一阶导数光谱法测定大青叶中邻氨基苯甲酸含量△

第二军医大学药学院(上海 200433) 王 寅* 乔传卓

摘 要 应用一阶导数光谱法测定大青叶 *Isatidis indigotica* Fort. 药材中邻氨基苯甲酸含量,平均加样回收率为 96.66%, *RSD* 为 1.09%。测定结果与高效毛细管电泳法比较,无显著性差异。方法简便、快速、准确。

关键词 一阶导数光谱法 大青叶 邻氨基苯甲酸 邻氨基苯甲酸含量测定

Determination of Anthranilic Acid in the leaves of *Isatidis indigotica* by First Order Derivative UV Sperctrophotometry

College of Pharmacy, Second Military Medical University (Shanghai 200433) Wang Yin and Qiao Chuanzhuo

Abstract Anthranilic acid in the leaves of *Isatidis indigotica* Fort. was determined by first order derivative UV spectrophotometry. The average recovery was 96.66% and the coefficient of deviation was 1.09%. The method showed no significant difference as compared with high performance capillary electrophoresis at 95% confidence level. The method is simple, rapid and accurate.

Key words first order derivative UV spectrophotometry *Isatidis indigotica* Fort. anthranilic acid assay of anthranilic acid

大青叶是常用中药材,我国药典 1995 年版(一部)规定其植物来源为十字花科菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥叶,但仅收载了性状、鉴别等定性项目,没有定量评价指标[1]。文献报道从菘蓝中分离得到的有机酸类成分具有体外抗内毒素作用,能较好地反映大青叶药材清热解毒功效[2],我们采用高效毛细管电泳法对大青叶药材中几种有机酸成分进行测定,结果表明邻氨基苯甲酸含量最高,占总酸量的 70%以上,可以用单一指标对药材进行评价[3]。

考虑到实际应用,本文建立了一阶导数光谱法测定大青叶药材中邻氨基苯甲酸含量的方法,取得满意结果。

1 仪器和药品

UV-265FW 型分光光度计(日本岛津制作所),邻氨基苯甲酸(东京化成工业株氏会社),大青叶药材采自安徽亳州,经作者鉴定为 *Isatis indigotica* Fort.,所用试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 样品液制备:取大青叶粉碎成粗粉,于 60 ℃烘干,取约 5 g,精密称定,加 10% NaOH-乙醇液 100 mL,浸润过夜。回流 2 h,过滤,残渣用 NaOH-乙醇液洗涤 2～3 次,过滤,合并滤液,加少许蒸馏水。水浴挥散溶剂至无醇味,以石油醚萃取色素多次,弃去石油醚;在水液中加 0.1 mol/L HCl,调 pH 值为 1～2,以乙醚萃取多次,合并乙醚液,置水浴上挥干溶剂,残留物以乙醇溶解,定容至 100 mL,置于避光处,作为样品液。

2.2 阴性液制备:取样品液少许,水浴挥干溶剂,残渣用过量 0.1 mol/L NaOH 液溶解,过滤,不溶物用蒸馏水洗涤多次后,以乙醇溶解,作为阴性液。

2.3 对照品液制备:精密称取邻氨基苯甲酸 100.1 mg,以乙醇溶解,配成 1 mg/mL 的对照品溶液,置于避光处。

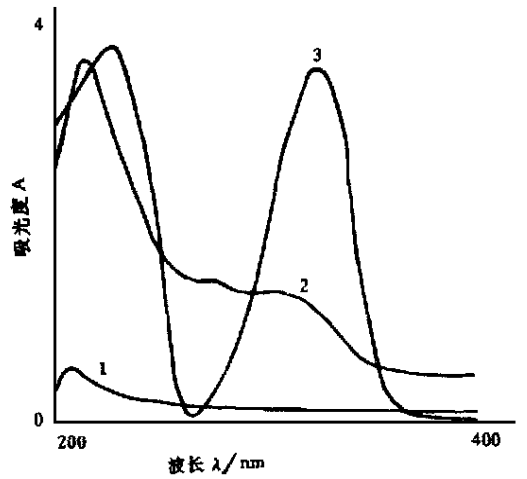
2.4 紫外光谱图考察:取样品液、阴性液、对照品液,以乙醇为空白,考察零阶紫外吸收光谱(λ: 200～400 nm, ABS: 0～4)和一阶导数光谱(Δλ= 2 nm, λ: 200～400 nm, ΔA/Δλ: -0.5～0.5),见图 1、图 2。

从零阶紫外吸收光谱图中可以看出,阴性液在紫外光谱中有背景吸收,不能直接用分光光度法测定;在一阶导数光谱图中,对照品溶液在(353.2±0.2) nm 波长处有一振幅值,供试品液在 352 nm 处附近有振幅,而此处阴性液的振幅值基本为零,因此在(353.2±0.2) nm 处的振幅值可作为定量依据。

