

nm),得到紫外光谱中的特征峰 $\lambda_{\max}=292\text{ nm}$ 。

2.4 标准曲线的绘制:分别准确量取 0、2、4、6、8、10 mL 对照品溶液于 50 mL 量瓶中,以 95%乙醇补充至 10 mL,补加 0.2% NaOH 溶液至刻度,置 50℃水浴中反应 30 min,流水冷却至室温。 $\lambda=292\text{ nm}$ 处测吸光度值,得到青蒿素的质量浓度对吸光度值的直线回归方程为: $Y=0.8427X+0.0016$, $r=0.9998$ ($n=5$),青蒿素在 0~0.02 mg/mL 与吸光度具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:取一定浓度标准溶液连续测定其 292 nm 处吸光度值 5 次,其 $RSD=0.35\%$,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验:取样品测定项下的溶液,在 292 nm 波长处依前法测定,经 0.5、1、2、3 h 测定,对照品及供试品的吸光度值 RSD 分别为 1.10% 和 0.96%,表明对照品和供试品溶液在 3 h 内稳定。

2.7 重现性试验:精密称取同批样品 5 份,按测定方法进行测定,平均质量分数为 5.084%, RSD 为 1.8%,表明重现性良好。

2.8 回收率试验:精密称取已知量的样品 1.031 0

g,准确加入青蒿素对照品 7.1 mg,依前述提取方法提取并测定样品吸光度值,得到青蒿素回收率 0.986 9%, $RSD=1.34\%$ ($n=5$)。

2.9 样品测定:取 5 批待测样品,分别依上述方法处理,得到天津地区黄花蒿中青蒿素平均质量分数为 5.037 7 mg/g。

3 讨论

3.1 验证青蒿素测定方法,结果表明用紫外分光光度法测定青蒿素,方法简便,易操作,但 NaOH 溶液的质量浓度应控制在 $(0.2\pm0.02)\%$,否则 292 nm 处的吸光度值降低,测定结果不准确。

3.2 采用紫外分光光度法,测得天津地区黄花蒿中青蒿素平均质量分数 5.037 7 mg/g,由此可认定天津地区的黄花蒿资源具有开发利用的前景。

References:

- [1] Wang Z D, Sun F H. The Progress of studies on physical, chemical characters and determination of artemisinin [J]. *Acta Agric Univ Jiangxi* (江西农业大学学报), 1999, 21 (4): 606-611.
- [2] Zhong G Y, Zhou H K, Ling Y, *et al.* Investigation on ecological environment and quantitative analysis of artemisinin of sweet wormwood (*Artemisia annua*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(4): 264-267.

欧亚旋覆花中总黄酮的测定

耿红梅,张婧群*,王云志,王伟

(河北医科大学 新药开发研究室,河北 石家庄 050017)

欧亚旋覆花为菊科植物欧亚旋覆花 *Inula britannica* L. 的干燥头状花序,是一种传统的中草药,具有降气、消痰、行水、止咳的功效,收载于《中国药典》2005 年版^[1],但无定量测定项。目前报道的欧亚旋覆花的化学成分主要有黄酮类^[2,3]、倍半萜内酯和萜类化合物^[4],黄酮类化合物是一类生物活性较强的化合物,据报道欧亚旋覆花的抗氧化活性与其含有的黄酮有关^[5]。但有关欧亚旋覆花总黄酮的量测定未见报道。本实验对欧亚旋覆花总黄酮进行了测定,旨在为欧亚旋覆花的研究提供理论依据,也可用于欧亚旋覆花的质量控制。

1 仪器与试剂

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京

普析通用仪器有限责任公司);电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表公司);BS210S 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);芦丁对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 0080-9504),其他试剂均为分析纯。

欧亚旋覆花采购于山西运城、河北安国、江苏、河南、甘肃、内蒙、新疆等地,经河北医科大学药学院生药教研室聂凤提教授鉴定为菊科植物欧亚旋覆花。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备:取 120℃减压干燥至恒重的芦丁对照品约 10 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 95%乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 25 mL,置 50 mL 量瓶中,加 95%乙醇至刻度,摇

收稿日期:2005-05-30

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(编号:303470)

作者简介:耿红梅(1968—),副主任药师,在读博士,从事新药研究与开发。

*通讯作者 张婧群 Tel:(0311)6266335 Fax:(0311)6052053 E-mail:xykf@hebm.u.edu.cn

匀,即得(含芦丁 0.103 mg/mL)。

2.2 供试品溶液的制备:取欧亚旋覆花 25 g,粉碎成细粉。取细粉约 0.25 g,精密称定,置 100 mL 圆底烧瓶中,加蒸馏水 50 mL,回流 2 h,滤过,用蒸馏水洗涤并定容至 100 mL 量瓶中,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 测定波长的选择:分别取供试品溶液和对照品溶液各 2 mL,按 2.4 项下依法操作,在分光光度计上于 400~800 nm 扫描,结果对照品溶液与供试品溶液在 510 nm 处均有最大吸收,且试剂空白和不加显色剂的样品溶液在 510 nm 处均无吸收,故确定 510 nm 为检测波长。

