

三氯化铝络合分光光度法测定淫羊藿中总黄酮含量

赵大洲^{1,2}, 徐本明¹, 刘珂^{1*}

(1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264003)

淫羊藿为 2000 年版《中华人民共和国药典》收载品种, 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功能。淫羊藿总黄酮 (TFE) 是其主要活性成分, 目前常以 TFE 含量高低作为判断淫羊藿质量优劣和提取分离工艺的指标。TFE 的含量测定方法采用紫外分光光度法, 以淫羊藿苷为对照品, 在 270 nm 测定^[1,2]。笔者认为上述测定方法存在一些问题, 即样品是否存在 270 nm 有吸收的非黄酮成分? 通过对以上问题的研究, 建立了 TFE 的含量测定方法: 样品经提取、三氯化铝络合后, 采用分光光度法, 在 413 nm 处, 以淫羊藿苷为对照品测定含量。

1 材料与仪器

UV—2401PC 型紫外分光光度计 (日本岛津公司); 淫羊藿苷对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号为 0737—9910; 淫羊藿药材购自安国民生药材行, 经刘珂教授鉴定为淫羊藿 *Epimedium brevicornum Maxim.*。试验所用其他试剂均为分析纯。

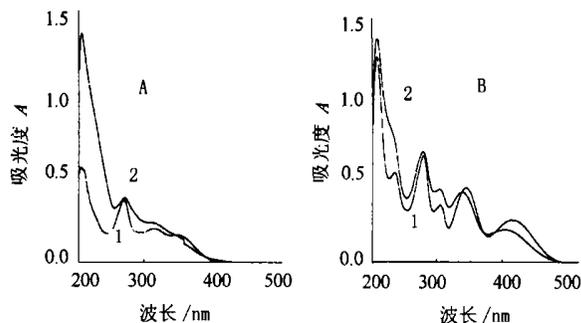
2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 精密称取淫羊藿苷对照品适量, 加甲醇制成 0.1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.2 供试品溶液的制备: 取干燥的淫羊藿叶粉末 (过 40 目筛) 约 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 1 h, 再称定质量, 用稀乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 显色剂对紫外吸收光谱的影响: 精密量取淫羊藿苷对照品溶液和供试品溶液各 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 用甲醇作空白液, 按分光光度法, 在 200~500 nm 范围内进行扫描, 记录紫外吸收光谱, 见图 1。精密量取淫羊藿苷对照品和供试品溶液各 3.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 1% AlCl₃ (甲醇) 1.0 mL, 摇匀, 室温放置 15 min, 同法制得空白液, 按分光光度法, 在 200~500 nm 范围内进行扫描, 记录紫外吸收光谱, 见图 2。

根据测定结果可看出, 通过显色后再采用紫外分光光度法, 在 413 nm 处测定, 可以避免杂质的干扰, 测定结果更合理。



1-icariin 2-sample

1-淫羊藿苷对照品溶液 2-供试品溶液

图 1 络合前(A)和络合后(B)的紫外吸收光谱

Fig 1 UV spectra before complexing (A) and after complexing (B)

2.4 最大吸收波长及显色剂用量的确定: 精密量取淫羊藿苷对照品溶液 3.0 mL 6 份和供试品溶液 3.0 mL 6 份, 分别置 10 mL 量瓶中, 各精密加入 1% AlCl₃ (甲醇) 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL, 分别用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 室温放置 15 min。同法制得 6 份空白, 按分光光度法, 在 200~500 nm 波长范围内进行扫描, 结果表明: 1) 1% AlCl₃ (甲醇) 的用量在 0.2~4.0 mL 范围内不影响测定结果; 2) 在 413 nm 处未经显色时几乎无吸收, 显色后有吸收峰。为更好地避开干扰, 故选择在 413 nm 处测定, 显色剂用量定为 1% AlCl₃ (甲醇) 1.0 mL。

2.5 显色稳定性考察: 淫羊藿苷对照品溶液和供试品溶液显色后, 放置不同时间测定吸光度。结果表明, 淫羊藿苷对照品溶液和供试品溶液显色后 15~120 min 内显色稳定, 吸光度变化不大。

2.6 线性关系考察: 精密量取淫羊藿苷对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 精密加入 1% AlCl₃ (甲醇) 1.0 mL, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 放置 15 min。同法制得空白液, 按分

* 收稿日期: 2003-04-19

作者简介: 赵大洲(1971—), 男, 湖北天门人, 执业药师, 中国海洋大学药化专业在职研究生, 主要从事天然药物研究。
Tel: (0535) 6717618 Fax: (0535) 6717718 E-mail: dazhou@luye-pharm.com

