

# 紫外分光光度法测定胆南星中总胆酸的含量

万军, 翟羽佳, 闫翠起, 贾程程

(西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031)

**[摘要]** 目的: 建立中药胆南星中总胆酸含量测定的方法。方法: 以鹅去氧胆酸为对照品, 直接采用加入 50% 硫酸溶液, 75 °C 水浴加热反应显色, 于紫外分光光度计(377 ± 2) nm 波长处测定。结果 鹅去氧胆酸在 0.000 0 ~ 0.431 2 g·L<sup>-1</sup> 呈良好线性关系( $r = 0.999 1$ ), 平均回收率为 98.79% ( $n = 5$ ), RSD 为 3.02%。结论 本方法准确, 简便, 重复性好, 可用于中药胆南星中总胆酸含量测定。

**[关键词]** 胆南星; 鹅去氧胆酸; 总胆酸; 含量测定; 紫外分光光度法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0071-03

## Determination on Contents of Total Bile Acid in Bile Arisaema by Ultraviolet Spectrophotometry

WAN Jun, ZHAI Yu-jia, YAN Cui-qi, JIA Cheng-cheng

(Life Science & Engineering College of South-west Jiao-tong University, Chengdu 610031, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the methods of determination on the contents of total bile acid in Bile Arisaema by ultraviolet spectrophotometry. **Method:** To add 50% sulfuric acid to the sample and react in water bath at 75 °C. The contents of total bile acid were determined by ultraviolet spectrophotometry on (377 ± 2) nm, using chenodeoxycholic acid (CDCA) as the chemical reference substance. **Result:** The linear response range was 0.000 0 ~ 0.431 2 g·L<sup>-1</sup>,  $r = 0.999 1$ . The average recovery was 98.79% ( $n = 5$ ), RSD 3.02%. **Conclusion:** The method was accurate, simple and reproducible which could be used for the determination of total bile acid in Bile Arisaema.

**[Key words]** Bile Arisaema; chenodeoxycholic acid; total bile acid; determination; ultraviolet spectrophotometry

胆南星系由天南星科植物天南星 *Arisaema erubescens* (wall.) Schott., 异叶天南星 *A. heterophyllum* Bl. 或东北天南星 *A. amurense* Maxim. 的干燥块根细粉与牛、羊或猪胆汁炮制加工而成, 胆汁制南星, 既可减低生南星毒副作用, 又使其药性由温转凉, 变温化寒痰药为清化热痰、息风定惊之品, 用于

治疗痰热咳嗽、咯痰黄稠、中风痰迷、癫狂惊痫等症。《中国药典》2005 年版一部主要针对原药材进行显微和理化鉴别<sup>[1]</sup>, 而未对成品中的胆汁质量进行控制。笔者采用鹅去氧胆酸作为胆南星中总胆酸含量的评价指标, 建立专属性较强的含量测定方法, 拟有效控制胆南星的内在质量, 使标准更加完善。

### 1 仪器与试剂

TU-1901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); Sartorius BS 224 S(德国赛多利斯公司)精密电子天平; SK8200LH 超声仪(上海科导超声仪器有限公司); DK-98-1 型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

**[收稿日期]** 2010113(009)

**[基金项目]** 中央高校基本科研业务费专项资金(SWJTU09BK220; SWJTU09ZT29)

**[第一作者]** 万军, 西南交通大学生命科学与工程学院讲师, 博士学位, 主要从事中药新药研究与教学工作, E-mail: wwangyidi@126.com

胆南星,由成都中药饮片有限公司提供,批号 090802,091001,091002,091101,091102,091103;鹅去氧胆酸对照品购自中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号 110806-200704;其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取鹅去氧胆酸对照品 10.0 mg,置 10 mL 量瓶中,加冰醋酸制成 1 g·L<sup>-1</sup> 鹅去氧胆酸溶液,即得对照品溶液。

**2.2 供试品溶液的制备**<sup>[2-3]</sup> 取胆南星样品粉末 1.0 g,精密称定,置锥形瓶中,加乙酸乙酯 80 mL,水浴回流 2.5 h,于提取结束时加入 0.6 g 活性炭,继续回流 0.5 h,滤过,滤液水浴蒸干,用 60% 的冰醋酸溶解,并转移至 25 mL 量瓶中,定容,摇匀(依情况进行过滤),精密吸取此溶液 1.0 mL,置 20 mL 带刻度试管中,加入 50% 硫酸溶液 14 mL,混匀,置 75 °C 水浴中保温 10 min,迅速移至冰浴中放置 2 min,即得。

