

# 莲威阿那奇处方水提浸膏中总糖含量测定

王华洋<sup>1</sup>, 耿东升<sup>2\*</sup>

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830054; 2. 新疆军区联勤部药品仪器检验所, 乌鲁木齐 830063)

**[摘要]** 目的: 建立莲威阿那奇处方水提浸膏中多糖的含量测定方法。方法: 采用苯酚-硫酸显色, 紫外-可见分光光度法测定莲威阿那奇处方水提浸膏中多糖的含量。结果: 样品经苯酚-硫酸显色后在 485 nm 处有最大吸收, 溶液的吸光度与葡萄糖含量在 0.02 ~ 0.1 g·L<sup>-1</sup> 呈良好线性关系, 回归方程  $A = 8.230C - 0.0163$  ( $r = 0.9998$ ), 平均回收率为 99.07%, RSD 0.99%, 浸膏中多糖的平均含量为 46.12%。结论: 采用的苯酚-硫酸显色法操作简便, 结果准确, 稳定性和重现性好, 可作为莲威阿那奇处方水提浸膏中多糖的含量测定方法。

**[关键词]** 莲威阿那奇处方水提浸膏; 多糖; 苯酚-硫酸法; 紫外-可见分光光度法; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0047-02

莲威阿那奇是由雪莲、肉苁蓉、桑椹、阿纳其根、骨碎补和鹿衔草等 12 味中药组成的临床用药处方, 具有补肾通络、活血化瘀、祛风止痛之功效, 用于治疗骨关节炎、骨质增生等退行性骨关节炎病症。其中多糖是该处方药理活性的主要成分之一<sup>[1-2]</sup>。本研究以总糖作为莲威阿那奇处方水提浸膏质量控制的指标成分, 为制订莲威阿那奇颗粒剂质量标准提供支持。

## 1 仪器与试剂

UV-240 型紫外分光光度计(日本岛津), R-200D 型电子分析天平(德国 Sartorius), ZKG4080 型高温真空干燥箱(上海实验仪器厂有限公司)。

无水葡萄糖对照品(四川省维克奇生物科技有限公司, 批号 110728), 水为超纯水, 苯酚和硫酸均为分析纯, 处方 12 味药材均购于新疆本草堂中药饮片有限公司。莲威阿那奇处方水提浸膏是由上述药材经水煎煮 2 次, 合并滤液, 于水浴锅上浓缩成浸膏, 再经真空干燥为每克水提浸膏干粉相当于 4.05 g 处方药材。

## 2 方法与结果

**2.1 供试品溶液的制备** 精密称取水提浸膏粉末 5.00 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加超纯水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取 105 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖对照品 25.00 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加超纯水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 1.00 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。精密量取 0.6 mL 葡萄糖对照品溶液于 10 mL 量瓶中, 超纯水溶解并定容, 摇匀, 即得 0.06 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.3 多糖含量测定波长的选定**<sup>[3]</sup> 分别精密量取对照品溶液和供试品溶液各 1.0 mL 于 50 mL 锥形瓶中, 分别精密加入 5% 新配制的苯酚溶液 1.6 mL, 摇匀, 迅速精密加入浓硫酸 6.0 mL, 摇匀, 室温放置 25 min。在 400 ~ 700 nm 用紫外分光光度计进行扫描, 结果供试品与对照品溶液在 485 nm 处有最大吸收峰, 故确定 485 nm 为测定波长。

**2.4 线性关系考察** 分别精密量取对照品母液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 超纯水稀释并定容至刻度, 摇匀, 即得 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 g·L<sup>-1</sup> 对照品溶液。分别精密量取上述对照品溶液各 1.0 mL, 于 50 mL 锥形瓶中, 精密加入 5% 新配制的苯酚溶液 1.6 mL, 摇匀, 迅速精密加入浓硫酸 6.0 mL, 摇匀, 室温放置 25 min。精密量取超纯水 1.0 mL 同上述操作, 作为空白对照。按紫外分光光度法在 485 nm 处测定吸光度。以吸光度 ( $A$ ) 对质量浓度 ( $C$ ) 作线性回归, 得回归方程  $A = 8.230C - 0.0163$  ( $r = 0.9998$ ), 葡萄糖溶液在 0.02 ~ 0.1 g·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 精密量取 0.06 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液 6 份, 每份 1.0 mL, 按 2.4 项下方法测定  $A$ , 结果 RSD 0.29%, 结果表明仪器精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 精密量取供试品溶液和对照品溶液(0.06 g·L<sup>-1</sup>) 各 1.0 mL, 按 2.4 项下方法操

