

苯酚 硫酸法测定百蕊草中多糖的含量

王峥,李云森,李绍顺(上海交通大学药学院,上海 200240)

摘要:目的 建立苯酚 硫酸法测定百蕊草多糖的含量。方法 采用 60%乙醇除去黄酮类成分,再以水提醇沉的方法分离纯化百蕊草多糖,最后用苯酚 硫酸法测定百蕊草多糖的含量。结果 在 0.01~0.07 mg/mL 内,浓度与吸收度呈良好线性。回归方程: $A = 15.644C - 0.0053$, $r = 0.9995$,平均回收率为 99.6%,RSD 为 1.92% ($n = 9$)。百蕊草多糖的含量为 15.9%,RSD 为 1.56% ($n = 5$)。结论 方法简便,结果准确,为百蕊草多糖的进一步研究奠定良好的基础。

关键词:百蕊草;多糖;苯酚 硫酸法;含量测定

中图分类号: R917.791.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)06-0483-02

Determination of the polysaccharide in *Thesium chinense* by phenol-sulfuric acid method

WANG Zheng, LI Yun-sen, LI Shao-shun(The School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop phenol-sulfuric acid method for the determination of polysaccharide in *Thesium chinense* Turcz. **METHODS** The flavones in *Thesium chinense* Turcz. were eliminated with 60% ethanol, then the polysaccharide of *Thesium chinense* Turcz. was separated and purified with water extracting and ethanol depositing. The content was determined by phenol-sulfuric acid method. **RESULTS** From the range of 0.01~0.07 mg/mL, there was an excellent linear shape between the concentration and absorbance. The regression equation: $A = 15.644C - 0.0053$, $r = 0.9995$. The average recovery was 99.6% with RSD of 1.92% ($n = 9$). The content was 15.9%, RSD = 1.56% ($n = 5$). **CONCLUSION** The method is simple and accurate.

KEY WORDS: *Thesium chinense* Turcz.; polysaccharide; phenol-sulfuric acid method; determination

百蕊草,别名百乳草、小草、地石榴、细须草、一棵松等,为檀香科(Santalaceae)植物百蕊草(*Thesium chinense* Turcz.)或其变种长梗百蕊草(*Thesium chinense* Turcz. var. *longipedunculatum*)的干燥全草^[1],始载于《图经本草》。百蕊草为多年生寄生草本,根上有寄生根,常附着在其他活体植物根上而生长^[2],资源丰富,全国各地均有分布。百蕊草味辛、微苦,性寒。归肺、脾、肾经。全草入药有清热解毒,补肾涩精之功效。多用于治疗急性乳腺炎,急性扁桃体炎,上呼吸道感染,肺炎,咽炎,肺脓肿,淋巴结核,乳蛾,乳痈,疔肿,淋证,黄疸以及肾虚腰痛,遗精等疾病,且无不良反应^[1-4]。文献报道百蕊草含有黄酮、有机酸、生物碱、甾醇、酚类、挥发油、甘露醇以及一种黄酮醇葡萄糖苷^[4]。但没有多糖的报道。我们首次从该植物提取出了水溶性多糖,为了确定百蕊草多糖的含量,利用苯酚 硫酸法制得醛糖衍生物,采用分光光度法对百蕊草多糖含量进行测定。

1 材料

1.1 仪器与试剂

紫外/分光光度计(UV751GD,上海分析仪器总厂),真空干燥箱(DZF-型,上海福玛实验设备有限公司),旋转蒸发器(BUCHI),葡萄糖(AR级 105℃干燥至恒重)。实验中所用试剂均为分析纯。

1.2 药材

百蕊草,由安徽中医学院药学系王德群教授鉴定为 *Thesium chinense* Turcz.。

2 实验方法

2.1 葡萄糖储备液的制备

精密称取葡萄糖对照品 100mg,用蒸馏水溶解并定容至 100mL。

2.2 苯酚液的配制

称取苯酚 200g置于圆底烧瓶中,加入 0.2g铝片和 0.1g碳酸氢钠,加热蒸馏,收集 182℃ 馏分,称取 10g,加蒸馏水 150mL,溶解,置棕色瓶放冰箱中备用。

