

比色法测定复方虫草颗粒中甘露醇的含量

董钰明¹, 刘 晖¹, 张 军¹, 段生玉¹, 张经济²

(1. 兰州医学院 药物分析教研室, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省保健康复中草药研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 目的 研究比色法测定复方虫草颗粒中甘露醇的含量, 建立一种准确、可行的含量测定方法。方法 在供试品中依次分别加入氧化剂高碘酸钾、L-鼠李糖与 Nash 试剂, 53℃水浴加热 15 min 使呈色, 在 412 nm 处测定吸光度, 用比色法测定其中甘露醇的含量。结果 在 10~50 μg/mL 范围内对 3 种不同批号样品在实验条件下测定, 其平均含量为 1.27%, 本法平均回收率为 100.3%, RSD 为 0.83% (n=5)。结论 可作为复方虫草颗粒中甘露醇含量测定及有关质量控制的一种简便、准确和快速的方法。

关键词: 复方虫草颗粒; 甘露醇; 比色法

中国分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)-08-0697-03

Determination of mannitol in FUFANG CHONGCAO KELI (compound cordyceps granule) by colorimetry

DONG Yu-ming¹, LIU Hui¹, ZHANG Jun¹, DUAN Sheng-yu¹, ZHANG Jing-ji²

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, Lanzhou Medical College, Lanzhou Gansu 730000, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica for Health and Recovery in Gansu Province, Lanzhou Gansu 730000, China)

Abstract **Object** To develop a practical method for the assay of mannitol in FU FANG CHONG CAO KELI (FCK) by colorimetry. **Methods** Content of mannitol in the granule was assayed colorimetrically by determining its absorbance at 412 nm, after sequential addition of potassium periodate, L-thamnose and Nash reagent to sample solutions and warmed at a bath temperature of 53℃ for 15 min. **Results** Samples from three different batches of FCK were analyzed according to the above analytical condition. The average mannitol content in FCK was found to be 1.27%, when the contents of reference standard mannitol in solution were in the range of 10 μg to 50 μg/mL, the mean recovery was 100.3% and RSD=0.83% (n=5). **Conclusion** The method may be used as a simple, accurate and rapid way to determine the content of mannitol in FCK as well as the quality control for the product.

Key words FUFANG CHONGCAO KELI (compound cordyceps granule) (FCK); mannitol; colorimetry

复方虫草颗粒是由冬虫夏草人工发酵菌浸膏、天然冬虫夏草、枸杞、灵芝和莱菔子等多味中草药组成的复方制剂, 具有滋肺、补气血、益肝肾、健脑安神的功能。主治神经衰弱、长期失眠、头晕、头痛、机体虚弱、抵抗力降低、免疫功能低下等。冬虫夏草中含有大量的甘露醇, 是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^[1]。

甘露醇含量测定有多种方法, 一般采用容量法^[2], 该法适用于较纯的甘露醇制剂, 但对于含有其它还原性物质(如单糖等)的中草药制剂来说, 因其含有的其他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。可用比色法测其含量,

此法特异性高, 许多含羟基的物质包括单糖对其无明显干扰, 而且方法快速简便。故本文用此法对复方虫草颗粒中的甘露醇含量进行了测定。

1 仪器与试剂

722S 分光光度计(上海精密科学仪器厂), 723 分光光度计(上海第三分析仪器厂), 甘露醇(北京化学试剂公司), 复方虫草颗粒(甘肃省中草药保健康复研究所)。

2 实验方法

2.1 标准品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的甘露醇标准品 50 mg, 加蒸馏水 50 mL 配制成浓度 1 mg/mL 的甘露醇溶液, 然后分别精密量取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 各置 100 mL 容量瓶中, 加水

收稿日期: 2000-10-25

作者简介: 董钰明(1971-), 男, 甘肃天水市人。1994年7月毕业于兰州医学院药理学系, 硕士研究生, 讲师。主要从事中药制剂有效成分的含量测定工作。Tel 0931-8289517; E-mail Simondym@263.net。

稀释至刻度,得到浓度分别为 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甘露醇标准品溶液

2.2 供试品溶液的制备: 取复方虫草颗粒约 2.5 g, 精密称定, 加蒸馏水 50 mL, 回流 2 h 后, 过滤, 用蒸馏水洗残渣, 将滤液、洗液合并于 50 mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度。精密量取滤液 10.0 mL 置 250 mL 量瓶中, 加蒸馏水至刻度为供试品溶液。

