

# 田七中总黄酮含量的测定及其黄酮种类的初步鉴别

黄儒强<sup>1</sup>, 郭子杰<sup>2</sup>, 邓伟玲<sup>1</sup>, 陈城超<sup>1</sup>, 黄业博<sup>1</sup>, 黄奕华<sup>1</sup>, 邱扬<sup>1</sup>

(1. 华南师范大学生命科学学院, 广东 广州 510631) (2. 广州福托康生物技术有限公司, 广东 广州 510000)

**摘要:** 本文研究了田七提取液中总黄酮含量的测定及黄酮种类的鉴别。结果表明 75%乙醇是浸提田七中黄酮类化合物的较理想溶剂。以芦丁为标准品测得该提取液中的总黄酮含量为 0.015 mg/mL。在此基础上, 通过颜色反应, 确定田七 75%乙醇提取液中黄酮的种类主要为双氢黄酮。

**关键词:** 田七; 总黄酮; 鉴别

中图分类号: R284.1; 文献标识码: B; 文章编号: 1673-9078(2007)03-0066-03

## Measurement and Identification of Flavones in *Panpax notoginseng*

HUANG Ru-qiang<sup>1</sup>, GUO Zi-jie<sup>2</sup>, DENG Wei-ling<sup>1</sup>, CHEN Cheng-chao<sup>1</sup>, HUANG Ye-bo<sup>1</sup>, HUANG Yi-hua<sup>1</sup>, QIU Yang<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

(2. Guangzhou Fotcom Bio-Technology Co., Ltd., Guangzhou 510000, China)

**Abstract:** The content of flavones in the extract of *Panpax notoginseng* was measured and the species of flavones were identified. The results showed that 75% ethanol was an appropriate solvent for extracting flavones from *Panpax notoginseng*. It was found that there was 0.015 mg/mL of flavones in the extract measured on the base of rutin as standard sample. With color reaction, it was identified that the species of flavones in the extract were flavanones.

**Key words:** *Panpax notoginseng*; flavones; identify

田七 [*Panpax notoginseng* (Burk) F.H.Chen], 又名山漆、金不换、参三七、田三七、滇三七、盘龙七等, 为五加科草本植物, 主产于广西、云南, 多系栽培。此外, 四川、贵州、江西等省亦有栽种。田七的药用成分主要采自其根部, 其叶、花、果以及根块茎均可药用, 是我国著名的消炎止血镇痛良药。对于田七的止血、散瘀、消肿、定痛功效, 我国古今的本草学专著中多有记载。《本草纲目》中记载: 田七“味甘、微苦, 温, 无毒。主治止血散血定痛。金刃箭伤跌扑杖疮血出不止者, 嚼烂涂, 或为末掺之, 其血即止。”《玉楸药解》中记载: 田七“和营止血, 通脉行瘀, 行瘀血而敛新血。凡产后、经期、跌打、痈肿, 一切瘀血皆破; 凡吐衄、崩漏、刀伤、箭射, 一切新血皆止。”《本草新编》记载: “三七根, 止血之神药也。”《岭南采药录》称: 田七“治痰火吐血, 能祛瘀生新。”《中华生草》和《中华人民共和国药典》也将其收入, 述其散瘀止血、消肿定痛等功效<sup>[1]</sup>。

收稿日期: 2006-12-08

基金项目: 广东省科技厅项目(2005B20401021); 广州市海珠区科技局项目(2005-Z-25)

作者简介: 黄儒强(1968-), 男, 博士, 研究方向: 天然产物的研究与开发、食品生物技术与工程

现代药理研究表明, 田七主要含皂甙类止血活血物质, 黄酮类化合物, 生物碱, 蛋白质, 葡萄糖、木糖、蔗糖等糖类, 脂肪油, 挥发油, 树脂, 游离氨基酸,  $\beta$ -谷甾醇, 胡萝卜素, 铁, 钙, 铜元素等上百种成分。其中皂甙类中主要为人参皂甙-R<sub>b1</sub>、-R<sub>g1</sub>、-R<sub>g2</sub>、-R<sub>e</sub>、R<sub>d</sub>、-R<sub>h</sub>和田七皂甙-R<sub>1</sub>、-R<sub>2</sub>、-D<sub>1</sub>、C<sub>3</sub>、D<sub>2</sub>、E<sub>2</sub>等, 其皂甙类含量达12%, 比人参和西洋参都高。

