

假蒟不同部位 5 种次生代谢产物含量测定

张燕¹, 张洪斌²

(1. 海南热带海洋学院热带生物与农学院, 海南三亚 572022; 2. 海南热带海洋学院热带生态环境保护学院, 海南三亚 572022)

摘要 [目的] 建立假蒟不同部位总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚和总鞣质含量的测定方法。[方法] 通过 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 法测定总黄酮含量; 通过溴甲酚绿酸性染料比色法测定总生物碱含量; 通过香草醛-冰醋酸酸性染料比色法测定总皂苷含量; 通过 Folin-Ciocalteu 比色法测定总酚含量; 通过磷钼钨酸-干酪素比色法测定总鞣质含量。[结果] 芦丁平均加样回收率为 98.11%, $RSD = 0.59\%$, 假蒟叶、茎、根中总黄酮含量分别为 1.18%、0.33%、0.25%; 盐酸小檗碱平均加样回收率为 99.62%, $RSD = 1.52\%$, 假蒟叶、茎、根中总生物碱含量分别为 0.19%、0.03%、0.01%; 人参皂苷 Re 平均加样回收率为 99.21%, $RSD = 1.06\%$, 假蒟叶、茎、根中总皂苷含量分别为 4.33%、1.71%、4.13%; 没食子酸平均加样回收率为 97.95%, $RSD = 0.88\%$, 假蒟叶、茎、根中总酚含量分别为 2.42%、1.08%、0.68%; 没食子酸平均加样回收率为 97.92%, $RSD = 3.14\%$, 假蒟叶、茎、根中总鞣质含量分别为 1.69%、1.21%、0.72%。[结论] 这 5 种方法准确性强、精密度高、重复性好, 可以用作假蒟中总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚和总鞣质含量的测定。

关键词 假蒟; 不同部位; 次生代谢产物; 含量测定中图分类号 S567.23⁺9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)17-146-05**Determination of Five Kinds of Secondary Metabolites in Different Parts of *Piper sarmentosum* Roxb.**ZHANG Yan¹, ZHANG Hong-bin² (1. College of Tropical Biology and Agronomy, Hainan Tropical Ocean University, Sanya, Haian 572022; 2. College of Tropical Eco-environment Protection, Hainan Tropical Ocean University, Sanya, Haian 572022)

Abstract [Objective] To establish the analytical methods for detecting the contents of total flavonoids, total alkaloids, total saponins, total phenolics and total tannins in different parts of *Piper sarmentosum* Roxb. [Method] The content of total flavonoids was measured by the $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ colorimetry. The content of total alkaloids was measured by the bromocresol green acid dyes colorimetric assay. The content of total saponins was measured by the vanillin-acetic acid dyes colorimetric assay. The content of total phenolics was measured by the Folin-Ciocalteu assay. The content of total tannins was measured by the phospho molybdenum tungstic acid-casein colorimetry. [Result] The average recovery of rutin was 98.11% and RSD was 0.59%, the contents of total flavonoids in roots, stems and leaves of *P. sarmentosum* were 0.25%, 0.33% and 1.18% respectively. The average recovery of berberine hydrochloride was 99.62% and RSD was 1.52%, the contents of total alkaloids in roots, stems and leaves of *P. sarmentosum* were 0.01%, 0.03% and 0.19% respectively. The average recovery of ginsenoside Re was 99.21% and RSD was 1.06%, the contents of total saponins in roots, stems and leaves of *P. sarmentosum* were 4.13%, 1.71% and 4.33% respectively. The average recovery of gallic acid was 97.95% and RSD was 0.88%, the contents of total phenol in roots, stems and leaves of *P. sarmentosum* were 0.68%, 1.08% and 2.42% respectively. The average recovery of gallic acid was 97.92% and RSD was 3.14%, the contents of total tannins in leaves, stems and roots of *P. sarmentosum* were 0.72%, 1.21% and 1.69% respectively. [Conclusion] These five proposed methods are precise, accurate and reproducible, and they are suitable for the determination of total flavonoids, total alkaloids, total saponins, total phenolics and total tannins in *P. sarmentosum*.

