

紫外分光光度法测定淫羊藿中总黄酮的含量

王东升, 张世栋, 苗小楼, 董书伟, 严作廷* (中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 农业部兽用药物创制重点实验室, 甘肃省中兽药工程技术研究中心, 甘肃省新兽药工程重点实验室, 甘肃兰州 730050)

摘要 [目的] 中药淫羊藿中总黄酮的含量测定。[方法] 试验采用紫外分光光度法, 以淫羊藿苷为对照品, 以无水甲醇作空白对照, 在 270 nm 波长处测定吸光度, 计算总黄酮含量。[结果] 淫羊藿苷浓度在 1.68 ~ 10.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内与吸光度的线性关系良好, $R = 0.9994$, 总黄酮的平均回收率为 100.36%, RSD 为 1.16%, 淫羊藿中总黄酮的含量为 $(8.09 \pm 0.01)\%$ 。[结论] 采用紫外分光光度法测定淫羊藿总黄酮的含量, 操作快速, 简便, 准确。

关键词 淫羊藿 (HERBA EPIMEDII); 总黄酮; 含量; 紫外分光光度法

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)17-07471-02

Determination on the Content of Total Flavonoids in HERBA EPIMEDII by Ultraviolet Spectrometry

WANG Dong-sheng et al (Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutical Development, Ministry of Agriculture/Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of CAAS/ Engineering & Technology Research Center of Traditional Chinese Veterinary Medicine of Gansu Province/Key Laboratory of New Animal Drug Project of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730050)

Abstract [Objective] To determine the content of total flavonoids in HERBA EPIMEDII. [Method] Icarin was standard preparation and methanol was blank to measure the absorbance of the test solution and the reference solution at 270 nm wavelength with UV spectrophotometry. [Result] The results showed that the linear range for the content of icarini was 1.68 - 10.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$, $R = 0.9994$, the average recovery rate of total flavonoids was 100.36% and RSD was 1.16%, the content of total flavonoids of HERBA EPIMEDII was $(8.09 \pm 0.01)\%$. [Conclusion] These indicated that method of determination of total flavonoids in HERBA EPIMEDII with UV spectrophotometry is rapid, accurate, convenient and practical.

Key words HERBA EPIMEDII; Total flavonoids; Content; UV spectrophotometry

淫羊藿 (HERBA EPIMEDII) 为小檗科植物淫羊藿 (*Epimedium brevicornum* Maxim.)、箭叶淫羊藿 [*Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.]、柔毛淫羊藿 (*Epimedium pubescens* Maxim.)、巫山淫羊藿 (*Epimedium wushanense* T. S. Ying) 或朝鲜淫羊藿 (*Epimedium koreanum* Nakai) 的干燥地上部分, 具有补肾阳、强筋骨和祛风湿的功能^[1]。淫羊藿总黄酮是淫羊藿茎叶中淫羊藿苷和淫羊藿次苷等多种黄酮类成分的总称, 是淫羊藿的主要有效成分, 具有抗心律失常、增强免疫、抗骨质疏松、抗炎、补肾壮阳、抗衰老、抗肿瘤、增强心血管活动、抗心和脑缺血及缺氧等药理作用^[2-3]。淫羊藿总黄酮类化合物的常用含量测定方法主要有高效液相色谱法和紫外分光光度法^[4-7]。笔者以淫羊藿苷为对照品, 采用紫外分光光度法测定淫羊藿中总黄酮的含量, 以期为进一步开发利用提供依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。淫羊藿药材, 购自兰州黄河药材市场, 经鉴定为淫羊藿的干燥地上部分。

1.1.2 主要仪器。UV-BlueStar Plus 紫外-可见分光光度计, 购自北京莱伯泰科仪器有限公司; AUW120D 分析天平, 购自日本岛津公司; LD550 多管架自动平衡离心机, 购自湘仪离心机仪器有限公司; 移液器, 购自德国 Eppendorf 公司; KQ-250 型超声波清洗器, 购自昆山市超声仪器有限公司。

1.1.3 主要试剂。淫羊藿苷对照品, 批号: 110737-200414,

购自中国药品生物制品检定所; 甲醇和乙醇, 均为分析纯, 购自天津市光复精细化工研究所; 纯化水、超纯水, 自制。

1.2 方法

1.2.1 对照品溶液的制备。精密称取 0.42 mg 淫羊藿苷对照品, 置 25 ml 量瓶中, 加无水甲醇至刻度, 即得浓度 16.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 淫羊藿苷的对照品溶液。

1.2.2 供试品溶液的制备。精密称取 0.200 0 g 淫羊藿粉末, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 20 ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 min, 再称定重量, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 精密吸取 0.5 ml, 置 50 ml 量瓶中, 加无水甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

