

文章编号:1001-6880(2017)Suppl-0077-05

高碘酸钠滴定法测定麦冬药材中总糖含量

张璐欣¹, 李德坤^{2,3}, 周大铮^{2,3}, 杨悦武^{2,3}, 余伯阳^{1*}, 鞠爱春^{2,3*}¹中国药科大学,南京 211198; ²天津市中药注射剂安全性评价企业重点实验室;³天津天士力之骄药业有限公司,天津 300402

摘要:本实验旨在采用高碘酸钠滴定法建立麦冬药材中总糖含量的测定方法。主要过程为将药材粉末经纯化水提取且过 SPE 商品柱后,采用高碘酸钠滴定法,利用麦冬中的糖类在酸性、水浴条件下与 NaIO_4 溶液反应,使得高碘酸钠消耗的硫代硫酸钠溶液减少,从而测出麦冬药材中的总糖含量。结果表明,6 个批次麦冬药材总糖含量分别为 623.64, 529.86, 548.61, 633.01, 482.97, 557.99 mg/g。该方法经方法学考察,该含量测定方法快速、准确,可用于麦冬药材中的总糖含量测定。

关键词:高碘酸钠滴定法;麦冬;总糖含量

中图分类号:R284

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.S.016

Determination of Radix Radix Total Sugar Content by Titration

ZHANG Lu-xin¹, LI De-kun^{2,3}, ZHOU Da-zheng^{2,3}, YANG Yue-wu^{2,3}, YU Bo-yang^{1*}, JU Ai-chun^{2,3*}¹China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; ²Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of TCM Injections; ³Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300402, China

Abstract: The aim of this study is using sodium periodate titration method to establish a determination methods of total sugar content in *Radix Ophiopogonis*. Medicinal powder extracted by purified water and over-SPE product column, under the condition of acid, water bath and after reaction with NaIO_4 solution, so that the consumption of sodium thiosulfate solution is reduced, thus calculated total sugar content. The results show 6 batches of *Radix Ophiopogonis* total sugar content were 623.64, 529.86, 548.61, 633.01, 482.97, 557.99 mg/g. After study methodology, the determination method is rapid, accurate and can be used to determine *Radix Ophiopogonis* total sugar content.

Key words: titration; *Radix Ophiopogonis*; total sugar content

麦冬为百合科多年生常绿草本植物,首载于《本草经》,有养阴生津,润肺清心的功效,在养阴药和一些复方中处于极其重要的地位。麦冬主要化学成分为甾体皂苷、多糖,还有高异黄酮类、氨基酸等^[1-3]。研究发现,麦冬活性多糖可保护心肌细胞、增加小鼠心肌营养血流量,同时还具有抑制心肌缺血造成的自由基生成增加和清除氧自由基的作用^[4,5]。汤军等^[6]发现麦冬多糖可显著增加幼鼠的免疫器官重量,具有良好的免疫增强和刺激作用。

目前麦冬中糖含量测定主要采用苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法,张萍^[7]等、王晓华^[8]等都利用苯酚-硫酸法分别测定了短葶山麦冬和湖北麦冬药材中的多糖含量。唐丽琴^[9]等采用蒽酮-硫酸法建立了麦

冬多糖的含量测定方法,冯怡^[10]等针对蒽酮-硫酸法,优化了测定麦冬多糖的方法。一般情况下,蒽酮-硫酸法可以测定所有碳水化合物的含量,苯酚-硫酸法测定多聚糖、单糖及甲基化后的糖,两种方法均不能准确测定总糖含量^[11]。此外也出现了其他方法,如王红英等^[12]采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定了麦冬多糖的含量,该方法计算麦冬多糖含量时,把单糖含量从总糖中减去。但就总体而言,紫外可见分光光度法在测定麦冬糖类物质含量时对照品称量、移液枪、供试品溶液等均可能引入一定的不确定度,使得测定结果不准确^[13]。针对此问题,本实验采用高碘酸钠滴定法建立了麦冬药材中总糖含量的测定方法,并测定了 6 批川麦冬药材中的总糖,由于高碘酸钠与糖为定量反应,因此测定结果更加准确,可为麦冬药材及其制剂的质量控制提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

