

# UV 测定广西不同产地倒地铃中总黄酮的含量

陈君<sup>1</sup>, 韦建华<sup>2\*</sup>, 李兵<sup>2</sup>, 蔡少芳<sup>2</sup>, 张明站<sup>2</sup>

(1. 柳州医学高等专科学校, 广西 柳州 545005; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

**[摘要]** 目的: 建立紫外分光光度法测定广西不同产地倒地铃全草总黄酮的含量。方法: 以芦丁为对照品, 以亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠为显色剂, 测定波长为 488 nm。结果: 芦丁在 0.009 35 ~ 0.056 0 g·L<sup>-1</sup> 与峰面积具有良好的线性关系 ( $r = 0.999 3$ ); 平均加样回收率为 100.05% ( $n = 6$ ), RSD 2.3%。结论: 该法准确、简便、稳定可靠, 可用于倒地铃中总黄酮的含量测定。

**[关键词]** 倒地铃; 芦丁; 总黄酮; 紫外分光光度法; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0105-03

## Determination of Contents of Total Flavonoids in *Cardiospermum halicacabum* by UV

CHEN Jun<sup>1</sup>, WEI Jian-hua<sup>2\*</sup>, LI Bing<sup>2</sup>, CAI Shao-fang<sup>2</sup>, ZHANG Ming-zhan<sup>2</sup>

(1. Liuzhou Medical School, Liuzhou 545005, China;

2. Guangxi University of Traditional Chinese Medical, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the methods of determination on the contents of total flavonoids in *Cardiospermum halicacabum* by UV. **Method:** Rutin was used as reference substance and sodium nitrite-nitrate aluminum-sodium hydroxide as color-showing reagent, measurement wavelength was set at 488 nm. **Result:** The linear response range was 0.009 35-0.056 0 g·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.999 3$ ). The average recovery was 100.05%, RSD 2.3% ( $n = 6$ ). **Conclusion:** The method was simple, accurate and reproductible which could be used for determination of the total flavonoids in *C. halicacabum*.

**[Key words]** *Cardiospermum halicacabum*; rutin; total flavonoids; ultraviolet spectrophotometry; determination

倒地铃是无患子科植物倒地铃干燥全草, 主要分布广东、广西、福建、台湾等西南各地, 具有清热、利尿、凉血、解毒等功效, 民间多用于治疗肺炎、黄疸、糖尿病等<sup>[1-2]</sup>。Ahrned L 等从该植物的种子中分离得到花生酸、亚油酸、硬脂酸、 $\beta$ -谷甾醇、木犀

草素-7-O-葡萄糖醛酸苷<sup>[3]</sup>, Chandra T 等对倒地铃的乙醇和水提取物进行药理研究, 发现两种提取物能稳定炎症期间的溶酶体膜, 抑制溶酶体内酶的漏出, 从而阻止细胞内和细胞外的损伤<sup>[4]</sup>。倒地铃全草中可能含有糖、多糖、苷类、有机酸、黄酮类、香豆素、内酯类、三萜类、油脂等化学成分<sup>[5]</sup>。由于倒地铃分布广泛, 资源丰富, 为了更好的对倒地铃全草的化学成分进行深入研究, 提高倒地铃全草质量的可控性, 笔者采用芦丁作为倒地铃全草中总黄酮含量的评价指标, 建立专属性较强的含量测定方法, 为倒地铃全草的质量控制提供一定科学依据。

### 1 仪器与试剂

8453 型紫外-可见分光光度计(美国安捷伦科技有限公司), BP211D 型电子分析天平(德国赛多

**[收稿日期]** 20110701(006)

**[基金项目]** 广西壮族自治区自然科学基金(2011GXNSFB018103)

**[第一作者]** 陈君, 讲师, 硕士学位, 从事中药、民族药的有效成分与质量标准研究工作, Tel: 13737239915, E-mail: lzyzchenjun@163.com

**[通讯作者]** \* 韦建华, 副教授, 硕士学位, 从事中药、民族药的有效成分与质量标准研究工作, E-mail: weijianhua607@tom.com

利斯), 高速中药粉碎机(武义县屹立工具有限公司)。芦丁对照品(购于中国药品生物制品检定所, 批号 100080-200306)。倒地铃于 2010 年 10 月分别采自广西南宁市、北海市、柳州市。经广西中医学院药学院廖月葵高级实验师鉴定为无患子科植物倒地铃 *Cardiospermum halicacabum* L. 的干燥全草。所用试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 取 120 °C 干燥至恒重的芦丁对照品约 18 mg, 精密称定, 用无水甲醇溶解, 转移入 100 mL 量瓶中, 用无水甲醇定容, 摇匀, 得芦丁对照品溶液, 质量浓度为 0.187 g·L<sup>-1</sup>, 备用。

