

# 怀牛膝中多糖的含量测定

李根林<sup>1</sup>, 杜天信<sup>2</sup>, 梁生旺<sup>1</sup>

(1 河南中医学院, 河南 郑州 450008; 2 洛阳正骨医院, 河南 洛阳 471002)

**摘要:** 采用酚-硫酸法测定牛膝中多糖的含量, 文中建立了含量测定方法, 并对8个产地的牛膝进行了多糖含量的测定。

**关键词:** 怀牛膝; 酚-硫酸法; 多糖

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)05-0006-02

## The Determination of Polysaccharides in Radix *Achyranthes bidentata*

LI Gen-lin<sup>1</sup>, DU Tian-xin<sup>1</sup>, LIANG Sheng-wang<sup>1</sup>

(1. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Luoyang Zheng Gu Hospital, LuoYang 471002, China)

**Abstract:** Polysaccharides of radix *Achyranthes bidentata* were determined by UV spectrophotometric method with phenol-sulfuric acid as coloring reagent. The polysaccharide contents in eight drug material samples, collected from different producing places, were determined.

**Key words:** Radix *Achyranthes bidentata*; Polysaccharide; UV spectrophotometric method

怀牛膝为苋科植物牛膝(*Achyranthes bidentata* Bi.)的干燥根,牛膝在全国分布较广,河南、河北、山西、陕西、甘肃及长江流域和云南各地均有分布,以河南武陟一带产者为“道地药材”,故有“怀牛膝”之称,具有补肝肾,强筋骨,逐瘀通行,引血下行的作用<sup>[1,2]</sup>,六十年代以来,人们逐渐发现多糖具有复杂

的多方面功能,以抗肿瘤的多糖作为免疫疗法最为引人注目<sup>[3]</sup>。我们选择牛膝多糖为指标,比较河南、河北、山东、山西等产地的含量,为探索“道地药材”的内在质量提供依据。

### 1 测定条件选择

**1.1 对照品溶液的配制** 取葡萄糖约2mg,精密称定,置50ml量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,即得葡萄糖对照品溶液(45μg/ml)。

1.2 显色剂的配制 5% 苯酚溶液, 重蒸馏的 A. R 规格苯酚溶于蒸馏水而得(棕色瓶保存)。

0.2% 萘酚硫酸液, 0.2g 萘酮用 98% 浓硫酸溶解并定容至 100ml(临用新配)。

1.3 苯酚-硫酸法最大吸收波长的选择 精密吸取 0.6ml 对照品溶液, 加蒸馏水至 2.0ml, 加入 5% 苯酚溶液 1ml, 混匀, 迅速加入 5ml 浓硫酸, 振摇 5min, 置沸水浴中 15min, 然后置冷水中冷却 30min, 同法制得空白溶液, 在可见紫外分光光度计 200~ 800nm 范围内测定吸收度, 结果表明最大吸收波长  $\lambda_{max}$  485nm。

1.4 萘酮-浓硫酸法最大吸收波长的选择 精密吸取 0.6ml 对照品溶液, 加蒸馏水至 2.0ml, 加入 0.2% 萘酮硫酸溶液 4.0ml, 混匀, 同法制得空白溶液, 在可见紫外分光光度计上 200~ 800nm 范围内测定吸收度, 结果表明最大吸收波长  $\lambda_{max}$  625nm。

1.5 显色剂的选择 将多糖供试品溶液按上述两种显色方法操作, 所测最大吸收波长与相应的葡萄糖对照品溶液相一致, 但苯酚-浓硫酸法显色灵敏度高, 稳定性好, 故选苯酚-浓硫酸法。

