

不同部位的骆驼刺中总还原糖与芦丁的含量测定

陈良¹, 陈刚², 徐晓琴^{2*}

(1. 新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830000;

2. 新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 乌鲁木齐 830002)

[摘要] **目的:**建立测定骆驼刺中总还原糖与芦丁含量的方法,并对不同部位的样品含量进行比较。**方法:**以硫酸萘酚法,采用紫外分光光度法测定骆驼刺中总还原糖的含量,以葡萄糖为对照品,检测波长 620 nm;采用高效液相色谱法测定芦丁的含量,色谱柱 Symmetry Shield Rp-18(3.9 mm × 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(19:81),检测波长 360 nm,柱温 30 ℃。**结果:**葡萄糖检测的线性范围 3.85 ~ 70.33 mg·L⁻¹(*r* = 0.995 9),平均加样回收率 99.60%,RSD 1.5%(*n* = 6);芦丁检测的线性范围 4.95 ~ 59.40 mg·L⁻¹(*r* = 0.999 6),平均加样回收率 99.30%,RSD 2.08%。**结论:**不同部位的骆驼刺中芦丁和总还原糖含量有一定差异,其中果实及地上部分中总还原糖和芦丁的含量比较高。该结果可为骆驼刺的种植和采收的研究奠定基础。

[关键词] 骆驼刺; 总还原糖; 芦丁

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)11-0066-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014110066

Dynamic Changes of Rutin and Total Polysaccharides in *Alhagi sparsifolin* from Different Parts

CHEN Liang¹, CHEN Gang², XU Xiao-qin^{2*}

(1. Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China;

2. Xinjiang Institute of Chinese Materia Medica and Ethnodrug, Urumqi 830002, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the methods for determination of total polysaccharides and rutin content in *Alhagi sparsifolin*, and to compare the content of each sample from the different parts. **Method:** With glucose as control, total polysaccharides were measured by UV spectrophotometry at detection wavelength of 620 nm by anthrone sulphuric acid colorimetry. The content of rutin was determined by HPLC. The determination was performed on Symmetry shield Rp₁₈ (3.9 mm × 150 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solvent (19:81) with the detection wavelength at 360 nm and the column temperature at 30 ℃. **Result:** The linear range of total polysaccharides was 3.85-70.33 mg·L⁻¹ (*r* = 0.995 9), and the linear range of rutin was 4.95-59.4 mg·L⁻¹ (*r* = 0.999 6). Total polysaccharides and rutin in *A. sparsifolin* from different parts had certain differences. **Conclusion:** *A. sparsifolin* cultivated in the fruit and in part on the ground harvest in the total polysaccharides and the content of rutin are higher. It will provide foundation for the research for *A. sparsifolin* cultivation and harvest.

[Key words] *Alhagi sparsifolin*; total polysaccharides compound; rutin

骆驼刺是豆科骆驼刺属半木质化多年生草本, 因骆驼爱食且植物具刺而得名;夏季采收地上部分,

[收稿日期] 20130814(009)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技重大专项项目(200733146-1)

[第一作者] 陈良, 硕士生, 主管中药师, 从事中药新药研发, Tel:13579832835, E-mail:zzqzyyyyscl@sina.com

[通讯作者] * 徐晓琴, 硕士生, 助理研究员, 从事中药新药研发, Tel:15199116034, E-mail:xuxiaoqin_20062008@163.com

阴干备用。骆驼刺主要分布于新疆南疆、东疆和甘肃河西走廊^[1-2],是当地重要饲草之一,同时在防风固沙、改良环境中起着重要作用^[3]。此外,在传统的维吾尔医药中,骆驼刺的叶、花、种子、全草及分泌物(刺糖)均可入药^[4-6]。叶可治疗关节肿瘤,花用于清热解毒,全草治疗感冒发烧、胃酸、湿热、肠炎,刺糖治疗体虚头晕、癌症等。李时珍在《本草纲目》中称,骆驼刺具滋补强壮、涩肠止痛的功能,列为上品。已有文献报道^[8-18]对骆驼刺中成分的测定,为了发掘这种植物的潜在功能,笔者建立了硫酸蒽酮法测定骆驼刺中总还原糖含量和高效液相色谱(HPLC)法测定骆驼刺中芦丁含量的方法,并比较了不同部位的骆驼刺中总还原糖和芦丁的含量差异,为骆驼刺的进一步开发研究奠定基础。