**2.2 样品溶液的制备** 取广西南宁、柳州和北海倒地铃全草药材粗粉各 2 g, 精密称定, 加 95% 乙醇 50 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 药渣用 20 mL 95% 乙醇冲洗 2 次, 合并滤液, 用 95% 乙醇定容到 250 mL, 备用。

**2.3 波长的选择** 取对照品溶液 2 mL, 供试品溶液 2 mL, 于 25 mL 量瓶中, 分别加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 摇匀, 静置 6 min, 再加 10% 硝酸铝溶液 0.3 mL, 摇匀, 静置 6 min, 再加 4% 氢氧化钠溶液 4 mL, 用 95% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 静置 10 min。取 95% 乙醇 2 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 按上述“加入 5% 亚硝酸钠溶液”起, 同法操作, 制备试剂作为空白参比液, 在 400 ~ 800 nm 扫描, 结果对照品和供试液均在 488 nm 左右处有最大吸收, 故确定测定波长为 488 nm。

**2.4 线性关系考察** 分别精密吸取芦丁对照溶液(0.187 g·L<sup>-1</sup>) 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 按 2.3 项自“加入 5% 亚硝酸钠溶液”起, 同法操作, 以相应试剂作空白, 于 488 nm 处测吸光度。以质量浓度(X)为横坐标, 以吸收度(Y)为纵坐标作标准曲线, 得回归方程  $Y = 10.271X + 0.0127$  ( $r = 0.9993$ )。芦丁在 0.00935 ~ 0.0560 g·L<sup>-1</sup> 与相应峰面积具有良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 精密吸取倒地铃(柳州)样品溶液 5 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 按 2.3 项下自“加入 5% 亚硝酸钠溶液”起, 同法操作, 连续测定吸光度 5 次, 结果倒地铃总黄酮含量, RSD 1.3%, 表明仪器精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 取倒地铃(柳州)粗粉约 2 g, 精密称定, 按照 2.2 项下方法制备, 精密吸取 5 mL 样品溶液于 25 mL 量瓶中, 按 2.3 项下自“加入 5% 亚硝酸钠溶液”起, 同法操作, 分别在 0, 15, 30, 45, 60

min 在 488 nm 处测定吸光度, 结果 RSD 1.0%, 显示样品在 1 h 内稳定。

**2.7 重复性试验** 取倒地铃(柳州)粗粉约 2 g, 6 份, 精密称定, 按照 2.2 项下方法制备, 精密吸取 5 mL 样品溶液于 25 mL 量瓶中, 分别按 2.3 项下自“加入 5% 亚硝酸钠溶液”起, 同法操作, 测定吸光度。计算得倒地铃总黄酮平均含量 3.11 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 2.1%, 表明重复性良好。

**2.8 加样回收率试验** 称取 6 份倒地铃(柳州)粗粉约 1 g, 精密称定, 加 95% 乙醇 50 mL, 精密加入芦丁对照品溶液 2 mL(1.82 g·L<sup>-1</sup>), 按 2.2 项下制备, 精密吸取 5 mL 样品溶液于 25 mL 量瓶中, 按 2.3 项下自“加入 5% 亚硝酸钠溶液”起, 同法操作, 在 488 nm 处测定吸光度, 计算回收率, 得平均回收率分别为 100.05%, RSD 2.3%, 结果见表 1。

表 1 广西柳州倒地铃加样回收率试验测定

No.	取样量 /g	已知量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	1.013 5	3.152	3.62	6.734	98.95	100.05	2.3
2	1.005 6	3.127	3.62	6.815	101.87		
3	1.009 5	3.140	3.62	6.792	100.90		
4	1.012 2	3.148	3.62	6.628	96.13		
5	1.003 7	3.122	3.62	6.752	100.29		
6	1.012 1	3.148	3.62	6.846	102.16		

**2.9 样品含量测定** 称取 3 个产地的样品约 2 g, 按 2.2 项下制备, 精密吸取 5 mL, 分别置于 25 mL 量瓶, 按 2.3 项下自“加入 5% 亚硝酸钠溶液”起, 同法操作, 测定, 测得广西南宁、柳州和北海倒地铃总黄酮的含量分别为 1.08, 3.11, 0.69 mg·g<sup>-1</sup>。结果表明, 柳州倒地铃总黄酮含量最高, 南宁倒地铃次之, 北海倒地铃最低。结果见表 2。