1.2.3 检测波长的选择。吸取淫羊藿苷对照品溶液, 以无水甲醇作空白对照, 在 190 ~ 400 nm 波长范围内进行扫描, 检测最佳测定波长。

1.2.4 方法学考察。(1) 线性关系考察。精密吸取对照品溶液 1、2、3、4、5 和 6 ml, 分别置 10 ml 量瓶中, 加无水甲醇至刻度, 摇匀; 以无水甲醇作空白对照, 在 270 nm 处测定吸光度。以吸光度 Y 对淫羊藿苷浓度 X ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 进行线性回归, 计算线性回归方程。(2) 精密度试验。精密吸取对照品溶液 6 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 加无水甲醇至刻度, 在 270 nm 处测定吸光度, 连续测定 5 次, 计算吸光度的平均值和 RSD 。(3) 稳定性试验。精密称取 0.200 0 g 淫羊藿, 按“供试品溶液的制备”方法制成供试品溶液, 在 270 nm 处测定吸光度, 每隔 1 h 测 1 次, 连测 7 次, 计算吸光度平均值和 RSD 。(4) 重复性试验。精密称取淫羊藿粉末 5 份, 每份 0.200 0 g, 按“供试品溶液的制备”方法制成供试品溶液, 在 270 nm 处测定吸光度, 计算 5 份样品的平均含量和 RSD 。(5) 加样回收率试验。精密吸取 5 份总黄酮含量为 8.085 8% 的淫羊藿 0.100 0 g,

基金项目 “十二五”国家科技支撑计划项目 (2012BAD12B03-1-1)。
作者简介 王东升 (1979 -), 男, 甘肃临洮人, 助理研究员, 硕士, 从事中药药理与奶牛疾病的研究, E-mail: lzmyswds@126.com。
* 通讯作者, 研究员, 博士。

收稿日期 2013-05-22

各加入一定量淫羊藿苷,置具塞锥形瓶中,精密加入 20 ml 稀乙醇,按“供试品溶液的制备”方法制成供试品溶液,在 270 nm 处测定吸光度,计算平均回收率和 RSD。

1.2.5 样品总黄酮含量测定。精密称取淫羊藿 5 份,每份 0.200 0 g,按“供试品溶液的制备”方法制成供试品溶液,以无水甲醇作空白对照,在 270 nm 处测定吸光度,并根据线性回归方程计算样品中总黄酮的含量。

2 结果与分析

2.1 检测波长的选择 试验结果表明,对照品溶液在 270 nm 处有最大吸收峰,故确定最佳检测波长为 270 nm。

2.2 方法学考察 (1)线性关系考察。计算得线性回归方程为 $Y=0.0364X-0.0089$, $R=0.9994$ 。试验结果表明,淫羊藿苷在 1.68 ~ 10.08 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性关系良好。(2)精密密度试验。计算得吸光度的平均值为 0.362 77, RSD 为 0.11%,表明仪器精密密度良好。(3)稳定性试验。计算得吸光度的平均值为 0.285 34, RSD 为 1.63%,表明供试品溶液在 6 h 内稳定。(4)重复性试验。计算得 5 份样品的平均含量为 8.08%, RSD 为 0.41%,表明该方法重复性良好。(5)加样回收率试验。由表 1 可知,平均回收率为 100.36%, RSD 为 1.16%,表明该方法准确,可靠,可用于淫羊藿中总黄酮的含量测定。

表 1 加样回收率试验结果

编号	样品含量	加入量	测得值	回收率	平均回	RSD
	mg	mg	mg	%	收率//%	
1	8.085 8	3.920 0	11.899 7	98.81		
2	8.085 8	3.880 0	11.970 5	100.12		
3	8.085 8	3.990 0	11.986 9	100.29	100.36	1.16
4	8.085 8	4.030 0	12.188 1	100.55		
5	8.085 8	4.110 0	12.280 3	102.06		

2.3 样品总黄酮含量测定 按“供试品溶液的制备”方法制成供试品溶液,计算得样品中总黄酮的含量为 (8.09 ± 0.01)%。

3 结论与讨论

黄酮类成分是淫羊藿的主要活性成分,故常将淫羊藿总黄酮含量作为评价其质量和提取分离工艺的指标^[8]。淫羊藿中因黄酮类化合物本身具有共轭结构或者通过某些化学反应而产生共轭结构,可以用紫外显色来进行检测^[9]。淫羊

