

## ★交流★

UV法测甘草黄酮微丸含量<sup>\*</sup>陈丽华<sup>1</sup>, 徐德生<sup>2\*</sup>, 冯怡<sup>3</sup>

(1. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004

2. 上海中医药大学曙光医院, 上海 200021; 3. 上海中医药大学, 上海 201203)

**摘要** 目的: 建立甘草黄酮微丸的含量测定方法。方法: 采用紫外分光光度法, 以甘草苷为指标性成分, 在 335 nm 波长处进行含量测定。结果: 测定微丸中甘草黄酮含量以甘草苷计为 36.2%, 甘草苷在 4.07~20.35 μg 范围内线性关系良好 ( $r=0.9997$ ), 平均回收率 ( $n=9$ ) 为 98.6%。结论: 本测定方法简便、快速, 准确性和重复性好。

**关键词:** 甘草黄酮微丸; 甘草苷; 紫外分光光度法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)01-0128-02

UV spectrophotometry determination of content of glycyrrhiza total flavones pellets<sup>\*</sup>CHEN Li-hua<sup>1</sup>, XU De-sheng<sup>2\*</sup>, FENG Yi<sup>3</sup>

(1. Key Lab for Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional

Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Shuguang Hospital, Shanghai University of TCM, Shanghai 200021, China;

3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

**Abstract** **Objective** To establish a method for determining the quantitative of glycyrrhiza total flavones pellets by UV spectrophotometry. **Method** Liquiritin was used as the reference component for UV spectrophotometry, determined at 335 nm. **Results** The quantitative of total flavones from pellets calculated with reference to liquiritin was 36.2%; The linear range of liquiritin was 4.07~20.35 g ( $r=0.9997$ ); The average recovery ( $n=9$ ) was 98.6%. **Conclusion** The method is simple, accurate and reliable for determining the quantitation of glycyrrhiza total flavones.

**Key words** glycyrrhiza total flavones pellets; liquiritin; UV spectrophotometry

甘草为多年生草本植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) 的根及根茎, 其主要有效成分包括黄酮类、三萜类、多糖等。近年来, 甘草药理作用的研究结果表明甘草中的黄酮类化合物具有抗肿瘤、解痉镇痛、对酶抑制等多种药理作用<sup>[1]</sup>。本文采用紫外分光光度法测定甘草黄酮微丸含量, 为微丸的质量控制提供依据。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Agilent 8453 紫外可见分光分析仪 (美国 Agilent 公司), 752-N 型紫外分光光度计 (上海分析仪器厂), FA 2104 N 型电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); BP 211 D Sartorius 电子天平。

**1.2 试剂** 甘草黄酮微丸 (自制: 70% 甘草黄酮, 30% 微晶纤维素; 批号 061209, 061211, 061215); 甘

草苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 11610-200401); 十二烷基硫酸钠 (SDS, 武汉远城科技发展有限公司)、甲醇、氢氧化钾均为分析纯。

## 2 方法与结果

## 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品储备液** 精密称取甘草苷对照品 4.07 mg 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解后, 冷却至室温, 再加甲醇稀释至刻度, 摇匀后即得。

**2.1.2 供试品溶液** 将甘草黄酮微丸研成细粉, 精密称取细粉约 50 mg 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇 45 mL, 超声处理 90 min (频率 80 kHz, 功率 220 W), 放冷, 用甲醇稀释至刻度, 混匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得。

**2.2 检测波长的确定** 甘草黄酮微丸的主要有效

\* 上海市重点学科建设项目资助 (项目编号: T0301); 上海市科委项目资助 (项目编号: 04DZ19841); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (项目编号: 20060268009)

\*\* 通讯作者 Tel: (021) 51322493 Fax: (021) 51322491; E-mail: xudes1953@126.com

成分为甘草黄酮。以甘草苷为指标性成分进行紫外全波长扫描, 光谱显示甘草苷在 285 nm 与 335 nm 处均有最大吸收, 甘草黄酮微丸在 335 nm 处有最大吸收峰, 因此选用在 335 nm 波长处检测, 灵敏度较好, 误差较小。

**2.3 线性关系考察** 精密量取对照品储备液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL, 分别加甲醇至 1 mL, 准确加入 10% 氢氧化钾溶液 0.5 mL, 用甲醇定容至 10 mL; 量取甲醇 1 mL, 准确加入 10% 氢氧化钾溶液 0.5 mL, 以甲醇定容至 10 mL 为空白对照液; 采用紫外分光光度法在 335 nm 处测定吸收度, 以吸收度为纵坐标, 溶液浓度为横坐标, 绘制标准工作曲线, 得到线性回归方程为:

$$A = 0.0513C + 0.0205 \quad r = 0.9997$$

线性范围为 4.07~20.35  $\mu\text{g}$

**2.4 精密度试验** 准确量取对照品储备液 0.3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 按“2.3”项自“加甲醇至 1 mL,”起操作, 在 335 nm 处测定吸收度, 6 次测定结果的 RSD 为 1.1%。