**2.3 检测波长的确定** 按供试品溶液的制备方法,以 60% 冰醋酸溶液作为空白。将对照品溶液、供试品溶液在 200~400 nm 波长进行光谱扫描。结果供试液和对照溶液在 377 nm 处有最大吸收,故选择 377 nm 波长作为测定波长。见图 1。

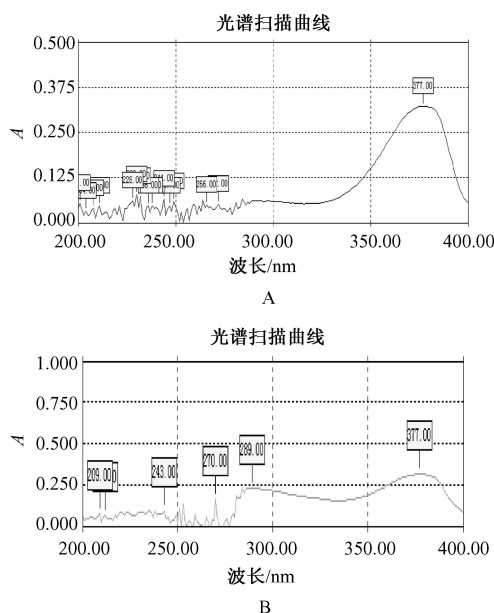


图 1 鹅去氧胆碱、胆南星样品 UV 光谱图  
A. 对照品; B. 样品

**2.4 标准曲线的制备** 分别精密吸取 0.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL 的鹅去氧胆酸对照品溶液 ( $C = 0.1232 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 置 20 mL 带刻度的试管中,以 60% 冰醋酸溶液作为空白,依法测定吸光度,以

吸光度  $A$  为纵坐标,对照品浓度  $C$  为横坐标,绘制标准曲线,回归方程  $A = 1.263C + 6.9 \times 10^{-3}$ ,  $r = 0.9991$ 。结果表明鹅去氧胆酸在  $0.0000 \sim 0.4312 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的线性关系良好。

**2.5 精密度、重复性、稳定性** 精密称取胆南星样品粉末,按供试品溶液制备方法制备,以 60% 冰醋酸溶液作为空白对照液,在 377 nm 处测定其吸收度,重复测定 5 次, RSD 0.14%,表明仪器精密度良好。

精密称取胆南星样品粉末,5 份,测定,平均值为  $78.49 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 0.67%,结果表明该方法重复性良好。

取同一份样品,依法操作,在 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 3.5, 6.0 h 时间在 377 nm 处测定吸收度, RSD 2.89%,表明供试品溶液在 6h 内测定基本稳定。

**2.6 加样回收率试验** 取胆南星样品粉末,5 份,精密称定,分别加入鹅去氧胆酸对照品适量,依法操作,在 377 nm 处测定其吸收度,结果平均值为 98.79%, RSD 3.02%。

**2.7 样品测定** 按照以上方法测定 6 批胆南星样品 (090802, 091001, 091002, 091101, 091102, 091103),结果总胆酸含量以鹅去氧胆酸计分别为 78.5, 104.6, 91.7, 85.2, 88.3, 90.0  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,平均值为  $89.7 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $n = 6$ )。

## 3 讨论

**3.1 指标成分的选择** 目前,对胆南星中的胆酸质量控制研究较少,主要集中在薄层色谱鉴别及胆汁化学成分的分析<sup>[4-6]</sup>,尚未见胆南星中总胆酸含量的仪器分析报道。根据张能荣研究的牛、羊、猪胆汁的 15 种成分的结果,只有鹅去氧胆酸是 3 种胆汁共有成分<sup>[7]</sup>,因此,采用鹅去氧胆酸作为指标成分,对胆南星中总胆酸的含量进行测定。