2.3 线性范围与标准曲线的制作: 取上述浓度为 50, 40, 30, 20, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品甘露醇溶液各 1 mL, 分置 5 个 10 mL 刻度试管中, 分别加入 1 mL 高碘酸钾溶液 (0.015 mol 高碘酸钾于 1000 mL 0.12 mol/L 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, 用蒸馏水稀释至 1000 mL), 53 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 15 min 使其呈色, 冷却, 用 722S 分光光度计在 412 nm 波长处, 以蒸馏水代替甘露醇标准溶液, 用同样方法操作作为空白, 分别测定其吸光度。以浓度 C 为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标, 得回归方程为: $A = 0.068 + 0.0093C$, $r = 0.9990$, ($P < 0.0001$)。结果表明, 甘露醇在 10~ 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈现良好线性。

2.4 供试液吸收曲线绘制: 取上述供试液 2 mL, 依上标准曲线制备项从“加入 1 mL 高碘酸钾溶液……”起依法操作。用 723 型分光光度计, 在 330~ 800 nm 范围内扫描, 得以波长 λ 为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标的吸收曲线, 其最大吸收波长为 412 nm, 与文献报道一致, 结果见图 1

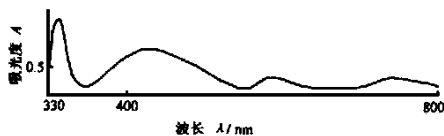


图 1 供试液吸收曲线

2.5 阴性对照试验: 按该制剂处方比例, 将除去人工冬虫夏草发酵菌浸膏及天然虫草的其他成分, 按该制剂生产工艺制成相应的阴性对照品, 与样品同时依上标准曲线制备项从“加入 1 mL 高碘酸钾溶液……”起, 依法操作, 呈色后在 723 型分光光度计上从 300~ 800 nm 进行扫描, 结果见图 2

由图 2 可见, 在该制剂处方比例以内, 阴性对照品与空白对照品吸收曲线基本上重合, 吸光度接近零, 表明该制剂中的其他药材对样品中甘露醇的测定无干扰。

另外用一些单糖 (如半乳糖、葡萄糖、甘露糖) 等

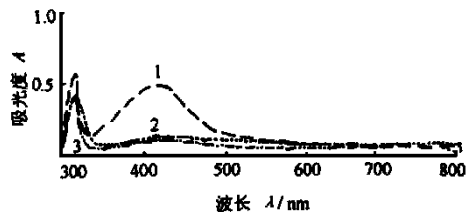


图 2 样品、阴性对照品和空白对照吸收曲线

制成 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 用上述比色法测其吸光度值, 均接近零, 证明这些单糖对甘露醇的测定无干扰, 与文献^[1]报道一致。

2.6 呈色稳定性试验: 为考察显色反应产物稳定性, 作呈色稳定性试验。取供试品溶液 1 mL 依上标准曲线制备项, 从“加入 1 mL 高碘酸钾溶液……”起, 依法操作, 在 15, 20, 30 min 分别测其吸光度, 结果见表 1。

表 1 呈色物放置不同时间后的吸光度

时间 (min)	吸光度			吸光度平均值
0	0.201	0.199	0.203	0.201
15	0.201	0.199	0.203	0.201
20	0.175	0.174	0.175	0.175
30	0.159	0.160	0.159	0.159

由表 1 可见, 本法呈色物在 15 min 内无变化, 因此比色测定吸光度应在 15 min 内完成。

2.7 精密度试验: 取同一样品 5 份, 依上标准曲线制备项, 从“加入 1 mL 高碘酸钾溶液……”依法操作, 呈色后在 412 nm 处分别测其吸光度值, 结果平均为 0.201, $RSD = 0.86\%$ 。

2.8 日内稳定性试验: 将样品溶液分别放置 2, 4 和 8 h 后, 依同法测定, 其甘露醇含量无明显变化, $RSD(\%)$ 为 0.81, 表明本法重现性较好。

2.9 样品加样回收率试验: 取浓度为 1.002 mg/mL 的样品溶液 1 mL 5 份, 分别置 10 mL 容量瓶中, 各精密加入浓度为 0.1016 mg/mL 的甘露醇标准品溶液 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 和 3.0 mL, 加水稀释至刻度。取混合定容后的溶液 1 mL, 依上标准曲线制备项, 从“加入 1 mL 高碘酸钾溶液……”起依法操作, 结果平均回收率为 100.3%, $RSD = 0.83\%$ 。

