

女贞子药材中甘露醇的含量测定

吴地尧^{1,2}, 胡魁伟¹, 康琛¹, 李曼玲^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立女贞子中甘露醇的含量测定方法。方法: 采用比色法测定。结果: 用本法测定甘露醇在(12.5~75.0) μg 范围内线性关系良好, 相关系数 r 为 0.999 4; 其平均回收率为 97.06%, RSD 为 0.662%。结论: 采用该法对女贞子中甘露醇含量进行测定精密度和重复性良好, 更具有普遍性及简便性。

[关键词] 女贞子; 甘露醇; 比色法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)07-0008-03

Determination of Mannitol in Fructus Ligustri Lucidi

WU Di-yao^{1,2}, HU Kui-wei¹, KANG Chen¹, LI Man-ling^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To determine contents of mannitol in Fructus Ligustri Lucidi. **Methods:** Colorimetry was adopted. **Results:** The linearity was obtained over the range of 12.5~75.0 μg , the correlation coefficient was 0.999 4; the average recovery was 97.06%, RSD was 0.662%. **Conclusion:** The precision and repeatability of this method was good. The method which was used to determine contents of mannitol in Fructus Ligustri Lucidi was more universal and simple.

[Key words] Fructus Ligustri Lucidi; mannitol; colorimetry

女贞子为木犀科植物女贞(*Ligustrum Lucidum* Ait.)的果实, 具有滋肾补肝, 明目乌发^[1]的功效, 具有一定的泻下作用, 其缓泻作用与其成分中的甘露醇有关^[2]。甘露醇的含量测定有多种方法, 一般采用容量法, 但该法适用于较纯的甘露醇制剂, 对于含有其它还原性物质(如单糖等)的中草药或其复方制剂来说, 因其含有的其它还原性物质也可被高碘酸氧化, 结果测得的含量偏高, 且操作较为繁琐。甘露醇为多元醇类化合物, 文献报道, 多元醇含量用比色法测定^[3]特异性较高, 许多含羟基的物质包括单糖等对其无明显的干扰, 而且方法快速简便, 我们采用此方法对女贞子中的甘露醇进行了测定及系统的

方法学考察。

1 仪器和试剂

日本岛津 UV-3000 紫外可见分光光度计, 甘露醇、高碘酸钠、L-鼠李糖、乙酸胺、冰醋酸、乙酰丙酮均为分析纯, 蒸馏水为自制高纯水。

Nash 试液: 精确称取乙酸胺 150 g, 蒸馏水溶解, 加入 2 mL 冰醋酸, 2 mL 乙酰丙酮, 定容至 1 000 mL。
0.015 mol·mL⁻¹ 高碘酸钠溶液: 精确称取高碘酸钠 3.2 g, 溶于 0.12 mol·mL⁻¹ 盐酸中, 定容至 1 000 mL。
0.1% 的 L-鼠李糖溶液: 精确称取 L-鼠李糖 0.1 g, 溶于蒸馏水中, 定容至 100 mL。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备 甘露醇对照品溶液: 精确称取甘露醇对照品 10.04 mg, 加蒸馏水定容至 100 mL, 即为 0.100 4 mg·mL⁻¹ 甘露醇对照品溶液, 精确移取 25 mL, 用蒸馏水稀释定容至 50 mL, 配制成浓度为 0.050 2 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液备用。

[收稿日期] 2008-01-10

[基金项目] 国家“十五”重大科技专项(2001BA701A55-15)

[通讯作者] * 李曼玲, Tel:(010) 64035275; E-mail: limanling5@sohu.com

2.2 供试品溶液的制备 称取女贞子粉末(40目) 0.3 g, 加入三氯甲烷 50 mL, 水浴回流 2 h, 放冷滤过, 残渣以少量三氯甲烷洗涤, 滤液一并弃去。残渣和滤纸水浴上挥干, 再加入 95% 乙醇 50 mL 水浴回流 2 h, 趁热滤过, 残渣以 95% 乙醇 10 mL 洗涤, 收集滤液, 水浴上蒸干, 加水溶解, 定容至 25 mL 量瓶中, 精密吸取 2 mL, 稀释至 10 mL, 为供试品溶液。

