

中药总苷成分群差式蒽酮-糖脲定量测量方法的建立

唐宇¹, 胡超¹, 廖琼¹, 邹欢¹, 刘文龙^{1,2}, 杨岩涛^{1,2}, 贺红^{1,2}, 贺福元^{1,2,3,4*}

1. 湖南中医药大学药学院 药剂教研室, 湖南 长沙 410208
2. 中药药性与药效国家中医药管理局重点实验室, 湖南 长沙 410208
3. 湖南中医药大学 现代中药制技术与评价实验室, 湖南 长沙 410208
4. 湖南中医药大学 中医药超分子机理与数理特征化实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 建立中药复方总苷类成分的定量测定方法——差式蒽酮-糖脲比色法。方法 用蒽酮比色法测定中药总糖苷(包括糖类)的量, 然后采用糖脲硫酸显色法测定还原性糖类的量, 两者相减, 即得中药总苷类成分的量。结果 蒽酮比色法的反应在6 h内完成; 测定波长为620 nm; 线性范围在80~180 $\mu\text{g/mL}$, $R^2=0.994$; 回收率为99.2%, RSD为1.35%。糖脲硫酸显色法的反应在4 h内完成; 测定波长为412 nm; 线性范围在2~12 mg/mL , $R^2=0.991$; 回收率为99.5%, RSD为1.98%。采用本法测得补阳还五汤、六味地黄丸、穿心莲片、黄芪注射液、茯苓多糖口服液5种中成药总苷的量依次为15.1、26.0、6.68 mg/g 及21.3、16.9 mg/mL 。结论 首次创立了中药复方中总苷类成分定量测定方法, 通过蒽酮比色法与糖脲硫酸显色法差值测算建立起以糖苷键为特征的成分群分析方法。方法学证明本法有较好的精确度, 能用于中药总苷成分群的定量测定。

关键词: 总苷成分群; 差式蒽酮-糖脲比色法; 蒽酮显色反应; 糖脲反应; 补阳还五汤; 六味地黄丸; 穿心莲片; 黄芪注射液; 茯苓多糖口服液

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)16-2333-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.16.010

Establishment of quantitative determination methods of total glycoside groups composition in Chinese materia medica by differential anthrone-sugar hydrazone

TANG Yu¹, HU Chao¹, LIAO Qiong¹, ZOU Huan¹, LIU Wen-long^{1,2}, YANG Yan-tao^{1,2}, HE Hong^{1,2}, HE Fu-yuan^{1,2,3,4}

1. Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
2. Property and Pharmacodynamic Key Laboratory of Chinese Materia Medica, State Administration of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
3. Pharmaceutical Preparation Technology and Evaluation Laboratory of Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China
4. Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of total glycosides in Chinese materia medica (CMM)—differential anthrone-sugar hydrazone colorimetry. **Methods** The content of total glycosides (including sugar) in CMM was determined by anthrone colorimetry, and then sugar hydrazone-sulfuric acid colorimetric method was used to determine the content of reducing sugars. The content of total glycosides came from the two subtraction. **Results** Anthrone colorimetric reaction was completed within 6 h, detection wavelength was 620 nm, linear range was 80—180 $\mu\text{g/mL}$, correlation coefficient $R^2 = 0.994$, and recovery was 99.2%, RSD was 1.35%. Sugar hydrazone-sulfuric acid color reaction method was completed within 4 h, detection wavelength was 412 nm,

收稿日期: 2014-01-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81073142, 81270055, 81173558)

作者简介: 唐宇(1983—), 女, 讲师, 在读博士, 从事中药提取动力学研究。Tel: (0731)8845827 E-mail: tangyu44@sina.com

