

张 剑,刘冰晶,李 超,等. 紫外分光光度法测定乌药中总生物碱含量[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):266-267.

紫外分光光度法测定乌药中总生物碱含量

张 剑^{1,2}, 刘冰晶^{1,2}, 李 超¹, 吴婉沂¹, 杜 兵¹

(1. 赣南医学院药学院, 江西赣州 341000; 2. 江西省脑血管药理重点实验室, 江西赣州 341000)

摘要:用紫外分光光度法测定乌药中的总生物碱含量。先用索氏提取法提取乌药中的总生物碱,再以小檗碱为对照品,在 pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液中,以溴甲酚绿指示液为显色剂,在 628 nm 波长下利用分光光度法测定乌药中的总生物碱含量。结果表明,小檗碱对照品在 2.0~12.0 mg/L 范围内呈线性关系,回归方程为 $D=0.0082C+0.1671$, $r=0.9991$,乌药中的总生物碱含量为 0.3014%。本方法操作简便、迅速,测定结果准确、可靠。

关键词:乌药;总生物碱;分光光度法

中图分类号:R284.1;O657.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)03-0266-02

乌药 [*Lindera aggregata* (Sims) Kosterm] 系樟科 (Lauraceae) 山胡椒属 (*Lindera*) 植物,为传统的理气止痛药^[1],具有温中散寒、理气止痛的功效,最早记载于唐代陈藏器《本草拾遗》。现代药理学研究表明,乌药具有广泛的药理活性^[2-3]。乌药根的主要有效成分为异喹啉类生物碱及呋喃倍半萜^[4],其中生物碱和呋喃倍半萜及其内酯类成分是乌药的特征性成分^[5-7],具有较强的专属性,也具有一定的活性。为了确保乌药的质量标准评价有具体的量化指标,根据乌药中所含成分的特点,本研究采用酸性染料比色法测定乌药中的生物碱含量。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

主要仪器:紫外可见分光光度计(尤尼柯 UV-4802);

收稿日期:2013-06-30

基金项目:江西省教育厅科技重点项目(编号:GJJ10698);江西省教育厅科技项目(编号:GJJ11565);江西省卫生厅中医药科研计划(编号:2011A153)。

作者简介:张 剑(1965—),男,江西信丰人,教授,从事中药化学研究。E-mail:zhangjiangnmc031@163.com。

算法进行改进,对经过预处理和特征提取的大豆种子图像进行验证,仿真结果表明优化的神经网络可以显著增强大豆种子品质的识别率、提升识别效率,在现代农业中应用前景看好。

参考文献:

- [1] 傅艳华,王鹏程,阳庆华,等. 大豆食品加工利用现状与发展前景[J]. 湖北农业科学,2001(1):62-64.
- [2] 李 聪,高海燕,袁 超. 基于计算机视觉的苹果自动分级方法研究[J]. 计算机仿真,2012(9):293-296.
- [3] 黄星奔,魏海丽,赵杰文. 实时在线检测苹果果形的一种计算方法[J]. 食品与机械,2006,22(1):27-29.
- [4] 冯 斌. 计算机视觉信息处理方法与水果分级检测技术研究[D]. 北京:中国农业大学,2010.
- [5] Schroder M, Rehrauer H, Seidek K, et al. Interactive learning and probabilistic retrieval in remote sensing image archives[J]. Geosci-

98-1-C 数显控温电热套(天津泰斯特);索式提取器;电子天平;三氯甲烷(AR);溴甲酚绿(AR);小檗碱标准品(成都领航者生物技术有限公司);pH 值 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液;0.01 mol/L 氢氧化钠溶液(用乙醇溶解)。

试验所用中药材乌药样品采自江西赣南。

1.2 试验方法

本研究所用试验方法参照文献[8-10]的方法并加以改进。

1.2.1 缓冲液的配制 pH 值 4.5 缓冲液的配制:将 0.2 mol/L 氢氧化钠滴加至冰醋酸中,调节 pH 值为 4.5,即得醋酸-醋酸钠缓冲溶液。0.04% 溴甲酚绿溶液的配制:称取 40 mg 溴甲酚绿,加 100 mL pH 值为 4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液溶解,过滤。

