

黄芪中黄芪多糖含量的测定[△]

赵强强¹, 韩丽^{1*}, 潘媛¹, 王森¹, 杨明^{1,2*}

- (1. 成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室, 四川 成都 611137;
2. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立黄芪中黄芪多糖的含量测定方法。方法: 采用比色法测定黄芪多糖的含量。结果: 测定波长为489 nm, 葡萄糖在2.0~14.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 线性关系良好, 平均加样回收率为99.84%, RSD=3.71% ($n=6$)。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可用于黄芪中黄芪多糖的含量测定。

[关键词] 黄芪多糖 APS; 苯酚-硫酸法; 含量测定

黄芪为常用中药, 是豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根, 具有补气升阳, 固表止汗, 利水消肿, 生津养血, 行滞通痹, 托毒排脓, 敛疮生肌的功能^[1]。黄芪中含有皂苷、黄酮、多糖、氨基酸及微量元素等多种成分^[2], 其中黄芪多糖 (*Astragalus polysaccharides*, APS) 是黄芪主要活性成分之一。现代研究表明, APS 具有促进免疫调节^[3]、抗肿瘤^[4]、抗病毒、抗辐射、抗衰老等多种生物活性。本实验采用比色法对黄芪中多糖进行含量测定。

1 材料与方法

1.1 仪器

UV-1700 紫外分光光度计 (SHIMADZU CORPORATION), FA1104 电子分析天平 (HANGPING)。

1.2 试剂

河北黄芪 (四川利民中药饮片有限责任公司), 经成都中医药大学鉴定教研室裴瑾副教授鉴定为膜荚黄芪; D-无水葡萄糖对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110833-200503, 供含量测定用); 苯酚、浓硫酸等试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备

精密称取 105 °C 干燥至恒重的 D-无水葡萄糖 100 mg, 加水溶解并定溶于 100 mL 量瓶中, 摇匀

即得。

2.2 供试品溶液制备

精密称取黄芪粗粉 5.0 g, 加碱水 50 mL 回流提取 2 次, 每次 1 h, 放冷加溶剂补足重量, 过滤, 精密吸取滤液 0.2 mL, 蒸馏水定容至 100 mL 量瓶中, 摇匀即得。

2.3 测定方法

精密吸取对照品、供试品溶液各 2 mL 于具塞试管中, 分别加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL, 摇匀, 迅速加入 5.0 mL 浓硫酸, 振摇 2 min, 置沸水浴中加热 15 min, 然后置冷水浴中冷却 30 min, 随行以蒸馏水为空白对照, 在 489 nm 处测定吸光度。

2.4 线性范围考察^[5-6]

精密吸取葡萄糖对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 mL 置于 25 mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀。精密吸取上述各溶液 2 mL 于具塞试管中, 按照 2.3 测定方法分别加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL, 在 489 nm 处测定吸光度。以吸光度对浓度进行线性回归, 得回归方程 $A = 69.679C + 0.0253$, $r = 0.9962$ 。结果表明, 葡萄糖在 2.0~14.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取葡萄糖对照品溶液 6 份, 依法显色后测定吸光度, 计算 RSD = 1.62%, 说明仪器精密度良好。

2.6 显色后稳定性试验

取黄芪多糖样品溶液 2 mL, 依法显色后放置, 分别在 0, 15, 30, 45, 60 min 测定吸光度, 计算

[△][基金项目] 国家科技重大新药创制专项(2009ZX09103-307)

[通讯作者] *韩丽, E-mail: hanliy@163.com; *杨明, E-mail: yangming16@126.com

RSD = 2.26 % , 表明样品溶液显色后 1 h 内稳定。

2.7 重复性试验

对同一批黄芪多糖样品进行 6 次独立测定吸光度, 结果 RSD = 3.58 %。

2.8 加样回收率试验

取 6 份已知含量的黄芪粗粉 2.5 g, 精密称定, 精密加入适量葡萄糖对照品, 按正文拟定的方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 2 mL 于具塞试管中, 按 2.3 测定方法分别加入 5 % 苯酚溶液 1.0 mL, 在 489 nm 处测定吸光度, 计算结果见表 1。

表 1 黄芪多糖加样回收率试验

编号	取样量 /g	样品中含量/mg	对照品加入量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率/%	RSD /%
1	2.500 0	0.503 5	0.502 7	0.989 4	96.66	99.84	3.71
2	2.499 0	0.503 3	0.502 3	0.980 8	95.06		
3	2.499 0	0.503 3	0.502 7	0.998 0	98.41		
4	2.504 6	0.504 4	0.503 2	1.015 2	101.51		
5	2.505 0	0.504 5	0.504 2	1.023 8	103.00		
6	2.501 8	0.503 9	0.503 6	1.029 6	104.39		

