

# 等吸收双波长消去法测定麦冬类皂甙成分

余伯阳 吴 代世俊<sup>1</sup> 徐国钧

(中国药科大学中药分析教研室 210038)

关键词 等吸收双波长消去法；麦冬；皂甙

麦冬为常用中药,具养阴清热、润肺生津的功能。当前商品流通中除药典规定的麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L.f.) Ker-Gawl 块根外,尚有沿阶草属 *Ophiopogon* Ker-Gawl 和山麦冬属 *Liriope* Lour. 多种植物的块根<sup>[1]</sup>。药理研究表明皂甙是麦冬类中药的活性成分之一。用 HPLC 法可测定单体皂甙,对总皂甙的测定有一定困难;用单波长分光光度法,

无法排除糖的干扰。因此我们采用等吸收双波长消去法<sup>[2]</sup>,对不同产地的 10 个样品进行总皂甙的含量测定,结果表明此方法简单易行、可靠,在一定程度上排除糖的干扰。

## 1 仪器与试药

### 1.1 实验材料

见表 1

Tab. 1 Test materials

Species	Scientific names	Origin
1. Hubei Maidong	<i>Liriope spicata</i> (Thunb.) Lour. var. <i>prolifera</i> Y. T. Ma	Hubei
2. Hubei Maidong	<i>L. spicata</i> (Thunb.) Lour. var. <i>prolifera</i> Y. T. Ma	Hubei
3. Hubei Maidong	<i>L. spicata</i> (Thunb.) Lour. var. <i>prolifera</i> Y. T. Ma	Hubei
4. Shan Maidong	<i>L. spicata</i> (Thunb.) Lour.	Shanxi Xian
5. Maidong	<i>Ophiopogon japonicus</i> (L.f.) Ker-Gawl	Zhejiang Xiaoshan
6. Maidong	<i>O. japonicus</i> (L.f.) Ker-Gawl	Zhejiang Gixi
7. Jianxing Yanjiecao	<i>O. intermedium</i> D. Don	Sichuan Nanchan
8. Duanyao Yanjiecao	<i>O. angustifoliatus</i> (Wang et Tang) S. Chen.	Sichuan Nanchan
9. Sichuan Yanjiecao	<i>O. szechuanensis</i> Wang et Tang	Sichuan Nanchan
10. Xinan Yanjiecao	<i>O. mairei</i> Lev.	Sichuan Baxian

## 1.2 标准品

山麦冬皂甙 J(25(s)-ruscogenin l- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] $\beta$ -D-xylopyranosy(1 $\rightarrow$ 3) $\beta$ -D-fucopyranoside

## 1.3 试剂与药品

高氯酸(70.0%~72.0% AR, 上海光华试剂厂), 正丁醇、氯仿(AR, 南京化学试剂厂), 甲醇(AR, 上海振兴化工厂)。

## 1.4 仪器

7520型分光光度计(上海分析仪器厂), 岛津 UV-2100 分光光度计。

## 2 实验条件

### 2.1 测定波长的选择

精密吸取山麦冬皂甙 J( $7.4 \times 10^{-3}$  mg/ml)、无水葡萄糖(0.2 mg/ml)甲醇液 0.3 ml, 置于 25 ml 平底烧瓶中, 水浴挥干溶剂, 加高氯酸 10 ml, 摆匀, 65℃ 水浴, 20 min 内用 7520 型分光光度计间隔 2 nm 测定吸收值, 发现在 295 nm 和 325 nm 处, 葡萄糖吸收值相等, 而山麦冬皂甙 J 有明显差异。

## 2.2 显色条件

用正交设计实验选择显色时间、温度及高氯酸的用量,结果表明 65°C、10 ml 15 min 为最佳条件。

## 2.3 稳定性试验

精密吸收标准溶液 1 ml,水浴挥干,加高氯酸 10 ml,密塞,水浴加热 15 min,立即用冰水停止反应,记时,在 1~4 h 内吸收值稳定。

## 3 方法与结果

### 3.1 标准曲线的绘制

精密称量标准品 3.7 mg 于 50 ml 量瓶中,甲醇定容。

精密吸取 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ml 标准溶液置于平底烧瓶中,水浴挥干。加入高氯酸 (70.0%~72.0%) 10 ml,密塞,65°C 水浴加热 15 min,冰水停止反应,1~4 h 内于 295, 325 nm 波长测定吸收值,高氯酸为空白。以浓度 (C) 为横坐标,吸收差值 ( $\Delta A$ ) 为纵坐标作图。线性范围 2~15  $\mu$ g/ml, 回归方程:  $\Delta A = 13.3765C + 1.1281 \times 10^{-3}$ ,  $r = 0.9998$  ( $n = 5$ )。

### 3.2 样品溶液测定

精密称量干燥至恒重的样品粉末 1 g, 置于索氏提取器内, 80°C 甲醇回流提取, 待提取液无色, 将提取液定容至 100 ml, 精密吸取 20 ml, 挥干, 加蒸馏水 10 ml 溶解, 用水饱和的正丁醇液萃取 4 次 (15, 10, 10, 10 ml), 合并正丁醇部分, 用正丁醇饱和的水洗涤, 减压回收至干, 残渣用甲醇定容于 50 ml, 制成样品液。