### 2 线性化范围试验

精密吸取 0.0, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2ml 葡萄糖对照品溶液(45 $\mu$ g/ml), 加蒸馏水至 2.0ml, 加入 5% 苯酚溶液 1ml, 混匀, 迅速加入 5ml 浓硫酸, 振摇 5min, 置沸水浴中 15min, 再置冷水浴中冷却 30min, 在可见紫外分光光度计上 485nm 处测定吸收度。以吸收度(A)为纵坐标, 对照品量(B)为横坐标, 经回归处理得回归方程如下:  $A = -0.06080 + 0.01004B$   
 $r = 0.9991$

结果表明, 在 18.00~ 54.00 $\mu$ g 范围内葡萄糖量与吸收度成一条不通过原点的直线, 供试品溶液测定可采用外标两点法定量。

### 3 精密度试验

精密吸取对照品溶液 0.6ml, 加水至 2.0ml, 照上述苯酚-浓硫酸法显色, 于 485nm 波长处在可见紫外分光光度计上 5 次, 吸收度测定结果为 0.203, 0.211, 0.214, 0.210, 0.211, RSD 为 1.95%。表明仪器精密度良好。

### 4 稳定性试验

精密吸取 0.6ml 对照品溶液, 加水至 2.0ml, 按上述苯酚-浓硫酸法显色, 于 485nm 波长处在可见紫外分光光度计上测定吸收度, 每隔 20min 测一次, 结果 RSD = 1.91%, 表明在 2h 内稳定。

## 5 加样回收率试验

取牛膝粉末(40 目, 105  $^{\circ}$ C 干燥 2h) 约 0.5g, 7 份, 精密称定, 其中 1 份不加葡萄糖对照品, 作为随行对照, 其余 6 份分别加入精密称取的葡萄糖对照品, 余下操作按供试品溶液制备方法处理, 得到 6 份加样回收供试液。精密吸取 2ml 各加样回收供试液, 按上述苯酚-浓硫酸法显色, 于 485nm 波长处在可见紫外分光光度计上进行测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

加入量 (mg)	样品含量 (mg)	实测量 (mg)	回收量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
31.897	42.203	72.847	30.644	96.07		
31.915	42.545	74.896	32.351	101.37		
41.932	42.349	83.123	40.774	97.24	97.57	1.97
41.733	42.645	82.917	40.272	96.50		
51.973	42.369	92.996	50.627	97.41		
51.861	42.585	92.802	50.217	96.83		

## 6 含量测定

6.1 供试品溶液的制备 取不同产地牛膝粉末(40 目, 105  $^{\circ}$ C 干燥 2h) 约 1g, 精密称定, 加 95% 乙醇 80ml 索氏萃取 8h, 醇提取后的药渣晾干后, 加水(50, 50, 40ml) 回流提取 3 次(3, 3, 2h), 合并提取液, 浓缩至约 25ml, 加 95% 乙醇至含醇量 85%, 放置 24h, 抽滤, 残渣用 75% 乙醇洗涤, 自然干后, 用水溶解转移至 100ml 量瓶内, 用水稀释至刻度, 精密吸取 1ml 置 50ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 即得各供试品溶液。

6.2 含量测定 精密吸取 2ml 各供试品溶液, 按上述苯酚-浓硫酸法显色, 于 485nm 波长处在可见紫外分光光度计上测定吸收度, 根据外标法计算不同产地牛膝中多糖的含量, 结果见表 2。

表 2 不同产地牛膝中多糖的含量(n=5)

产地	河南 武陟	河南 温县	河南 沁阳	河北 安国	河南 博爱	山西 运城	山东 泰安	山东 菏泽
含量	8.66%	8.62%	8.44%	7.80%	7.42%	7.16%	6.25%	6.19%

### 参考文献:

[1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编[J]. 上册. 北京: 人民卫生出版社, 1975. 206.

[2] 王浴生. 中药药理与应用[J]. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 198.

[3] 方积年. 多糖的分离纯化及其纯度鉴别与分子量测定[J]. 药学通报, 1984, 19(10): 46.

[4] M. Duboi, et al. Anal[J]. Chem. 1956, 28: 350.

[5] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科技出版社, 1977. 418.