

比色法测定冬虫夏草中甘露醇的含量

中国协和医科大学

中国医学科学院

药物研究所(北京 100050)

李雪芹* 包天桐 王 雁

摘 要 比较了测定冬虫夏草中甘露醇含量的两种方法。发现天然虫草和不同品种人工虫草制成品(胶囊剂)用容量法(A)测得的甘露醇含量比用比色法(B)测得的甘露醇含量要高,但天然虫草 A/B 比值较为接近,而不同品种人工虫草制成品(胶囊剂)的 A/B 比值波动较大。认为用比色法测定虫草中甘露醇含量较容量法更具特异性且快速简便。

关键词 冬虫夏草 甘露醇 比色测定

冬虫夏草为我国名贵的滋补强壮中药。对其化学成分的研究表明它含有较大量的甘露醇^[1]。甘露醇在临床上主要作为脱水剂,它有一定的药理作用(如抗自由基作用)^[2],据临床报道它对多种疾病有一定疗效^[3],故为虫草的有效成分之一。现甘露醇已作为某些人工发酵虫草的质控指标之一^[4]。

甘露醇含量测定有多种方法,一般采用中华人民共和国药典规定的容量法^[5],该法系根据甘露醇的还原性用氧化剂进行滴定,因此适用于较纯的甘露醇制剂。但对于含有其它具有还原性物质(如单糖等)的中草药制剂(如虫草)来说,因其含有的其它还原性物质也可被高碘酸氧化,结果使测得的含量偏高,且操作较为繁琐。

甘露醇为多元醇化合物。文献报道^[6]含量可用比色法测定,此法特异性较高,许多含羟基的物质包括单糖等对其无明显干扰,而且方法快速简便。故我们试用此法对多种天然虫草和人工虫草进行甘露醇的含量测定,并用容量法进行对比,报告如下。

1 仪器与试剂

721 分光光度计,甘露醇(北京化学试剂公司)、天然虫草(青海玉树地区产)、香棒虫草、亚香棒虫草(中国药品生物制品检定所)、

金水宝胶囊(江西国药厂)、宁心宝胶囊(上海黄山制药厂)、心肝宝胶囊(保定制药厂)、百令胶囊(杭州中美华东制药有限公司)。

2 实验方法

2.1 样品制备:精密称取标准品甘露醇 50 mg,加蒸馏水 50 mL 配制成浓度为 1 mg/mL 的甘露醇溶液,然后用蒸馏水分别稀释成所需浓度待测。

取待测虫草样品各 2.5 g 分别加蒸馏水 50 mL 回流 2 h 后,过滤,用蒸馏水洗残渣,使最后滤液体积为 50 mL,即得到浓度为 50 mg/mL(按原料生药计)的样品,再取此液加蒸馏水稀释成所需浓度待测。

2.2 比色法线性范围及重现性考查:取浓度为 50、40、30、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品甘露醇溶液各 1 mL,分置不同试管中,然后分别加 1 mL 高碘酸钠溶液(0.015 mol 高碘酸钠于 0.12 mol 盐酸溶液中)混匀,室温放置 10 min,加 2 mL 0.1% L-鼠李糖溶液以除去过多的高碘酸盐,混合后加 4 mL 新鲜配制的 Nash 试剂(150 g 醋酸铵+2 mL 冰醋酸+2 mL 乙酰丙酮,用蒸馏水稀至 1000 mL),53℃水浴加热 15 min 使其呈色,冷却,在 412 nm 测出标准品甘露醇的 OD 值。

2.3 比色法测定虫草样品中甘露醇的含量:

* Address: Li Xueqin, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing

李雪芹 1987 年 7 月毕业于江西医学院医疗系,在江西九江医学专科学校药理教研室任教,讲师,教研室副主任。1997 年 9 月通过中国医学科学院协和医科大学药物研究所 CMB 学员资格面试,获得美国中华医学会奖学金,在药物研究所包天桐教授指导下从事抗衰老中草药的研究。