METTLER AL204 型万分之一电子分析天平; XS-105 型十万分之一电子天平(瑞士,梅特勒-托利多仪器有限公司);药典筛(浙江上虞市五星冲压筛具厂);KQ-100E 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);98-1-B 型电子恒温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);DK-S28 型电热恒温水浴锅(上海森信实验仪器有限公司);SPE 商品柱(型号 PSZG 5006 ,500 mg/6 mL, 天津博纳艾杰尔科技有限公司)。

1.2 试剂

高碘酸钠分析纯(天津市天大化工实验厂);碘化钾分析纯(天津市风船化学试剂科技有限公司);硫代硫酸钠分析纯(天津市风船化学试剂科技有限公司);无水碳酸钠分析纯(天津市化学试剂三厂);基准重铬酸钾分析纯(天津市标准科技有限公司);硫酸为分析纯(天津市化学试剂三厂);淀粉为分析纯(天津市化学试剂三厂)。

果糖(批号:100231-200303)购于中国食品药品检定研究院;6 批川麦冬药材均由天津天士力之骄药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取果糖对照品 100.03 mg, 纯化水溶解并定容至 50 mL 量瓶中, 密塞摇匀, 即得。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取麦冬药材粉末(过 4 号筛)1.0 g, 置 250 mL 圆底烧瓶中, 加水 40 mL, 回流提取 1 h, 趁热

表 1 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的标定结果
Table 1 Calibration results of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ solution

重铬酸钾取用量 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ amount (g)	溶液消耗量 Solution consumption (mL)	ΔV (mL)	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 浓度 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ concentration (mol/L)	RSD (%)	溶液平均值 Mean (mol/L)
空白	-	0.09	-	-	
1	0.1502	29.50	29.41	0.1042	
2	0.1500	29.45	29.36	0.1041	0.0554
3	0.1501	29.50	29.41	0.1042	0.1042

2.3.5 稀硫酸溶液的配制

根据中国药典 2015 版第四部通则项下稀硫酸

过滤。滤渣加水 20 mL, 继续回流提取 1 h。合并滤液, 过 SPE 商品柱, 流速约 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 纯化水洗脱, 收集洗脱液约 80 mL 于 100 mL 量瓶中, 加水定容, 密塞摇匀。精密吸取 10 mL 至 50 mL 量瓶中, 加水定容, 密塞摇匀, 即得供试品溶液。

2.3 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的配制与标定及其他试剂的配制

2.3.1 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的配制

根据中国药典 2015 版第四部通则项下滴定液的配制与标定方法分别配制与标定 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液^[14]。取硫代硫酸钠 78 g 与无水碳酸钠 0.6002 g, 加新沸过的冷水适量使溶解并稀释至 3000 mL, 摆匀, 放置 1 个月后滤过。

2.3.2 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的标定

取在 120 ℃ 下干燥至恒重的基准重铬酸钾 0.15 g, 精密称定, 置碘瓶中, 加水 50 mL 使溶解, 加碘化钾 2.0 g, 轻轻振摇使溶解, 最后加稀硫酸 40 mL, 摆匀, 密塞; 在暗处放置 10 分钟后, 加水 250 mL 稀释, 用上述溶液滴定至近终点时, 加淀粉指示液 3 mL, 继续滴定至蓝色消失而显亮绿色, 并将滴定的结果用空白实验校正。每 1 mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液相当于 4.903 mg 的重铬酸钾, 根据消耗量与重铬酸钾取用量, 算出溶液浓度, 即得。

2.3.3 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的标定结果

按“2.3.2 项下”步骤进行操作, 计算 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的浓度。结果如表 1 所示。