Key words *Piper sarmentosum* Roxb.; Different parts; Secondary metabolites; Content determination

假蒟 (*Piper sarmentosum* Roxb.) 是胡椒科胡椒属的植物^[1], 为多年生匍匐草本秃净灌木或亚灌木, 分布于印度、中国、越南、马来西亚、菲律宾、印度尼西亚、巴布亚新几内亚等国。在我国主要分布于南部省区 (如两广、海南、福建、贵州、云南及西藏南部), 生长于海拔 1 400 m 的地区, 喜生于村边、路旁、村前屋后、深山沟谷、园林或树林的半阴潮湿处^[1]。假蒟具有多种功效, 如行气止痛、祛风散寒、消肿等, 可治疗风湿痹痛、疟疾、脘腹胀满、跌打损伤、泄泻痢疾等^[2-3]。假蒟还可食用, 可做成假蒟牛肉饼、假蒟三角肉粽, 味道鲜美。目前已有的报道对假蒟的研究主要集中在挥发性成分^[4-5]、质量标准^[6]、生药学鉴别^[7]、药理作用^[8-10]等方面, 鲜见对其次生代谢产物含量研究。笔者对假蒟不同部位的总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质 5 种次生代谢产物的含量进行了测定, 旨在为假蒟的药用质量控制及其进一步开发利用提供参考依据。

1 材料与方法**1.1 材料**

1.1.1 试材。假蒟采自海南省五指山市市郊, 由热带生物与农学院的陈道运老师鉴定为假蒟 *Piper sarmentosum* Roxb.。将处于营养生长期的假蒟全草洗净晾干, 分为叶、根、茎几部分, 置于烘干箱 60 °C 下烘干至恒重, 粉碎并过 40 目筛, 置于干燥器中备用。

1.1.2 主要仪器。SSY-电热恒温水浴锅 (上海跃进医疗器械厂); RE52CS 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); BP211D 电子天平 (德国 Sartorius 公司); SHZ-III 型循环水真空泵 (上海亚荣生化仪器厂); UV-2100 双光束紫外可见分光光度计 (北京瑞利分析仪器公司)。

1.1.3 试剂。芦丁对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 100080-200707); 盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110713-200910); 没食子酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110831-200302); 人参皂苷 Re 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110754-200822); 乙醇、石油醚 (60~90 °C)、正丁醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、溴甲酚绿、氯仿、浓氨水、香草醛、甲醇、冰醋酸、高氯酸、钨酸钠、钼酸钠、磷酸、浓盐酸、硫酸锂、双氧水、磷钼钨酸等试剂

基金项目 2013 年海南热带海洋学院植物学课程群教学团队。**作者简介** 张燕 (1968-), 女, 甘肃西和人, 教授, 硕士, 从事资源植物化学研究。**收稿日期** 2016-05-13

均为分析纯,干酪素(化学纯),重蒸水。

1.2 方法

1.2.1 对照品溶液制备。

1.2.1.1 总黄酮。准确称取 10 mg 芦丁对照品,加适量 30% 乙醇,放在水浴中加热溶解,待冷后用 30% 乙醇定容至 50 mL,摇匀备用,配制成 0.2 mg/mL 的对照品溶液。

1.2.1.2 总生物碱。准确称取盐酸小檗碱对照品 5.00 mg,置于 25 mL 棕色容量瓶中,加无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成 0.20 mg/mL 的对照品溶液,冰箱贮存,备用。

1.2.1.3 总皂苷。准确称取 5.0 mg 人参皂苷 Re 对照品,倒入 10 mL 棕色容量瓶内,用甲醇溶解并定容至刻度,得到 0.5 mg/mL 的对照品溶液,冰箱贮存,备用。

1.2.1.4 总酚。准确称取干燥至恒重的没食子酸对照品 25 mg,用蒸馏水溶解并定容于 50 mL 棕色容量瓶中,得浓度为 0.5 mg/mL 对照品溶液。

1.2.1.5 总鞣质。准确称取 25 mg 没食子酸对照品,倒入 50 mL 棕色量瓶内,用水溶解并稀释至刻度,得到 0.5 mg/mL 对照品溶液。再精密量取 5 mL 对照品溶液,滴入 50 mL 棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,配成 0.05 mg/mL 对照品溶液。