### 3.2 供试品溶液制备方法的考察

**3.2.1 提取溶剂考察**<sup>[8]</sup> 以 60% 冰醋酸溶液为空白,用 UV 法在 200~400 nm 波长间扫描各样品的最大吸收波长,并在  $(377 \pm 2) \text{ nm}$  处进行含量测定,结果氯仿 + 乙醇 (2:1) 作为提取溶剂,胆酸的浓度最高 ( $0.548 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),但 UV 扫描得到其最大吸收波长为 292 nm,与对照品的最大吸收波长  $(377 \pm 2) \text{ nm}$  不符,乙酸乙酯与对照品的最大吸收波长亦不符,故不予采用;氯仿作为提取溶剂,提取液进行 UV 扫描得到其最大吸收波长为 377 nm,但由于其稳定

性差(样品放置 20 min,其最大吸收波长变为 292 nm),同时考虑氯仿毒性较大,不建议采用。因此,选用乙酸乙酯+活性炭为提取溶剂。

**3.2.2 提取时间考察** 分别采用乙酸乙酯回流提取 1.5,2,2.5,3,3.5,4 h,依法操作,并在(377±2) nm 处进行吸光度的测定,结果回流时间 4 h,胆酸成分的浓度最大(0.330 0 g·L<sup>-1</sup>),但进行 UV 光谱扫描得到其最大吸收波长为 292 nm,与对照品的最大吸收波长(377±2) nm 不符,而提取 3 h,其最大吸收波长仍在 376 nm 处;因此,提取时间定为 3 h。

**3.2.3 提取方法考察** 参考文献<sup>[3,5,8]</sup>,胆酸成分的提取多采用水浴回流法,故试验选用回流法,不再进行提取方法的考察。

**3.3 活性炭用量考察** 试验发现活性炭的加入对胆南星提取液中的干扰成分有较好的吸收,而对胆酸类成分吸收较小,且活性炭用量对最大吸收波长有一定影响。参考活性炭常用量,选用 0.35 g 及 0.6 g 作为考察水平。结果表明加入 0.35 g 活性炭,其最大吸收为(291±2) nm 波长处;而加入 0.60 g 活性炭得到的供试品溶液,进行 UV 光谱扫描,其最大吸收为(377±2) nm 波长处,与对照品光谱扫描结果一致,且稳定性及重复性好,故活性炭用量为 0.60 g。

**3.4 高效液相色谱法测定鹅去氧胆酸含量** 试验曾探索采用 HPLC 测定样品中鹅去氧胆酸含量<sup>[9-10]</sup>。色谱条件岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪,色谱条件 KP100-5C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),柱温 35℃;流动相甲醇-水(70:30);流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长 203 nm。精密吸取的鹅去氧胆酸对照品溶液 10 μL 进样,结果在 60 min 仍没有色谱峰出现,后又将流动相调整为甲醇-水(82:18),

依然没有峰值检出。

后考虑到胆汁酸类成分无紫外吸收基团,故采用柱前衍生法对具有紫外吸收基团的衍生产物进行色谱检测<sup>[11]</sup>,以对溴乙酰基硝基苯为衍生化试剂,18-冠醚-6 为相催化剂。但经多方联系,均未购买到 18-冠醚-6,故其实验研究待下一步展开。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:110.
- [2] 赵中杰,江佩芬,罗金明,等.紫外分光光度法测定牛黄中胆酸的研究[J].天然产物研究与开发,1992,4(1):24.
- [3] 李先端,钟银燕,游修琪,等.中药炮制辅料牛胆汁中总胆酸含量测定[J].中药材,2008,31(5):654.
- [4] 贲永光,李康,李坤平,等.胆南星的薄层色谱鉴别[J].广东药学院学报,2009,25(2):160.
- [5] 张绍轩,黄青,王学农,等.胆南星的薄层色谱鉴别[J].长春中医药大学学报,2008,24(4):147.
- [6] 张厚宝,康纯.胆南星中胆汁成分的检测[J].中药材,1991,14(3):37.
- [7] 张能荣.牛羊胆汁质量的研究[J].中草药,1983,14(7):15.
- [8] 何念民.紫外分光光度法测定消溶胆石片中胆酸含量[J].中成药,1995,17(1):18.
- [9] 郑兴.熊去氧胆酸与鹅去氧胆酸的对比研究[J].内蒙古科技与经济,2008,2(156):28.
- [10] 唐玉红.HPLC 法测定熊去氧胆酸的含量[J].现代仪器,2007,1:62.
- [11] 郑兴,金东日.柱前衍生反相高效液相色谱法测定鹅去氧胆酸的含量[J].延边大学学报:自然科学版,2008,34(4):269.

[责任编辑 顾雪竹]