

元宝枫花中3种黄酮类成分的初步研究

任红剑¹,王长宪²,杜晓茜¹,乔谦¹,安凯¹,孙忠奎³,丰震¹

(¹山东农业大学林学院,山东泰安 271018;²泰安市泰山林业科学研究院,山东泰安 271000;

³泰安时代园林科技开发有限公司,山东泰安 271000)

摘要:为研究元宝枫花中药用成分及含量的问题,利用高效液相色谱技术,研究元宝枫不同单株花的槲皮素、山奈酚及异鼠李素3种黄酮类物质的含量。测试条件为SynchronisaQ-C18色谱柱,乙腈-0.2%磷酸(40:60)为流动相,流速0.9 mL/min,检测波长360 nm。结果显示槲皮素、山奈酚及异鼠李素的平均含量分别为0.696、0.229、1.207 mg/g,且株间差异明显。这意味着元宝枫花具有进一步深入研究并进行新产品开发的潜力。该方法简单、快速,可作为探究元宝枫花中黄酮类物质测定的方法,也为元宝枫花有效成分的检测和质量控制提供技术支持。

关键词:高效液相色谱;元宝枫花;黄酮

中图分类号:S792.35

文献标志码:A

论文编号:casb16110053

Study on 3 Flavonoids in *Acer truncatum* Flowers

Ren Hongjian¹, Wang Changxian², Du Xiaoxi¹, Qiao Qian¹, An Kai¹, Sun Zhongkui³, Feng Zhen¹

(¹College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an Shandong 271018;

²Taishan Forestry Science Institute, Tai'an Shandong 271000;

³Tai'an Shidai Technology Development, Limited Company, Tai'an Shandong 271000)

Abstract: To reveal the medicinal constituents and contents of *Acer truncatum* flowers, the authors used high performance liquid phase chromatographic techniques to study the contents of flavonoids, quercetin, kaempferol and isorhamnetin, in different flowers of *Acer truncatum*. The test condition was SynchronisaQ-C18 chromatographic column, acetonitrile-0.2% phosphoric acid (40:60) as mobile phase, flow rate of 0.9 mL/min, and detection wavelength of 360 nm. The results indicated that the average content of quercetin, kaempferol and isorhamnetin was 0.696, 0.229 and 1.207 mg/g, respectively, and there were significant differences among the plants, showing that *Acer truncatum* flowers had further study value and potential for new product development. This method is simple and rapid, which can be used for the determination of flavonoids in *Acer truncatum* flowers, and provide technical support for detecting and quality control of effective components in *Acer truncatum* flowers.

Key words: high performance liquid chromatography; *Acer truncatum* flowers; flavonoids

0 引言

近年来,有关植物器官如叶、花的有益成分研究越来越流行,对它的有益成分进行开发、研制,做成品加

工,得到保健产品,已经开始形成产业链。植物的花、叶有益成分的研究有许多,如前人曾对蜡梅属植物的叶、花化学成分及药理性质进行了研究,证明山蜡梅叶

基金项目:山东省农业良种工程重大项目“优良花卉和园林绿化植物新品种选育”(2014J96号);中央财政林业科技推广示范跨区域重点推广示范项目“元宝枫新品种苗木繁育及推广”。

第一作者简介:任红剑,男,1993年出生,山东淄博人,硕士研究生,研究方向为园林植物的综合应用。通信地址:271000 山东省泰安市泰山区岱宗大街61号 山东农业大学林学院, E-mail: 1040186941@qq.com。

通讯作者:丰震,男,1961年出生,山东聊城人,教授。通信地址:271000 山东省泰安市泰山区岱宗大街61号 山东农业大学林学院, E-mail: fengzn408@qq.com。

收稿日期:2016-11-10,修回日期:2017-01-02。

中生物碱类成分既具有良好的抗菌消炎等作用,又具有明显的毒理作用^[1],还证实了蜡梅属鲜花的黄酮类物质具有良好的体外清除自由基的功效^[2]。药学实践杂志上介绍了杜鹃花属植物的化学成分和药理活性研究,从杜鹃花中分离出的黄酮类、香豆素^[3]等物质对治疗咳嗽、哮喘等疾病具有重要作用,从大白花杜鹃叶中得到的木藜芦烷类毒素^[4]在低剂量时有明显降压作用。所以在对植物花、叶当中有益成分的研究中,能够选取的试验材料是相当广泛的。