*通信作者 贺福元, 教授, 博士后, 博士生导师, 从事中药药剂学、中药药理学、生物药剂学与药物动力学、中医药超分子机制与数理特征化研究。Tel: (0731)85381372 E-mail: pharmsharking@tom.com

linear range was 2—12 mg/mL, correlation coefficient $R^2 = 0.991$, and recovery was 99.5%, RSD was 1.98%. The total glycosides contents in five Chinese patent medicines such as Buyang Huanwu Decoction, Liuwei Dihuang Pill, *Andrographis* Tablet, *Astragalus* Injection, and Pachymaran Oral Liquid were 15.1, 26.0, 6.68 mg/g, and 21.3, 16.9 mg/mL. **Conclusion** This method is firstly established for the quantitative determination of total glycosides in CMM, and the ingredient group analysis method is established by anthrone colorimetry and sugar hydrazone-sulfuric acid colorimetric method. The methods have better accuracy, and can be used for the determination of total glycosides ingredients group of CMM.

Key words: total glycosides ingredients group; differential anthrone-sugar hydrazone colorimetry; anthrone color reaction; sugar hydrazone reaction; Buyang Huanwu Decoction; Liuwei Dihuang Pill; *Andrographis* Tablet; *Astragalus* Injection; Pachymaran Oral Liquid

总苷成分群是最常见的中药成分群之一。苷类亦称苷或配糖体，是由糖或糖的衍生物与另一非糖物质通过糖的半缩醛或半缩酮羟基与苷元脱水形成的一类化合物。总苷是所有含糖苷键的成分总称。几乎所有的天然产物均可与糖或糖的衍生物形成苷，所以苷的性质千变万化、结构各异，至今没有建立一种针对糖苷键的总苷定量测定方法。目前常以结构相似的成分作对照品，采用比色法、紫外可见分光光度法等方法测定近似的量^[1]。因此在总苷中，对于结构相差不大的苷类，可以用相近结构的成分作对照品来测定。但是对于结构式相差很大，如皂苷、黄酮苷、蒽醌苷等，建立一种以糖苷键为目标的配糖体定量测量方法显得十分重要^[2]。据此本实验将创立一种基于糖苷键为核心的配糖体的差式蒽酮-糖脎比色法。该法首先用乙醇除去多糖，再用蒽酮比色法测定总糖基（包括糖类）的量，再采用糖脎硫酸显色法测定还原性糖类的量，两者相减即得含糖苷键的成分群即总苷类成分的量。这种方法适用于所有含有苷键的化合物，因此是测量总苷成分的有效方法^[3]。

1 基本原理

1.1 蒽酮比色法原理

蒽酮比色法是一个快速而简便测定糖的方法。首先含糖苷的成分在浓硫酸的作用下水解成已游离的己糖、戊糖及己糖醛酸，并进一步脱水生成糠醛衍生物，再与蒽酮反应呈蓝绿色。本法多用于测定糖苷、多糖的量，也可用于葡萄糖的定量测定^[4]。

1.2 糖脎硫酸显色法原理

糖与苯肼作用得到糖脎，是用来鉴别糖的一个重要反应。不同的糖脎晶型不同，成脎所需要的时间也不同，并各有一定的熔点。脎的化学结构实质是一个二苯胺，凡是 α -羟基醛和 α -羟基酮均有此反应，即能形成糖脎者，结构中必须有游离的醛基或酮基。因此只有还原糖才有此反应发生，苷类成分

因不具备 α -羟基酮（醛）结构而不能成脎，利用此性质可消除还原性糖对总苷成分定量测定的干扰^[5]。

1.3 总苷类成分的定量测定

总苷类由糖和非糖物质通过糖的半缩醛或半缩酮羟基结构脱水形成，故总苷分子中不存在羟基半缩醛结构，不体现 α -羟基酮（醛）性质，为非还原性糖，可利用其不能成脎的性质，通过蒽酮比色法与糖脎硫酸显色法差值对中药复方中总苷类成分的量进行定量测定。蒽酮比色法适宜测定总糖苷的量（包括糖类），而对于没有形成苷键的糖多具有 α -羟基酮（醛）结构，体现还原性，能形成糖脎，故可用糖脎硫酸显色法测定。两者测得的量相减，可得半缩醛（酮）羟基成键后的总苷类成分的总量。