表 2 广西不同产地倒地铃总黄酮含量测定(n=3)

产地	总黄酮 /mg·g <sup>-1</sup>			平均含量 /mg·g <sup>-1</sup>	RSD /%
南宁	1.08	1.06	1.10	1.08	1.85
柳州	3.09	3.11	3.13	3.11	0.64
北海	0.69	0.68	0.71	0.69	2.21

## 3 讨论

考察回流、超声处理两种提取方法, 结果以回流提取得到的总黄酮含量较高。故选择回流提取的提取方法。

# 双波长 HPLC 同时测定延胡索中 3 种生物碱的含量

赵静宜, 陆洋, 杜守颖\*, 白洁, 武慧超, 赵雪姣, 黎迎

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** 目的: 建立同时测定延胡索中巴马汀、脱氢紫堇碱和延胡索乙素的 HPLC 方法。方法: 采用 C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 250 nm, 5 μm), 以乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (加三乙胺调节 pH 6.0, B) 进行梯度洗脱 (0 ~ 20 min, 25% A; 20 ~ 30 min, 25% ~ 55% A; 30 ~ 45 min, 55% A; 45 ~ 50 min, 55% ~ 25% A; 50 ~ 55 min, 25% A); 检测波长为 270, 280 nm, 柱温 30 °C。结果: 巴马汀在 2.12 × 10<sup>-2</sup> ~ 1.59 μg 呈良好的线性关系 (r = 0.999 9); 脱氢紫堇碱在 4.10 × 10<sup>-2</sup> ~ 3.07 μg 呈良好的线性关系 (r = 0.999 9); 延胡索乙素在 2.10 × 10<sup>-2</sup> ~ 1.57 μg 呈良好的线性关系 (r = 0.999 9); 加样回收率分别为 100.10%, 100.03%, 97.47%。结论: 该方法准确、稳定、分离效果好, 可用于测定延胡索药材中巴马汀、脱氢紫堇碱和延胡索乙素的含量。

**[关键词]** 巴马汀; 脱氢紫堇碱; 延胡索乙素; 双波长法; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0107-04

## Determination of Three Active Components in Rhizoma Corydalis by Dual Wavelength HPLC

ZHAO Jing-yi, LU Yang, DU Shou-ying\*, BAI Jie, WU Hui-chao, ZHAO Xue-jiao, LI Ying  
(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a new method for determination of palmatine hydrochloride, dehydrocorydaline nitrate and tetrahydropalmatine in Rhizoma Corydalis by HPLC. **Method:** The HPLC was adopted performing on a C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 nm, 5 μm) with a mobile phase of acetonitrile (A) -0.1%

**[收稿日期]** 20111219(012)

**[基金项目]** “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09502-008); 国家自然科学基金面上项目(81073057); 国家自然科学基金青年基金项目(81102816); 教育部博士点基金(20010013110007); 北京中医药大学自主选题项目(JYBZZ-JS021); 北京中医药大学创新团队发展计划项目(2011-CXTD-13)

**[第一作者]** 赵静宜, 硕士在读, 从事中药新剂型与新技术研究

**[通讯作者]** \* 杜守颖, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究, Tel: 010-84738645, E-mail: dushouying@263.net

本实验建立以芦丁为对照品, 以亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠作为显色剂, 用紫外分光光度法测定广西不同产地倒地铃总黄酮含量的方法, 结果表明本法操作简便快速, 结果稳定、可靠, 可用于测定倒地铃总黄酮含量。由实验结果可知, 广西不同产地倒地铃中总黄酮的含量有明显差异。这对倒地铃全草的化学成分进行更深入的研究, 尤其是为今后对黄酮类成分的提取与分离, 药效等研究, 进一步开发和利用倒地铃提供一定依据和基础。

### [参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版

社, 1977.

[2] 《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.

[3] Ahmed I, Krishnamoorthy G. Probing of coenzyme quinone binding site of mitochondrial NADH: CoQ reductase by fluorescence dynamics [J]. Biochemistry, 1994, 33(32): 9675.

[4] Chandra T, Sadique J. Anti-inflammatory effect of the medicinal plant *Cardiospermum hilicacabum* Linn *in vitro* study [J]. Arogya, 1984, 100(1): 57.

[5] 韦建华, 蔡少芳, 陈君. 倒地铃化学成分预实验 [J]. 时珍国医国药, 2001, 22(3): 754.

[责任编辑 顾雪竹]