1.2.2 标准曲线的制备 称取 2 mg 干燥至恒重的小檗碱对照品于 100 mL 容量瓶中,用三氯甲烷定容至 100 mL,摇匀。分别取 1.2、2.4、3.6、4.8、6.0、7.2 mL 标准溶液于 20 mL 量瓶中,用三氯甲烷稀释至 10 mL,分别加入 5.0 mL pH 值为 4.5 的缓冲液、2.0 mL 0.04% 溴甲酚绿溶液,剧烈振荡 5 min 后静置 30 min。取 5 mL 下层液体,加入 1.0 mL 0.01 mol/L 氢氧化钠乙醇溶液,摇匀后于 628 nm 处测吸光度。以小檗碱含量(C)为横坐标,吸光度(D)为纵坐标制作标准曲线,得回

ence and Remote Sensing,38(5):2288-2298.

- [6] 彭淑敏. 神经网络图像识别技术研究及实现[D]. 西安:西安电子科技大学,2005.
- [7] Kalchmair S, Jährling N, Becker K, et al. Image contrast enhancement in confocal ultramicroscopy[J]. Optics Letters, 2010, 35(1):79-81.
- [8] 高 岩,乔彦峰. 一种改进直方图均衡的图像增强方法[J]. 计算机仿真,2008,25(4):198-200.
- [9] Kenned J, Ebemart R C. Partical swarm optimi-zation[C]//Proceeding of 1995 IEEE International Conference on Neural Networks, 1995:192-194.
- [10] 常爱英,吴铁军,包 鑫,等. 基于最小二乘支持向量机的配煤着火特性预测模型[J]. 煤炭学报,2010,35(8):1380-1383.
- [11] 蔡金锭,付中云. 粒子群神经网络混合算法在负荷预测中的应用[J]. 高电压技术,2007,33(5):90-93.

归方程。

1.2.3 空白溶液的制备 取 10 mL 三氯甲烷溶液于 20 mL 容量瓶中,分别加入 5.0 mL 缓冲液(pH 值 4.5)、2 mL 0.04% 溴甲酚绿溶液,剧烈摇动 5 min 后静置 30 min。取 5 mL 下层液,加入 1.0 mL 0.01 mol/L 氢氧化钠乙醇溶液摇匀,作为空白溶液。

1.2.4 乌药中总生物碱的提取 准确称取 0.5 g 乌药,用适量氨水湿润后密封放置 30 min,索式提取 2 h 后将提取液置于 TLC(薄层色谱),滴加碘化铋钾溶液至不显色为止;回收三氯甲烷,将残留物放冷至室温,再用三氯甲烷溶解并定容至 20 mL。分别取 0.2 mL 提取物于量瓶中,加三氯甲烷定容至 10 mL,混匀作为样品液。分别取 10 mL 样品液于 3 个 20 mL 容量瓶中,再分别加入 5.0 mL 缓冲液(pH 值 4.5)和 2 mL 0.04% 溴甲酚绿溶液,剧烈摇动 5 min 后静置 30 min;取 5 mL 下层液,加 1.0 mL 0.01 mol/L 氢氧化钠乙醇溶液,摇匀后于 628 nm 处测定吸光度,计算生物碱含量与回收率,回收率计算公式为:

回收率 = (C - A) / B × 100%。

式中:A 为供试品所含被测成分量,mg;B 为加入对照品量,mg;C 为实测值,mg。

1.2.5 测定波长的选择 取小檗碱对照品溶液,显色后进行可见 - 紫外全波长扫描。结果表明,对照品溶液在 628 nm 处有最大吸收峰且出现多次重复,峰形一致且空白对照无干扰,因此选择 628 nm 作为样品测定的波长。

2 结果与分析

2.1 标准曲线方程

经过统计处理得到回归方程: $D = 0.008\ 2C + 0.167\ 1$, $r = 0.999\ 1$,线性范围为 2.0 ~ 12.0 mg/L。

2.2 稳定性试验

取 0.2 mL 样品溶液,按照“1.2.4”节的相关操作,每隔 10 min 测定 1 次吸光度。结果表明乌药提取物在 1 h 内稳定, $RSD = 1.485\ 0\%$ 。