2.3 空白对照 除女贞子粉末加入三氯甲烷 50 mL 于具塞锥形瓶中, 水浴回流 2 h, 放冷, 滤过, 将滤液和滤纸水浴上挥干, 再加入 95% 乙醇 50 mL 水浴回流 2 h, 趁热滤过残渣以 95% 乙醇 10 mL 洗涤, 收集滤液, 水浴蒸干, 加水溶解定容至 25 mL 量瓶中, 吸取 2 mL 稀释至 10 mL, 即为空白对照溶液。

2.4 标准曲线的绘制 取 0.104 mg·mL⁻¹ 甘露醇对照品溶液, 分别用蒸馏水稀释成 12.5, 25.0, 37.5, 50.0, 62.5, 75.0 μg·mL⁻¹, 分别精密移取 1 mL 溶液置具塞三角瓶中, 加入 1 mL 高碘酸钠溶液, 摇匀, 静置 15 min, 加入 0.1% 鼠李糖溶液 1.8 mL 和 Nash 试液 3.8 mL, 53℃ 水浴分别保温 15 min, 取出迅速冷却至室温, 于 413 nm 处测定吸收度。以光密度为纵坐标, 甘露醇浓度为横坐标绘制标准曲线并计算回归方程: $Y = 0.0111X - 0.0159$, $r = 0.9994$ 。结果表明, 甘露醇在 12.5~75.0 μg 范围内线性关系良好。

2.5 重复性试验 按照供试品溶液制备方法平行制备 5 份供试品溶液, 测定甘露醇的含量。结果分别为 1.74%, 1.74%, 1.72%, 1.77%, 1.72%, 其平均值为 1.74%, 其 RSD 为 1.2%, 说明本法测样重复性良好。

2.6 精密度试验 按照供试品溶液制备方法制备样品, 连续测定 5 次, 其含量分别为 1.75%、1.73%、1.74%、1.76%、1.75%, 其平均值为 1.75%, RSD 为 0.59%, 说明本法精密度良好。

2.7 稳定性试验 按照供试品溶液制备方法制备样品, 分别在第 0, 20, 40, 60, 80, 100 和 120 min 进行测定。其含量分别为 1.75%, 1.76%, 1.74%, 1.74%, 1.73%, 1.72%, 1.73%, 其平均值为 1.74%, 其 RSD 为 0.81%, 说明本法测样稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 采用加样回收法, 取已知含量女贞子药材粉末 0.15 g, 精密称定分别加入 3.105 mg 的甘露醇对照品, 按含量测定方法操作, 见表 1。

2.9 样品测定 按照 2.2 项方法制备样品, 精密移取 1 mL, 置具塞三角瓶中, 按标准曲线的绘制项下方

法测定吸收度, 按外标两点法计算含量。见表 2。

表 1 甘露醇回收率试验结果

称样量 (g)	甘露醇量 (mg)	加入量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.1502	2.718	3.105	5.728	96.94		
0.1510	2.803	3.105	5.838	97.92		
0.1509	2.779	3.105	5.765	96.16	97.6	0.66
0.1511	2.840	3.105	5.862	97.33		
0.1506	2.743	3.105	5.753	96.94		

表 2 不同产地女贞子药材中甘露醇的含量

产地	含量 (%)
湖南	2.63
湖北	1.93
陕西	3.21
山东	2.15
河南	1.71
安徽	1.85
江苏	1.93
上海	1.93
内蒙古	2.66

测定结果表明女贞子中甘露醇含量在 1.71%~3.21% 之间, 其中西安产地的女贞子所含甘露醇量最高为 3.21%。

3 方法学考察

本实验对甘露醇含量测定的显色条件和供试品溶液的制备条件进行了优选。

3.1 显色条件的优选

3.1.1 最大吸收波长的选择 依据相关的文献报道^[3], 甘露醇溶液同高碘酸钠溶液反应后, 加入鼠李糖溶液和 Nash 试液后, 在 (400~600) nm 范围内进行扫描, 记录最大吸收波长为 413 nm。

