

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  $\mu\text{g/mL}$  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%  $\text{AlCl}_3$  (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%  $\text{AlCl}_3$  (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<sup>1</sup>, 兰卫<sup>2</sup>, 孙萍<sup>1</sup>, 刘霞<sup>3</sup>, 谢建新<sup>3\*</sup>

(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<sup>[1]</sup>。据报道, 新疆党参含 12 种生命必需微量元素; 含 37 种挥发油<sup>[2]</sup>, 含糖类、皂苷、生物碱等<sup>[1]</sup>。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<sup>[3]</sup>从新疆党参中连续提取总黄酮、多糖并测定其含量<sup>[4,5]</sup>, 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

次,合并两次提取液,然后定容于 250 mL 量瓶中,即为测多糖的新疆党参供试品液 II。

## 2.2 总黄酮含量测定

2.2.1 标准曲线的制备:精密称取 120 干燥恒重的芦丁对照品 10 mg,加 85% 乙醇溶解,定容至 50 mL 量瓶中,摇匀,制成 0.2 mg/mL 的对照品溶液。分别取该溶液 0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加 5% 亚硝酸钠 0.4 mL,放置 6 min 后,加 10% 硝酸铝 0.4 mL,放置 6 min,再加 4% 氢氧化钠 4 mL,加水至刻度,摇匀,放置 15 min,进行全波长扫描,在 510 nm 处均有最大吸收。以 510 nm 处吸光度值为横坐标,以样品浓度为纵坐标计算得直线方程  $C = 79.23A - 0.459$ ,  $r = 0.998$ 。在 40~800  $\mu\text{g/mL}$  有良好的线性关系。

2.2.2 精密度试验:精密吸取对照品溶液 1.0 mL (6 份),按 2.2.1 项的方法测定,  $RSD = 2.1\%$ 。

2.2.3 稳定性试验:取同一供试品液在 6, 12, 24, 36, 48 h 不同时间测定吸光度值。结果表明,  $RSD = 1.89\%$  ( $n = 5$ ),吸光度值在 48 h 内基本保持不变。

2.2.4 重现性试验:取样品 5 份,依样品含量测定步骤重复测定,  $RSD = 1.0\%$ 。

2.2.5 回收率试验:取已知总黄酮含量的供试品溶液 0.5 mL 于 10 mL 量瓶中,再加入 0.2 mg/mL 的对照品溶液 0.5 mL,依法测定,平均回收率为 99.03%,  $RSD = 1.11\%$  ( $n = 6$ )。

2.2.6 样品含量测定:精密吸取供试品液 I 1.0 mL,置 10 mL 量瓶中,按 2.2.1 项的方法显色测定。通过标准曲线,计算出样品总黄酮的含量,见表 1。

## 2.3 多糖含量测定

2.3.1 标准曲线制备:精确称取干燥恒重的葡萄糖 25.2 mg,加适量水溶解,转移至 250 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,配成 100.8  $\mu\text{g/mL}$  葡萄糖溶液。精确量取葡萄糖溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL 置干燥试管中,分别加水使成 1.0 mL,再分别加入 5% 苯酚溶液 1.6 mL,摇匀,然后加浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  7.0 mL,充分摇匀,室温放置 25 min,同时做一空白。进行全波长扫描,在 490 nm 处均有最大吸收。以 490 nm 处吸光度为纵坐标,以样品浓度为横坐标绘制标准曲线,回归方程  $A = 0.05654C + 5.47 \times 10^{-4}$ ,  $r = 0.9998$ 。在 10~70  $\mu\text{g/mL}$  有良好的线性关系。

2.3.2 精密度试验:精密吸取对照品溶液 0.5 mL (6 份),按 2.3.1 项的方法测定吸光度值,求得  $RSD = 0.89\%$  ( $n = 6$ )。

2.3.3 稳定性试验:取同一供试品溶液在 6, 12,

24, 36, 48 min 不同时间测定吸光度值。结果表明,  $RSD = 2.03\%$  ( $n = 5$ ),吸光度值在 48 min 内基本保持不变。

2.3.4 回收率试验:精密称取党参样粉 0.15 g,加入精制葡萄糖 5 mg,按供试品液制备和葡萄糖含量测定方法操作,测得葡萄糖平均回收率为 98.78%,  $RSD = 0.83\%$  ( $n = 6$ )。

2.3.5 重现性和样品含量测定:精密吸取供试品液 II 1 mL,定量稀释 10 倍后,再精密吸取稀释液 1 mL,按 2.3.1 项方法测吸光度值,按下式计算多糖含量:多糖含量% =  $CDf/W \times 100$ 。式中:  $C$  为样品溶液的葡萄糖的浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ),  $D$  为样品溶液稀释倍数,  $f$  为换算因素,  $W$  为样品质量 ( $\mu\text{g}$ )。求得多糖平均含量为 54.352%,  $RSD = 1.05\%$  ( $n = 5$ ),见表 1。

表 1 新疆党参中总黄酮及多糖的含量 ( $n = 5$ )

Table 1 Determination of flavone and polysaccharide in samples ( $n = 5$ )		
检测项目	含量/%	RSD/%
总黄酮	0.220	1.642
多糖	54.352	1.051

## 3 讨论

从提取方法和测定结果来看,超声技术应用于植物细胞破壁,有效地提高了收率。多糖含量由传统方法的 50.01% 提高到 54.35%。曾经采用微波技术从新疆党参中提取多糖,多糖提取率不如超声法。提取时间比传统方法可缩短 4 倍,节省原料,操作步骤简便。提取全过程无须加热,避免了多糖和黄酮的分解。超声波破碎过程是一个物理过程,浸提过程中无化学反应,被浸提的生物活性物质在一定时间内保持不变,该法对于某些热敏成分的提取最为合适。因此,采用超声法提取黄酮和多糖,可避免因结构改变而使后续的结构分析及药理活性研究产生错误结论。所用仪器简单,操作方便,且自动化程度高,便于大规模工业生产。以超声提取黄酮和多糖的最优化条件及其结构组成和药理活性有待进一步研究。

## References

- [1] Editorial Committee of Chinese Herbal Medicine of Xinjiang *The Chinese's Herbal Medicine of Xinjiang* [M]. Urumqi: Xinjiang Peoples Publishing House, 1976.
- [2] Chen M, Li X J, Jiang L, et al. Study on the essential oil of *Codonopsis clematidea* (Schrenk) Clarke [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(4): 254.
- [3] Zhao B, Wang Y C, Ou Y F, et al. Ultrasonic technique applied in extraction of plant [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 3(9): S-iii.
- [4] Ren A N, Ju J M. Content determination of flavone in different parts of *Chrysanthemum indicum* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(8): 589.
- [5] Zhou J, Li Y, Xue M, et al. The extraction and determination polysaccharide of *Calyx et Fructus physalis* [J]. *J Math Med* (数理医药学杂志), 2000, 13(3): 242.