2.3 百蕊草多糖的提取和精制

百蕊草干燥全草,粉碎过 40 目筛,精密称取药材粉末 10g,加入 60%乙醇溶液 200mL浸泡过夜后置 50℃水浴加热回流 4h,过滤,药渣再加入 60%乙醇溶液 100mL回流提取 1h,过滤。药渣在 50℃减压干燥至干后,加入蒸馏水 200mL,浸泡过夜后在 100℃提取 3h,过滤,药渣再加入蒸馏水 200mL,在 100℃提取 3h,过滤,合并滤液。减压浓缩提取液至 0.1g药材/mL体积,加入无水乙醇使醇浓度达到 60%,静置 1h,抽滤,得到深褐色沉淀。沉淀用 30mL热水溶解,加入氯仿-正丁醇(1:1)100mL,提取 2次,水溶液加入无水乙醇使醇浓度达到 60%,静置 1h,抽滤,用无水乙醇 50mL和丙酮 50mL洗涤沉淀多次,抽干,低温减压干燥,得到棕黄色百蕊草多糖。

2.4 线性关系考察

精密量取葡萄糖储备液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5 mL对照品溶液,分别置 50mL量瓶中,加水至刻度,摇匀。精

精密量取上述各浓度溶液 2 mL,各加入苯酚试液 1.0 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 5.0 mL,迅速摇匀,放置 5 min置沸水浴加热 15 min,取出,冷水迅速冷却至室温;精密量取蒸馏水 1.0 mL,同样操作,作为空白对照,按分光光度法在 490 nm 波长处测定吸光度。

2.5 样品的测定

精密称取百蕊草多糖 100 mg,加水溶解置于 50 mL 量瓶中,加水定容,摇匀。精密量取 1 mL,置 50 mL 量瓶中,加水至刻度,定容摇匀。精密量取上述溶液 4.0 mL,加入苯酚试液 1.0 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸 5 mL,迅速摇匀,放置 5 min,置沸水浴加热 15 min,取出,冷水迅速冷却至室温;精密量取蒸馏水 4.0 mL 作为空白对照,按分光光度法在 490 nm 波长处测定吸光度值。

2.6 精密度试验

取同一样品,精密称定,重复测定吸光度 5 次。

2.7 稳定性试验

取同一样品,按样品测定方法操作,每隔 0.5 h 测定 1 次吸光度。

2.8 重复性试验

对同一批样品重复取样 5 次,按样品测定方法操作。

2.9 回收率试验

精密称定同一份样品 9 份,分别精密加入高、中、低三种浓度不同的葡萄糖对照品溶液,按样品测定方法测定吸光度值。

3 结果与讨论

3.1 标准曲线 按照线性关系考察方法操作一次,以吸收度 (A)对浓度 (C)作回归计算,回归方程为 $A = 15.644C - 0.0053$, $r = 0.9995$,线性范围: $0.01 \sim 0.07 \text{ mg/mL}$ 。

3.2 精密度试验测定

RSD 为 1.21%,结果表明该方法精密度良好。

3.3 稳定性试验

测定结果表明 3 h 之内测定值不变。

3.4 重复性试验结果

RSD 为 1.89%。

3.5 回收率测定结果

回收率平均值为 99.6%,RSD 为 1.92% ($n = 9$)。

3.6 样品测定结果

连续测定 5 批百蕊草多糖样品,平均含量为 15.9%,RSD 为 1.56%。

3.7 讨论

在我们对百蕊草化学成分研究当中发现该植物除了含有黄酮苷和苷元外还有水溶性多糖的存在。我们根据文献报道比较了经典的苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法测定百蕊草多糖含量,其中苯酚-硫酸法测定样品平均含量为 15.9%,方法简便,结果准确,为百蕊草多糖研究奠定良好的基础。而蒽酮-硫酸法测定百蕊草多糖含量偏低,本实验未加报道。不同的测定方法测得的多糖含量有很大的差别,主要因为不同类型的多糖,尤其是杂多糖^[5]。因此有待于进一步对百蕊草多糖进行分析研究。

参考文献

- [1] Chinese Herb committee of State Administration of Traditional Chinese Medicine Chinese Herb(中华本草)[M]. Shanghai, Science and Technique Publishing Company of Shanghai, 1999 (2): 595-597.
- [2] WU Z F, LIANG G M, LIU S J. The study of Thesium chinense Turcz on phytochemistry and host[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药), 1993, 24(8): 429-430.
- [3] Jiangsu New Medical College. Big Thesaurus of Traditional Chinese Medicine(中药大辞典)[M]. Shanghai, Science and Technique Publishing Company of Shanghai, 1981: 866.
- [4] The Research Group of Thesium chinense Turcz of Anhui Institute of Medicine. The chemical study in Thesium chinense Turcz. [J]. Letter of Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药通讯), 1976, (8): 342-348.
- [5] CHEN H Y, ZHU Y Z, WU N J et al. Determination of the polysaccharide in Epimedium koreanum Nakai[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药), 2003, 34(9): 810-811.

收稿日期: 2005-06-21