

全国不同产地续断中总生物碱的含量测定*

□卫莹芳** 刘 永 王化东 郭山山 闫 婕 谢达温

(成都中医药大学药学院中药材标准化教育部重点实验室 成都 611137)

摘 要:目的:测定全国 23 个不同产地续断中总生物碱的含量。方法:采用溴甲酚绿显色,紫外-可见分光光度法在 416nm 处测定续断中总生物碱的含量。结果:不同产地续断样品中总生物碱的含量在 0.0106%~0.1212%之间,有显著差异。结论:该方法准确、可靠,为续断的质量评价及质量控制提供研究基础。

关键词:续断 总生物碱 紫外-可见分光光度法 含量测定

续断为常用中药,具有补肝肾、强筋骨、续折伤,止崩漏之功效^[1],临床上主要用于治疗腰膝酸软、风湿痹痛、跌扑损伤、骨折、腰椎骨质增生、先兆性流产和习惯性流产等症状^[2-3]。

续断主要化学成分有三萜皂苷类、生物碱类、挥发油类、环烯醚萜类等。其中皂苷类成分是续接筋骨、促进骨损伤愈合的有效部位;而总生物碱是安胎、治疗先兆性流产和习惯性流产的有效部位^[2-4]。目前,对续断总生物碱含量测定的报道很少。因此,本文在测定不同产地续断总皂苷含量的基础上,进一步对续断总生物碱的提取、分离方法进行了比较,用溴甲酚绿为显色剂,紫外-可见分光光度法测定不同产地续断总生物碱含量,为更好地研究和开发续断资源提供质量评价依据。

一、仪器与试药

1. 仪 器

收稿日期:2009-04-07

修回日期:2009-07-24

* 国家环境保护总局项目(YSZ-428-07):中国重点药用生物资源调查—续断,子课题负责人:卫莹芳。

** 联系人:卫莹芳,教授,博士研究生导师,主要研究方向:中药品种、质量及资源,Tel:028-89082961,E-mail:wuyang6@163.com。

UV-1100 紫外-可见分光光度仪(上海天美科学仪器有限公司),KQ-3200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),DHC-3 型酸度计(上海雷磁仪器厂)。

2. 试 药

咖啡因对照品(批号:1215-0405,购自中国药品生物制品检定所);其他试剂均为分析纯。

续断采自全国 9 个省市 23 个产地(见表 1),均经成都中医药大学鉴定教研室卫莹芳教授鉴定为川续断 *Dipsacus asperoides* C. Y. Cheng et T.M.Ai 的干燥根。

二、方法与结果

1. 供试品溶液的制备

称取续断药材粉末(过三号筛)5.0g,精密称定,用 5mL 浓氨水将药材搅拌至湿润,浸润 30min,然后用 100mL 三氯甲烷冷浸过夜(12h),超声提取 30min,滤过,残渣用三氯甲烷分 3 次洗涤,每次 5mL,合并滤液,移置 150mL 量瓶中,用三氯甲烷稀释至刻度,

摇匀,浓缩回收提取液至干,用三氯甲烷定容到 2mL 量瓶中即得。

2. 对照品溶液的制备

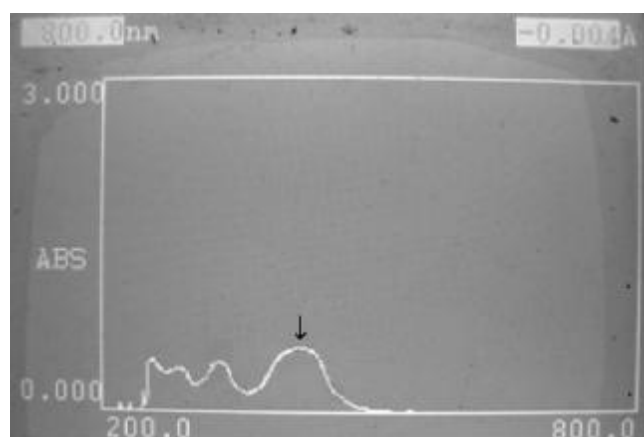
精密称取咖啡因对照品适量,加甲醇制成每 1mL 含咖啡因 0.902mg 的溶液,即得。