元宝枫(*Acer truncatum*)为落叶乔木,树形优美叶色缤纷多彩,是华北地区常见的彩叶树种,通常作为绿化或风景林的伴生树种,是中国华北地区的主要行道树种^[5]。现如今对于它的研究体现在很多方面,如元宝枫籽油的提取^[6],从中得到元宝枫籽油中含有丰富的脂肪酸成分,对人体健康有益;元宝枫叶片^[7]的有效成分分离分析,制成元宝枫叶茶的成品^[8]。元宝枫本身作为一种彩叶观赏植物不仅观赏效果极佳,而且大部分营养器官具有有益成分,也被视为重要的药用材料。

目前,尚未见关于元宝枫花有效成分研究的相关报道。黄酮类化合物是当前抗感染领域的主要研究对象之一,许多黄酮类化合物具有抗菌、抗炎作用^[9]。其中有报道证实槲皮素等黄酮类化合物的抗菌活性具有协同作用^[10]。槲皮素、异鼠李素和山奈酚均有止咳、祛痰、平喘的药理作用^[11-13],它们是黄酮类化合物中重要的3种成分,是许多有关植物黄酮类成分研究的典型代表,如元宝枫叶片黄酮类成分研究,也主要以这3种成分为研究对象^[14]。药用植物在药用部分发育过程中,其主要药用成分积累动态以及对同属不同种植物和同种植物不同部分内药用成分含量的变化存在一定关系^[15]。本研究采用高效液相色谱法测定元宝枫花中含有的黄酮类成分槲皮素和山奈酚以及异鼠李素的含量,旨在为元宝枫花药材的质量评价及元宝枫花药用资源的开发和利用提供参考,以期为试制元宝枫花茶产品研究提供一定的理论依据,丰富该树种的有益成分研究。

1 材料与方法

1.1 植物材料、仪器与试剂

1.1.1 材料 在山东农业大学校园(沙质壤土)内选择长势健壮良好的元宝枫大树10株(因采集地点不同,分别标号为1、2、3、4、6、A1、A2、A3、A4、A5,以做区分),树高约8~10 m,胸径约10 cm。于2016年4月初选取树冠中部花朵较多的小侧枝,高枝剪剪取小侧枝,摘取其花蕾部分,放入网袋内,使其自然阴干,当含水

量<10%时,分离提纯样品。

1.1.2 标样 槲皮素(批号111273-201406,纯度≥98.5%)、山奈酚(批号K107144-201406,纯度≥98.5%)、异鼠李素(批号1109591-201406,纯度≥98.5%),均购于上海麦克林生化科技有限公司。

1.1.3 仪器 美国Waters 515型高效液相色谱仪;Waters 2487紫外双波长检测器;震荡培养箱;恒温水浴锅。

1.1.4 试剂 高效液相色谱(HPLC)分析用甲醇、乙腈为色谱纯;试验用水为超纯水,提取用试剂均为分析纯。

1.2 供试品溶液的制备

取上述供试元宝枫花样本,精密称取样品粉末(磨碎过20目筛)少许,精确称定,把不同株花的粉末置于50 mL的锥形瓶内,每瓶内加入50 mL的石油醚温浸过夜(可放入到恒温培养箱内40℃避光温浸12 h),封口膜封口次日进行过滤。得到的残渣用90%的乙醇溶液,70℃温浸60 min(水浴锅温浸水浴条件下完成),加入乙醇的量于花粉末量的物料比为1:12,之后对所得的有机溶剂组分回收溶剂,每组得到的滤液经0.22 μm的微孔滤膜过滤,将滤液蒸干,得到的元宝枫花总黄酮的粉末,之后再再用4 mL的2.5 mol/L盐酸甲醇水($V_{\text{盐酸甲醇}}:V_{\text{水}}=50:50$)溶液溶解,90℃酸水解4 h,定容至10 mL,过0.22 μm微孔滤膜,得到供试品溶液,10组样品溶液分别标号1、2、3、4、6、A1、A2、A3、A4、A5。于4℃保存,供HPLC测定。

1.3 标样溶液的制备

分别称取槲皮素、异鼠李素、山奈酚对照品各5 mg,精确称定,甲醇溶解并定容,配制成浓度都为1000 mg/kg的3种标样溶液,4℃保存备用。

1.4 测试条件

1.4.1 色谱条件 SynchronisaQ-C18分离柱(4.6 mm×250 mm,4.6 μm);流动相为乙腈-0.2%磷酸,流动相配比40:60,流速0.9 mL/min,进样量10 μL,柱温为28℃,检测波长360 nm,灵敏度0.4 AUFS。

1.4.2 不同单株元宝枫花样本中3种黄酮类化合物含量测定 分别称取不同单株元宝枫花样本粉末及对照品进行上述色谱条件检测,根据N2000色谱工作站连续记录各个峰的峰面积,由色谱工作站中生成的检测报告面积外标法计算元宝枫花中这3种黄酮类成分的平均含量。