1 仪器与试剂

Centra-20型紫外-可见分光光度计(GBC科学仪器上海有限公司),2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司),Direct-QTM5型超纯水仪(美国Millipore公司),AG135型(1/10万)及AL204型(1/万),电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),SK250LHC型超声仪(上海科导超声仪器有限公司)。

芦丁(批号100080-200707)、葡萄糖对照品(批号110833-200302)购自中国食品药品检定研究院,甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。不同产地、不同月份的骆驼刺药材由新疆维吾尔自治区中药民族药研究所2009年提供,新疆维吾尔自治区中医医院李永和主任中药师鉴定为豆科骆驼刺属骆驼刺 *Alhagi sparsifolia* Shap. 半木质化多年生草本的全株。

2 方法与结果

2.1 药材中总还原糖(以葡萄糖计)的测定^[7-12]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取葡萄糖对照品8.40 mg,置25 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每1 mL含葡萄糖0.336 mg的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取产自于新疆吉木萨尔县的骆驼刺粗粉(不过筛)0.5 g,置50 mL锥形瓶中,加水25 mL,浸泡30 min,超声50 min,滤过并以水定容至50 mL量瓶中。吸取1 mL,水稀释并定容至10 mL具塞刻度试管中,将试管置冰浴中,精密加入2%硫酸蒽酮溶液(取蒽酮0.2 g,溶于水5 mL与硫酸95 mL的混合液中,振摇溶解,放冷,临用新配)4 mL,于90 ℃水浴中加热10 min,冷水冷却至

室温,放置30 min,照分光光度法试验,在620 nm波长处测定样品吸光度。

2.1.3 线性关系考察 精密量取对照品溶液0, 0.5, 1.0, 1.5, 4.0, 6.0 mL,分别置于25 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,分别吸取1 mL,置于10 mL具塞刻度试管中,照分光光度法试验。以吸光度(A)为横坐标,质量浓度(C)为纵坐标,绘制标准曲线,得葡萄糖回归方程为 $C = 1.081 \times 10^2 A - 2.1091$ ($r = 0.9999$);结果表明,葡萄糖在3.85 ~ 70.33 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与吸光度呈良好线性关系。

2.1.4 精密度试验 取产自于新疆吉木萨尔县的骆驼刺样品,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,连续测定6次。结果,样品峰面积的RSD 1.85%,表明本方法精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取产自于新疆吉木萨尔县的骆驼刺样品,按2.1.2项下方法平行制备6份供试品溶液。结果,样品含量的RSD 1.16%,表明本方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,在5 h内每隔30 min测定吸光度1次。结果,1.5 h以内样品含量的RSD 3.01%,故供试品溶液应在1.5 h以内测定。

2.1.7 加样回收率试验 取产自于新疆吉木萨尔县的骆驼刺样品适量,共6份,分别置50 mL锥形瓶中,分别精密加入葡萄糖对照品适量,按2.1.2项下方法制备,照分光光度法试验。见表1。

表1 葡萄糖的加样回收率试验

No.	样品含量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	50.24	100.86	101.24	99.62	1.50
2	49.80	99.98	100.36		
3	50.32	99.76	98.88		
4	48.89	98.30	98.82		
5	52.82	101.52	97.40		
6	48.45	98.95	101.00		

注:加入量均为50 μg 。

2.2 药材中芦丁含量的测定

2.2.1 色谱条件^[12-17] Symmetry Shield Rp-18色谱柱(3.9 mm \times 150 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1%磷酸(19:81),检测波长360 nm,流速1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温30 ℃,进样量10 μL 。