1.2.2 供试品溶液制备。

1.2.2.1 总黄酮。准确称取各 0.6 g 的假蒟叶、根、茎粉末,各加 95% 乙醇溶液在 70 °C 恒温水浴锅中提取 2.5、2.0 h,抽滤,分别将 2 次滤液合并减压浓缩至浸膏,浸膏加 60 °C 热水搅拌溶解,水溶液用等量石油醚萃取 3 次,石油醚层减压浓缩,回收石油醚,水层部分再用等量正丁醇萃取 3 次,合并正丁醇萃取液减压浓缩至浸膏,分别用 30% 乙醇将浸膏溶解定容至 100 mL 棕色容量瓶中。

1.2.2.2 总生物碱。准确称取各 2.00 g 的假蒟叶、根、茎粉末,倒入 3 个 50 mL 磨口锥形瓶中,各加入氯仿 30 mL、浓氨水 2 mL,振摇 3 min,放置过夜(16 h 以上),抽滤,将滤液转移至分液漏斗中静置 2 h,分取氯仿层,水浴蒸干溶剂,残渣加入适量无水乙醇使之溶解,转移并定容于 10 mL 容量瓶中,作为备用供试品溶液。

1.2.2.3 总皂苷。准确称取各 1.00 g 的假蒟叶、根、茎粉末,置于 3 个已经标号的三角锥形瓶中,加入 60% 乙醇 50 mL,浸泡 10 h,转移至索氏提取器中,于 70 °C 下回流 2 次,每次 3 h。收集 2 次滤液,并减压浓缩得浸膏。加 30 mL 60 °C 蒸馏水溶解并转移置分液漏斗,加正丁醇萃取 3 次,每次 30 mL,合并正丁醇层,减压回收正丁醇得浸膏,用甲醇溶解并定容于 50 mL 棕色容量瓶中,作为待测液。

1.2.2.4 总酚。分别准确称取假蒟的根、茎、叶粉末各 2.0 g,置于 100 mL 带塞锥形瓶中,加入 60% 乙醇溶液约 30 mL,在 80 °C 水浴 1 h 后,过滤,滤液减压浓缩至近干,然后转移至 100 mL 容量瓶中并用蒸馏水定容至刻度作为待测液。

1.2.2.5 总鞣质。准确称取各 2 g 的假蒟叶、根、茎粉末,倒入 3 个 250 mL 棕色量瓶内,分别加 150 mL 蒸馏水,静置过

夜,在振荡器上震荡 30 min,待冷,加水稀释至刻度,混匀,静置,过滤,倒掉 50 mL 初滤液,再精密量取 20 mL 续滤液,倒入 100 mL 棕色量瓶内,加蒸馏水稀释至刻度,摇匀,作为备用供试品溶液。

1.2.3 最大吸收波长确定。

1.2.3.1 总黄酮。准确量取 3 mL 芦丁对照品溶液滴入 10 mL 容量瓶内,加 2 mL 30% 乙醇,再准确滴入 0.3 mL 5% NaNO_2 溶液,摇匀,静置 6 min,再滴入 0.3 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液,摇匀,放置 6 min,再滴入 4 mL 1 mol/L NaOH 溶液,加水 0.4 mL,混匀,静置 15 min,以随行试剂做空白对照,在 300 ~ 700 nm 范围内进行全程扫描,确定最大吸收波长。

1.2.3.2 总生物碱。在分液漏斗中精密加入盐酸小檗碱对照品溶液 1 mL,加入 pH 7.6 的溴甲酚绿磷酸缓冲溶液 2.0 mL,摇匀,加入 10 mL 氯仿萃取,振摇 1 min 后,静置 1 h,分取氯仿层,以随行试剂做空白对照,在 200 ~ 600 nm 范围内进行全程扫描,确定最大吸收波长。

1.2.3.3 总皂苷。准确吸取人参皂苷 Re 对照品溶液 0.5 mL 置于 10 mL 具塞试管中,顺次加入刚配制的 0.2 mL 5% 香草醛冰醋酸溶液、0.8 mL 高氯酸溶液,加塞,摇匀,放入 60 °C 水浴加热 15 min,拿出,置冰水浴中冷却 3 min,加冰醋酸稀释至刻度,摇匀,用随行试剂做空白对照,在 300 ~ 700 nm 范围内进行全程扫描,确定最大吸收波长。