2 仪器与试剂

TU—1990 型紫外分光光度仪，北京普析通用仪器有限责任公司；MA110 型电子天平，上海天平仪器厂；ZK—82A 型真空干燥箱，上海实验仪器总厂；恒温水浴锅、可调温电炉，上海实验仪器总厂。蒸馏水，其他试剂均为分析纯。

六味地黄丸：产品批号 201208006，九芝堂股份有限公司，每 8 丸相当于 3 g 药材饮片；黄芪注射液：产品批号 1304232，正大青春宝药业有限公司，10 mL 相当于 20 g 饮片药材；茯苓多糖口服液：产品批号 20121001，湖南补天药业有限公司；穿心莲片：产品批号 13030102，哈药集团三精千鹤制药有限公司；补阳还五汤复方药材处方：黄芪 60 g、当归 9 g、川芎 6 g、赤芍 9 g、桃仁 9 g、红花 9 g、地龙 9 g，药材采购于湖南长沙医林药号，由湖南中医药大学药学院刘文龙副教授鉴定，黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根，当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根，川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎，赤芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia*

lactiflora Pall. 的干燥根茎, 桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子, 红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花, 地龙为环节动物门钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 的干燥主体。

0.1%蒽酮溶液: 称取 0.1 g 蒽酮和 1.0 g 硫脲, 溶于 100 mL 72%硫酸中, 贮存于棕色瓶中, 于 0~4 °C 下存放, 可保存 1 周, 最好现配现用; 72%硫酸溶液; 苯肼试剂: 5 g 盐酸苯肼溶于适量水中, 微热使之溶解 (若有色, 加少量活性炭脱色滤过), 然后加 9 g 醋酸钠晶体, 搅拌溶解, 加蒸馏水至 100 mL, 于 0~4 °C 下存放; 50%硫酸溶液。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的配制

3.1.1 蒽酮比色法对照品溶液的制备^[6] 精密称取 *D*-葡萄糖 100.2 mg 于 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度, 即得 1 mg/mL 的 *D*-葡萄糖对照品溶液, 分别精密吸取 4、5、6、7、8、9 mL 的 1 mg/mL *D*-葡萄糖对照品溶液, 置 50 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 得到 80、100、120、140、160、180 μg/mL 的系列对照品溶液。

3.1.2 糖脲硫酸显色法对照品溶液的制备 精密称取 *D*-葡萄糖 10.001 2 g 于 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水稀释至刻度, 即得 0.1 g/mL 的 *D*-葡萄糖对照品溶液, 分别精密吸取 1、2、3、4、5、6 mL 的 0.1 g/mL 的 *D*-葡萄糖对照品溶液, 置 50 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 得到 2、4、6、8、10、12 mg/mL 的系列对照品溶液。

3.2 供试品的配制

3.2.1 补阳还五汤方 称取处方量 111 g 补阳还五汤方药材, 加 888 mL 倍量蒸馏水回流提取。吸取提取液 5 mL (相当于原药材 0.625 g) 药液置小烧杯中, 加入 95%乙醇使含醇量达到 85%, 静置过夜后, 离心去沉淀, 将上清液倒入 50 mL 量瓶中, 用 85%乙醇定容至刻度即得差式蒽酮-糖脲比色法样品溶液 1。因补阳还五方为常见的含有总苷成分的方剂, 故以此方进行方法学考察试验。

3.2.2 六味地黄丸 称取 0.4 g 六味地黄丸 (相当于原药材 0.625 g) 按上述方法处理, 得到样品溶液 2。

3.2.3 黄芪注射剂 取 0.416 5 mL 黄芪注射剂液 (相当于原药材 0.625 g, 根据黄芪注射剂的含量换算, 使得黄芪注射剂和补阳还五汤的原药材都等于 0.625 g, 便于黄芪注射剂和补阳还五汤的比较) 按