根据上表所示结果, 配制的硫代硫酸钠溶液的浓度为 0.1042 mol/L。

2.3.4 高碘酸钠溶液的配制

称取高碘酸钠固体 6.0005 g, 500 mL 纯化水溶解, 制成浓度约 12 mg/mL 的溶液, 避光, 置阴凉处储存。

的配制方法^[14], 取硫酸 57 mL, 加水稀释至 1000 mL, 即得。本液含硫酸为 9.5% ~ 10.5%。

2.3.6 淀粉指示剂的配制

根据中国药典 2015 版第四部通则项下淀粉指示剂的配制方法^[14],取可溶性淀粉 0.5 g,加水 5 mL 搅匀后,缓缓倾入 100 mL 沸水中,随加随搅拌,继续煮沸 2 min,放冷,倾取上层清夜,即得。本液为临用新制。

2.4 实验步骤

精密吸取 10 mL 待测供试品溶液置 500 mL 碘量瓶中,分别加 NaIO₄(约 12 mg/mL)、水、稀硫酸 10.00、50.0、40.0 mL。水浴加热 30 min,放冷至室温,加碘化钾 2.0 g,水 10.0 mL,密塞,摇匀,置暗处反应 5 min,用标定好的 Na₂S₂O₃ 溶液滴定,至近终点时加 3 mL 淀粉指示剂,继续滴定至蓝色消失,记下读数,并将滴定的结果用空白实验校正。每 1 mL Na₂S₂O₃ 溶液(0.1 mol/L)相当于葡萄糖 1.8 mg。经计算,标定过的 Na₂S₂O₃ 溶液(0.1042 mol/L)每 1 mL 相当于葡萄糖 1.8756 mg。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系

精密吸取“2.1 项下”果糖对照品溶液 0、1、2、4、5、8、9 mL 于 500 mL 碘量瓶中,分别加水 10、

9.00、8.00、6.00、5.00、2.00、1.00 mL,即浓度分别为 0、0.2、0.4、0.8、1.0、1.6、1.8 mg/mL,按 2.4 项下实验步骤操作,并根据标定的 Na₂S₂O₃ 溶液浓度计算测得的糖含量。以浓度为横坐标,测得的含量为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程 $y = 9.0323x + 0.1403, r = 0.9997$ 。结果表明,糖含量在 0~18 mg 范围内线性关系良好。

2.5.2 稳定性试验

精密称取麦冬药材粉末(批号 1503001,过 4 号筛)适量,按“2.2 项下”方法制备供试品溶液,按“2.4 项下”实验步骤操作,分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 测定。结果,测得的糖含量 RSD 为 0.65%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.5.3 重复性

精密称取麦冬药材粉末(批号 1503001,过 4 号筛)适量,按“2.2 项下”方法分别平行制备高、中、低供试品溶液各 1 份,按“2.4 项下”实验步骤操作,重复测定 3 次,计算含糖量。结果, RSD 分别为 0.5754%、0.2534%、0.4287%,表明该方法重复性良好。结果见表 2。

表 2 重复性实验结果($n=3$)

Table 2 Results of repeatability ($n=3$)

取样量 Sample amount (g)	溶液用量 Solution (mL)	ΔV (mL)	糖含量 Sugar content (mg)	RSD (%)
空白	0	42.85	0.00	-
低-1		41.84	1.01	94.72
低-2	0.1500	41.85	1.00	93.78
低-3		41.85	1.00	93.78
中-1		38.30	4.55	426.70
中-2	0.6600	38.30	4.55	426.70
中-3		38.28	4.57	428.57
高-1		36.15	6.70	628.46
高-2	1.0003	36.10	6.75	633.15
高-3		36.10	6.75	633.15

2.5.4 加样回收率试验

精密称取麦冬药材粉末(批号 1503001,过 4 号筛)0.5 g(1 g 含糖约为 633 mg),按含有量 50%、100%、150% 3 个水平加入果糖对照品,按“2.2 项下”方法平行制备供试品溶液各 3 份,按“2.4 项下”实验步骤操作,计算测得的糖含量。结果见表 3。

2.6 不同批次麦冬药材的含量测定

法制备供试品溶液,按“2.4 项下”实验步骤进行操作,计算各供试品中总糖含量,结果见表 4。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法