[收稿日期] 20111020(007)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技支疆项目(201191257)

[第一作者] 王华洋, 在读硕士, 从事药剂学研究, E-mail: ykdwhy@126.com

[通讯作者] \*耿东升, 硕士, 主任药师, Tel: 0991-4980635, E-mail: dongsheng811@sina.com

作,于 0,1.0,2.0,3.0,4.0 h 测定 A。结果 RSD 分别为 0.57%,0.55%,表明供试品溶液和对照品溶液在 4 h 内稳定性良好。

**2.7 重复性试验** 精密称取莲威阿那奇方水提浸膏干燥粉末约 5.00 mg,共 6 份,按 2.1 项下的制备方法,再按 2.4 项下方法测定 A,结果 RSD 1.81%,表明本法有较好的重复性。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取已知含量的同一批样品约 5.00 mg 置于 50 mL 量瓶中,再分别精密加入 1.84,2.30,2.76 mg 葡萄糖对照品,加超纯水溶解并稀释至刻度,摇匀,按 2.4 项下方法测定吸光度,取样量均为 1.0 mL,计算葡萄糖加样回收率,结果平均回收率为 99.07%,RSD 0.99% (表 1)。

表 1 莲威阿那奇处方多糖的含量测定加样回收率试验 (n=9)

称样量 /mg	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
5.02	2.31	1.84	4.12	98.37	99.07	0.99
5.01	2.30	1.84	4.14	100.00		
5.01	2.30	1.84	4.15	100.54		
5.01	2.30	2.30	4.56	98.26		
5.01	2.30	2.30	4.61	100.43		
5.02	2.31	2.30	4.58	98.70		
5.01	2.30	2.76	5.01	98.19		
5.02	2.31	2.76	5.02	98.19		
5.01	2.30	2.76	5.03	98.91		

**2.9 样品测定** 精密称取 6 批次莲威阿那奇处方药材,按照水提浸膏制备工艺得到水提浸膏干燥粉末 6 批,分别精密称取水提浸膏干燥粉末约 5.00 mg,按 2.1 项下的制备方法,再按 2.4 项下方法测定吸光度,从线性回归方程中计算出供试液中多糖的质量(以葡萄糖量计算),按下式计算莲威阿那奇处

方水提浸膏干燥粉末中的多糖含量。结果多糖平均含量为 46.12%,RSD 1.93%。

$$\text{多糖含量} = \text{多糖质量} / \text{水提浸膏干燥粉末质量} \times 100\%$$

### 3 讨论

莲威阿那奇处方水提浸膏含糖量较高,容易降解和吸潮,因此水提浸膏真空干燥后应及时放置于阴凉避光干燥器中保存。测定多糖含量时应注意 5% 苯酚溶液应现配现用,避光密封保存,并且加入苯酚溶液和浓硫酸后要充分摇匀,放置时间也要严格控制,以减少测定误差。

莲威阿那奇处方水提浸膏干粉制备的供试品溶液直接采用苯酚-硫酸显色紫外-可见分光光度法测定多糖专属性好,吸收峰无干扰,且与无水葡萄糖对照品溶液的最大吸收波长一致。苯酚-硫酸比色法主要用于甲基化的糖、戊糖、寡糖类以及多聚糖的测定,甚至可以用于糖肽和糖蛋白的测定。此法优势在于可以进行大量样品的测定,基本不受蛋白质存在的影响,且产生的有色化合物在 4 h 内颜色稳定。从目前各种文献资料来看,苯酚硫酸法测定的最大吸收波长多在 480 ~ 491 nm,而实际应用时会因为水解出单糖种类的不同而出现偏差<sup>[4]</sup>。

### [参考文献]

[1] 陈诚,李洪波,杨欣,等. 中药桑椹活性物质的研究进展[J]. 中药材,2010,33(10):1660.

[2] 黄勇,张林,赵卫国,等. 桑椹的化学成分及药理作用研究进展[J]. 广西蚕业,2006,43(3):15.

[3] 王建壮,安洁,吕华冲. 植物多糖含量测定的方法学研究[J]. 海峡药学,2008,20(5):48.

[4] 苏玉顺,李艳君,赵方振,等. 紫外-可见分光光度法在植物多糖含量测定中的应用[J]. 光谱实验室,2011,28(3):1101.

[责任编辑 仝燕]