上述方法处理, 得到样品溶液 3。

3.2.4 茯苓多糖口服液 吸取茯苓多糖口服液 0.416 5 mL (同黄芪注射剂液体积, 便于比较) 于 5 mL 量瓶中定量, 按上述方法处理, 得到样品溶液 4。

3.2.5 穿心莲片 称取穿心莲片 0.4 g (同六味地黄丸质量, 便于比较) 按上述方法处理, 得到样品溶液 5。

3.3 最佳波长 (λ_{\max}) 的确定

3.3.1 蒽酮比色法 取总苷样品液按蒽酮比色法操作进行, 即取稀释后的样品液 1 mL, 置具塞试管中, 沿管壁加入 4 mL 0.1%蒽酮溶液, 立刻摇匀浸入沸水浴中。在水浴中准确煮沸 10 min 后取出, 用冰水浴迅速冷却至室温显蓝色。于紫外可见分光光度计上以蒸馏水同样操作为空白扫描, 得到样品在 620 nm 处有最大吸收。分别取样品液、对照品葡萄糖液、空白蒸馏水 2 mL 按上述方法进行操作。于紫外可见分光光度计上以蒸馏水同样操作为空白扫描, 得到样品、对照品 620 nm 处有最大吸收。结果见图 1。

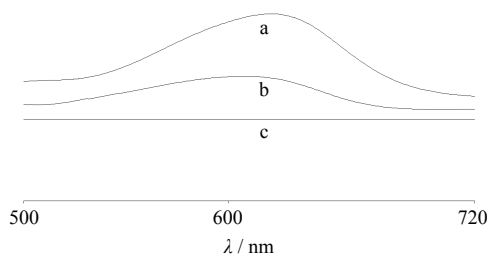


图 1 蒽酮比色法样品液 (a)、对照品液 (b) 和空白液 (c) 不同波长下的吸收曲线

Fig. 1 Absorption curves of anthrone colorimetry sample solution (a), reference solution (b), and blank solution (c) under different wavelengths

3.3.2 糖脲硫酸显色法 取总苷样品液 0.5 mL, 置具塞试管中, 加入 1.5 mL 苯肼试剂, 充分振荡此溶液, 并将试管放在沸水浴中加热 90 min, 室温冷却后用 50%的硫酸显黄色。然后用紫外分光光度计进行波长扫描, 在 418 nm 处有强吸收峰。取样品液、对照品葡萄糖液、空白蒸馏水各 2 mL 按上述方法进行操作。于紫外可见分光光度计上以蒸馏水同样操作为空白扫描, 得到样品、对照品在 418 nm 处有最大吸收。结果见图 2。

3.4 方法学考察

3.4.1 操作时间的考察及稳定性试验

(1) 蒽酮比色法: 取总苷样品液稀释一定倍数

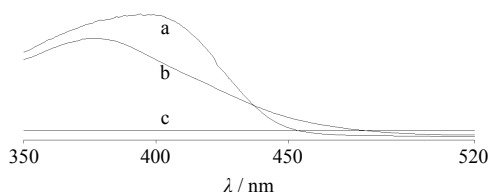


图 2 糖脲硫酸显色法样品液 (a)、对照品液 (b)、空白液 (c) 不同波长下的吸收曲线

Fig. 2 Absorption curves of sugar hydrazone sample solution of sulfuric acid colorimetric method (a), reference solution (b), and blank solution (c) under different wavelengths

后, 取样本数 3 份按蒽酮比色法操作, 于 620 nm 测定 0.5、1.0、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、9.0 h 的吸光度 (A) 值, 取平均值, 计算 RSD, 结果见表 1。可知反应应在 6 h 内完成。精密吸取样品液稀释一定倍数后, 按蒽酮比色法操作, 分别在 0、1、2、4、6 h 测定, 得 A 值分别为 0.599、0.613、0.595、0.583、0.543, 其 RSD 为 2.48%, 表明稳定性良好。