3.1.2 高碘酸钠溶液用量的考察 精密吸取甘露醇对照品溶液 1 mL, 分别精密加入 0.9, 1.0, 1.2 mL 的高碘酸钠溶液, 然后再加入 0.1% 鼠李糖溶液和 Nash 试液, 于 413 nm 处测定。结果表明 1 mL 用量的高碘酸钠溶液所测得吸光度最大。

3.1.3 L-鼠李糖溶液用量的考察 精密吸取甘露醇对照品溶液 1 mL, 精密加入 1.0 mL 的高碘酸钠溶液, 分别加入 0.1% 鼠李糖溶液 1.6, 1.8, 2.0 mL 和 Nash 试液, 于 413 nm 处测定。结果表明 1.8 mL 用量的 0.1% 鼠李糖溶液所测得的吸光度最大。

3.1.4 Nash 试液用量的考察 精密吸取甘露醇对照品溶液 1 mL, 精密加入 1.0 mL 的高碘酸钠溶液, 摇匀, 静置 10 min, 然后加入 0.1% 鼠李糖溶液 1.8 mL, Nash 试液分别加入 3.6, 3.8, 4.0 mL, 于 413 nm 处测定。结果表明 3.8 mL 用量的 Nash 试液所测得

的吸光度最大。

3.1.5 静置时间的考察 精密吸取甘露醇对照品溶液 1 mL, 精密加入 1.0 mL 的高碘酸钠溶液, 摇匀, 分别静置 10, 15, 20 min, 然后加入 0.1% 鼠李糖溶液 1.8 mL 和 Nash 试液 3.8 mL, 53 °C 水浴保温 15 min, 取出迅速冷却至室温, 于 413 nm 处测定。结果表明静置 15 min 所测得的吸光度最大。

3.1.6 保温时间的考察 精密吸取甘露醇对照品溶液 1 mL, 精密加入 1.0 mL 的高碘酸钠溶液, 摇匀, 静置 15 min, 然后加入 0.1% 鼠李糖溶液 1.8 mL 和 Nash 试液 3.8 mL, 53 °C 水浴分别保温 10, 15, 20 min, 取出迅速冷却至室温, 于 413 nm 处测定。结果表明水浴保温 15 min 所测得的吸光度最大。

3.2 供试品溶液的制备条件的优选

3.2.1 三氯甲烷提取时间的考察 称取女贞子粉末(40 目)0.3 g, 加入三氯甲烷 50 mL, 分别水浴回流 1, 2, 3 h, 按本文 2.0 项下进行样品含量测定, 结果表明三氯甲烷提取 2 h, 测得的吸光度最大。

3.2.2 95% 乙醇提取时间的考察 称取女贞子粉末(40 目)0.3 g, 加入三氯甲烷 50 mL, 水浴回流 2 h, 放冷滤过, 残渣以少量三氯甲烷洗涤, 滤液一并弃去。残渣和滤纸水浴上挥干, 再加入 95% 乙醇 50

mL 分别回流 1 2 3 h, 按 2.8 项进行样品含量测定, 结果表明 95% 乙醇提取 2 h 所测得的吸光度最大。

3.2.3 95% 乙醇提取用量的考察 称取女贞子粉末(40 目)0.3g, 加入三氯甲烷 50 mL, 水浴回流 2 h, 放冷滤过, 残渣以少量三氯甲烷洗涤, 滤液一并弃去。残渣和滤纸水浴上挥干, 再分别加入 95% 乙醇 40, 50, 60 mL 水浴回流 2 h, 按 2.8 项进行样品含量测定, 结果表明以 95% 乙醇 50 mL 提取 2 h 所测得的吸光度最大。

4 讨论

甘露醇为多元醇类化合物, 文献报道, 多元醇含量用比色法测定, 其特异性较高, 许多含羟基的物质包括单糖等对其无明显的干扰, 我们认为采用此种方法对女贞子中的甘露醇进行的含量测定更具有普遍性和简便性。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 31.
- [2] 李曼玲, 刘美兰. 女贞子不同炮制品中甘露醇含量的测定[J]. 中药材, 1995, 18(5): 246.
- [3] Song HB, Arnold LD. An improved colorimetric assay for polyols[J]. Anal Biochem, 1977, (81): 18-20.