

2.4 精密度试验:取供试品溶液按上述条件连续进样 5 次,橙皮苷峰面积 RSD 为 1.2%。

2.5 稳定性试验:取供试品溶液按上述条件分别在 0, 1, 2, 3, 4, 5 h 进样,橙皮苷峰面积 RSD 为 1.4%,结果表明供试品溶液在 5 h 内稳定。

2.6 空白干扰试验:取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照液(按处方工艺制成的不含陈皮的样品供试液)按上述条件测定,结果表明供试品溶液与对照品溶液具有相同保留时间的色谱峰,阴性对照液在此位置处无色谱峰。见图 1。

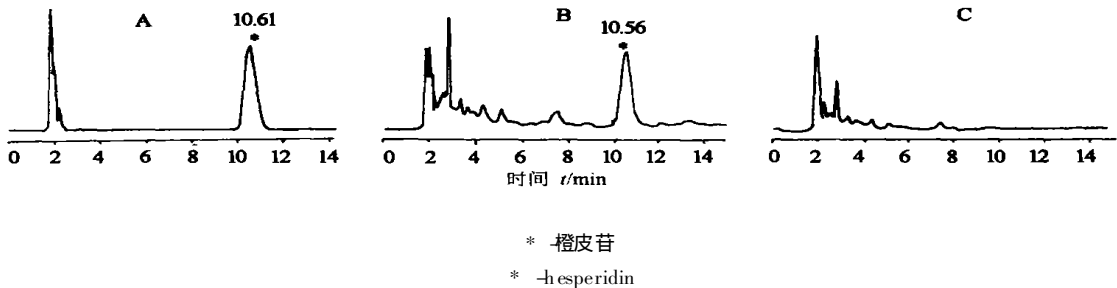


图 1 橙皮苷对照品 (A)、金宝片供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of hesperidin (A), Jinbao Tablet sample (B) and negative sample (C)

2.7 重现性试验:取同一批号样品,测定 5 次,橙皮苷含量为 0.278 mg/g, RSD 为 1.3%,结果表明本方法重现性良好。

2.8 回收率试验:精密称取含量为 0.278 mg/g 的样品约 1.5 g,精密加入 0.100 3 mg/mL 的橙皮苷对照品溶液 5 mL,蒸干,加水 10 mL,按“样品测定”项下方法操作,结果平均回收率为 96.71%, RSD 为 0.66% (n= 5)。

2.9 样品测定:共测定了 3 批样品,每批取样 2 份,测定结果见表 1。

表 1 金宝片中橙皮苷的含量测定结果

Table 1 Content of hesperidin in Jinbao Tablet (n= 2)

批 号	橙皮苷含量 / (mg · 片 ⁻¹)
990301	0.089
990302	0.090
990303	0.088

3 讨论

本制剂由 10 味中药组成,干扰成分较多,为了使橙皮苷与其他成分达到有效分离,提取时采用乙醚前处理,除去一部分脂溶性杂质,然后根据橙皮苷的性质,采用中等极性溶剂醋酸乙酯提取。

朝鲜淫羊藿多糖的含量测定

陈鸿英¹,朱永智¹,吴乃居¹,孙 燕²

(1. 天津市医药科学研究所,天津 300070; 2. 中国医学科学院 中国协和医科大学肿瘤研究所肿瘤医院,北京 100021)

淫羊藿为小檗科植物朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai 的干燥地上部分。可补肾壮阳,祛风湿,并有镇咳、祛痰、平喘、抑菌等作用^[1]。药理实验显示淫羊藿多糖具有明显的促免疫作用,是一种很有发展前途的生物调节剂。本实验采用苯酚-硫酸法、蒽酮-硫酸法对淫羊藿多糖进行含量测定。

1 试剂与仪器

淫羊藿药材由本所植物室张永升研究员鉴定为朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai 的干燥地上部分;透析袋(华美生物工程公司),其余试剂均为分析纯。

岛津 UV-260 型紫外分光光度计。

2 实验部分

2.1 多糖的分离与纯化:取淫羊藿药材 1 kg,加水,加热提取 3 次,滤过,合并提取液,浓缩成浸膏。加入 95% 乙醇,使含醇量达 70%,搅匀,放置 12 h,滤过得沉淀。将沉淀溶于蒸馏水中,搅匀,放置 4 h,滤过,滤液浓缩,加入 95% 乙醇,再重复一次,得沉淀,将其溶于蒸馏水中,搅匀,放置 4 h,滤过,滤液减压浓缩,再向滤液中加入 95% 乙醇,使含醇量达 85%,搅匀,放置 12 h,抽滤得沉淀,即得总多糖。取