表 1 不同时间样品液的 A 值 (蒽酮比色法)
Table 1 A values of sample solution (anthrone colorimetry) at different time

| t/h | A | RSD / % | t/h | A | RSD / % |
|-------|-------|---------|-------|-------|---------|
| 0.5 | 0.614 | — | 4.0 | 0.583 | 2.13 |
| 1.0 | 0.613 | 0.12 | 5.0 | 0.554 | 3.45 |
| 2.0 | 0.595 | 1.76 | 6.0 | 0.543 | 4.38 |
| 2.5 | 0.597 | 1.67 | 7.0 | 0.522 | 5.54 |
| 3.0 | 0.588 | 1.92 | 9.0 | 0.515 | 6.34 |

(2) 糖脲硫酸显色法: 取总苷样品液样本数 3 份按糖脲硫酸显色法操作, 于 418 nm 测定 0.5、1.0、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、9.0 h 的 A 值, 取平均值, 计算 RSD, 结果见表 2。可知反应应在 4 h 内完成。精密吸取样品液稀释一定倍数后, 按糖脲比色法操作, 分别在 0、1、2、3、4 h 测定, 得 A 值分别为 0.280、0.284、0.293、0.311、0.314, 其 RSD 为 2.54%, 稳定性良好。

3.4.2 线性关系考察

(1) 蒽酮比色法: 吸取系列对照品溶液各 1 mL, 按蒽酮比色法测得对应 A 值, 由 A 值 (Y) 对质量浓度 (X) 进行回归, 得回归方程 $Y=0.0067X-0.1168$, $R^2=0.994$, 在 80~180 $\mu\text{g/mL}$ 两者线性关系良好。

表 2 不同时间样品液的 A 值 (糖脲硫酸显色法)

Table 2 A values of sample solutions (sugar hydrazone sulfuric acid colorimetric method) at different time

| t/h | A | RSD / % | t/h | A | RSD / % |
|-------|-------|---------|-------|-------|---------|
| 0.5 | 0.281 | — | 4.0 | 0.314 | 4.91 |
| 1.0 | 0.284 | 0.75 | 5.0 | 0.334 | 6.21 |
| 2.0 | 0.293 | 2.18 | 6.0 | 0.345 | 7.36 |
| 2.5 | 0.310 | 4.47 | 7.0 | 0.349 | 8.01 |
| 3.0 | 0.311 | 4.78 | 9.0 | 0.353 | 8.43 |

(2) 糖脲硫酸显色法: 吸取系列对照品溶液各 1 mL, 按糖脲硫酸显色法测得对应 A 值, 由 A 值 (Y) 对质量浓度 (X) 进行回归, 得回归方程 $Y=0.4245X-0.0315$, $R^2=0.991$, 在 2~12 mg/mL 两者线性关系良好^[7]。

3.4.3 精密度试验

(1) 蒽酮比色法: 精密吸取总苷样品液稀释一定倍数后, 按蒽酮比色法操作, 重复 5 次, 依次测得其 A 值为 0.585、0.583、0.585、0.581、0.562, 其 RSD 为 1.68%, 表示本法精密度良好。

(2) 糖脲硫酸显色法: 精密吸取总苷样品液, 按糖脲硫酸显色法操作, 重复 5 次, 依次测得其 A 值为 0.311、0.310、0.297、0.310、0.306, 其 RSD 为 1.89%, 表示本法精密度良好。

3.4.4 加样回收率试验 分别精密吸取总苷样品液 1 mL, 共 5 份, 每份加入对照液 1 mL, 分别按蒽酮比色法和糖脲硫酸显色法操作, 测得总样品 A 值, 依照回归方程计算出质量浓度, 再计算出总量, 根据已加入总苷样品量计算出对照品量, 再与对照品加入量之比得回收率。测得蒽酮比色法的回收率为 99.00%, RSD 为 0.96%, 糖脲硫酸显色法的回收率为 103.00%, RSD 为 3.17%。提示 2 法有较好的精确度。