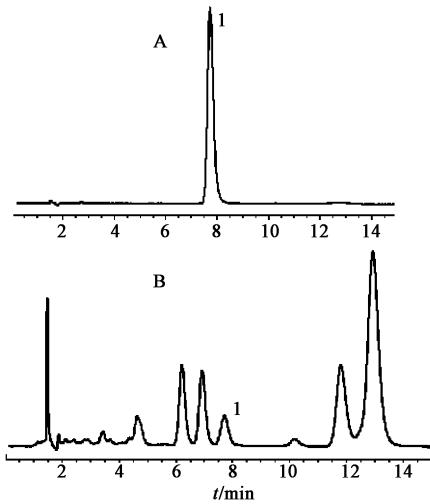
2.2.2 系统适用性试验 理论板数以芦丁色谱峰计算应均不少于3 200,分离度 $R > 1.5$,拖尾因子T为

0.95 ~ 1.05, 符合 2010 年版《中国药典》的规定。

2.2.3 对照品贮备液的制备 精密称取芦丁对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.099 mg 的溶液, 作为对照品贮备液。

2.2.4 供试品溶液的制备 精密称取产自于新疆吉木萨尔县的骆驼刺药材粉末约 1.0 g, 置 50 mL 锥形瓶中, 加入 65% 乙醇 25 mL, 密塞, 超声提取 60 min, 放冷, 用 65% 乙醇补足失重, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.5 专属性试验 取对照品贮备液和供试品溶液各适量, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果, 供试品溶液中, 在与对照品芦丁相应位置处有相同的色谱峰出现, 并与其他色谱峰有较好的分离度。色谱见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 芦丁

图 1 骆驼刺 HPLC

2.2.6 标准曲线的制备 分别精密吸取上述对照品贮备液 (0.099 g · L⁻¹) 1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 15.00 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以峰面积积分值 (A) 为横坐标, 进样量 (C) 为纵坐标, 进行线性回归, 得芦丁回归方程为 $C = 6.0183 \times 10^{-5} A + 0.3333$ ($r = 0.9996$)。结果表明, 芦丁在 4.95 ~ 59.40 μg 与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.7 精密度的试验 取对照品贮备液适量, 按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 测定峰面积。结果, RSD 1.65%, 表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 精密称取产自新疆吉木萨尔县的骆驼刺样品适量, 按 2.2.4 项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果 RSD 0.92%, 表明本方法重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液适量, 每 2 h 进样测定 1 次, 共测定 6 次。结果, RSD 1.93%, 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.2.10 加样回收率试验 精密称取产自于新疆吉木萨尔县的骆驼刺样品粉末约 1.0 g, 共 6 份, 分别置 50 mL 锥形瓶中, 精密加入芦丁对照品适量, 按 2.2.4 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 计算加样回收率, 结果见表 2。

表 2 芦丁的加样回收率试验

No.	样品含量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	31.89	66.79	99.71	99.27	2.08
2	35.90	70.27	98.20		
3	31.91	66.46	98.71		
4	39.86	74.72	99.60		
5	35.88	71.86	102.80		
6	31.89	65.70	96.60		

注: 加入量均为 35.00 mg。

2.2.11 定量限及最小检测限测定 制备浓度适当的对照品溶液, 照 2.2.1 项下色谱条件进样 10 μL, 当信噪比 (S/N) = 9 时, 得定量限为 6 ng; 继续稀释进样, 当 S/N = 3 时, 得检出限为 2 ng。

2.3 样品的不同部位的含量测定 取来自骆驼刺不同部位的样品粉末, 分别按 2.2.4 项下方法制备, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定峰面积, 计算样品中芦丁和总多糖的含量, 结果见表 3。

表 3 新疆产样品的不同部位中芦丁和总还原糖的含量测定

No.	产地	不同部位	芦丁 /μg · g ⁻¹	总多糖 /mg · g ⁻¹
1	吉木萨尔县	根部	8.329	17.416
		基部	53.398	24.670
		上部	821.292	21.265
		(基部以上)		
		刺糖	-	382.329
2	乌鲁木齐市	根部	10.910	14.4158
		基部	55.779	22.636
		上部	850.361	23.578
		(基部以上)		
		刺糖	-	375.416
3	且末县	根部	9.630	18.328
		基部	67.979	25.836
		上部	790.377	29.368
		(基部以上)		
		刺糖	-	380.236

