

2.5 重现性试验:精密称取同一产地蔓荆子 5 份,每份 1 g,依 2.2 项下方法操作并测定紫花牡荆素的质量分数,结果 RSD 为 1.59%,表明该方法重现性较好。

2.6 稳定性试验:精密称取蔓荆子粉末 1 g,依照 2.2 项下方法制备供试品溶液,每隔 2 h 进样一次,共进样 5 次,结果紫花牡荆素的峰面积 RSD 为 2.77%,表明样品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 回收率试验:精密称取已测知含量的样品 5 份,每份 0.5 g,分别精密加入紫花牡荆素对照品溶液 0.5 mL (质量浓度为 1.036 mg/mL),按 2.2 项下方法测定,结果紫花牡荆素的平均回收率为 99.23%,RSD 为 2.12%。

2.8 样品测定:称取各产地的蔓荆子药材粉末,每份 1 g,按 2.2 项下方法处理,精密吸取 10 μ L 进样测定,结果见表 1。

3 讨论

3.1 紫花牡荆素的紫外吸收光谱图分别在 210、258、350 nm 处有吸收峰,350 nm 吸收峰峰域宽,吸收值较高,且干扰少,故选择在 350 nm 处进行蔓荆子中紫花牡荆素的测定。

3.2 本实验考察了索氏提取、水浴回流提取、超声

表 1 不同产地蔓荆子中紫花牡荆素测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of casticin in *Fructus Viticis* from different habitats ($n=3$)

序号	来源	紫花牡荆素 /(mg · g ⁻¹)	序号	来源	紫花牡荆素 /(mg · g ⁻¹)
1	江西星子	1.84	7	安徽安庆	1.27
2	山东日照	1.97	8	山东青岛	2.72
3	山东崂山	1.85	9	福建莆田	0.78
4	河北任县	0.59	10	浙江青田	0.76
5	湖南湘阴	1.35	11	辽宁大连	1.99
6	山东牟平	1.12	12	江西都昌	0.75

提取、冷浸提取 4 种提取方法,结果以回流提取效果好,供试品中紫花牡荆素质量分数高。

3.3 在以水浴回流为提取方法的基础上,考察了提取溶剂和提取时间,结果以甲醇为溶剂,水浴回流提取 2 h,可将样品中紫花牡荆素提取完全。

3.4 在实验过程中,试用了甲醇-水、乙腈-水不同比例为流动相系统,结果以甲醇-水 (62 : 38) 系统分离效果好,具有出峰快,分析时间短的特点。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Ran X D. *Comprehensive Lexicon of Chinese Materia Medica* (中华药海) [M]. Harbin: Harbin Publishing House, 1993.
- [3] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Research and Clinical Application of Chinese Materia Medica* (中药现代化研究与临床应用) [M]. Vol 5. Beijing: Xueyuan Press, 1998.

金莲花茎叶不同生长期总黄酮的测定

苏连杰¹,杨书彬¹,苏志伟²,李 滨¹,马世堂³

(1. 黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 哈尔滨同一堂药业有限公司,黑龙江 哈尔滨 750000;
3. 牡丹江医学院,黑龙江 牡丹江 150000)

金莲花 *Trollius chinensis* Bunge 为毛茛科金莲花属植物,其花具有明显的清热解毒作用,民间用以治疗扁桃体炎、急性中耳炎、急性结膜炎、急性淋巴管炎等,近代药理研究表明,金莲花对绿脓杆菌、痢疾杆菌、金黄色葡萄球菌等均有明显的抑制作用^[1]。金莲花传统药用部位是花,其他部位还未被开发利用,但花产量低,如能将茎叶一起应用,能充分利用和扩大药物资源,在肯定了金莲花茎叶有明显的抑菌活性后^[2],本研究对金莲花茎叶不同生长期总黄酮的含量进行了测定,结果其总黄酮质量分数从 5~8 月呈递减趋势,在 5 月中旬至 6 月上旬较高。

1 仪器与试剂

日本岛津 UV—260 自动扫描可见紫外分光光度计。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所);亚硝酸钠、氢氧化钠、硝酸铝均为分析纯;金莲花茎叶采于大兴安岭,经黑龙江中医药大学药用植物教研室于加宾教授鉴定为金莲花 *T. chinensis* Bunge。

2 方法和结果

2.1 供试品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的不同生长期金莲花茎叶 2.5 g,于索氏提取器中,加乙醚脱脂后,用甲醇回流提取至无色,提取液浓缩后定容于 50 mL 量瓶中。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取干燥至恒重的芦丁对照品 20 mg,于 50 mL 量瓶中,加甲醇少许,温热使溶解,放冷,用甲醇定容至刻度。精密量取 25 mL 于 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度。

2.3 标准曲线的制备:精密吸取对照品溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,加适量甲醇,摇匀,先加 5% NaNO_2 溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 1 mL,摇匀,放置 6 min;再加 4% NaOH 10 mL,用甲醇稀释至刻度,放置 15 min,用第一管作空白对照,在 500 nm 处测吸光度,以吸光度(A)为横坐标、浓度(C)为纵坐标,绘制标准曲线。其回归方程为: $C=68.50 A+0.693$, $r=0.9999$ 。线性范围为 0.2~1.4 mg。