2 结果与分析

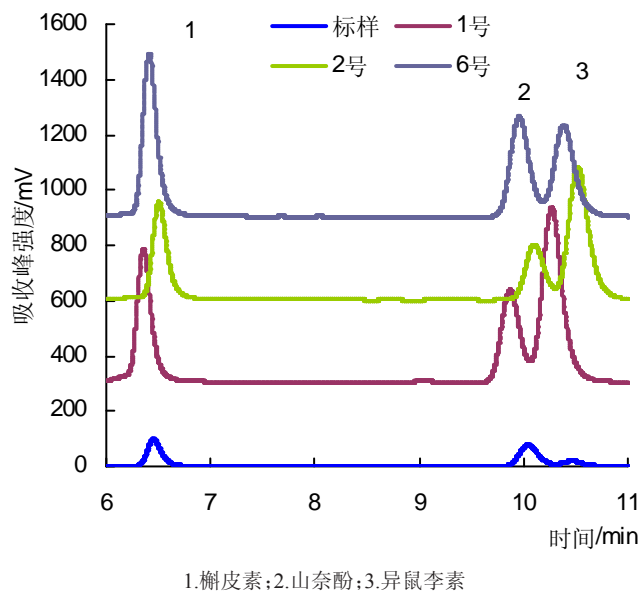
2.1 元宝枫不同单株花朵中3种黄酮化合物的检测图谱

通过试剂浸提的方法,分别提纯元宝枫不同单株

花的黄酮提取液(供试品)的纯度,进行HPLC检测,得到元宝枫花的黄酮提取液的图谱图像(图1~2)。根据相对保留时间并结合待测化合物的特征吸收波谱进行定性。由图1、2可以看出,3种黄酮类成分(浓度为1000 mg/kg)能完全基线分离,色谱峰形尖锐,分离度较大。因此,本方法适合元宝枫花中这3类黄酮化合物的同时测定。图中也显示出了3种成分出峰时间的先后顺序,即槲皮素、山奈酚、异鼠李素。与标样相比,提取液中3种成分出峰的峰面积有所差异,标样中显示,槲皮素>山奈酚>异鼠李素,而提取液中,除了6号、A1号样,都显示异鼠李素>槲皮素>山奈酚。

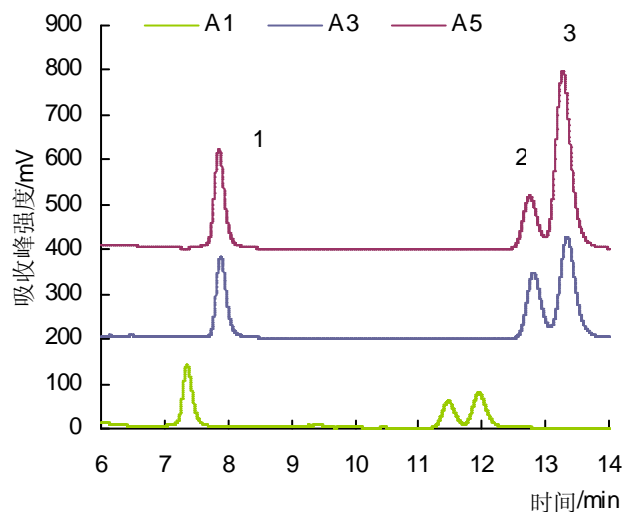
2.2 元宝枫不同单株花样品中3种黄酮类成分在总黄酮中的比例

经过色谱工作站处理,从其中检测报告中得到3种成分占总黄酮的百分含量。表1中显示,每个样品中3种成分百分含量有所差异,其中趋势较为相似的是1、2、A2、A5号样,都是异鼠李素>槲皮素>山奈酚,而A3、A4号样则显示,异鼠李素>山奈酚>槲皮素,剩余的4、6号样的结果是槲皮素>异鼠李素>山奈酚,只有3号样是槲皮素>山奈酚>异鼠李素;大多数试验样品结果是上述的第1种情况(异鼠李素>槲皮素>山奈酚),这可作为今后元宝枫花药材质量评定



