

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¹ 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^[1]。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^[2],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 Cixi
7. Jianxing Yanjiecao	<i>O. intermedius</i> D. Don	Sichuan Nanchan
8. Duanyao Yanjiecao	<i>O. angustifolius</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> Levl.	Sichuan Baxian

1.2 标准品

山麦冬皂甙 J(25(s)-ruscogenin)- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)] β -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3) β -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 (7.4×10^{-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, 摇匀, 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℃、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℃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(ΔA)为纵坐标作图。线性范围 2~ 15 μg/ml,回归方程:ΔA = 13.3765C + 1.128 × 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℃ 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:

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

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	$10^{-3}A_{325}$	A_{295}	ΔA	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% ± 0.7%, 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 CHCl₃-CH(OH)₃-H₂O (65: 35: 10) 下层展开,对点状点样部分用 10% H₂SO₄-EtOH 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,ΔA = 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) 甾体皂甙分布较广,常用中药重楼、麦冬、薯蓣、知母等均含此类成分。由于甾体皂甙极性较大,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^[3],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 H₂SO₄、HClO₄,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 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% $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-EtOH}$ 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 于如赓. 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 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 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*