2.9 样品测定

取 3 批黄芪样品粗粉 5.0 g, 精密称定, 按供试品溶液制备方法制备样品溶液, 精密吸取样品溶液 2 mL 于具塞试管中, 按 2.3 方法分别加入 5 % 苯酚溶液 1.0 mL, 在 489 nm 处测定吸光度, 计算结果见表 2。

表 2 黄芪中黄芪多糖含量测定

批号	黄芪多糖含量		/mg·g ⁻¹
	黄芪多糖含量	平均含量	
090402	212.088 3	221.931 7	217.010 0
090504	218.680 6	213.948 3	216.314 5
090506	226.644 9	218.697 1	222.671 0

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

参照文献^[7]可知碱水提取多糖收率比水提取要高。这主要是由于碱溶液对植物细胞起到破壁作用^[8], 但由于本实验将黄芪样品全部粉碎用粗粉进行实验, 碱水提取黄芪多糖含量 215.89 mg·g⁻¹, 水提取黄芪多糖含量 197.54 mg·g⁻¹, 故差别不是很明显。

3.2 测定波长的选择

分别精密吸取对照品溶液和样品溶液各 2 mL 于

具塞试管中, 加 5 % 苯酚试液 1 mL, 混匀, 迅速加入 5 mL 浓硫酸, 振摇 2 min, 置沸水浴加热 15 min, 取出置冷水中冷却, 随行以蒸馏水为空白, 于 UV - 1700 上从 400 ~ 600 nm 进行扫描, 发现对照品和样品溶液在 489 nm 均有最大吸收, 故波长确定为 489 nm。

3.3 溶剂用量考察

精密称取 5.0 g 黄芪粗粉 3 份, 分别加入碱水 40, 50, 60 mL 回流提取 1 h, 放冷加溶剂补足重量, 过滤, 精密吸取滤液 0.2 mL, 蒸馏水定容至 100 mL 量瓶中, 精密吸取上述溶液各 2 mL 于具塞试管中。按 2.3 测定方法分别加入 5 % 苯酚溶液 1.0 mL, 在 489 nm 处测定吸光度, 结果表明黄芪药材采用 50 mL 溶剂提取黄芪多糖含量较高。

3.4 提取时间考察

精密称取 5.0 g 黄芪粗粉 3 份, 加入碱水 50 mL, 分别回流提取 60, 90, 120 min, 放冷加溶剂补足重量, 过滤, 精密吸取滤液 0.2 mL, 蒸馏水定容至 100 mL 量瓶中, 精密吸取上述溶液各 2 mL 于具塞试管中。按 2.3 测定方法分别加入 5 % 苯酚溶液 1.0 mL, 在 489 nm 处测定吸光度, 结果表明黄芪药材采用 60 min 提取黄芪多糖含量较高。

3.5 提取次数考察

精密称取 5.0 g 黄芪粗粉 3 份, 加入碱水 50 mL 回流提取, 分别提取 1、2、3 次, 每次 1 h, 放冷加溶剂补足重量, 过滤, 精密吸取滤液 0.2 mL, 蒸馏水定容至 100 mL 量瓶中, 精密吸取上述溶液 2 mL 于具塞试管中。按 2.3 测定方法分别加入 5 % 苯酚溶液 1.0 mL, 在 489 nm 处测定吸光度, 结果表明提取 2 次黄芪多糖含量较高。

实验建立的方法简便、准确、重复性好, 可用于黄芪中黄芪多糖的含量测定。**TCM**

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 283-284.
- [2] 肖培根, 杨世林, 赵永华, 等. 黄芪[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 123-124.
- [3] 翁玲, 刘彦, 刘学英, 等. 黄芪多糖粉剂对小鼠免疫功能的影响[J]. 免疫学杂志, 2003, 19(3): 243-244.
- [4] 李宏全, 段县平, 马海利, 等. 黄芪多糖提高鸡抗氧化作用对免疫功能的影响[J]. 山西农业大学学报, 2002, 22(1): 78-81.
- [5] 张宇, 赵玉梅, 佟丽华, 等. 黄芪地下和地上部分有效成分比较[J]. 中草药, 1997, 28(11): 651-653.
- [6] 朱立文, 郝瑞昌. 黄芪多糖含量测定方法的探讨与比较

(下转第 37 页)