3.5 中药总苷成分群差式蒽酮-糖脲计算方法

依据上述操作进行样品中总糖 (包括苷类) 及还原糖的定量测定, 根据蒽酮比色法的 A_{max} 平均值在标准曲线上查出葡萄糖的量, 具体计算方法如下。

样品总糖 (包括糖苷类) 量 ($W_{\text{总}}$) = $C_1 \times V_{\text{测}} \times D$, 然后再根据糖脲硫酸显色法 A_{max} 平均值在标准曲线上查出还原糖的量。

样品液中还原糖 ($W_{\text{脲}}$) = $C_2 \times V_{\text{测}} \times D$, 其中, C 为在标准曲线上查出的糖量 (μg), $V_{\text{测}}$ 为测定时取用体积 (mL), D 为稀释倍数。

最后得到总苷类成分的量，即总苷类成分量 $(W) = W_{\text{总}} - W_{\text{糖}}$ 。

3.6 不同药物蒽酮比色法测定结果

将处理的 5 个样品取样本数 3 份经过一定倍数的稀释后，按蒽酮比色法操作进行，于紫外可见分光光度计上以蒸馏水同样操作为空白扫描，得到样品在 620 nm 处左右有吸收，记录 A 值平均值，结果见表 3。

3.7 不同药物糖脘硫酸显色法测定结果

将处理的 5 个样品取样本数 3 份按糖脘硫酸显色法操作进行，于紫外可见分光光度计上以蒸馏水同样操作为空白扫描，得到样品在 418 nm 处左右有吸收，记录 A 值平均值。将 A 值平均值结果分别带入标准曲线，求得质量浓度。再根据体积和稀释的倍数分别求得 $W_{\text{总}}$ 和 $W_{\text{糖}}$ 。最后得到总苷类成分质量分数，结果见表 3。

表 3 不同药物总苷类有效成分群定量结果

Table 3 Quantitative determination of total glycosides active ingredient group in different drugs

| 药物名称 | 蒽酮比色法 | | 糖脘硫酸显色法 | | 取样量 | 总苷 / mg | 含量 |
|---------|-------|---------|---------|---------|----------|---------|--------------|
| | A 值 | 质量 / mg | A 值 | 质量 / mg | | | |
| 补阳还五方 | 0.781 | 13.410 | 0.321 | 0.830 | 0.833 g | 12.700 | 1.511% |
| 六味地黄丸 | 0.673 | 11.804 | 0.575 | 1.431 | 0.401 g | 10.423 | 2.602% |
| 黄芪注射剂 | 0.517 | 9.464 | 0.207 | 0.562 | 0.417 mL | 8.901 | 21.300 mg/mL |
| 茯苓多糖口服液 | 0.404 | 7.732 | 0.274 | 0.720 | 0.417 mL | 7.012 | 16.922 mg/mL |
| 穿心莲片 | 0.089 | 3.070 | 0.132 | 0.385 | 0.403 g | 2.694 | 0.668% |

4 讨论

苷类是中药成分群最常见的成分，因与糖基的配体不同而成分结构千差万别，目前只有总苷的化学名称，却没有针对这群成分特征的总体定量测定方法，这缘于糖配体复杂多样，性质迥异，难有针对配体设计合理的方法；同时多糖也可看成苷类结构（一糖半缩醛羟基与别一糖的羟基缩合而成），如以糖基为测定目标，则又会受到其他糖的干扰，因此怎样巧妙地利用糖苷键的特点来建立总苷的测定方法备受关注。