光光度法, 在 413 nm 波长处测定吸光度, 以淫羊藿苷对照品浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 0.0144X - 0.0009$ 相关系数: $r = 0.9999$, 结果表明, 淫羊藿苷对照品在 10.04~80.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好。

2.7 精密度考察: 取供试品溶液 3.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 对同一供试品溶液连续测定 5 次, $RSD = 0.37\%$, 结果表明该方法精密度良好。

2.8 回收率试验: 取淫羊藿样品 5 份, 每份约 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 分别精密加入淫羊藿苷对照品约 15 mg, 按供试品溶液制备方法制备供试品溶液, 取供试品溶液 3.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 测定含量, 计算得平均回收率为 99.94%, $RSD = 1.42\%$ 。

2.9 重现性试验: 取同一批淫羊藿样品 5 份, 分别按供试品溶液制备项下的方法制备供试品溶液, 测

定含量, 结果分别为 7.58%, 7.43%, 7.62%, 7.56% 和 7.66%, $RSD = 1.74\%$ 。

2.10 两种方法测量的结果比较: 将 2.9 中的 5 份供试品溶液按《中华人民共和国药典》方法测量, 结果分别为 10.14%, 9.97%, 10.03%, 10.11% 和 10.07%, 平均值为 10.06%。2.9 项下测量结果的平均值为 7.57%。

3 结论

通过比较淫羊藿苷、淫羊藿提取液经 1% AlCl_3 (甲醇) 试液显色前后的紫外吸收光谱, 认为淫羊藿提取液经 1% AlCl_3 (甲醇) 试液显色后, 采用分光光度法, 以淫羊藿苷为对照品, 在 413 nm 处测定药材中 TFE 含量更合理。

References

- [1] Ma H P, Jia Z P, Xie J W, et al. Studies on extraction and separation of total flavonoid of *Herba Epimedium* [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2002, 17(1): 1-3.
- [2] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol. I.

新疆党参总黄酮和多糖的含量测定

李艳¹, 兰卫², 孙萍¹, 刘霞³, 谢建新^{3*}

(1. 石河子大学师范学院, 新疆 石河子 832003; 2. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832003; 3. 石河子大学医学院, 新疆 石河子 832003)

新疆党参 *Codonopsis clematidea* (Schrenk) C. B. Clarke 为桔梗科党参属多年生草本植物, 药用根, 其性甘、平, 补脾胃、益气血、生津止渴, 是重要传统补益药, 民间用于治疗功能性子宫出血、体虚无力、胃下垂、风湿性心脏病等^[1]。据报道, 新疆党参含 12 种生命必需微量元素; 含 37 种挥发油^[2], 含糖类、皂苷、生物碱等^[1]。新疆党参在新疆均有分布, 且储量丰富, 但并未得到充分开发利用。本实验首次运用超声技术^[3]从新疆党参中连续提取总黄酮、多糖并测定其含量^[4,5], 为正确评价新疆党参质量提供依据。

1 仪器、试剂及样品

1.1 仪器: 岛津 UV-2401PC 紫外可见分光光度计, DL-360 超声波仪 (35 kHz, 浙江象山县石浦海天电子仪器厂), TG328B 分析天平, DZKW-C 电子恒温水浴 (北京光明医疗仪器厂), R-201 旋转蒸发器 (上海申胜生物技术有限公司), 索氏提取器。

1.2 材料与试剂: 新疆党参: 采自新疆天山, 经石河

子大学药学院生药教研室成玉怀副教授鉴定为新疆党参 *C. clematidea* (Schrenk) C. B. Clarke。秋季挖取, 洗净, 阴干, 粉碎后过 65 目筛, 细粉于烘箱中 60℃ 干燥 4 h 待用。芦丁对照品购自中国药品生物制品检定所。其余试剂均为分析纯。

2 新疆党参中总黄酮、多糖含量测定

2.1 供试品溶液制备: 精密称取党参粉约 2 g, 置索氏提取器中, 用石油醚 (60~90℃) 水浴回流脱脂 2 次 (每次 2 h)。残渣挥干溶剂后, 置锥形瓶中, 加 85% 乙醇 50 mL 浸泡 12 h, 超声提取 2 次, 每次 30 min。滤过, 另用少量 85% 乙醇多次洗涤滤渣, 并入提取液, 并转入 100 mL 量瓶中, 用 85% 乙醇定容, 即得测总黄酮的新疆党参供试品液 I。

将提尽黄酮后的党参残渣置 100 mL 锥形瓶中, 加 80% 乙醇 50 mL 超声提取 20 min, 以除去单糖及一些苷类。残渣挥干乙醇后, 加水 50 mL 超声提取 30 min 后滤过, 再加水 50 mL 重复超声提取 1