2.4 精密度试验:精密吸取同一对照品溶液 1 mL,重复测定 6 次,结果总黄酮的 RSD 为 0.50%。

2.5 稳定性试验:精密吸取供试品溶液 1 mL,每 2 h 测定一次吸光度,共测定 6 次,结果总黄酮的 RSD 为 0.78%,表明供试品溶液在 10 h 内基本无变化。

2.6 重现性试验:取同一样品 5 份,制备供试品溶液,按测定方法测定总黄酮质量分数, RSD 为 1.18%。

2.7 回收率测定:精密吸取已知含量的供试品溶液 5 份,分别置 25 mL 容量瓶中,加入不同量的芦丁对照品,按样品测定项下方法测定,依回归方程计算质量分数,结果平均回收率为 99.89%, RSD = 1.93%。

2.8 样品测定:将不同生长期金莲花供试品溶液滤过并分别精密吸取续滤液 0.5~3 mL 于 25 mL 量瓶中,测定。依标准曲线计算茎叶总黄酮的质量分数,结果见表 1。

表 1 不同生长期金莲花茎叶总黄酮含量 ($n=5$)

Table 1 Determination of total flavanoids in *T. chinensis* stem and leaf at various growing periods ($n=5$)

样品	采收时间/月·日	总黄酮/%
1	5月20日	6.656
2	5月30日	6.458
3	6月10日	5.981
4	6月20日	4.587
5	6月30日	2.696
6	7月10日	2.555
7	7月20日	1.533
8	7月30日	1.452
9	8月10日	1.447
10	8月20日	1.211
11	8月30日	1.091

3 讨论

金莲花在大兴安岭资源十分丰富,在肯定了其茎叶具有明显抑菌作用的基础上,考察了其不同采收期总黄酮的变化规律,实验结果表明金莲花茎叶总黄酮在 5 月中下旬较高,达 6.656%,从而为金莲花茎叶合理的采收和利用提供了理论依据。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Liu L J, Wang X K, Xu G, et al. Study on function of suppressing bacteria of stem and leaf of *Trollius chinensis* [J]. *Acta Chin Med Pharm* (中医药学报), 1992, 3:33.
- [4] Gao S L. Research progress and prospects of genetic breeding in medicinal plants [J]. *World Sci Tech - Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术-中药现代化), 2001, 6: 58-62.
- [5] Yu Z L. Preliminary Studies on mutagenic mechanism of ion implantation rice [J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 1989(1): 12-16.
- [6] Yang J B, Wu Y J, Wu L J. Low energy ion beam-mediated DNA delivery into rice cells [J]. *J Anhui Agric Univ* (安徽农业大学学报), 1994, 21(3): 330-335.
- [7] Li L. Effect of ion beam irradiation on the survival and nutrition deficiency mutation of LT2 [J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 1995, 23(1): 6-7.
- [8] Chen R L, Song D J, Yu Z L. Study in mutation of alfalfa genome DNA due to low energy N^+ implantation using PAPD [J]. *High Technol Lett* (高技术通讯), 2001, 11(11) 12-16.
- [9] Lu T, Xie L Q. A study of biological effect on plants caused by ion implantation [J]. *Nucl Tech* (核技术), 1994, 1(7): 443-448.
- [10] Yu Z L, Shao C L. Preliminary studies on the biological samples by ion beam etching [J]. *J Anhui Agric-univ* (安徽农业大学学报), 1994, 21(3): 260-264.
- [11] Yuan C L, Yu Z L. The grand progress of low energy ion beam in life sciences [J]. *J Chin Biotechnol* (中国生物工程杂志), 2002, 22(4): 57-61.
- [12] Wu L F, Li H, Song D J, et al. Establishment of a method for GUS gene transferring into wheat (*Triticum aestivum* L.) embryos by low energy ion beam implantation [J]. *Acta Gene Sin* (遗传学报), 2000, 27(11): 982-991.
- [13] Wu L F. Transfer chitinase gene of rice into wheat via low energy Ar^+ implantation [J]. *Chin Sci Bull* (科学通报), 2000, 45(21): 2316-2321.
- [14] Wu L F, Li H, Song D J, et al. Study on transferring improved green fluorescent protein gene into wheat via low energy Ar^+ implantation [J]. *J Nanjing Agri Univ* (南京农业大学学报), 2000, 23(3): 17-20.
- [15] Wu L F, Yu Z L. Distant molecular hybrid derived from soybean and wheat with ion implantation and variation analysis [J]. *Acta Agric Nucl Sin* (核农学报), 2000, 14(4): 206-211.
- [16] Liu M Y, Yuan Y J, Zhu S B. Progress of modernization in TCM [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(3): 193-196.
- [17] Liu P, Wang C E. Overview and hotspots of the fundamental research on traditional chinese medicine resource in China [J]. *Bull Nation Nat Sci Founda China* (中国科学基金), 2004, (1): 5-9.

(上接第 643 页)