3 实验结果

分别取批号不同的样品 3 批, 依上述供试品溶液制备方法操作, 得 3 个供试品溶液。分别取此供试品溶液 1 mL, 依上述标准曲线制备项从“加入 1 mL 高碘酸钾溶液……”起, 依法操作, 测定样品溶液吸光度。由标准曲线回归方程计算样品中甘露醇的含量。结果见表 2。

4 讨论

表 2 样品中甘露醇含量测定结果 ($n=3$)

批号	甘露醇含量 (%) , g/g	RSD (%)
980302	1.27	0.87
990823	1.31	1.02
991107	1.24	1.21

用本法测定复方虫草颗粒中的甘露醇时,其它成分不干扰测定。但若枸杞和莱菔子的用量超过处方用量时,测定结果会偏高。配制高碘酸钾溶液时,要注意盐酸的用量,最适用量为每 0.015 mol 高碘酸钾用 0.12 mol/L 的盐酸 1000 mL 溶解,可使呈色物颜色均匀而稳定。

由于本法测定的结果可排除样品中其他还原性物质的干扰,其测得的结果较容量法更能代表甘露醇的实际值,本法比容量法可靠,而且比容量法快速简便。

本法可以作为复方虫草颗粒质量标准中甘露醇含量的测定方法,也可以作为含有虫草的其他制剂中甘露醇含量测定的方法。

参考文献:

- [1] 李雪芹,包天桐,王雁,等. 比色法测定冬虫夏草中甘露醇的含量[J]. 中草药, 1999, 30(1): 19-21.
- [2] 中国药典[S]. 2000年版. 二部.

HPLC法同时测定黄连上清丸中大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量

姚仲青

(南京中医院中医药研究所,江苏 南京 210001)

摘要:目的 同时测定了黄连上清丸中 3种蒽醌类成分大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量。方法 采用 HPLC 法,以乙腈-0.1% 磷酸水溶液(90:10)为流动相,使用 C_{18} 柱。结果 能使样品中的 3种蒽醌类成分得到良好分离,分离度 >2 ,平均回收率为:大黄素 98.71%, $RSD=1.11\%$;大黄酚 98.83%, $RSD=1.41\%$;大黄素甲醚 99.25%, $RSD=1.29\%$ 。结论 应用本法能准确测定黄连上清丸中的此 3种有效成分,重现性好。

关键词: HPLC法;黄连上清丸;大黄素;大黄酚;大黄素甲醚

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)08-0699-02

Determination of emodin, chrysophanol, and physcion in HUANGLIAN SHANGQING PILL* by HPLC

YAO Zhong-qing

(Institute of TCM, Nanjing Hospital of TCM, Nanjing Jiangsu 210001, China)

Key words HPLC; HUANGLIAN SHANGQING PILL; emodin; chrysophanol; physcion

* HUANGLIAN SHANGQING PILL is a traditional Chinese compound medicine.

黄连上清丸为传统的中药制剂,收载于《中国药典》1995年版、2000年版。有文献报道对其中的小檗碱^[1]、蒽醌类^[2]、黄芩苷^[3]、栀子苷^[4]作了定性或定量分析,但对其质量标准的研究仍不完善。大黄为方中主药之一,占全方的 24.4%,蒽醌类成分为其主要活性成分。对蒽醌类成分的定量分析未见报道。本文报道采用 HPLC 法同时测定黄连上清丸中 3种蒽醌类成分大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量,为完善黄连上清丸的质量标准提供了依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪,SPV-6AV 紫外-可见检测器;C-R3A 数据处理器;SCL-6A 系

统控制器;RHEODYNE 7125 进样阀,CTO-6A 柱温箱,Spherisorb C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 300 mm 5 μ m,大连依利特公司)。

大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品,购自中国药品生物制品检定所;黄连上清丸,市售,产地:河南;乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:流动相:乙腈-0.1% 磷酸水溶液(90:10),流速 0.6 mL/min,检测波长 254 nm,纸速 1 mm/min,灵敏度 0.04 AUFS,柱温:45 $^{\circ}$ C。

2.2 标准曲线的绘制:精密称取大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品,以氯仿溶液,分别制成 0.2, 0.18,