1.2.3.4 总酚、总鞣质。准确吸取 2 mL 没食子酸对照品溶液,滴入 25 mL 棕色容量瓶内,加蒸馏水稀释至 10 mL,加入 1 mL 福林试剂,摇匀后再加入 2 mL 20% 碳酸钠溶液,75 °C 水浴 10 min,冷却并定容至 25 mL,室温放置 30 min。用随行试剂做空白对照,在 490 ~ 800 nm 范围内进行全程扫描,确定最大吸收波长。

1.2.4 标准曲线绘制。

1.2.4.1 总黄酮。准确量取 0、0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 的 0.2 mg/mL 芦丁标准液分别滴入已标号的 6 只 10 mL 棕色容量瓶内,各加 30% 乙醇使成 5 mL。分别滴入 0.3 mL 5% NaNO_2 溶液,摇匀,静置 6 min,再滴入 0.3 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液,摇匀,放置 6 min,再加 4 mL 1 mol/L NaOH 溶液,加 0.4 mL 蒸馏水,摇匀,静置 15 min,用随行试剂做空白对照,在 510 nm 处测定吸光度。以标样浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.4.2 总生物碱。精密吸取浓度为 0.20 mg/mL 盐酸小檗碱对照品溶液 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 分别置于分液漏斗中,加入 pH 7.6 溴甲酚绿磷酸缓冲溶液 2.0 mL,氯仿 10 mL,密塞,剧烈振摇 2 min,再静置 2 h,分取氯仿层,用随行试剂做空白对照,在 420 nm 处测定吸光度。以标样浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.4.3 总皂苷。精密吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 的 0.5 mg/mL 人参皂苷 Re 对照品溶液分别滴入 10 mL 棕色容量瓶内,再分别滴入甲醇稀释至刻度,摇匀,各准确吸取 1.0 mL 置于 10 mL 具塞试管中,顺次加入刚配制的 0.2 mL 5% 香草醛冰醋酸溶液、0.8 mL 高氯酸溶液,加塞,摇匀,放入

60℃水浴加热15 min,拿出,置冰水浴中冷却3 min,加冰醋酸稀释至刻度,摇匀,用随行试剂做空白对照,于544 nm处测定各吸光度。以人参皂苷 Re 浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.4.4 总酚。精密量取0.5 mg/mL 没食子酸对照品溶液0、0.3、0.5、1.0、2.0、3.0 mL分别置于25 mL棕色容量瓶中,用蒸馏水稀释至10 mL,各加入1 mL福林试剂,摇匀后再加入2 mL 20%碳酸钠溶液,75℃水浴10 min,冷却并定容至25 mL,用随行试剂做空白对照。30 min后,在765 nm处测定吸光度。用没食子酸浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.4.5 总鞣质。准确吸取0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL的0.05 mg/mL 没食子酸对照品溶液分别滴入25 mL棕色量瓶内,再分别滴入1 mL磷钼钨酸试液,各加12.0、11.5、11.0、10.0、9.0、8.0 mL的蒸馏水再加29%碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀。用随行试剂做空白对照。30 min后,在765 nm处测定吸光度。以没食子酸浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.2.5 精密度试验。

1.2.5.1 总黄酮。准确吸取总黄酮供试品液2 mL于10 mL棕色容量瓶中,加3 mL 30%乙醇,操作按“1.2.4.1”进行,重复测定5次。

1.2.5.2 总生物碱精密度试验。精密吸取总生物碱供试品溶液2 mL,置于分液漏斗中,操作按“1.2.4.2”进行,重复测定5次。

1.2.5.3 总皂苷。精密吸取总皂苷供试品溶液10 mL于50 mL棕色容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,再从中取1.0 mL,置于10 mL具塞试管中,操作按“1.2.4.3”进行,重复测定5次。