黄酮类化合物(flavonoid)是在植物中分布非常广泛的一类天然产物, 其在植物体内大部分与糖结合成苷类, 有一部分是以游离态(苷元)的形式存在。绝大多数的植物体内都含有黄酮类化合物, 其对植物的生长、发育、开花、结果及防菌防病等方面起着重要的作用。同时, 黄酮类化合物也具有生物活性功能, 如: 治疗冠心病、对缺血性脑损伤以及对心肌缺血损伤有保护作用等。另外, 黄酮类化合物还具有抗菌及抗病毒、抗肿瘤、抗氧化自由基、消炎、镇痛和护肝等活性。

黄酮类化合物多具有颜色, 且较早发现的化合物具有 2-苯基色原酮(2-phenyl-chromone)的结构, 故称黄酮或黄酮体。现在则是泛指两个苯环(A环与B环)通过中央三碳相互联结而成的一系列化合物。根据中央三碳的氧化程度、是否成环、B环的连接位置

(2 或 3 位) 及两分子黄酮类化合物的结合等特点, 可将黄酮类化合物分成黄酮类 (flavones)、黄酮醇类 (flavonols)、双氢黄酮类 (flavanones)、双氢黄酮醇类 (flavanonols)、异黄酮类 (isoflavones)、双氢异黄酮类 (isoflavanones)、查尔酮类 (chalcones)、花色苷类 (anthocyanidins)、双黄酮类 (biflavonoids) 等。黄酮类化合物可与镁粉 (或锌粉)、盐酸、三氯化铝、氢氧化钠等试剂产生特征性的颜色反应, 用于黄酮类化合物的鉴别<sup>[2]</sup>。

目前对田七的研究开发的文章很多, 主要集中在对田七的加工和药理研究上, 对其成分的测定则主要集中在皂苷含量的测定上, 有关田七中黄酮类化合物的研究还未见报道。因此, 本文首先利用 50%乙醇、75%乙醇、95%乙醇、50%甲醇、75%甲醇、95%甲醇、水、乙酸乙酯等溶剂对田七中的黄酮类化合物进行浸提, 然后分别测定浸提液中总黄酮的含量。选择总黄酮含量最高的有机溶剂作为主要研究对象, 通过特征反应, 鉴别该有机溶剂浸提液中的黄酮种类。以期为后续从田七中提取、分离黄酮类化合物的单体物质及其药理作用研究提供理论指导, 同时, 也为田七的应用开发进一步提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 原料与试剂

田七 (*Panpax notoginseng*) 果实 (晒干), 购自广州药材市场, 产地: 广西; 芦丁 (Rutin), 购自国药集团化学试剂有限公司; 其它化学试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

JZ7114 单相异步电动粉碎机, 1400 r/min, 巩义市英峪子华仪器厂; RE-52D 旋转蒸发仪, 上海青浦沪西仪器厂; ZF 型紫外透射反射分析仪, 上海伊利仪器制造有限公司; SpectrumLab54 紫外可见分光光度计, 上海棱光技术有限公司制造; 索氏提取器。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 田七提取液的制备

称取经过干燥的田七粉末 80 g, 在索氏提取器中用石油醚进行脱脂。将脱脂后的田七等分为 8 份, 即每份 10 g, 分别加入 100 mL 50%乙醇、75%乙醇、95%乙醇、50%甲醇、75%甲醇、95%甲醇、水、乙酸乙酯等溶剂, 用冷浸法浸取 2 天, 共浸提三次, 合并三次浸提液, 过滤, 利用旋转蒸发仪进行浓缩至体积为 10 mL, 即得各种溶剂的田七粗黄酮提取液。