3. 溴甲酚绿缓冲液的制备

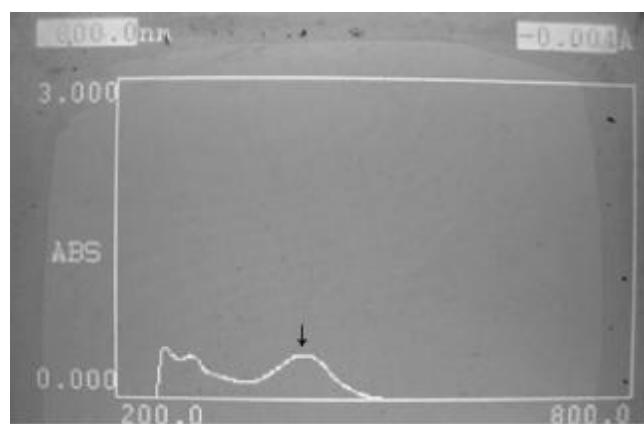
①精密称取溴甲酚绿 250mg,加入 $0.2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液 25mL 使溶解;②精密称取邻苯二甲酸氢钾 5.10g 放入 100mL 烧杯中,加入约 40mL 的蒸馏水并用玻璃棒搅拌使其充分溶解。然后将①和②所得溶液混合,移入 500mL 的量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀,校正其 pH 值为 4.12,备用。

4. 最大吸收波长的选择

精密吸取样品溶液及对照品溶液适量,以相应试剂三氯甲烷液为空白对照,于 200~800nm 波长范围内进行扫描,对照品溶液和供试品溶液均在 416nm 处有最大吸收,故选取 416nm 为测定波长(见图 1)。



续断样品



咖啡因对照品

图 1 续断药材及咖啡因对照品紫外光谱扫描图

5. 测定方法

精密吸取样品溶液适量置于已加入 10mL 三氯甲烷的分液漏斗中,加入 2mL 溴甲酚绿缓冲液,振摇,静置,至三氯甲烷液澄清,取三氯甲烷层,以溴甲酚绿缓冲液饱和的三氯甲烷液为空白对照,在 416nm 处测定吸光度。

6. 标准曲线制备

分别精密吸取对照品溶液 10、20、30、50、70、100 μL 置已加入 10mL 三氯甲烷的分液漏斗中,以空白试剂为对照,按样品测定方法在 416nm 处测定吸光度。以吸光度 Y 为纵坐标,咖啡因重量 X(mg)为横坐标,得标准曲线方程为: $Y=10.923X+0.0127$,相关系数 $r=0.9998$,线性范围为 0.00902~0.0902mg(见图 2)。

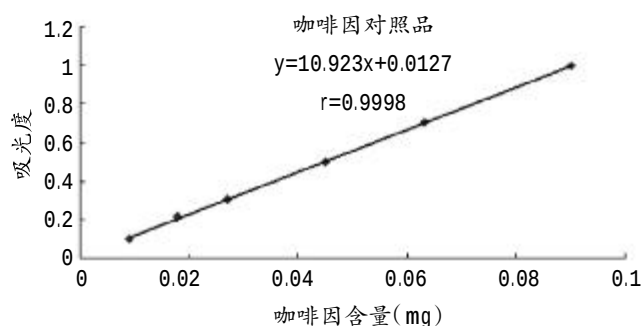


图 2 咖啡因标准曲线

7. 精密度试验

精密吸取咖啡因对照品溶液适量,平行 6 份,按样品测定方法测定吸光度,结果 $RSD=0.95\%$,表明仪器精度良好。

8. 稳定性试验

精密吸取供试品溶液适量于具塞试管中,按样品测定方法操作,分别在显色 0、15、30、60、90、120、150、180min 后,于 416nm 波长处测定吸光度,结果 $RSD=0.73\%$,表明样品溶液在 180min 内稳定。

9. 重复性试验

称取同一批续断样品 5 份,每份 5.0g,精密称定,按照“供试品溶液的制备”方法制备,精密吸取各供试品溶液适量,按样品测定方法操作测定吸光度,结果 $RSD=1.70\%$,表明该方法有较好的重复性。

10. 加样回收率试验

精密称取咖啡因对照品适量,加甲醇制成每 1mL 含 2.244mg 的溶液,备用。取已知含量的续断样品约 2.5g,平行 6 份,精密称定,各加入对照品溶液 1.0mL,按供试品溶液制备方法制备,测定吸光度,计