续表 3

No.	产地	不同部位	芦丁 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	总多糖 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
4	阜康市	根部	8.654	15.528
		基部	70.088	29.369
		上部	789.257	32.567
		(基部以上)		
		刺糖	-	373.636
5	喀什市	根部	9.364	19.378
		基部	68.988	33.314
		上部	756.361	37.127
		(基部以上)		
		刺糖	-	397.359
6	鄯善县	根部	10.378	20.349
		基部	72.231	30.167
		上部	589.354	34.287
		(基部以上)		
		刺糖	-	379.224
7	库尔勒市	根部	9.568	22.559
		基部	75.387	32.227
		上部	789.157	37.174
		(基部以上)		
		刺糖	-	357.157
8	昌吉老龙河	根部	11.547	27.449
		基部	80.347	35.227
		上部	773.128	39.558
		(基部以上)		
		刺糖	-	379.227

由表 3 可知,果实及地上部分中总还原糖和芦丁的含量比较高。

3 讨论

在芦丁的紫外扫描图谱中,有 254,360 nm 2 个吸收峰,经过比较发现,两者在 360 nm 波长处均可被较好的检出,故确定检测波长为 360 nm。通过调整提取方法和色谱条件,最终可得到芦丁含量测定方法^[7-9]。

样品含量测定结果显示,不同部位的骆驼刺中芦丁和总还原糖含量有一定差异,其中果实及地上部分中总还原糖和芦丁的含量比较高。因此,在对骆驼刺药材进行采样分析时,不同部分提取不同成分,才能最大程度地提高药材有效成分。

本方法简便、可靠、稳定性好,可为骆驼刺的种植

和采收的研究奠定一定的基础。

[参考文献]

- [1] 《中国植被》编辑委员会. 中国植被[M]. 北京:科学出版社,1980:993.
- [2] 中国自然资源丛书编撰委员会. 中国自然资源丛书(草地卷)[M]. 北京:中国环境科学出版社,1995:169.
- [3] 董志国. 干旱荒漠区骆驼刺的经济价值及其利用[J]. 塔里木农垦大学学报,2000,12(3):58.
- [4] 中国科学院甘肃省冰川冻土沙漠研究所. 中国沙漠地区药用植物[M]. 兰州:甘肃人民出版社,1973:584.
- [5] 李君山,刘勇民,蔡少青. 维吾尔医用骆驼刺类药材的资源、商品流通及民间应用研究[J]. 中国民族医药杂志,1996,2(2):39.
- [6] 王济宪. 维吾尔常用药材——阿里红和骆驼刺[J]. 特殊经济动植物,2003,45(9):39.
- [7] 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:附录 30.
- [8] 陈良,徐晓琴,凯撒·苏来曼,等. 骆驼刺中总还原糖与芦丁的含量测定[J]. 中国药房,2012,47(23):4474.
- [9] 姜先刚,刘海龙,张惠,等. 不同生长时期人参中总糖、还原糖和可溶性多糖含量变化[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(16):142.
- [10] 张爱华,崔立勋,高秀萍,等. 虫草多糖含量测定方法的研究[J]. 生物技术世界,2012,6:15.
- [11] 雷利群,王述蓉,张昊. 紫外分光光度法测定地塞米松搽剂中主药的含量[J]. 中国药房,2007,28(18):2214.
- [12] 林雅,林国清,徐伟. 石斛多糖的含量测定[J]. 福建中医学院学报,2009,19(3):27.
- [13] 周美环,赵书楷,陈森,等. HPLC 法测定桑叶中芦丁的含量[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(5):228.
- [14] 江海燕,付晓,宋明珍,等. 广西不同产地山楂芦丁含量比较[J]. 河北中医药学报,2009,24(4):30.
- [15] 陈良,徐晓琴,凯撒·苏来曼,等. HPLC 测定不同产地罗勒中芦丁和槲皮素的含量[J]. 中国现代应用药学,2011,28(4):344.
- [16] 臧亚茹,陈四平. RP-HPLC 法测定山楂叶提取物中槲皮素的含量[J]. 中国药房,2008,19(15):163.
- [17] 高良美,茅向军,林瑞超,等. HPLC 同时测定一枝黄花中芦丁和绿原酸的含量[J]. 中国中药杂志,2012,37(16):2422.

[责任编辑 顾雪竹]