藿总黄酮的含量测定方法多采用紫外分光光度法,主要有:以淫羊藿苷为指标性成分,在 270 nm 波长处测定;使黄酮化合物与铝盐络合后,以芦丁为对照品,在 510 nm 波长处测定;先用聚酰胺柱层析以选择性地富集含有酚羟基的黄酮类化合物,再以芦丁为对照品,在 360 nm 波长处测定^[10]。其中以淫羊藿苷为指标性成分测定总黄酮含量的方法操作简便、快速、结果准确,为《中国药典》(2010 版)所载方法^[11]。试验采用淫羊藿苷对照品的无水甲醇溶液在波长 190 ~ 400 nm 之间进行扫描,结果在 270 nm 处检测到有最大吸收峰,因此选择以淫羊藿苷为指标性成分在 270 nm 波长处进行总黄酮的含量测定。淫羊藿总黄酮是从淫羊藿提取的总黄酮成分,淫羊藿苷为主要有效成分^[12]。为此,试验以淫羊藿苷为对照品,采用紫外分光光度法测定淫羊藿中总黄酮的含量。该方法操作简便,实用、可行,线性关系良好,回收率高,准确度和精密密度好。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:306-308.
- [2] 蒋淑君,许兰芝. 淫羊藿总黄酮的药理作用研究进展[J]. 中医药学报,2004,32(4):60-62.
- [3] 许碧连,吴铁,王晖. 淫羊藿总黄酮药理作用的研究现状[J]. 中国临床药理学与治疗学,2003,8(1):115-117.
- [4] 陈永刚,刘晓涵,林励,等. 优选中药淫羊藿总黄酮含量测定方法[J]. 广州中医药大学学报,2009,26(3):274-276,280.
- [5] 张崇禧,张莉,张莹莹,等. 不同采收期、不同海拔朝鲜淫羊藿茎中总黄酮含量测定[J]. 人参研究,2008(1):21-23.
- [6] 陈永刚,刘晓涵,区计明,等. 不同测定方法测定淫羊藿中总黄酮含量的比较[J]. 食品科技,2009,34(5):291-294.
- [7] 赵大洲,徐本明,刘珂. 三氯化铝络合分光光度法测定淫羊藿中总黄酮含量[J]. 中草药,2004,35(2):213-214.
- [8] 陈肖家,张庆文,李晖,等. 紫外分光光度法和高效液相色谱法测定淫羊藿总黄酮含量的比较研究[J]. 药物分析杂志,2007,27(5):625-630.
- [9] 丁一迪. 淫羊藿黄酮的提取分离纯化及活性研究[D]. 长春:吉林大学,2010.
- [10] 黄秀兰,周亚伟,王伟. 淫羊藿黄酮类化合物药理研究进展[J]. 中成药,2005,27(6):719-721.
- [11] 王东升,张世栋,李世宏,等. 淫羊藿总黄酮提取方法的比较研究[J]. 黑龙江畜牧兽医:科技版,2012(7):75-77.
- [12] 王洪锐,杨帆,陈健勇,等. 正交设计试验法优选淫羊藿提取工艺条件[J]. 广东药学院学报,2003,19(1):7-8.
- [13] FAN Z L, QUAN Q M. Advances in Pharmacological Research of HERBA EPIMEDII[J]. Medicinal Plant,2012,3(7):71-74,80.
- [14] 杨红,黄卫平,吴厚勇. 紫外分光光度法测定益寿胶囊中淫羊藿总黄酮的含量[J]. 时珍国医国药,2004(2):84-85.
- [9] 魏燮中,吴兆苏. 小麦植株高度的结构分析[J]. 南京农学院学报,1983(1):14-21.
- [10] 于经川,邵锡珍. 小麦粒叶比与产量及产量性状的遗传相关研究[J]. 莱阳农学院学报,1999,16(3):172-175.
- [11] 赵倩,姜月敏. 小麦矮化对产量及抗倒性的影响[J]. 莱阳农学院学报,1999,16(3):168-171.
- [12] DONALD C M. Competitive plants, communal plants, and yield in wheat [M]//EVANS L T, PEACOCK W J. Wheat Science - Today and Tomorrow. Cambridge: Cambridge University Press, 1981:223-247.
- [13] DONALD C M. The breeding of crop ideotypes[J]. Euphytica, 1968, 17: 385-403.

(上接第 7455 页)

- [4] 傅兆麟,孙其信. 超高产基因型小麦冠层叶片生理特性及与有关产量性状间的关系[J]. 南京农业大学学报,2002(2):16-20.
- [5] 傅兆麟. 小麦学研究理论与实践[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [6] 傅兆麟. 小麦超高产基因型产量因素、株型和冠层结构特征的研究[D]. 北京:中国农业大学,2001.
- [7] 魏燮中,吴兆苏. 小麦株型结构分析与产量育种咨询系统[M]. 南京:东南大学出版社,1995.
- [8] 魏燮中. 小麦株高结构分析法与消光系数分布的基因型间差异[J]. 南京农业大学学报,1987(3):21-28.