技术与方法 文章编号：0253-3626（2011）08-0954-02

紫外分光光度法测定黄芪总黄酮的含量

李春红[1]，田 吉[1]，何 兵[1]，肖顺汉[2]
（1. 泸州医学院药物及功能性食品研究中心；2. 泸州医学院药学院，泸州 646000）

【摘 要】目的：建立黄芪总黄酮的含量测定方法。方法：采用紫外分光光度法测定黄芪总黄酮。结果：总黄酮在 0.025~0.5 mg 范围内具有良好的线性关系（R=0.999 9），回收率为 98.27%，相对标准偏差（Relative standard deviation，RSD）为 0.27%。结论：该方法操作简便、快速、有效、灵敏、准确，具有良好的重复性和回收率，可作为黄芪总黄酮含量的测定方法。

【关键词】黄芪；总黄酮；紫外分光光度法
【中国图书分类法分类号】R917 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-10-20

Determination of total saponins in astragalus membranaceus by ultraviolet spectroscopy

LI Chun-hong[1], TIAN Ji[1], HE Bing[1], XIAO Shun-han[2]
(1. Research Center for Drug and Functional Food of Luzhou Medical College; 2. Pharmaceutical Institute of Luzhou Medical College)

【Abstract】*Objective*: To establish the determination method of total saponins in astragalus membranaceus. *Methods*: The content of total saponins was detected by UV Spectroscopy. *Results*: The calibration curve showed good linearity over the range of 0.025~0.5 mg (R=0.999 9). The average recovery was 98.27% with RSD 0.27%. *Conclusion*: This method is simple, rapid, efficient, sensitive, accurate, reproducibility and specificity, and can be used as a quantitative analysis method for this preparation.

【Key words】astragalus membranaceus; total saponins; UV Spectroscopy

黄芪为豆科植物蒙古黄芪*Astragalus membranaceus*（*Fish.*）*Bge.var.mongholicus*（*Bge.*）*Hsiao* 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus*（*Fisch.*）*Bge.* 的干燥根。味甘性温，具有补气升阳，固表止汗，利水消肿，生津养血，行滞通痹，托毒排脓，敛疮生肌功效[1]，其主要有效成分为黄酮、皂苷、多糖等。黄酮类化合物主要包括毛蕊异黄酮（Calycosin）及其糖苷芒柄花素（Formononetin）和芒柄花苷（Ononion）等[2]。研究证实黄芪中的黄酮类成分具有多种药理活性，具有清除氧自由基、抑制脂质过氧化、增强免疫力、抗病毒以及促进细胞增殖的作用[3,4]。目前对黄芪总黄酮在医药及食品等的应用日渐增多，但对其含量测定的研究并不多，笔者采用紫外分光光度法测定了黄芪总皂苷的含量，拟建立一种准确而简便的测定黄芪中总黄酮含量的方法，为黄芪质量标准的控制奠定基础。

1 仪器、材料与试药

1.1 仪器

瑞士 Precisa 电子天平（XR 205SM-DR）；紫外分光光度计（UV-2100，北京瑞利分析仪器有限公司）；DG-250D 型电热恒温干燥箱（成都红星电烘箱厂）。

1.2 对照品

芦丁对照品（091017，由中国药品生物制品检定所提供）。

1.3 试药

水为重蒸馏水，其它试剂均为分析纯。

1.4 样品

黄芪（批号：090712、090801、091012，购自四川泸州百草堂中药饮片有限公司，产地山西）3 批，经由泸州医学院生药教研室税丕先副教授鉴定为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus*（*Fisch.*）*Bge.Var.mongholicus*（*Bge.*）*Hsiao* 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus*（*Fisch.*）*Bge.* 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取芦丁对照品 5 mg 置于 10 ml 容量瓶中，加 70%乙醇适量，水浴加热溶解，放冷，用 70%乙醇稀释至刻度，摇匀，配制成 0.5 mg/ml 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取黄芪药材粗粉 1 g 于圆底烧瓶中，加 10 倍量 95%乙醇，浸泡过夜，在 75℃水浴锅中浸提 1 h，冷却，过滤，收集滤

作者介绍：李春红（1982-），女，助理研究员，硕士，研究方向：新药及中药质量标准工作。
通信作者：肖顺汉，男，教授，Email：xiaoshunhan@126.com。
基金项目：四川省教育厅重点资助项目（编号：2005A76）。