1.槲皮素;2.山奈酚;3.异鼠李素

图1 3种黄酮化合物混合对照品(标样)与元宝枫花黄酮提取液供试品(1、2、6号样)的HPLC-UV



1.槲皮素;2.山奈酚;3.异鼠李素

图2 元宝枫花黄酮提取液供试品(A1、A3、A5号样)的HPLC-UV

表1 元宝枫花中3种黄酮类成分占总黄酮含量的比例

黄酮种类	1	2	3	4	6	A1	A2	A3	A4	A5
槲皮素	4.3941	4.2575	11.1655	5.6753	6.1770	1.2606	4.1118	3.4428	2.5662	3.3035
山奈酚	3.5083	2.7568	3.2786	4.1838	4.5925	0.7016	3.4304	3.6518	2.8146	2.3550
异鼠李素	7.3734	7.2650	0.4514	4.4208	4.7741	1.0169	7.0503	6.1361	4.6157	8.6835

的标准。

2.3 元宝枫不同单株花样品中3种黄酮类成分含量的测定

测得不同标号的元宝枫样品中3种黄酮类成分含量为：槲皮素 0.060~3.560 mg/g、山奈酚 0.023~0.268 mg/g、异鼠李素 0.163~2.506 mg/g(表2)，其中，

异鼠李素的含量最高，山奈酚的含量相对较低，区别于元宝枫叶片中3类黄酮类物质的含量，其叶中含量最高的是槲皮素，其次是山奈酚，最低的是异鼠李素。综合统计得到上述10株不同元宝枫花朵样品中，槲皮素、山奈素、异鼠李素的平均含量分别为0.696、0.229、1.207 mg/g。

表2 元宝枫花中3种黄酮类成分的含量比较

黄酮种类	1	2	3	4	6	A1	A2	A3	A4	A5	平均含量
槲皮素	0.432	0.330	1.169	0.330	0.513	0.060	3.560	0.181	0.170	0.213	0.696
山奈酚	0.242	0.150	0.241	0.171	0.268	0.023	0.130	0.135	0.082	0.106	0.229
异鼠李素	2.506	1.950	0.163	0.888	1.370	0.166	1.318	1.114	0.661	1.930	1.207
总量	3.180	2.430	1.573	1.389	2.151	0.249	5.008	1.429	1.650	2.249	2.131

2.4 株间差异

通过对10个样品的测定，得到元宝枫花中3种黄酮类成分槲皮素、山奈酚、异鼠李素在不同单株间有差异(表2)。其中槲皮素、山奈酚、异鼠李素最高含量分别是3.560、0.268、2.506 mg/g，最低含量分别为0.060、0.023、0.163 mg/g，槲皮素相差近60倍，山奈酚的差异也在35倍左右，差异最小的异鼠李素相差15倍，说明元宝枫花中这3类黄酮类成分结果差别较大，需要继续研究。

3 结论

笔者采用高效液相色谱法同时测定元宝枫花中含槲皮素、异鼠李素和山奈酚的含量方法，操作简单、灵敏，元宝枫花中黄酮类物质的含量是异鼠李素的含量较高，槲皮素次之，山奈酚的含量相对较低。这在以后开发元宝枫花产品当中能够更加有效、全面、准确地控制其花及其产品的质量，为开发研制元宝枫花茶等保健产品提供理论基础。

4 讨论

4.1 试验材料上的创新

植物的花中有益成分较多，如金银花中具有挥发油、萜类、环烯醚萜苷类、三萜皂苷类、黄酮类、有机酸类、无机元素及其他等多种化学成分^[16]；李晓军等^[17]采用超声波辅助的方法获得其中的黄酮类物质，纵伟等^[18]

运用超高压法对金银花中的黄酮类成分进行分离；还有关于药用菊花中黄酮类成分测定的报道^[19]。笔者在试验材料上推陈出新，首次对元宝枫花中的黄酮类物质进行提取分离，并对其中某些成分进行含量标定，为元宝枫花的药材质量评定提供了一定的理论依据。

4.2 提取方法与测试方法的借鉴

本试验中有关元宝枫花的总黄酮提取液的提取方法，是采用《金银花花叶总黄酮类化合物的最佳提取工艺》^[20]中的试验方法，具体试剂提纯的方法为90%的乙醇、物料比1:12，于70℃温浸60 min的方法，获得元宝枫黄酮提取液蒸发甲醇定容后即该试验的供试品溶液。所得到的试验结果差异较大，可能由于前期处理方法上存在问题，得到元宝枫花的黄酮提取物可能存在杂质，应该进一步改进前期处理方法，得到更加准确的试验结果。在采用HPLC测定当中，测定波长的选择、流动相的配比仿照昙花^[21]当中槲皮素、异鼠李素和山奈酚量的测定方法，测定波长360 nm。因为槲皮素的紫外最大吸收波长在374 nm，异鼠李素和山奈酚也在360~370 nm。还有多种植物总黄酮中这3种成分同时测定时，检测波长都是在360 nm处，如罗汉果花^[22]中槲皮素和山奈酚含量的测定、荷叶^[23]中黄酮类物质含量的测定等，这证明该试验的检测方法较为准确。