分别取浓度为 0.4 mg/mL 的各虫草样品 1 mL 进行上述比色法测定,根据其 OD 值计算出甘露醇的含量。

2.4 容量法测定标准品甘露醇含量^[5]:取浓度为 0.8、0.6、0.4、0.2 mg/mL 标准品各 10 mL 置碘瓶中,加 50 mL 高碘酸钠溶液〔硫酸溶液(98%浓硫酸 1 mL+蒸馏水 19 mL)90 mL 与高碘酸钠溶液(高碘酸钠 2.3 g+蒸馏水至 1000 mL)110 mL 混合制成〕,置沸水浴加热 15 min,放冷,加 0.5 %碘化钾试液 10 mL,密塞,放置 5 min,用硫代硫酸钠溶液(0.05 mol/L)滴定,至接近终点时加淀粉指示液 1 mL,继续滴定至蓝色消失,并将滴定的结果用空白实验校正。每 1 mL 的硫代硫酸钠滴定液相当于 0.9 mg 甘露醇。

2.5 容量法测定虫草中甘露醇含量:分别取浓度为 8 mg/mL 的各虫草样品 10 mL 进行上述容量法测定,根据其消耗硫代硫酸钠溶液的量计算出甘露醇的含量。

3 实验结果

3.1 比色法线性范围及重现性考查:见表 1。

表 1 比色法测定标准品甘露醇的 OD 值

甘露醇浓度 (μg/mg)	50	40	30	20	10
1	0.530	0.450	0.320	0.230	0.110
2	0.510	0.410	0.315	0.205	0.100
3	0.510	0.420	0.320	0.240	0.125
4	0.510	0.420	0.330	0.250	0.115
5	0.350	0.410	0.330	0.220	0.110
平均	0.518	0.422	0.323	0.229	0.112

由表 1 数据计算得回归方程 $Y=0.0217+0.00997X$, $r=0.993$,结果说明甘露醇在 10~50 μg/mL 呈线性关系,且重现性良好。

3.2 容量法测定标准品甘露醇的准确性:见表 2。

表 2 容量法测定标准品甘露醇的含量

实际甘露醇量 (mg)	8	6	4	2
测得甘露醇量 (mg)	7.96	5.97	3.96	1.98
测得%值	99.47	99.47	99.47	99.0

由表 2 数据看出容量法测定标准品甘露

醇的含量均为 99%以上,准确度高,且重现性良好。

3.3 比色法和容量法测定不同品种虫草及制剂中的甘露醇含量:见表 3、4、5。

表 3 三种虫草两种方法测定甘露醇含量

	B 比色法(%)	A 容量法(%)	A/B
天然虫草	11.00	12.82	1.17
香棒虫草	2.50	3.38	1.35
亚香棒虫草	7.00	8.16	1.17

由表 3 可见,天然虫草中甘露醇的含量最高,香棒虫草最低(仅为前者 1/4)。但三种天然虫草的 A/B 比值较为接近。

表 4 不同批号金水宝原料粉的甘露醇含量

编号	B 比色法(%)	A 容量法(%)	A/B
9701013	6.50	11.02	1.69
9702038	5.85	10.00	1.71
9703079	5.75	9.07	1.58
9703089	4.00	6.93	1.73
9704102	5.25	9.80	1.85

由表 4 可见,不同批号金水宝原料粉的甘露醇含量有一定的波动,但 A/B 比值较为接近。

表 5 不同品种人工虫草胶囊剂的甘露醇含量

	B 比色法(%)	A 容量法(%)	A/B
金水宝胶囊	4.20	14.56	3.47
心肝宝胶囊	6.75	9.65	1.43
百令胶囊	6.83	7.86	1.15
宁心宝胶囊	2.70	6.90	2.56

由表 5 可见,百令胶囊中甘露醇的含量最高,宁心宝胶囊最低(仅为前者 2/5)。4 种人工虫草胶囊剂的 A/B 比值不恒定,波动较大。

4 讨论

两种测定方法的结果显示:容量法测得虫草中甘露醇的含量明显高于比色法,两者的比值与虫草品种有关。这是由于在强酸、温度 100℃、第一步反应时间为 15 min 这一充分反应条件下,糖类及其他具有还原性的物质亦可参与高碘酸钠的氧化还原反应,从而使测定结果不能正确反映冬虫夏草中甘露醇的实际含量。而在比色法测定中,可以把糖的干扰减少到最小,因为在温度为 25℃左右、第一步反应时间为 10 min 时,高碘酸钠与甘