液，定容于 100 ml 容量瓶中，备用。

2.3 线性关系的考察

精密吸取上述芦丁标准液 0、0.05、0.1、0.2 、0.4 、0.8、1.0 ml于 10 ml 比色管中，加 5%$NaNO_2$ 0.5 ml 溶液，摇匀放置 6 min，加入 10%$Al(NO_3)_3$ 0.5 ml，摇匀放置 6 min，再加 1 mol/L 的 NaOH 4 ml，溶液用 70%乙醇溶液定容，摇匀放置 15 min。在 510 nm 波长处，以第一管溶液作为空白。测得不同浓度下吸光度值，以吸光度值为纵坐标，浓度为横坐标进行回归，绘制标准曲线。标准曲线方程为 Y=2.608 9X+0.290 5，R=0.999 9（n=7 所试）。结果表明芦丁对照品在浓度 0.025~0.5 mg 范围内呈良好的线性关系。

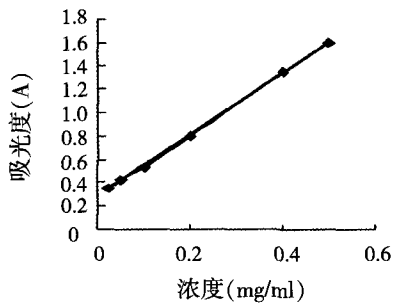


图 1 芦丁的标准曲线图

2.4 精密度实验

取上述供试品溶液，参照上述标准曲线方法，在 510 nm 测定吸光度，连续测定 6 次，RSD 为 0.18%（n=6），见表 1。结果表明本法精密度良好。

2.5 重现性考察

取同一批黄芪药材，按供试品溶液制备方法制得 6 份供试品溶液，分别精密测定吸光度，计算得总黄酮的平均含量为 5.315%，RSD 为 0.72%，结果见表 2。表明本方法重复性良好。

2.6 稳定性实验

取对照品及供试品溶液于室温分别放置 0、5、10、20、30 mim 后，测定吸光度，RSD 分别为为 0.20%和 0.14%，见表 3。结果表明，对照品及供试溶液在 30 min 内稳定。

2.7 回收率实验

精密称取已知黄芪总黄酮含量(5.32%)的供试品溶液 9 份，每份 1 ml，加蒸馏水定容至 2 ml，分成 3 组，每组 3 份，分别精密添加黄芪甲苷对照品(0.5 mg/ml)0.83 ml，1.04 ml，1.25 ml，按 2.1.5 项条件测定，并计算回收率。试验结果表明，本法具有良好的回收率(见表 4)。

2.8 样品含量的测定

取 3 批黄芪药材适量，精密称定，分别按 2.1.2 项和 2.1.4 项条件进行制备与含量测定，计算出黄芪总黄酮的含量，结果见表 5。

3 讨 论

近年来黄酮类化合物在食品上的应用也越来越广泛，如天然色素，甜味剂，抗氧化剂等。为此，我们采用分光光度法对黄芪总黄酮进行了含量测定。

黄酮类化合物(Flavonoids)是以 C6-C3-C6 结构为基本母核的色原烷或色原酮的衍生物，以其广泛的药理作用倍受青睐。而中药材中总黄酮的含量测定成为近年来研究黄酮化合物所关注的焦点。中药总黄酮的含量测定采用的比色法是

表 1 精密度实验测定结果

次数	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	RSD(%)
A	0.453 2	0.452 7	0.453 7	0.452 4	0.452 1	0.454 2	0.453 1	0.18

表 2 重现性实验测定结果

次数	1	2	3	4	5	6	$\bar{x}$	RSD(%)
测得含量(%)	5.37	5.32	6.34	6.26	6.29	5.31	5.315	72

表 3 稳定性实验测定结果

时间(min)	0	2	4	8	16	30	$\bar{x}$	RSD(%)
对照品	0.497 9	0.497 3	0.497 1	0.496 3	0.495 9	0.495 2	0.496 6	0.20
供试品	0.458 5	0.457 7	0.457 3	0.457 1	0.456 5	0.456 1	0.457 2	0.14

表 4 加样回收率试验测定结果(n=9)

测定次数	取样量(ml)	药材含量(mg)	添加对照品量(mg)	测出量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	1	0.26	0.208	0.464 6	98.36		
2	1	0.26	0.208	0.464 8	98.43		
3	1	0.26	0.208	0.465 0	98.29		
4	1	0.26	0.26	0.514 5	97.89		
5	1	0.26	0.26	0.516 6	98.67	98.27	0.27
6	1	0.26	0.26	0.516 2	98.51		
7	1	0.26	0.312	0.566 8	98.33		
8	1	0.26	0.312	0.565 6	97.95		
9	1	0.26	0.312	0.565 8	98.02		