算回收率(见表2)。

由表2可知,咖啡因的加样回收率测定结果在97.21~102.63%之间,平均回收率为99.38%,RSD=1.94%(n=6)。

11. 样品测定及结果

按供试品溶液制备方法制备各样品溶液,依法测定吸光度,计算样品中总生物碱的含量,结果见表1。

表1 不同产地续断样品中总生物碱含量测定结果(n=3)

编号	样品来源	总生物碱含量(%)	RSD(%)	编号	样品来源	总生物碱含量(%)	RSD(%)
1	四川攀枝花米易县	0.1212	1.05	13	重庆巫山县	0.0724	2.55
2	四川会理县	0.0651	1.08	14	重庆巫溪县	0.0622	0.96
3	四川普雄县	0.0829	1.44	15	重庆铜梁县	0.0581	1.34
4	四川宝兴县	0.0491	1.02	16	昆明菊花村药市	0.0429	1.63
5	四川荣经县	0.0106	0.94	17	云南鹤庆县	0.0423	1.89
6	四川汉源县	0.0217	1.95	18	贵州遵义	0.0460	1.30
7	湖北鹤峰县-栽培	0.0864	1.38	19	贵州安顺	0.0242	0.29
8	湖北鹤峰县-野生	0.1033	1.74	20	湖南张家界	0.0545	0.65
9	湖北五峰县	0.0542	1.29	21	河南南阳	0.0771	0.92
10	湖北长阳县	0.0689	3.04	22	山东德州	0.0150	2.0
11	湖北咸丰县	0.0458	0.31	23	甘肃兰州	0.0261	0.54
12	湖北利川市	0.0314	1.15				

表2 咖啡因回收率试验结果

序号	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	2.2657	2.244	4.4951	99.35	99.38	1.94
2	2.2664	2.244	4.5166	100.28		
3	2.2666	2.244	4.5696	102.63		
4	2.2652	2.244	4.4607	97.84		
5	2.2646	2.244	4.4855	98.97		
6	2.2660	2.244	4.4474	97.21		

三、讨论

本文采用溴甲酚绿比色法测定续断总生物碱的含量,在180min内吸收值稳定,0.00902~0.0902mg范围内线性关系良好($r=0.9998$),平均回收率为99.38%,RSD为1.94%,可作为该药材总生物碱的分析测定方法。

在提取分离总生物碱的过程中,提取时间、提取溶剂、料液比对其含量都有影响,结果显示用100mL三氯甲烷,冷浸过夜(12h),超声30min提取效果最佳。

由表1可知,23个不同产地续断样品中总生物碱含量在0.0106%~0.1212%之间,有一定的差异,四川攀枝花米易县续断总生物碱含量高于其他地区,达0.1212%,其次是湖北鹤峰县和四川越西县,四川荣经县的含量最低为0.0106%,湖北鹤峰县栽培续断的含量稍低于野生续断。

不同产地总生物碱含量有一定的差异,是否与当地的生态环境、药材生长年限、加工方法、贮存时间的差异有关,有待于进一步考察。

参考文献

- 1 国家药典委员会.中国药典.一部.北京:化学工业出版社,2005.
- 2 晏媛,郑萍.续断的药理学研究进展.中医药研究,2002,18(5):53-54.
- 3 王岩,周莉玲,李锐.川续断的研究进展.时珍国医国药,2002,13(4):233.
- 4 钟美英,申玉华.川续断的研究现状.中医药导报,2008,14(6):137-138.

Determination of total alkaloids in *Dipsacus asperoides*

Wei Yingfang, Liu Yong, Wang Huadong, Guo Shanshan, Yan Jie, Xie Dawen
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

Abstract: Twenty-three samples of *Dipsacus asperoides* were collected from different producing areas and used for the determination of the contents of total alkaloids. Using bromocresol green as the color developing reagent, the total alkaloids in *Dipsacus asperoides* was determined at the wavelength of 416nm. The results showed that *D. asperoides* from different areas had different total alkaloids contents, ranging from 0.0106% to 0.1212%. This method is accurate and reliable, laying a basis for the quality assessment and control of *Dipsacus asperoides*.

Keywords: *Dipsacus asperoides*; Total alkaloids; UV-Vis spectrophotometry; Content determination

(责任编辑:王 瑀,责任译审:张立巍)