露醇反应产生黄色的 3,5-二乙酰-1,4 脱氢二甲基吡啶,此化合物在 412 nm 时吸收作用最大^[6]。我们曾用一些单糖(如半乳糖、葡萄糖、甘露糖等)制成 50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度,用上述比色法测其 OD 值均接近零,证明这些单糖对甘露醇的干扰很少,与文献报道一致^[6]。

我们用比色法测出青海玉树地区产虫草的甘露醇含量为 11.0%,容量法测得为 12.86%;汪宝琪等用薄层扫描分析法测定西藏虫草中的甘露醇含量为 8.84%^[7],王化远^[8]用容量法测出不同生长期川产野生虫草中甘露醇的含量分别为 11.10%、14.42%、14.45%,而人工虫草中用比色法测得甘露醇含量最高的百令胶囊也仅为 6.83%,说明不同地区的天然虫草中甘露醇含量比较接近,而较人工虫草要高。

由实验结果可以看出天然虫草用容量法与比色法测得的甘露醇含量的比值较为接近(1.17→1.35),说明两种方法都能反映虫草的甘露醇的含量,而比色法由于其它物质(如单糖等)的干扰少,其测定值更能代表甘露醇的实际含量。不同批号金水宝的原料粉的 A/B 比值亦较接近(1.58→1.85),但比天然虫草的比值要高,说明金水宝原料粉中除甘露醇外其它还原性物质较天然虫草为多。

不同品种人工虫草的制成品(胶囊剂)用

这两种方法测得的甘露醇含量的比值波动较大(1.15→3.47),这可能是由于制做成品时所加入辅料的还原性不同之故。由于辅料中还原性物质(如单糖)的影响,使得用容量法测定的甘露醇含量比实际值可高出几倍,因此用容量法测定人工虫草成品中甘露醇含量会出现更大的误差。

由于比色法测定的结果可排除样品中其它还原性物质的干扰,其测得的结果较容量法更能代表甘露醇的实际值,故对于中草药中甘露醇含量的测定用比色法测得的结果要比容量法可靠,而且方法也远比容量法快速简便。

致谢:三种天然虫草由中国药品生物制品检定所李瑞芬、张继老师提供,特此致谢!

参考文献

- 1 中国医学科学院药物研究所编著. 中草药现代研究. 第一卷. 北京:北京医科大学,中国协和医科大学联合出版社,1995:99
- 2 阿部裕,他. 最新医学,1978,33(4):709
- 3 孙成秀,等. 新医学,1996,27(1):41
- 4 陈传盈,等. 中草药,1992,23(8):409
- 5 中华人民共和国药典. 二部. 北京:化学工业出版社,1995:85
- 6 Song H B, et al. Biochem,1977,81:18
- 7 汪宝琪,等. 中草药,1995,26(4):189
- 8 王化远,等. 华西药学杂志,1996,11(1):58

(1998-04-22 收稿)

Determination of Mannitol in Dongchongxiacao (*Cordyceps sinensis*) by Colorimetric Method

Li Xueqin, Bao Tiantong and Wang Yan (Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Science and Chinese Xiehe Medical University, Beijing 100050)

Abstract Two methods for the determination of mannitol in *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. were compared. The result showed that the content of mannitol in three species of natural *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. assayed by sodium thiosulfate titration (method A) were higher than that determined by colorimetric method (method B), but the ratio of A/B was very close (from 1.17 to 1.35). When the contents of mannitol in four kinds of fermented *Cordyceps* capsules were compared, method A again showed a higher result than B, and the ratio of A/B varied from 1.15 to 3.47. It was obvious that determination of mannitol in *Cordyceps* by colorimetric method is more specific, quick and simple than titration method.

Key words *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. colorimetric determination of mannitol

欢 迎 投 稿

欢 迎 订 阅