总多糖经 Sevag 法除蛋白多次 然后水层逆向流水透析 24 h,透析袋内液体浓缩,加入 95% 乙醇使之沉淀,取沉淀溶于蒸馏水中,转入透析袋,再将透析袋浸入蒸馏水中透析 36 h,透析袋内液体浓缩,冷冻干燥,得浅棕色淫羊藿多糖粉末

2.2 苯酚-硫酸法^[2]

2.2.1 苯酚试剂的制备:取苯酚 200 g,加铝片 0.2 g 和碳酸氢钠 0.1 g,蒸馏,收集 182℃ 馏份。称取 10 g,加水 150 g 混匀,使溶解,即得。置棕色瓶中,放冰箱中备用

2.2.2 标准曲线的制备:精密称取 105℃ 干燥至恒重的葡萄糖对照品 100.12 mg,置 100 mL 量瓶中,加水适量使溶解,稀释至刻度,摇匀。精密吸取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL 对照品溶液,分别置 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密量取上述各浓度溶液 2 mL,各加入苯酚试液 1.0 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 5.0 mL,迅速摇匀,放置 5 min,置沸水浴中加热 15 min,取出,冷水迅速冷却至室温;精密量取蒸馏水 1 mL,同样操作,作空白对照,按分光光度法在 490 nm 波长处测定吸光度。经计算得出回归方程 $A = 0.0074X + 0.0034$, $r = 0.9998$,线性范围:0.01~0.07 mg/mL

2.2.3 精密度试验:同一样品溶液,重复测定吸光度 5 次, RSD 为 0.81%。

2.2.4 稳定性试验:取同一样品溶液,按样品测定方法操作,每隔 0.5 h 测定 1 次吸光度。结果 4 h 内测定值不变

2.2.5 加样回收率试验:精密吸取样品液 0.5 mL (5 份),分别精密加入浓度不同的葡萄糖对照品溶液 0.5 mL,按样品测定方法测定吸光度,回收率平均值为 97.89%, RSD 为 1.64% ($n = 3$)。

2.2.6 样品的测定:精密称取样品 100 mg,加水溶解,定容至 100 mL 量瓶中,摇匀。精密量取 1 mL,置 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密量取上述溶液 2 mL,按标准曲线项下操作,以蒸馏水为空白对照,测定吸光度。经计算淫羊藿多糖的平均含量为 31.11%, RSD 为 1.21% ($n = 3$)。

2.3 蒽酮-硫酸法^[2]

2.3.1 蒽酮试剂的配制:称取 0.2 g 蒽酮溶解于 100 mL 硫酸中,新鲜配置使用。

2.3.2 标准曲线制备:精密称取 105℃ 干燥至恒重的葡萄糖对照品 50.01 mg,置 100 mL 量瓶中,加水适量使溶解,稀释至刻度,摇匀。精密吸取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL,分别置 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀。精密量取上述溶液 1 mL,再加入 4 mL 蒽酮试剂,迅速置于冰水浴中冷却,各管加完后一起浸于沸水浴中,自水浴重新煮沸起 10 min 后取出,自来水冷却,室温放 10 min,以同样处理的蒸馏水为空白,于 620 nm 处比色,计算回归方程为 $Y = 14.2061X - 0.5111$, $r = 0.9999$

2.3.3 精密度试验:同一样品液,重复测定吸光度 5 次, RSD 为 0.77%。

2.3.4 稳定性试验:取同一样品溶液,按样品测定方法操作,每隔 0.5 h 测定 1 次吸光度。结果表明 4 h 内测定值不变。

2.3.5 加样回收率试验:精密吸取样品液 0.5 mL (5 份),分别精密加入浓度不同的葡萄糖对照品溶液 0.5 mL,按样品测定方法测定吸光度,计算得回收率为 96.30%, RSD 为 1.37% ($n = 3$)。

2.3.6 样品的测定:取 100 mg 样品置 100 mL 量瓶中,加水定容。精密吸取 1 mL,置 50 mL 量瓶中,加水定容。精密量取上述溶液 1 mL,其余操作同上,测定吸光度。经计算淫羊藿多糖的平均含量为 25.06%, RSD 为 1.48% ($n = 3$)。

3 讨论

本实验结果表明苯酚-硫酸法、蒽酮-硫酸法测定淫羊藿多糖的含量分别为 31.11% 和 25.06%,两种测定方法结果相差较大,可能是因为淫羊藿多糖为杂多糖,而本实验均以葡萄糖为对照测定,测定值与真值有一定差距。有实验表明^[3],对杂多糖而言,应按其单糖比配制对照品溶液来进行测定,得到的结果较稳定。故本实验含量测定方法有待进一步研究。

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] Zhang W J. *Biochemical Study Technology of Complex Polysaccharides* (复合多糖生化研究技术) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1987.
- [3] Lin Y, Wu M, Wu W, et al. Study on the correctness of the methods for the determination of natural products [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物与研究), 1996, 8(3): 5-9.