1.2.5.4 总酚。精密吸取总酚供试品液2 mL,置于25 mL棕色容量瓶中,操作按“1.2.4.4”进行,重复测定5次。

1.2.5.5 总鞣质。按“1.2.4.5”进行操作,准确吸取2 mL总鞣质供试品溶液滴入25 mL棕色容量瓶内,滴入1 mL磷钼钨酸试液,加10 mL蒸馏水,再加29%碳酸钠溶液稀释至刻度,摇匀。用随行试剂做空白对照。30 min后,在765 nm处测定吸光度。重复测定5次。

1.2.6 重现性试验。

1.2.6.1 总黄酮。精密吸取总黄酮同一供试品液5份各2 mL,分别置于10 mL棕色容量瓶中,加3 mL 30%乙醇,操作按“1.2.4.1”进行,测定吸光度。

1.2.6.2 总生物碱。精密吸取总生物碱同一供试品液5份各2 mL,分别置于分液漏斗中,操作按“1.2.4.2”进行,测定吸光度。

1.2.6.3 总皂苷。精密吸取已定容至50 mL的总皂苷同一供试品液5份各1 mL,置于10 mL具塞试管中,操作按“1.2.4.3”进行,测定吸光度。

1.2.6.4 总酚。精密吸取总酚同一供试品液5份各2 mL,置于25 mL棕色容量瓶中,操作按“1.2.4.4”进行,测定吸

光度。

1.2.6.5 总鞣质。精确吸取总鞣质同一供试品溶液5份各2 mL,置于25 mL棕色容量瓶中,操作按“1.2.4.5”进行,测定吸光度。

1.2.7 稳定性试验。

1.2.7.1 总黄酮。精密吸取总黄酮供试品液2 mL于10 mL棕色容量瓶中,加3 mL 30%乙醇,操作按“1.2.4.1”进行,在0、5、10、15、20、30、40 min测定吸光度。

1.2.7.2 总生物碱。准确量取总生物碱供试品液2.0 mL,置于分液漏斗中,操作按“1.2.4.2”进行,在0、15、30、45、60 min测定吸光度。

1.2.7.3 总皂苷。精密吸取已定容至50 mL总皂苷供试品液1 mL,置于10 mL具塞试管中,操作按“1.2.4.3”进行,在0、15、30、45、60 min测定吸光度。

1.2.7.4 总酚。精密吸取总酚供试品溶液2 mL,置于25 mL棕色容量瓶中,操作按“1.2.4.4”进行,在0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h测定吸光度。

1.2.7.5 总鞣质。精密吸取总鞣质供试品液2 mL,置于25 mL棕色容量瓶中,操作按“1.2.4.5”进行,用显色后的同一供试品溶液,在0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h测定其吸光度。

1.2.8 回收率试验。准确称取5份已知含量的同一样品,各精确添加一定量的芦丁对照品、盐酸小檗碱对照品、人参皂苷 Re 对照品、没食子酸对照品、没食子酸对照品,分别按照“1.2.2”制备供试品溶液方法来制备加样回收供试品溶液,再分别按“1.2.4”方法测定吸光度,计算总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质的含量及回收率。

1.2.9 供试品溶液中总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质的含量测定。精确吸取假蒟的叶、根、茎样液各2 mL置于相应标号的容量瓶中,分别按照“1.2.4”方法测定样液的吸光度值,根据回归方程分别算出样液中总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质的含量,由此再计算出样品中总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质的含量。

2 结果与分析

2.1 最大吸收波长 通过测定,假蒟总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质的最大吸收波长为510、420、544、765、765 nm,且空白对照没有干扰。

2.2 标准曲线 根据“1.2.4”方法,得到假蒟总黄酮的回归方程为 $Y=16.4789X-0.0024$ ($r=0.9996$),表明芦丁浓度在0.002~0.080 mg/mL与吸光度呈良好的线性关系;总生物碱的回归方程为 $Y=40.7512X-0.0031$ ($r=0.9995$),表明盐酸小檗碱浓度在0~0.04 mg/mL与吸光度呈现良好的线性关系;总皂苷的回归方程为 $Y=0.0262X-0.0109$ ($r=0.9991$),表明人参皂苷 Re 浓度在0~5.00 μg/mL与吸光度呈良好的线性关系;总酚的回归方程为 $Y=0.5480X+0.0152$ ($r=0.9997$),表明没食子酸浓度在0~0.060 mg/mL与吸光度有良好的线性关系;总鞣质的回归方程为 $Y=99.9789X+0.0121$ ($r=0.9995$),表明没食子酸浓度在0~