#### 1.2.2 田七提取液中总黄酮含量的测定

#### 1.2.2.1 标准曲线的建立

将提取液和标准品在 700 nm~200 nm 内进行光谱扫描分析, 发现在 510 nm 处有最大吸收峰, 故用 510 nm 作为检测波长。

精密称取在 105 °C 条件下干燥至恒重的芦丁对照品 11.8 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇适量, 在水浴上微热溶解, 置冷, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。得芦丁对照溶液 (0.236 mg/mL)。精密吸取对照溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL, 分别置入 25 mL 容量瓶中, 再分别加甲醇 6.0、5.0、4.0、3.0、2.0、1.0、0.0 mL, 加 5%亚硝酸钠溶液 1.0 mL, 摇匀, 静置 6 min; 加 10%硝酸铝溶液 1.0 mL, 摇匀, 再静置 6 min; 加 1%氢氧化钠试液 10 mL, 再加 30%乙醇至刻度, 摇匀, 静置 15 min, 在 510 nm 处测定吸光度, 并求出线性回归方程, 建立标准曲线。

#### 1.2.2.2 田七中总黄酮含量的测定

吸取田七的不同提取液 1 mL, 按照标准曲线建立的方法, 测出其吸光度, 根据标准曲线, 求出提取液中总黄酮的含量。

#### 1.2.3 田七提取液中黄酮的颜色反应<sup>[6]</sup>

根据 1.2.2.2 测得的田七不同溶剂提取液黄酮含量的大小来确定较理想的提取溶剂, 选择黄酮含量最高的浸提液作为研究对象。本实验只对总黄酮含量最高的提取液进行鉴定。

本实验利用盐酸-镁粉法、浓硫酸法、盐酸、柠檬酸、氢氧化钠法对提取液中的黄酮进行颜色反应。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准曲线的建立

以芦丁为标准品, 按照 1.2.2.1 的方法得到标准曲线如图 1 所示, 其回归方程为:  $y=0.0977x$ ,  $R=0.9998$ 。

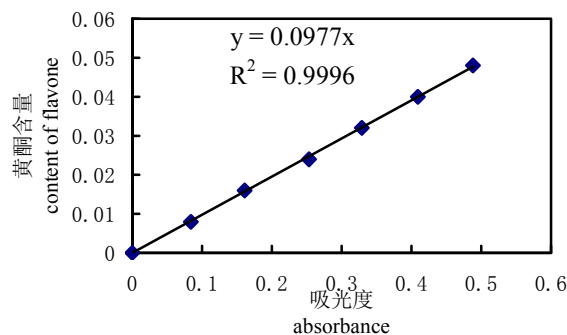


图 1 芦丁标准曲线

Fig.1 standard curve of rutin

### 2.2 田七中总黄酮含量的测定结果

按照 1.2.2.2 的方法, 田七不同提取液中总黄酮含

量测定结果如表 1 所示。

表 1 不同提取液的总黄酮含量

100 mL 溶剂	乙醇			甲醇			水	乙酸乙酯
	浓度	50 %	75 %	95 %	50 %	75 %		
OD 值	0.0108	0.158	0.085	0.051	0.097	0.057	0.042	0.025
含量/(mg/mL)	0.001	0.015	0.008	0.005	0.009	0.006	0.004	0.002

从表 1 可以看出,不同溶剂的田七提取液中总黄酮含量存在较大的差异,75%乙醇提取液中总黄酮含量最高,达 0.015 mg/mL,说明 75%的乙醇是最理想的提取剂。因此,本实验选择 75%乙醇作为主要的提取剂,并以 75%乙醇提取液作为研究对象,探讨其中所含有的黄酮种类及其特性。