**2.5 稳定性试验** 准确量取上述对照品储备液 0.3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 按“2.3”项自“加甲醇至 1 mL”起操作, 分别于 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 360, 480 min 在 335 nm 处测定其吸收度。结果表明: 在不同时间间隔点测定其吸收度, 并观察其变化情况, 显色溶液基本稳定, 吸收度值趋于稳定, RSD 为 1.2%。

**2.6 重复性试验** 取微丸研匀, 精密称取 6 份, 每份约 50 mg, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 准确量取此溶液 0.3 mL, 按“2.3”项自“加甲醇至 1 mL”起操作, 在 335 nm 处测定吸收度, 以外标 2 点法计算每份样品中甘草黄酮的含量 (以甘草苷计)。结果含量平均值 ( $n=6$ ) 为 36.7%, RSD 为 1.1%, 表明本方法重复性良好。

**2.7 准确度试验** 取已测知含量 (以甘草苷计的 36.5%) 的甘草黄酮微丸 11.5 mg 共 9 份, 3 份为 1 组, 分别置 50 mL 量瓶中, 每组分别加入甘草苷对照品 2.7, 4.2, 5.6 mg, 按“2.1.2”项下自“加入甲醇 45 mL”起操作, 制备所需溶液, 准确量取此溶液 0.5 mL, 按“2.3”项自“加甲醇至 1 mL”起操作, 在 335 nm 处测定吸收度, 由测定结果计算低、中、高 3 个浓度的回收率 ( $n=3$ ) 分别为 97.4% (RSD = 2.1%), 96.7% (RSD = 1.8%), 101.7% (RSD = 2.3%); 平均回收率 ( $n=9$ ) 为 98.6%。

**2.8 含量测定** 按“2.1.2”项下方法每批样品制

备 3 份供试品溶液, 分别按“2.3”项自“加甲醇至 1 mL”起操作, 在 335 nm 处测定吸收度, 以外标 2 点法计算含量。结果 3 批样品中甘草黄酮的含量 (以甘草苷计,  $n=3$ ) 分别为 36.4%, 35.8%, 36.6%; RSD 分别为 1.4%, 1.7%, 1.3%。

### 3 讨论

甘草黄酮微丸的主要有效成分为甘草黄酮, 通常黄酮的含量测定多选用以芦丁为指标性成分的硝酸铝比色法<sup>[2,3]</sup>, 并在 510 nm 处测定, 但甘草黄酮经显色后在 510 nm 处吸收很小, 误差较大; 以柚皮苷为指标性成分的碱性比色法<sup>[4,5]</sup>, 柚皮苷结构为 5, 7, 4'-三羟基二氢黄酮, 虽然是二氢黄酮类化合物, 但同结构为 7-羟基二氢黄酮-4'-葡萄糖苷的甘草苷相比, 除都具有 7 位羟基外, 还有 5 位的游离羟基, 且 4' 位的羟基是游离的, 未结合成苷。因此选择黄酮中甘草苷为指标性成分进行紫外全波长扫描, 灵敏度较好, 误差较小。

结合文献资料<sup>[3]</sup>, 比较了超声时间对甘草黄酮提取效果的影响, 结果表明: 对甲醇超声 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 min 的样品进行测定, 发现随着时间的增加, 黄酮含量升高, 90 min 后黄酮含量基本提取完全。故供试品溶液制备方法确定为: 甘草黄酮微丸研成细粉, 精密称取细粉约 50 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇 45 mL, 超声时间为 90 min (频率 80 kHz, 功率 220 W)。

### 参考文献

- 1 WANG Dong (王东), DA I Bin (代斌). Pharmacological research progress on glycyrrhiza flavonoids (甘草黄酮的某些药理作用研究进展). *Forum Tradit Chin Med* (国医论坛), 2005, 20(3): 53
- 2 SUN Ping (孙萍), LI Yan (李艳), CHEN Yu-hua (成玉怀). Microwave technique extraction and content determination of chromone in Glycyrrhiza glabra L. (甘草总黄酮的微波提取及含量测定). *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2003, 14(5): 266
- 3 LÜ X in (吕欣), FU Yu-jie (付玉杰), WANG Wei (王微), et al. Determination of flavonoids in Glycyrrhiza uralensis Fisch. with ultraviolet spectrophotometry (紫外分光光度法测定甘草黄酮含量). *Bull Bot Res* (植物研究), 2003, 23(2): 192
- 4 LI Bing-qi (李炳奇), WANG He-bin (汪河滨), LI Hong (李红), et al. Selection of optimum solvent of combined extracting flavonoids and glycyrrhizic acid from Glycyrrhiza (甘草黄酮和甘草酸联合提取溶剂系统的筛选). *Mod Food Sci Technol* (现代食品科技), 2005, 21(1): 6
- 5 WANG He-bin (汪河滨), LI Bing-qi (李炳奇), LI Xue-yu (李学禹), et al. Ultrasonic extraction and content determination of flavonoids of Glycyrrhiza (甘草中黄酮的超声提取及含量测定). *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2004, 15(12): 815

(本文于 2008 年 12 月 1 日修改回)