0.008 mg/mL与吸光度呈现良好的正比关系。

2.3 精密性试验 分别通过 5 次重复测定,假蒟总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质的吸光度的 *RSD* 分别为 0.17%、0.39%、2.38%、1.15%、1.32%,表明精密性良好。

2.4 重现性试验 分别测定 5 份样品,假蒟总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚的吸光度的 *RSD* 分别为 0.20%、0.56%、1.97%、0.46%;总鞣质测定中,其中总酚吸光度的 *RSD* = 0.12%,不被吸附的多酚的 *RSD* = 0.14%。结果表明重现性较好。

2.5 稳定性试验 通过测定,0~40 min 内,假蒟总黄酮吸光度的 *RSD* 为 0.27%,表明总黄酮在 40 min 内较稳定;0~

60 min 内,总生物碱吸光度的 *RSD* 为 0.58%,表明总生物碱在 60 min 内较稳定;0~60 min 内,总皂苷吸光度的 *RSD* 为 3.13%,表明总皂苷在 60 min 内较稳定;0~3 h 内,总酚吸光度的 *RSD* 为 1.21%,表明总酚在 3 h 内较稳定;0~3.5 h 内,总鞣质吸光度的 *RSD* 为 2.81%,表明总鞣质在 3.5 h 内稳定性良好。

2.6 回收率试验 从表 1 可知,总黄酮的加样回收率为 98.11%,*RSD* = 0.59%;总生物碱的加样回收率为 99.62%,*RSD* = 1.52%;总皂苷的加样回收率为 99.21%,*RSD* = 1.06%;总酚的加样回收率为 97.95%,*RSD* = 0.88%;总鞣质的加样回收率为 97.92%,*RSD* = 3.14%。

表 1 5 种次生代谢产物回收率试验结果

Table 1 The experimental results of the recovery rates of five kinds of secondary metabolites

项目 Item	测定次数 Detection times	样品含量 Sample content mg	加入量 Adding amount mg	测得量 Measured amount//mg	回收率 Recovery rate//%	平均回收率 Average recovery rate//%	<i>RSD</i> //%
总黄酮 Total flavonoids	1	2.35	0.45	2.79	97.78	98.11	0.59
	2	2.35	0.55	2.89	98.18		
	3	2.35	0.65	2.99	98.46		
	4	2.35	0.75	3.08	97.33		
	5	2.35	0.85	3.19	98.82		
总生物碱 Total alkaloids	1	1.87	0.55	2.41	98.18	99.62	1.52
	2	1.87	0.65	2.51	98.46		
	3	1.87	0.75	2.63	101.33		
	4	1.87	0.85	2.73	101.18		
	5	1.87	0.95	2.81	98.95		
总皂苷 Total saponins	1	4.33	0.65	4.97	98.46	99.21	1.06
	2	4.33	0.75	5.07	98.67		
	3	4.33	0.85	5.17	98.82		
	4	4.33	0.95	5.29	101.05		
	5	4.33	1.05	5.37	99.05		
总酚 Total phenolics	1	24.20	1.50	25.68	98.67	97.95	0.88
	2	24.20	1.50	25.65	96.67		
	3	24.20	2.00	26.16	98.00		
	4	24.20	2.50	26.64	97.60		
	5	24.20	2.50	26.67	98.80		
总鞣质 Total tannins	1	16.90	0.25	17.04	96.00	97.92	3.14
	2	16.90	0.25	17.04	96.00		
	3	16.90	0.30	17.21	103.33		
	4	16.90	0.35	17.24	97.14		
	5	16.90	0.35	17.24	97.14		

2.7 供试品溶液测定 从表 2 可知,假蒟叶、茎、根中总黄酮含量分别为 1.18%、0.33%、0.25%;假蒟叶、茎、根中总生物碱含量分别为 0.19%、0.03%、0.01%;假蒟叶、茎、根中总