2.5 标准曲线绘制:精密吸取对照品液 1, 2, 3, 4, 5 mL,分别置于 100 mL 容量瓶中,用乙醇稀释至刻度,摇匀,测定一阶导数光谱值。以(353.2±0.2) nm 处测得振幅值 Y (ΔA/Δλ) 为纵坐标,浓度 C 为

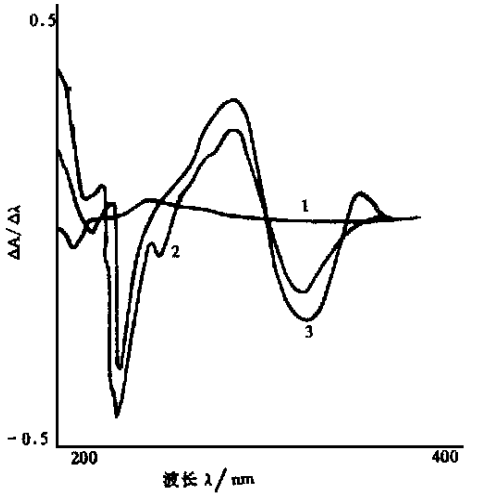
* Address: WangYin, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai

△国家自然科学基金资助项目(NSFC39670878)



1-阴性液 2-样品液 3-对照品液

图 **1** 零阶紫外吸收光谱



1-阴性液 2-样品液 3-对照品液

图 **2** 一阶导数光谱

横坐标, 回归方程为 $Y = 6.74C - 0.0048$, ($r = 0.9999$), 表明在 10～50 μg/mL 范围内, 一阶导数光谱振幅值和邻氨基苯甲酸浓度有良好的线性关系。

2.6 加样回收率和稳定性考察: 精密量取对照品溶液, 加入已知含量的样品液中, 依上法测定, 平均加样回收率为 96.66%, $RSD = 1.09\%$。将样品液避光冷藏, 分别在不同时间进样, 3 d 内测定结果无明显变化, $RSD = 2.31\%$。

2.7 样品测定: 取样品液 1 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 以乙醇定容, 依上法测定 351～354 nm 振幅谷处的($\Delta A/\Delta\lambda$) 值, 用标准曲线法计算大青叶样品中邻氨基苯甲酸含量, 为(375.88±0.89) μg/mL。

2.8 方法比较: 采用高效毛细管电泳法对大青叶中邻氨基苯甲酸含量进行测定, 结果为(382.62±1.15) μg/mL。将两种方法测定结果进行统计学处理, 表明两者没有显著性差别($P > 0.05$, $n = 5$)。

3 讨论

导数光谱法具有简便、快速的优点, 在中药材及其制剂化学成分的含量测定方面的应用已有报道[4~6]。本文以一阶导数光谱法对大青叶中邻氨基苯甲酸的含量进行了测定, 通过线性关系、加样回收率和稳定性考察, 以及与高效毛细管电泳法比较, 表明该法能简便准确地测定大青叶药材中的邻氨基苯甲酸含量, 为该类药材的质量控制提供了简便、准确的方法。

参 考 文 献

1 中华人民共和国药典 . 一部 . 广东: 广东科技出版社, 北京: 化学工业出版社, 1995: 15
2 Wu Xiaoyun, Liu Yunhai, Sheng Wangun, *et al*. Plant Med, 1997, 63: 55
3 王 寅, 尹 茶, 乔传卓 . 第二军医大学学报, 1999, 20(6): 370
4 龙沛霞, 王玉珍 . 中草药, 1996, 27(9): 531
5 陈 鸣 . 中国中药杂志, 1996, 21(5): 282
6 刘克仲 . 华西药学杂志, 1994, 9(1): 67

(1999-11-24 收稿)

正交法优选醋炙三棱最佳炮制工艺

南京中医药大学(210029) 陆兔林* 毛春芹 叶定江

摘 要 以三棱总黄酮、扭体镇痛法及抗凝血作用为指标, 选择炒制温度、炒制时间、醋用量 3 个因素, 用 $L_9(3)^4$ 正交设计表, 采用综合评分和方差分析的数学分析方法, 对三棱进行醋制工艺优选。结果表明, 每 100 kg 三棱用醋 25 kg, 温度 130 ℃, 炒 10 min 为最佳工艺。

关键词 三棱 正交设计 总黄酮 镇痛 抗凝血

* Address: Lu Tulin, Nanjing University of TCM, Nanjing
陆兔林 男, 讲师, 博士。毕业于南京中医药大学中药系。主要从事《中药炮制学》教学和中药饮片质量标准及新药开发研制工作。主持或承担多项科研课题; 在《中草药》、《中成药》、《中药材》等刊物发表科研论文 10 余篇。