供试品溶液连续重复测定吸光度 6 次,

计算得 RSD 为 0.12% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

### 2.1.4 稳定性试验

取同一供试品溶液分别于配制后的 0、40、80、120、160、200 min 测定吸光度, 计算得 RSD 为 0.69%。表明供试品溶液中总糖在 200 min 内稳定, 供试品溶液中总糖有良好的稳定性。

### 2.1.5 重复性试验

取同一药材粉末, 按“2.1.2”项下方法分别制得 6 份供试品溶液, 照“2.1.1”项下显色条件进行测定, 求得 RSD 为 0.75%, 表明本测定方法的重复性良好。

### 2.1.6 加样回收率试验

精密称取已知含量的药材粉末适量, 共 6 份, 分别置具塞锥形瓶中, 分别精密加入适量葡萄糖对照品溶液, 按 2.1.2 项下方法操作制得供试品溶液, 照 2.1.1 项下方法操作, 测定总糖的含量, 以总糖计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 总糖加样回收率试验结果

Table 1 Recovery results of total sugar

编号 No	原有量 Original amount (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收率 Recycle rate (%)	平均回收率 Average recycle rate (%)	RSD (%)
1	1.010	1.001	2.003	99.20		
2	1.005	1.001	2.009	100.30		
3	1.002	1.001	2.004	100.10	99.43	0.70
4	1.010	1.001	2.007	99.60		
5	1.006	1.001	2.006	98.90		
6	1.009	1.001	2.005	98.50		

## 2.2 黄酮含量测定

### 2.2.1 标准曲线的制备

精密称取干燥至恒重的无水芦丁对照品适量, 置于 100 mL 容量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摆匀, 制成质量浓度为 0.208 mg/mL 的对照品溶液。精密吸取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 分别置 25 mL 量瓶中, 各加水至 6 mL, 加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL, 使混匀, 放置 6 分钟, 加 10% 硝酸铝溶液 1 mL, 摆匀, 放置 6 分钟, 加氢氧化钠试液 10 mL, 再加水至刻度, 摆匀, 放置 15 min, 以相应的试剂为空白, 照紫外—可见分光光度法, 以 500 nm 的波长处测定吸光度, 以吸光度为纵坐标, 对照品溶液的浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程:  $A =$

0.0113C-0.0051,  $r = 0.9999$ , 表明芦丁浓度在 4.16~49.92 mg/L 范围内线性关系良好。

### 2.2.2 供试品溶液的制备

分别精密称取干燥至恒重的 5 个不同产地的药材粉末(过 50 目筛)0.4 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 100 mL, 密塞, 摆匀, 超声处理 5 min, 放置 3 h 以上, 滤过, 精密量取续滤液 2 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摆匀, 作为供试品储备液(II)。

### 2.2.3 精密度试验

取“2.2.1”项下的第三点溶液连续重复测定吸光度 6 次, 计算得 RSD 为 0.56% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

### 2.2.4 稳定性试验

取同一供试品溶液分别于配制后的 0、20、40、60、80、100 min 测定吸光度,计算得 RSD 为 0.82%。表明供试品溶液中芦丁在 100 min 内稳定,供试品溶液中芦丁有良好的稳定性。

### 2.2.5 重复性试验

取同一药材粉末,按“2.2.2”项下方法分别制得 6 份供试品溶液,照“2.2.1”项下显色条件进行

测定,求得 RSD 为 0.32%,表明本测定方法的重复性良好。

### 2.2.6 加样回收率试验

精密称取已知含量的药材粉末适量,共 6 份,分别置具塞锥形瓶中,分别精密加入适量芦丁对照品溶液,按 2.2.2 项下方法操作制得供试品溶液,照 2.2.1 项下方法操作,测定总黄酮的含量,以总黄酮计算加样回收率,结果见表 2。

表 2 黄酮回收率试验结果

Table 2 Recovery results of flavone

编号 No	原有量 Original amount (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收率 Recycle rate (%)	平均回收率 Average recycle rate (%)	RSD (%)
1	0.401	0.401	0.801	99.75		
2	0.405	0.401	0.809	100.75		
3	0.402	0.401	0.804	100.25	99.46	0.96
4	0.410	0.401	0.804	99.00		
5	0.406	0.401	0.806	98.25		
6	0.409	0.401	0.805	98.75		

### 2.3 样品中总糖和黄酮含量测定

取 2.1.2 项下制得的储备液(I)和 2.2.2 项下制得的储备液(II),分别按 2.1.1 和 2.2.1 项下

显色条件进行测定,每个产地分别平行测定 3 次,样品中总糖和黄酮的含量取其平均值,结果见表 3。

表 3 样品中总糖和黄酮含量测定结果( $n=3$ )

Table 3 Results of total sugar and flavone contents in samples ( $n=3$ )

样品序号 No	产地 Place of origin	总糖 Total carbohydrate		总黄酮 Total flavonoid	
		平均含量(%)	RSD(%)	平均含量(%)	RSD(%)
1	河南信阳	18.93	2.07	0.95	1.37
2	安徽	15.46	1.17	0.32	1.78
3	浙江	11.78	1.8	0.47	2.27
4	山西	9.21	2.11	0.19	1.76
5	山东	9.46	1.92	0.28	2.16

### 3 讨论

猫爪草中总糖含量的测定采用蒽酮-硫酸法,其原理为糖与硫酸反应,脱水生成羟甲基呋喃甲醛,再与蒽酮缩合成蓝色配合物,在 625 nm 处有最大吸收。猫爪草中总黄酮含量的测定以芦丁为对照品,利用黄酮类化合物分子中有游离的 3-OH、5-OH 存在时,能与 Al<sup>3+</sup> 形成黄色配合物,在 NaNO<sub>2</sub> 的碱性溶液中呈红色,在 500 nm 波长处有最大吸收。