众所周知，总苷定量测定研究一直以来都是对其中某一类成分进行测定，而很少将其作为总苷有效成分群来进行宏观定量测定^[8]，这缘于总苷的定量测定方法不易建立。为此，本实验根据糖的端基碳原子的半缩醛结构的特点，当与非糖配基结合形成苷后其还原性消失，当与糖配基结合形成的聚糖，或没有与糖配基结合的单糖，其结构中均存在 α -羟基酮（醛），体现还原性。因此可先采用乙醇沉淀除去多糖，然后使糖苷结构水解出单糖，脱水生成 5-羟基糠醛衍生物，再与蒽酮反应显蓝色，据此测定含糖苷键的总成分群；再利用未与羟基结合糖基的半缩醛结构的还原性，能用糖脘反应来测定聚糖和单糖，2 次测定结果相减便获得仅含与非糖配基结合糖苷键的总苷成分群的量。

在蒽酮反应中，使总苷键水解脱水生成 5-羟基

糖醛衍生物是重要的步骤，因此需要加入脱水剂或通过加热才能使反应易于进行。后续与蒽酮显色要注意反应完全、稳定，才能进行比色测定。在糖脘反应中，冷却速度对糖脘的形成十分重要。当糖脘具有明显黄色的反应液从水浴中出现，应于室温下放置自然冷却。这是由于随冷却时间的延长，结晶越来越完善。若将反应液从水浴中取出进行急冷或用玻璃棒摩擦试管壁，由于迅速结晶导致晶体不能有序排列就会出现团块状如棉团状的悬浮物的糖脘。这是实验中最常出现的结果，应该避免。

本实验将蒽酮比色法与糖脘硫酸显色法结合创立了中药复方中总苷类成分定量测定方法，由于没有能代表整体总苷的对照品，因此该法的精确度受到限制，但能满足总苷类成分的量测定的要求，由前述比色法的方法学也证明了本法可用于不同种类的总苷的定量测定。采用本法对补阳还五汤、六味地黄丸、黄芪注射剂、茯苓多糖口服液、穿心莲片的总苷进行了定量测定，其中以六味地黄丸中含总苷成分最多，以穿心莲片含总苷成分最少，这与文献报道一致^[9-10]，说明本法是可以用来测定不同形式的总苷成分群。

值得注意的是本法是基于糖苷键的半缩醛原子结构特点而建立起来的测定方法，当糖半缩醛原子彼此聚合时，如蔗糖还原性消失，可体现出苷的性质；当糖半缩醛原子依次聚合时，只有端基糖的半

缩醛结构具有还原性, 而表现出一分子单糖的还原性效果, 这些都会影响糖脲测定结果, 最终使所测总苷结果偏高, 因此要使本法进一步精确, 可采用适宜的方法尽可能地预先除去糖类成分, 特别是多糖、低聚糖与蔗糖等。

参考文献

- [1] 陈永聪, 张锦春, 张亚敏, 等. 痛风宁中有效部位群的提取实验研究 [J]. 海峡药学, 2007, 19(1): 78-80.
- [2] 张敏, 王梦月, 刘雅茜, 等. 炮制对甘草中主要苷类成分质量分数及其煎出量的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1305-1308.
- [3] 武孔云, 梁光义, 靳风云, 等. 中药复方药效物质基础研究的思路与方法 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2003, 5(6): 13-15.
- [4] 杜冠华. 中药复方有效成分组学研究 [J]. 中成药, 2002, 24(11): 878-880.
- [5] 刘红宇, 贺福元. 中药(复方)提取方法、技术研究进展 [J]. 中医药导报, 2006, 12(5): 91-94.
- [6] 邹欢. 补阳还五汤总苷类成分提取分离过程中溶解迁移规律的研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2010.
- [7] 李瑞波. 对于糖脲生成的探讨 [J]. 牡丹江师范学院学报, 2006(3): 37-38.
- [8] 梁鑫淼, 徐青, 章飞芳. 中药现代化研究的几点思考 [J]. 中国科学院院刊, 2004, 19(3): 218-220.
- [9] 孙国祥, 杨婷婷. 基于分离信息量指数评价的系统指纹定量法鉴别六味地黄丸质量 [J]. 中南药学, 2010, 8(2): 143-148.
- [10] 王国才, 胡永美, 张晓琦, 等. 穿心莲的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(5): 405-407.