2.4 线性关系考察:精密量取对照品溶液 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,置 10 mL 量瓶中,分别加水至 5 mL,各精密加 5% NaNO_2 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.3 mL,摇匀,放置 6 min;加 10% NaOH 溶液 4.0 mL,再加水至刻度,摇匀,放置 15 min。按分光光度法(《中国药典》2005 年版一部附录),以对照品溶液中 0.0 mL 的溶液做空白,在 510 nm 波长处测定吸光度,以溶液质量浓度为横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为: $Y = 12.1845 X - 0.0003$, $r = 0.9999$,芦丁在 10.3~51.5 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.5 精密度试验:取一定质量浓度的供试品溶液,按 2.4 项显色,连续测定 5 次,其吸光度的 RSD 为 0.4%,表明仪器精密度高。

2.6 稳定性试验:取对照品溶液及供试品溶液,按 2.4 项显色,于室温分别放置 0、15、30、45、60 min,测定对照品及供试品溶液吸光度,其 RSD 分别为 0.8%、1.0%。表明对照品及供试品溶液在 1 h 内稳定。

2.7 重现性试验:精密称取同批样品 5 份。按 2.2 项制备供试品溶液,按 2.9 方法测定。供试品的平均质量分数为 8.70%,RSD=1.5%。

2.8 回收率试验:精密称取已知量的欧亚旋覆花 6 份,分别精密加芦丁对照品适量,按 2.9 项下方法测定,平均回收率为 99.1%,RSD=1.5%。

2.9 样品的测定:照 2.2 制备供试品溶液,精密量取供试品溶液 2 mL,置 10 mL 量瓶中,按 2.4 自“加水至 5 mL”起依法操作,以芦丁为对照品溶液,在 510 nm 波长处测定吸光度 A_1 ,另精密量取供试品溶液 2

mL,置 10 mL 量瓶中,加蒸馏水至刻度,摇匀,测定吸光度 A_2 ,两次吸光度的差值即为供试品中总黄酮的吸光度。样品中总黄酮测定结果见表 1。

表 1 样品总黄酮测定结果($n=5$)

Table 1 Determination of total flavonoids in samples ($n=5$)

药材来源	总黄酮/%	RSD/%
山西平陆	7.50	1.8
河北安国	8.70	1.5
江苏	8.79	1.1
河南	7.82	1.3
甘肃	7.92	1.1
内蒙	6.33	1.3
新疆	6.28	1.1

3 讨论

3.1 文献未见有关欧亚旋覆花总黄酮测定的报道,本试验以芦丁为对照品,建立了比色法测定欧亚旋覆花总黄酮量的方法,为欧亚旋覆花质量控制提供依据。

3.2 比较了超声提取、回流提取和索氏提取 3 种不同的提取方法,结果表明:回流提取的方法最好,提取率高,耗时不太长;超声提取法虽然简单省时,但提取率较低,提取不完全;索氏提取法与回流法提取器提取量相近,提取比较完全,但时间太长,因此选定回流法提取。

3.3 比较了回流提取的时间,分别回流 1、2、3 h,结果表明回流 3 h 提取最高,但回流 2 h 和回流 3 h 差别不大,综合考虑最后选择回流 2 h 作为提取条件。

3.4 分别以 95%乙醇、60%乙醇、30%乙醇和水为提取溶剂比较提取效果,结果表明以水为溶剂比醇为溶剂提取效果较佳,提取完全,可能旋覆花中所含的某些黄酮成分为黄酮苷,在水中溶解度较大。

3.5 中草药中的总黄酮成分几乎都带有一个以上羟基,对光和空气中的氧很敏感,稀释液室温久置后(1 h 以上)吸光度下降,因此,供试品液应避免光并及时测定。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Shao Y, Bai N, Zhou B. Kaurane glycosides from *Inula britannica* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(3): 783-786.
- [3] Park E J, Kim Y, Kim J. Acylated flavonol glycosides from the flower of *Inula britannica* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(1): 34-36.
- [4] Zhou B, Bai N, Lin L, et al. Sesquiterpene lactones from *Inula britannica* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(1): 249-252.
- [5] Kim S R, Park M J. Flavonoids of *Inula britannica* protect cultured cortical cells from necrotic cell death induced by glutamate [J]. *Free Rad Biol Med*, 2002, 32(7): 596-604.