本实验前期分别对超声和回流两种提取方式进行考察,发现超声时测得的总糖含量明显小于回流提取的总糖,且超声提取总糖时难以过滤,故本实

取 6 批次麦冬药材,按“2.2 项下”的供试品方

表 3 加样回收率实验结果($n=3$)Table 3 Results of recovery ($n=3$)

取样量 Sample amount (g)	原有量 Original amount (mg)	加入量 Adding amount (mg)	溶液用量 Solution (mL)	ΔV (mL)	测得量 Detected amount (mg)	回收率 Recovery (%)	平均值 Mean (%)	RSD(%)
空白 Blank	-	-	42.80	-	-	-	-	-
0.5003	316.67	155.96	37.75	5.05	473.59	100.61		
0.5002	316.61	155.93	37.77	5.03	471.71	99.47	100.65	1.182
0.5003	316.67	155.91	37.73	5.07	475.46	101.85		
0.5001	316.54	316.34	36.05	6.75	633.02	100.04		
0.5002	316.61	316.61	36.13	6.67	625.51	97.59	98.70	1.257
0.5002	316.61	316.61	36.10	6.70	628.33	98.46		
0.5003	316.67	464.94	34.50	8.30	778.37	99.30		
0.5000	316.48	464.92	34.46	8.34	782.12	100.16	99.39	
0.5002	316.61	464.94	34.53	8.27	775.56	98.71		0.7031

表 4 不同批次药材总糖含量测定($n=3$)Table 4 Contents of total sugar in different batches of sample ($n=3$)

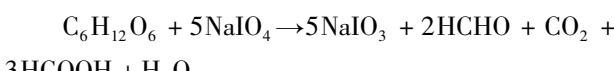
药材批号 Batch No.	糖含量 Total sugar (mg/g)	RSD(%)
空白 Blank	-	-
1310001	623.32	0.3786
130501	531.42	0.5094
1307035	548.93	0.4299
1503001	633.33	0.2262
1308001	485.78	0.5108
1408001	557.05	0.2916

验最终采用回流提取总糖。然后对料液比及提取次数进行了考察,发现料液比为1:40、提取次数2次时提取效果最好。

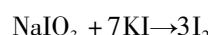
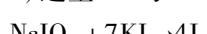
3.2 滴定法测糖实验方法

本实验采用滴定法测糖的基本原理是在酸性、水浴条件下,糖类物质与高碘酸钠溶液定量反应,糖类成分的C-C键断裂,高碘酸钠被还原为碘酸钠,剩余的高碘酸钠和碘酸钠与碘化钾试剂反应,暗处反应后用标定过的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液滴定生成的单质碘,并用空白校正,从而测出样品中糖类成分的含量。反应过程为:

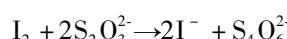
1) 糖类与高碘酸钠反应



2) 过量 KI 与 NaIO_4 和 NaIO_3 的反应



3) 反应生成的 I_2 与 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 的反应



反应的比例关系为: $0.2\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \sim \text{NaIO}_4 \sim \Delta\text{I}_2 \sim 2\Delta\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 计算得每1 mL 硫代硫酸钠滴定液(0.1 mol/L)相当于1.8 mg的 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。为保证实验的准确性,实验中所加入的高碘酸钠均为精密量取且与糖定量反应后仍有剩余,碘化钾固体试剂也为过量加入,使实验结果更加真实准确。

3.3 总糖含量

本实验测定的6批麦冬药材中,不同批次的麦冬药材总含量有所差异,部分差异较明显。麦冬药材中水溶性浸出物在60%以上,而这其中大部分为糖类物质,因此开发一种用于麦冬中总糖含量测定的准确测定方法,对于麦冬药材及其制剂的质量控制具有重要意义。滴定法中糖与高碘酸钠为定量反