精密吸取样品溶液,按“3.1”项下操作, 总皂甙含量按以下公式计算:

$$\text{总皂甙\%} = \frac{\text{样品溶液中浓度} (\text{mg}/\text{ml}) \times 10 \text{ ml}}{\text{实测药材质量}} \times 100\%$$

### 结果见表 2

### 3.3 精密度实验

精密称取 9 号样品 5 份,各 0.5 g,按

Tab. 2 The content of saponins in samples

No.	Weight, g	$\times 10^{-3} A_{325}$	$A_{295}$	$\Delta A$	Content, %
1	0.8776	0.206	0.168	0.038	3.14
2	1.6003	0.232	0.132	0.100	4.62
3	0.7984	0.288	0.189	0.099	9.16
4	2.0038	0.133	0.098	0.035	1.26
5	0.6010	0.514	0.352	0.162	7.51
6	1.1992	0.361	0.227	0.134	8.28
7	0.8022	0.171	0.127	0.044	4.00
8	1.1976	0.129	0.097	0.032	1.93
9	1.9960	0.190	0.147	0.043	1.57
10	0.8012	0.310	0.189	0.121	11.18

“3.2”项下操作,得总皂甙含量 1.8% ± 0.72%,  $RSD = 3.9\%$ 。

### 3.4 加样回收率试验

精密吸取 9 号样品溶液共 5 份,前 4 份加标准溶液 4 ml, 第 5 份加标准溶液 4.5 ml, 按“3.2”项下操作, 平均回收率 100.07%,  $RSD = 4.2\%$ 。

### 3.5 非皂甙成分对吸收度的影响

取 9 号样品分别用条状、点状点样,于硅胶 G 板上,用  $\text{CHCl}_3-\text{CH}(\text{OH})_3-\text{H}_2\text{O}$  (65: 35: 10) 下层展开, 对点状点样部分用 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4-\text{EtO H}$  显色, 显红色、墨绿色为皂甙, 以此为参考, 刮下带状点样的非皂甙部分, 用甲醇超声洗脱, 取滤液按“3.2”项下操作,  $\Delta A = 0.0001$ , 可说明等吸收双波长消去法能排除非皂甙成分的干扰。

## 4 讨论与小结

1) 留体皂甙分布较广, 常用中药重楼、麦冬、薯蓣、知母等均含此类成分。由于留体皂甙极性较大, 无紫外吸收, 无专一显色剂, 因此直接测定难度较大。目前常用皂甙元的含量来表明植物中皂甙的含量高低, 但是这种方法步骤繁琐, 重现性差, 而且无法避免皂甙水解不完全, 所以使得皂甙含量偏低。用 HPLC 法可直接测定单体皂甙含量<sup>[3]</sup>, 由于皂甙无紫外吸收, 因此检测困难, 采用末端吸收, 干扰较多; 单波长分光光度法选用显色剂如  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{HClO}_4$ , 不仅能与皂甙反应, 而且

能与植物中树脂、糖反应,此方法无法排除糖的干扰,造成皂甙含量偏高。所以,我们采用等吸收双波长法,这种方法不必水解皂甙,可测定总皂甙含量,在一定程度上排除糖的干扰,简单易行,可靠。

2) 用甲醇提取,水饱和正丁醇萃取,可排除脂溶性成分的干扰;但是正丁醇部分除皂甙外,还含有糖,为减少糖对测定的影响,采用等吸收双波长消去法,结果表明此法在一定程度上排除了糖的干扰 回收率 100.7%,说明方法可行。

3) 正丁醇部分中的糖除单糖外,还含有低聚糖,因为  $\text{HClO}_4$  与低聚糖反应,先水解低聚糖成单糖,而后进行糠醛缩合反应,所以选择等吸收波长时,我们用葡萄糖为背景,结果表明可靠。

4) 为了考察等吸收双波长消去法是否排除样品中其它成分的干扰,采用 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -EtOH 显色,薄层分离制备,把样品分为皂甙和非皂甙两部分,测定了非皂甙部分的吸收度,结果为:  $\Delta A = 0.0001$ , 可说明等吸收双波长消去法能排除皂甙成分的干扰。

5) 从含量测定结果可知,不同种 同种不同产地的麦冬药材皂甙含量有明显差异 1 2 3号为同种同产地,但是含量差异较大,原因尚待进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 1 易进海. 麦冬研究进展. 华西药学杂志. 1993, 8(1): 32
- 2 于如嘏. 分析化学. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 65
- 3 余伯阳, 徐国钧, 平井康昭等. HPLC 法测定山麦冬皂甙 B J 的含量. 中国药科大学学报, 1991, 22(2): 114

## Determination of Saponins in Mai Dong by Dual-Wave-length Spectrophotometry

Yu Boyang, Wu Tao, Dai Shijun, Xu Guojun

Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

**Abstract** The content of saponins of 10 kinds of Mai Dong belonging to *Ophiopogon* and *Liriope* from different areas was determined by dual-wave-length spectrophotometry, using  $\text{HClO}_4$  as staining agent. The result showed that the method was simple, stable and effective.

**Key words** Dual-wave-length spectrophotometry, Mai Dong saponins, *Ophiopogon*, *Liriope*