皂苷含量分别为 4.33%、1.71%、4.13%;假蒟叶、茎、根中总酚含量分别为 2.42%、1.08%、0.68%;假蒟叶、茎、根中总鞣质含量分别为 1.69%、1.21%、0.72%。

表 2 假蒟不同部位 5 种次生代谢产物的含量

Table 2 The contents of five kinds of secondary metabolites in different parts of *P. sarmentosum*

部位 Position	总黄酮 Total flavonoids		总生物碱 Total alkaloids		总皂苷 Total saponins		总酚 Total phenolics		总鞣质 Total tannins	
	平均值 Mean	<i>RSD</i>	平均值 Mean	<i>RSD</i>	平均值 Mean	<i>RSD</i>	平均值 Mean	<i>RSD</i>	平均值 Mean	<i>RSD</i>
根 Root	0.25	4.00	0.011 7	0.85	4.13	0.42	0.68	3.89	0.72	3.68
茎 Stem	0.33	3.03	0.028 6	0.93	1.71	1.24	1.08	3.34	1.21	2.19
叶 Leaf	1.18	1.47	0.187 3	0.24	4.33	0.61	2.42	1.49	1.69	1.57

3 结论与讨论

通过 $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3 - \text{NaOH}$ 法,以芦丁为对照品,在 510 nm 处用紫外可见分光光度计测定了假蒟不同部位总黄酮的含量,发现总黄酮含量在假蒟叶中最高(1.18%),其次是茎(0.33%),根中最低(0.25%)。

通过溴甲酚绿酸性染料比色法,以盐酸小檗碱为对照品,在 420 nm 处用紫外可见分光光度计测定了假蒟不同部位总生物碱的含量,发现总生物碱含量在假蒟叶中最高(0.19%),其次是茎(0.03%),根中最低(0.01%)。

通过香草醛-冰醋酸酸性染料比色法,以人参皂苷 Re 为对照品,在 544 nm 处用紫外可见分光光度计测定了假蒟不同部位总皂苷的含量,发现总皂苷含量在假蒟叶中最高(4.33%),其次是根(4.13%),茎中最低(1.71%)。

通过 Folin-Ciocalteu 比色法,以没食子酸为对照品,在 765 nm 处用紫外可见分光光度计测定了假蒟不同部位总酚的含量,发现总酚含量在假蒟叶中最高(2.42%),其次是茎(1.08%),根中最低(0.68%)。

通过磷钼钨酸-干酪素比色法,以没食子酸为对照品,在 765 nm 处用紫外可见分光光度计测定了假蒟不同部位总鞣质的含量,发现总鞣质含量在假蒟叶中最高(1.69%),其次是茎(1.21%),根中最低(0.72%)。

(上接第 136 页)

4 组含药血清抑制 LPS 刺激 RAW264.7 细胞释放 NO、TNF- α 、IL-6 的作用强度从强到弱依次为 PCWEPS、RLQS、WEPS、DPCWEPS。头花蓼水提醇沉淀物中主要为多糖和蛋白类化合物,其抗炎活性较弱。热淋清颗粒以头花蓼水提物为主要原料,可能是由于热淋清颗粒的制备工艺较为成熟使其更易于吸收,导致其含药血清的抗炎活性略优于头花蓼水提物含药血清的抗炎活性。PCWEPS 的抗炎活性最强,可能是由于乙醇沉淀法有效除去蛋白质、多糖、鞣质等杂质,有效成分得到富集^[3],其中富含鞣皮素、没食子酸、山奈酚、儿茶素以及多种酚酸类等化合物^[11],使其含药血清的抗炎活性得到较大程度的提高,这为改善热淋清颗粒临床用量较大提供了理论依据。

综上所述,头花蓼水提物、水提醇沉提取物、水提醇沉淀物及热淋清颗粒含药血清均能不同程度地通过抑制炎症因子 NO、TNF- α 和 IL-6 的释放而发挥抗炎作用,其中头花蓼水提醇沉提取物为头花蓼主要的抗炎有效物质,因此采用水提后醇沉的方法能够提高头花蓼的抗炎活性,这为从细胞水平上深入探讨头花蓼在治疗泌尿系统感染中的作用奠定了基础,也为头花蓼的进一步开发应用提供了理论依据。