技术与方法 文章编号：0253-3626（2011）08-0956-03

HPLC测定复方维 A 酸脂质体中蒿酮的含量和包封率

杨世艳[1]，何 兵[2]，冯文宇[2]

（1. 泸州医学院附属中医医院超声影像科，泸州 646000；2. 泸州医学院药物研究中心，泸州 646000）

【摘 要】目的：建立复方维 A 酸脂质体中蒿酮的含量和包封率测定的高效液相色谱（High performance liquid chromatography，HPLC）法。方法：色谱柱：迪马 Kromasil C18 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈-水（75:25）；检测波长：242 nm；柱温：30℃；流速：0.8 ml/min；进样量：10 μl。结果：蒿酮在 25.16~251.60 μg/ml 范围内具有良好的线性关系（r=0.999 9），平均回收率为 99.53%，RSD 为 0.72%。结论：该方法简便快速、准确，具有良好的重复性和回收率，可作为该制剂中蒿酮的定量分析方法。

【关键词】高效液相色谱；复方维 A 酸脂质体；蒿酮；含量测定；包封率

【中国图书分类法分类号】R927.2 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-12-28

HPLC determination of the content and entrapment efficiency of artemisia ketone in compound tretinoin liposome

YANG Shi-yan[1], HE Bing[2], FENG Wen-yu[2]

(1. Department of Ultrasonic Image, Hospital (T.C.M.) Affiliated of Luzhou Medical College; 2. Drug Research Center, Luzhou Medical College)

【Abstract】*Objective*: To establish a HPLC method for the content and entrapment efficiency determination of artemisia ketone in compound tretinoin liposome. *Methods*: The separation was carried out on a Dikma Kromasil C18 column (250 mm×4.6mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-water (75:25). The detective wavelength was set at 242 nm. The column temperature was 30℃. The flow rate was 0.8 ml/min and the sample size was 10 μl. *Results*: The calibration curve showed good linearity over the range of 25.16~251.60 μg/ml (r=0.999 9). The average recovery was 99.53% with RSD of 0.72%. *Conclusion*: This method is simple, rapid, accurate and with good repeatability and recovery. It can be used as a quantitative analysis method for this preparation.

【Key words】HPLC; compound tretinoin liposome; artemisia ketone; content determination; entrapment efficiency

作者介绍：杨世艳（1980-），女，住院医师，研究方向：靶向脂质超声微泡。

通信作者：何 兵，男，副研究员，Email：lyhb2008@126.com。

基金项目：四川省教育厅重点项目（编号：08ZA114）；四川省卫生厅科研课题（编号：090190）。

表 5 黄芪总黄酮含量测定结果

批号	总黄酮含量（%）	*RSD*（%）
090712	5.32%	1.22
090805	5.28%	1.17
090911	5.41%	0.31

被《中国药典》所采用的最常见的总黄酮测定方法，其中又以 $NaNO_2$-$Al(NO_3)_3$-NaOH 比色法常用。这种方法以 $NaNO_2$-Al(NO3)3 为显色剂，在碱性条件下，利用其与黄酮物质生成红色铝螯合物为特征，以芦丁为对照，在 510 nm 处测定吸光度，从而得到待测物质总黄酮的含量。

因此本研究采用芦丁作为对照品，采用 $NaNO_2$-$Al(NO_3)_3$-NaOH 比色法做为紫外测定黄芪总黄酮含量的方法。

实验结果表明该法精密度、重现性、稳定性均较好，平均回收率，为进一步开发利用该药用资源提供了依据。

参 考 文 献

[1] 药典委员会.中国药典（一部）.2010 年版[M]北京：化学工业出版社，2010，283.

[2] 姚美村，齐 莹，开 顺，等.黄芪药效物质基础研究[J].中国野生植物资源，2000，19(2)：361.

[3] 汪德清，田亚平，宋淑珍，等.黄芪总黄酮抗突变作用实验研究[J].中国中药杂志，2003，28(12)：1164.

[4] 汪德清，田亚平，宋淑珍，等.黄芪总黄酮生物学活性作用的化学成分基础研究[J].军医进修学院学报，2006，27(1)：13-15.

（责任编辑：张学颖）