

分光光度法测定紫贻胶囊山楂总黄酮含量

徐旭军¹, 周景琳², 徐强³ (1. 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310029; 2. 浙江大学邵逸夫医院, 浙江 杭州 310016; 3. 浙江省中药研究所, 浙江 杭州 310023)

摘要:目的 建立紫贻胶囊山楂黄酮的质量控制方法。方法 采用分光光度法测定紫贻胶囊山楂黄酮的含量并进行了方法学研究。结果 本法中山楂黄酮在 0~0.714mg 之间线性良好, 相关系数 $r=0.9993$ ($n=5$), 平均回收率 98.24%。结论 本法简便, 快速, 重现性好, 可用于本制剂及山楂药材的含量测定及质量控制。

关键词: 山楂黄酮; 分光光度法

紫贻胶囊由山楂、紫贻贝等组成, 具有降脂清脂之功效。我们以山楂中的山楂总黄酮作为质量控制指标成份, 对该药进行含量测定的研究。本试验根据现有条件选用了三氯化铝显色法, 以芦丁为标准, 准确测定紫贻胶囊山楂总黄酮的含量。为控制该制剂的质量, 我们对山楂中所含的总黄酮进行了含量测定, 方法易行, 结果准确。为山楂及其复方制剂提供了又一质控依据。

1 仪器与试剂

PE-lambda20 型紫外可见分光光度仪; 芦丁对照品: 购于中国药品生物制品检定所; 其它试剂均为分析纯级。

2 实验方法

2.1 对照品溶液的制备

精密称取干燥至恒重的芦丁对照品适量, 置容量瓶中, 加 95% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 mL 含芦丁对照品 0.238mg 的溶液, 即得。

2.2 样品测定

供试液的制备: 精密量取本品 2g, 加 95% 乙醇 50mL 回流 4h, 滤过, 挥干滤液, 加水定容至 25mL。分取 5mL 上样于聚酰胺柱(内径 1.5cm, 聚酰胺 4g)上, 加水 100mL 冲洗后, 用 80% 乙醇 50mL 洗脱, 收集洗脱液, 置蒸发皿中, 水浴挥至近干, 加水溶解、定容至 25mL, 摇匀, 即得。

含量测定: 精密量取供试液 2mL, 芦丁对照品溶液 1mL, 分别置 10mL 量瓶中, 分别精密加 5% 亚硝酸钠溶液 0.3mL, 摇匀, 放置 1min, 精密加 10% 三氯化铝溶液 0.3mL, 摇匀, 放置 6min, 加 1M 氢氧化钠溶液 2mL, 加水稀释至刻度, 摇匀, 放置 6min。同法制备空白溶液。在 510nm 波长处测定吸收度。计算, 即得。

2.3 标准曲线的制备

精密量取芦丁对照品溶液(0.238mg/mL) 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3mL, 分别置 10mL 容量瓶中, 各加水至 3mL, 精密加 5% 亚硝酸钠溶液 0.3, 摇匀, 放置 1min, 精密加 10% 三氯化铝溶液 0.3mL, 摇匀, 放置 6min, 加 1M 氢氧化钠溶液 2mL, 加水稀释至刻度, 摇匀, 放置 6min。以第一份为空白, 在 510nm 波长处测定吸收度(A), 以 A 为纵坐标, 浓度(C)为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。 $Y = 1.237X - 1.004 \times 10^{-1}$,

其线性范围为 0~0.714mg。线性关系 $r=0.9993$ 。

2.4 芦丁的最大吸收波长

吸取芦丁对照品液, 按标准曲线制备方法显色, 用紫外可见分光光度计在 400~700nm 波长范围内测定吸收曲线, 在 510nm 处呈现最大吸收。

2.5 显色稳定性试验

取样品适量, 按含量测定项下方法制备供试液, 依法显色后放置 10, 20, 30, 40, 50, 60min, 在波长为 510nm 处进行测定, 其 A 值分别为 0.245, 0.241, 0.243, 0.240, 0.239, 0.237。结果表明供试品液显色后 1h 内 A 值基本稳定。

2.6 精密度试验

取样品适量, 按含量测定项下方法制备供试液。分取 6 份供试液进行实验, 显色后测定 A 值, 分别为 0.251, 0.238, 0.237, 0.241, 0.248, 0.245。可知, 其相对标准偏差小于 5%, 精密度达到要求。

2.7 重现性试验

精密量取样品 5 份, 分别按含量测定项下方法测定, 5 份样品总黄酮含量分别为 26.56, 25.84, 26.92, 25.77, 26.07mg/g。平均含量 26.23mg/g, RSD 为 1.68%。

2.8 回收率试验

称取以上样品 5 份, 分别添加适量标准, 按前述操作进行处理, 测定, 以加标测得量减去原样含量, 除以加标量, 计算回收率, 结果平均回收率为 98.24%, RSD 为 2.85%。

3 讨论

据文献报道, 与山楂中黄酮共存的很多物质都能溶解于乙醇-水溶液, 为防止这些杂质干扰测定, 我们试用了聚酰胺吸附法处理提取液, 将样品中干扰测定的其它多元酚和色素等杂质滞留在聚酰胺上, 使黄酮类化合物母核上所含有游离羟基与金属铝形成络合物而显色, 然后比色测定, 达到定量目的。本研究将常用的 $Al(NO_3)_3$ 显色法与聚酰胺吸附提纯相结合, 成功地解决了山楂中所含色素和其它多元酚干扰问题, 并简化了操作。为紫贻胶囊广泛用于降脂清脂, 治疗和预防冠心病和高血脂, 并保证疗效, 意义深远。

收稿日期: 2004-06-16