通过对不同产地猫爪草药材中总糖和黄酮含量

的测定,结果表明河南信阳地区的猫爪草中总糖和黄酮含量都比较高,其次是安徽和浙江产的猫爪草,山西和山东猫爪草中总糖和黄酮含量都最低,本试验为河南信阳猫爪草资源的可持续性开发和猫爪草质量的评价提供了参考依据。

UV 测定法结果准确,方法简便,重现性及回收率均理想,是药材中糖类及黄酮类含量检测的常用方法。

猫爪草多糖和黄酮的分离纯化及构效、量效关系有待进一步研究。

## 参考文献

- 1 Chen BL(陈丙銮), Hang YY(杭悦宇), Chen BE(陈宝儿). The research progress of medicinal plants *Radix Ranunculi ternati*. *Chinese Wild Plant Resources*(中国野生植物资源), 2002, 21(4): 7-9.
- 2 Wu X(吴晓), Xu J(徐佳), Chi YM(池玉梅), et al. Method for Determination of Content of Total Sugar and Polysaccharides in Radix Ranunculi Ternati. *J Nanjing TCM Univ Vol*(南京中医药大学学报), 2007, 23: 169-171.
- 3 Chen Y(陈贊), Tian JK(田景奎), Cheng YY(程翼宇). Studies on chemical constituents of *Ranunculus ternati* (II). *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2005, 40: 1373-1375.
- 4 Li BZ(李保珍), Wang ZW(王智玮), Hou HR(侯海若), et al. Comparison of total sugar and flavone contents in wild and cultivated *Radix Ranunculi ternati*. *J Guiyang Med Coll*(贵阳医学院学报), 2011, 36: 494-496.
- 5 Zhang ZL(张振凌), Wang L(王磊), Wu XJ(吴筱菁), et al. The study about immunocompetence of polysaccharide of *Radix Ranunculi ternati*. *Lishizhen Med Meter Med Res*(时珍国医国药), 2007, 18: 537-539.
- 6 Jia HQ(贾慧青), Fan ZC(范智超), Xue SQ(薛生全). Determination of polysaccharides and proteins from *Ranunculus ternatus* Thunb. *Lishizhen Med Meter Med Res*(时珍国医国药), 2006, 17: 736-737.
- 7 Wang AW(王爱武), Yuan JR(袁久荣), Wu LM(吴丽敏). Comparision of polysaccharide in *Radix Ranunculi ternati* from different places. *Chin J Inform on TCM*(中国中医药信息杂志), 2005, 12: 51-52.
- 8 Quan SC(全山从), Zheng HC(郑汉臣), Hu JH(胡晋红), et al. Goods identification and resources survey of *Radix Ranunculi ternati*. *Chin J Chin Meter Med*(中国中药杂志), 1997, 22: 390-392.
- 9 Chi YM(池玉梅), Yu S(于生), Guo R(郭戎), et al. Differential spectrophotometric method for determining the content of flavonoids in *Radix Ranunculi ternati*. *Jiangsu J Trad Chin Med*(江苏中医药), 2007, 39: 56-58.
- 10 Chen C(陈赤), He KJ(何开家), Liu BM(刘布鸣), et al. The study on the comparison between wild and cultivated *Radix Ranunculus ternatus*. *Guangxi Sciences*(广西科学), 2008, 15: 70-74.

(上接第 162 页)

- 8 Wang SL(王水丽), et al. 慢性铅中毒合并肝损伤一例. *Chin General Practice*(中国全科医学), 2011, 14: 3876-3877.
- 9 Lv J(吕静). 促排铅功能因子研究进展. *China Food Safety*(食品安全导刊), 2010, 7: 54-55.
- 10 Cai MP(蔡美萍). 依地酸二钠钙的药理作用及驱铅治疗的临床研究. *Tianjin Pharm*(天津药学), 1996, 8: 16-17.
- 11 Tomihiro M, et al. Degradation of pectin in the caecum contributes to bioavailability of iron in rats. *Br J Nutr*, 2011, 10: 6-9.
- 12 Garrick MD, et al. DMT1: which metals does it transport. *Biol Res*, 2006, 39: 79-85.
- 13 Ding SB(丁世彬), et al. The effect of zinc on lead expelling, copper and iron in lead toxicity mice. *Studies Trace Elements Health*(微量元素与健康研究), 2011, 28: 1-3.
- 14 Long YH(龙宇红). Study the effect of Vitamin C, Vitamin E on lead poisoning rats in development phase. *Zhejiang: Zhejiang University, MSc. 2004.*
- 15 Ning HM(宁红梅), et al. Study on the role of lycium barbarum polysaccharides for eliminating lead-exposed mice. *J Zhenzhou University of Light Industry*(郑州轻工业学院学报), 2011, 26: 9-11.
- 16 Feng GC(冯国昌). The treatment mechanism in curing mice poisoned by lead and toxicological study of lead-excretion glycan. *Shandong: Shandong University, PhD. 2007.*
- 17 Wang BY(王博英), et al. 低甲氧基果胶驱铅研究. *China Occupational Med*(职业医学), 1983, 11: 6-9.
- 18 Wei XY(魏肖莹). 葵花盘低酯果胶驱铅临床研究. *Chin J Industrial Med*(中国工业医学杂志), 1992, 5: 86-87.
- 19 Qi QP(戚其平), et al. Blood lead level of children in the urban areas in China. *Chin J Epidemiol*(中华流行病学杂志), 2002, 23: 162-166.
- 20 Huang LS(黄丽丝), et al. Advances in study on bioactive secondary metabolites from seagrasses. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24: 1319-1322.