### 2.3 田七提取液中黄酮的鉴别

不同植物中的黄酮性质存在很大的差异,为了更好地研究和开发田七,本实验对 75%的乙醇提取液中的黄酮进行鉴别。

### 2.4 颜色反应<sup>[8]</sup>

按 1.2.3 的方法对田七 75%的乙醇提取液进行定性鉴别的结果如表 2 所示。

表 2 75%乙醇提取液中黄酮的颜色反应

试剂	浓硫酸	盐酸-镁粉	盐酸	柠檬酸	NaOH 溶液
现象	橙→紫红	红	无反应	无反应	深黄

从表 2 可以看出,浓硫酸反应颜色由橙色变为紫红,说明提取液中含有双氢黄酮;盐酸-镁粉反应颜色呈红色,这是双氢黄酮的特征反应,因此,进一步证明提取液含有双氢黄酮;NaOH 溶液反应呈深黄色,说明提取液中含有黄酮醇;盐酸加到提取液中无反应,

说明提取液中不含有查尔酮或花青素;加柠檬酸无反应,说明提取液中含有双氢黄酮或异黄酮。综合以上反应可以看出,田七中含有的黄酮类物质主要是双氢黄酮。

通过对田七 75%的乙醇提取液中黄酮含量的测定和黄酮种类的鉴别,为从田七中分离纯化双氢黄酮等打下了基础。

## 3 结论

通过上述实验研究,表明 75%乙醇是浸提田七中黄酮类化合物的较理想溶剂。以芦丁为标准品测得该提取液中的总黄酮含量为 0.015 mg/mL。在此基础上,通过颜色反应,确定田七 75%乙醇提取液中黄酮的种类主要为:双氢黄酮。为后续对田七中黄酮类物质的研究和开发提供依据。

## 参考文献

(上接第 71 页)

不同。在切碎样品中,其主要物质绝大部分为含硫有机化合物,而对于经过打浆处理过的样品,醛类、含硫有机化合物、酮类都占据了一定比例,对大葱风味都有一定贡献。在物质种类上,切碎样品所检测到的物质明显多于打浆制成的样品,并且在打浆样品中所测物质大部分均能在切碎样品中被发现。两种方法所测物质种类和数量不同,可能与某些物质经打浆处理后被破坏有关,也可能因为部分挥发性成分溶解在水中,因此未能检测出来。

## 参考文献

- [1] 张松,张启沛,魏佑营等.葱可溶性固形物、干物质、可溶性糖和香辛油分析[J].山东农业大学学报,1997,28(4):477-482
- [2] 黄雪松.大葱挥发油含量与化学成分的分析[J].食品与发酵工业,2004(10): 114-117.

- [1] 宋立人,洪恂,丁绪亮等主编.现代中药学大辞典(上册)[M].北京:人民卫生出版社,2001: 188-189
- [2] 徐任生主编.天然产物化学(第二版)[M].北京:科学出版社,2004: 526
- [3] 郭海忱,崔兰,朱前翔等.用GC/MS测定大葱挥发油中的化学成分[J].质谱学报,1996,17(2): 63-66.
- [4] 郭海忱,崔兰,周秀清等.用GC/MS分析几种葱属植物挥发油中的有机硫化物[J].分析测试学报,1992(5): 68-70.
- [5] 何洪巨等. GC-MS 法测定大葱、细香葱、小葱中的挥发性物质[J].分析测试学报,2004(9): 98-101
- [6] Kuo M C, Ho C T. Volatile Constituents of the distilled oils of welsh onions (*Allium Fistulosum* L. Variety Maichuon) and Scallions(*A. Fistulosum* L. Variety Caespitosum)[J], *J Agric Food Chem*, 1992(40): 111-117
- [7] Block E, et al. Allium chemistry: HPLC analysis of thiosulfates from onion, garlic, wild garlic (ramsomes), leek, scallion, shallot, elephant (great-headed) garlic, chive, and Chinese chive. uniquely high allyl to methyl ratios in some garlic samples[J]. *J Agric Food Chem*, 1992(40):2413-2430.
- [8] 新合成食用香料手册[M].化学工业出版社,2005,85-221