应,故测定结果更加可靠,因此本实验建立的滴定法可以真实反应麦冬中的总糖含量,有利于准确地评价药材及制剂质量。

另外,本实验还针对麦冬药材中单糖进行了测定,测定结果如表5。

表5 不同批次药材单糖及低聚糖含量

Table 5 Contents of monosaccharide and oligosaccharide

批次 Batch No.	单糖含量 Content of monosaccharide (mg/g)	低聚糖含量 Content of oligosaccharide (mg/g)
1310001	72.39	550.94
130501	44.48	486.94
1307035	52.57	496.36
1503001	27.78	605.55
1308001	40.92	444.86
1408001	21.96	535.09

从上表中可以看出,单糖含量以1310001批次麦冬为高,1408001批次含量最低,且各批次间各有差别,结合表3,总糖含量越高,单糖含量并非越高。已知6批药材均来自于四川绵阳,提示这可能与药材的采收期有关。

参考文献

- Huang GH(黄光辉), Sun LN(孙连娜). Research progress in *Ophiopogon japonicus* polysaccharide. *Drugs Clinic* (现代药物与临床), 2012, 27: 523-529.
- Liu Y, Liang Y, Zhou Y, et al. Experimental evidence for ion accumulation time affecting qualitative and quantitative analysis of ophiopogons in *Ophiopogon* extract by hybrid ion trap time-of-flight mass spectrometry. *Chromatographia*, 2013, 76: 949-958.
- Xie T, Liang Y, Hao H, et al. Rapid identification of ophiopogonins and ophiopogonones in *Ophiopogon japonicus* extract with a practical technique of mass defect filtering based on high resolution mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2012, 1227: 234-244.
- Zhou YH(周跃华), Xu DS(徐德生), Feng Y(冯怡), et al. Effects on nutrition blood flow of cardiac muscle in mice by different extracts in Radix Ophiopogonis. *Chin J Exp Tradit Med Formul*(中国实验方剂学杂志), 2003, 9: 22-24.
- Xu DS(徐德生), Feng Y(冯怡), Zhou YH(周跃华), et al. Active components of polysaccharide of *Ophiopogon japonicus* on acute myocardial ischemia. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2004, 26: 832-836.
- Tang J(汤军), Qian H(钱华), Huang Q(黄琦), et al. A study on the antianaphylactic and antiasthmatic activity of polysaccharide from *ophiopogonis* tuber. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学杂志), 1999, 16: 16-19.
- Zhang P(张萍), Zhang NP(张南平), Han KZ(汗克孜), et al. Studies on the quality and quantity analysis method of *Liriope muscari* (Decne.) Baily. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2009, 29: 35-38.
- Wang XH(王晓华), Chen JC(陈家春). 湖北麦冬多糖含量的测定. *Hubei TCM J*(湖北中医杂志), 2005, 27(3): 50-51.
- Tang LQ(唐丽琴), Li C(李矗), Liu S(刘圣), et al. Determination of pachyman in Radix Ophiogonis content by Anthrone-Sulphuric Acid Colrimetry. *Anhui Med Pharm J*(安徽医药), 2003, 7: 39-40.
- Feng Y(冯怡), Han N(韩宁), Xu DS(徐德生). 麦冬多糖含量测定方法的研究. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2006, 28: 705-707.
- Wang HY(王红英), Qian S(钱斯日古楞), Zhao QC(赵前程), et al. Determination of polysaccharide in *Ophiopogon japonicus* with 3,5-dinitrosalicylic acid colorimetry. *J Shenyang Agric Univ*(沈阳农业大学学报), 2005, 36: 628-630.
- Zhang C(张弛). Separation, purification and structural analysis of polysaccharides in *Ophiopogon japonicas* (L.f.) Ker-Gawl. Shanghai: East China University of Science and Technology(华东理工大学), MSc. 2011.
- Guo YH(郭永辉), Lv LJ(吕丽娟). Uncertainty evaluation of content determination of total sugar in *Ophiopogon japonicus* polysaccharide by ultraviolet and visible spectrophotometry. *China Pharm*(中国药师), 2015, 18: 169-171.
- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2015. Vol 4. 291-353.