2.3 精密度试验

取同一批样品进行 6 次平行试验,测定生物碱含量。测得乌药提取物吸光度的 $RSD = 1.025\%$,表明精密度良好。

2.4 加样回收率试验

先分别准确称取 3 份 0.5 g 乌药样品,再准确加入 2 mg 小檗碱对照品,其余部分按“1.2.4”节的方法操作。表 1 试验结果表明:乌药提取物的平均回收率为 123.8%, $RSD = 1.86\%$ ($n = 3$)。

表 1 加样回收率试验

乌药提取物编号	折算样品中总生物碱质量(mg)	加入量(mg)	回收量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	1.056	2	3.482	121.3	123.8	1.86
2	1.056	2	3.572	125.8		
3	1.056	2	3.545	124.4		

2.5 样品含量的测定

分别准确称取 3 份乌药,每份 0.5 g,用适量氨水湿润后

密封放置 30 min,按“1.2.4”节的方法制备供试品溶液。在 628 nm 波长处测定吸光度,代入标准曲线方程计算含量。由表 2 可以看出,乌药中总生物碱平均含量为 0.301 4% ($n = 3$)。

表 2 含量测定结果

乌药提取物编号	$D_{628\ nm}$				总生物碱含量(%)
	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	
1	0.181 2	0.178 8	0.180 4	0.180 1	0.317 9
2	0.179 3	0.177 6	0.181 2	0.179 4	0.299 2
3	0.176 8	0.180 3	0.179 5	0.178 9	0.287 0
平均					0.301 4

3 结论

本研究采用酸性染料比色法测定乌药中的总生物碱含量,其原理是生物碱盐的阳离子与酸性染料的阴离子定量结合生成有色的络合物,可以定量地被某种有机溶剂萃取,因此通过测定萃取液的吸光度可以测定药材中总生物碱含量。在本试验中采用的生物碱的酸性染料为溴甲酚绿。同时考察了本方法的线性范围、稳定性、精密度、回收率,结果表明本方法符合紫外可见分光光度法的测试条件,可以作为乌药中总生物碱含量的测试方法。

生物碱大多具有复杂的环状结构,具有显著的生物活性,是乌药中重要的有效成分。本试验测得乌药中总生物碱含量为 0.301 4% ($n = 3$)。本试验建立的乌药中总生物碱含量的测试方法可以为乌药种源质量的筛选提供试验方法和参考依据。

参考文献:

[1]肖培根. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社,2002:230.
[2]国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:53.
[3]中国医学科学院药物研究所. 中药志:第二册[M]. 北京:人民卫生出版社,1981:926.
[4]程显隆,魏 锋,冯玉飞,等. RP - HPLC 法测定乌药中乌药醚内酯和乌药内酯的含量[J]. 药物分析杂志,2003,23(3):225 - 227.
[5]许海丹,顾霞敏,叶文国. 乌药化学成分分布特性研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(1):100 - 101.
[6]Han Z, Zheng Y, Chen N, et al. Simultaneous determination of four alkaloids in *Lindera aggregata* by ultra - high - pressure liquid chromatography - tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A,2008,1212(1/2):76 - 81.
[7]Gan L S, Yao W, Mo J X, et al. Alkaloids from *Lindera aggregata* [J]. Natural Product Communications,2009,4(1):43 - 46.
[8]蒋爱芳,杨义芳,黄文武. 酸性染料比色法测定总生物碱的研究进展[J]. 中草药,2006,37(增刊):359 - 362.
[9]蔡大可,李 耿,彭绍忠,等. 酸性染料比色法测定痹痛消膏中乌头生物碱的含量[J]. 中药新药与临床药理,2007,18(1):57 - 59.
[10]敖茂宏,刘 海,吴明开. 酸性染料比色法测定不同产地流苏石斛中总生物碱的含量[J]. 江苏农业科学,2012,40(10):282 - 283.