综上所述,假蒟不同部位总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质含量具有显著的差异性。试验结果表明,5 种方法均具有精密度高、稳定性好、重现性好、操作简便、效率高、测定结果可靠的优点,适用于假蒟中总黄酮、总生物碱、总皂苷、总酚、总鞣质的定量分析,可为假蒟药用质量评价提供参考依据,也为假蒟次生代谢产物的进一步开发利用提供基础资料。

参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 4 版. 北京: 科学出版社, 1985: 551.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草: 第 3 册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 20-45.
- [3] 孙丹, 刘亚平, 张世瑞, 等. 假蒟和草胡椒提取物对植物病原菌的抑制作用初探[J]. 广东农业科学, 2008, 38(8): 95-98.
- [4] 宋艳平, 徐明忠, 梁勇. 假蒟挥发油化学成分气质联用分析研究[J]. 分析实验室, 2006, 25(1): 24-28.
- [5] 王道平, 危莉, 彭小冰, 等. 顶空固相微萃取-气质联用法分析新鲜假蒟挥发油化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(10): 142-145.
- [6] 马雯芳, 余娇, 蔡毅, 等. 壮药假蒟的质量标准研究[J]. 广西中医药, 2012, 35(2): 59-61.
- [7] 蔡毅, 姜建平, 苏建群, 等. 假蒟的生药学鉴别[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(5): 434-436.
- [8] 林江, 符悦冠, 黄武仁. 假蒟石油醚萃取物对螺旋粉虱的生物活性及代谢酶活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(7): 921-926.
- [9] 冯岗, 袁恩林, 张静. 假蒟中胡椒碱的分离鉴定及杀虫活性研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(11): 2246-2250.
- [10] 刘红芳, 邱仕忠, 符悦冠. 假蒟不同极性部位提取物对斜纹夜蛾卵的生物活性[J]. 南方农业学报, 2014, 45(6): 995-999.

参考文献

- [1] ANJU B, SANJAY C, KUSUM H. Pseudomonas quinolone signaling system: A component of quorum sensing cascade is a crucial player in the acute urinary tract infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Int J Med Microbiol, 2014, 304(8): 1199-1208.
- [2] 王重洋, 潘舒, 吴亚利, 等. 热淋清颗粒药理作用实验研究[J]. 实用中医内科杂志, 2012, 26(3): 12-14.
- [3] 龚金炎, 陈丽春, 张蕾, 等. 乙醇沉淀法对头花蓼水提物活性成分和抗氧化活性的影响研究[J]. 中成药, 2014, 36(5): 1072-1074.
- [4] YIN J J, LUO Y Q, DENG H L, et al. Hugin Qingzhi medication ameliorates hepatic steatosis by activating AMPK and PPAR α pathways in L02 cells and HepG2 cells [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 154(1): 229-239.
- [5] 张丽娟. 苗药头花蓼抗菌物质基础研究[D]. 贵阳: 贵阳医学院, 2012: 3-14.
- [6] 田友清, 尚靖, 何婷, 等. 基于中药血清化学及血清药理学方法探讨青兰保护心肌细胞缺氧/复氧损伤物质基础[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(5): 620-624.
- [7] 张馨方, 王强松, 崔元璐. 痹祺胶囊提取物对 RAW264.7 细胞模型的抗炎作用[J]. 中成药, 2014, 36(1): 26-30.
- [8] 汪娟, 蒋维, 王毅. 降香中黄酮类化合物对脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞抗炎作用研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(7): 681-684.
- [9] 张晓红, 董莉, 杨雅欣, 等. 紫金龙乙醇组分对脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞分泌炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(21): 149-152.
- [10] 刘晶, 潘晓华, 宋珍, 等. 牛蒡低聚果糖对脂多糖诱导下 RAW264.7 细胞炎症模型的抗炎作用[J]. 山东大学学报(医学版), 2012, 50(12): 41-46.
- [11] LIAO S G, ZHANG L J, SUN F, et al. Identification and characterisation of phenolics in *Polygonum capitatum* by ultrahigh-performance liquid chromatography with photodiode array detection and tandem mass spectrometry [J]. Phytochem Anal, 2013, 24(6): 556-568.