4.3 有关元宝枫花茶试制的展望

植物器官中药用成分丰富,开发利用成产品的先例屡见不鲜。如景天科植物红景天化学成分丰富,已开发成保健产品^[24];泡桐是重要的速生树种,分布广泛,不仅材质优良,且其叶、花等器官均有不同的药用价值^[25]。鉴于以上对元宝枫花中黄酮类成分的探究,也可将元宝枫花与金银花、杜仲、银杏等植物一样,制成保健茶饮品或药品开发利用。但炮制方法、前期处理等工作需要进一步探讨与试制。

参考文献

- [1] 熊义权,肖纯,龙秀娟.蜡梅属植物叶、花化学成分及药理性质研究进展[J].中国野生植物资源,2008,1:8-10,15.
- [2] 翟延君,初正云,程嘉艺,等.水红花子消积止痛药效学实验研究[J].中药材,2006,12:1345-1346.
- [3] 张均田.若干中草药药理和化学的研究(一)[J].中国医学科学院学报,1979,1:41-50.
- [4] 汪礼权,秦国伟.杜鹃花科木藜芦烷类毒素的化学与生物活性研究进展[J].天然产物研究与开发,1997,04:82-90.
- [5] 陈友民.园林树木学[M].北京:中国林业出版社,1990:699-702.
- [6] 王性炎,王姝清.新资源食品——元宝枫籽油[J].中国油脂,2011,9:56-59.
- [7] 黄相中,谭理想,古昆,等.云南产元宝枫叶的化学成分研究[J].中国中药杂志,2007,15:1544-1546,1604.
- [8] 王海燕,庞晓莉,王昕.元宝槭叶生化成分及枫叶茶开发利用研究进展[J].南方农业,2007,5:91-92.
- [9] Cushnie T P T, Lamb A J. Antimicrobial activity of flavonoids[J]. Int J Antimicrob Agents,2005,26(5):343-356.
- [10] Kimura M, Yamada H. Interaction in the anti bacterial activity of flavonoids from *Sophora japonica* L. to propionibacterium[J]. Yakugaku Zasshi Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 1984,104:340.
- [11] 谢娟,宋良科,王恒,等.矮地茶的槲皮素与山奈酚含量测定[J].特产研究,2008,1:55-57.
- [12] 易长英.高效液相色谱法测定复方矮地茶止咳合剂中的槲皮素和山奈酚含量[J].中南药学,2014,1:66-69.
- [13] 陈羽鹏,苏连彩,丘建芳,等.RH-HPLC法测定祛痰止咳颗粒中槲皮素的含量[J].中医药导报,2006,3:56-57,68.
- [14] 赵文华,宋晓红,李珺,等.不同季节元宝枫叶中的三种黄酮苷元的含量测定[J].中成药,2005,5:574-577.
- [15] 胡正海.药用植物的结构、发育与其主要药用成分积累关系的研究[J].中国野生植物资源,2005,1:8-12.
- [16] 夏远,李弟灶,裴振昭,等.金银花化学成分的研究进展[J].中国现代中药,2012,4:26-32.
- [17] 李晓军.超声波辅助提取金银花黄酮类化合物的研究[D].西安:陕西师范大学,2009.
- [18] 纵伟,李晓.超高压法提取金银花中总黄酮的研究[J].食品研究与开发,2009,2:65-68.
- [19] 汪涛.药用菊花黄酮类成分动态分析及质量评价[D].南京:南京农业大学,2007.
- [20] 周才琼,李书文,万宇波,等.金银花花叶总黄酮类化合物的最佳提取工艺研究[J].西南农业大学学报:自然科学版,2003,3:262-264.
- [21] 邹翔,盛洁静,曲中原,等.昙花中槲皮素、异鼠李素和山奈酚量的测定[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2015,5:513-515,526.
- [22] 谭洪盛,马俊飞,陈全斌.罗汉果花中槲皮素和山奈酚含量的测定[J].广西科学,2012,1:69-70,73.
- [23] 孙敏,刘嘉铭,张丽萍,等.荷叶中4种黄酮类物质含量的测定[J].贵州农业科学,2015,5:72-74,78.
- [24] 邱远金,谭勇,王绍明,成玉怀.红景天植物化学成分及资源利用研究进展[J].中国农学通报,2008,12:458-462.
- [25] 邢雅丽,毕良武,赵振东,韩路路,夏田娟.泡桐植物资源分布及化学成分研究进展[J].林产化学与工业,2013,6:135-140.