

一阶导数光谱法测定猫豆中左旋多巴的含量

陈 桂 初

(广西植物研究所)

摘要 用一阶导数光谱法测定猫豆中左旋多巴的含量,可以排除无关杂质吸收的干扰,省去复杂的分离提取步骤。试验结果表明:相关系数达0.9999,平均回收率101.5%,重现性较好。

关键词 左旋多巴;猫豆;一阶导数光谱

猫豆 (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) 是广西各地均可栽培的豆类植物。它不但产量高,易于管理,不占农田,而且蛋白质含量高,每100g含蛋白质27.3g,仅次于黄豆和黑豆^[1]。更令人感兴趣的是从猫豆中可以提取经济效益高的药物——左旋多巴。

左旋多巴 (Levodopa) 是一种抗震颤性麻痹症较好的药物,已收载于1977版的中国药典和1984版的《国家基本药物》中。自1972年以来,国内先后从常春油麻藤 (*Mucuna sem-pervirens*) 的种子——藜豆^[2]、猫豆^[3]、白花油麻藤 (*Mucuna birdwoodiana* Tutch) 的种仁^[4]和老鼠豆^[5]中提取左旋多巴获得成功。但是,关于原植物中左旋多巴的含量测定却报道不多。文献^[2]提出了用紫外吸收光谱测定藜豆中左旋多巴含量的方法。由于植物成分比较复杂,其他成分的存在影响测定结果。因此,本试验采用一阶导数光谱法,既可排除无关吸收的干扰,又省去了冗长繁琐的分离提取步骤。直接用猫豆提取液测定左旋多巴的含量,取得了比较满意的结果。

一、仪器、试剂和药品

紫外分光光度计:岛津UV-210A型及DES-2型导数附件。

硅胶G板:自制。

离心沉淀器:800C型;KDC-1型。

左旋多巴:经两次重结晶精制,无色针状结晶。熔点278~282℃,薄层上只有一个斑点,红外光谱与中国药典(1977年版)上的一致。

猫豆:市售品(已存放两年)。

乙醇、盐酸、冰醋酸、正丁醇均为分析纯试剂。

二、实验方法和结果

1. 采用一阶导数光谱法的根据 称取猫豆粉(过80目)约2500mg,放入500ml三角瓶中,加100ml N/10盐酸。在沸水浴上加热提取5分钟。放冷后加入300ml无水乙醇,充分搅拌,使多糖和蛋白质等杂质析出。离心沉淀,倾出上清液。通氮气减压浓缩至2.5ml左右。在硅胶G板上点样5μl,用正丁醇:冰醋酸:水(4:1:3)展开,与左旋多巴纯品对照,如图1。

刮下1, 视为左旋多巴纯品; 刮下2, 视为杂质; 再刮下适量空白硅胶3, 作为参比。以上分别置于三个离心管中, 各加5 ml N/10盐酸, 充分振摇提取, 离心分离。在紫外分光光度计上分别绘制吸收光谱图2和一阶导数光谱图3。

从图2可看出, 由于杂质的存在, 如果直接用吸收值对左旋多巴定量, 会引起一定的误差。但由于杂质的吸收光谱近似于一次曲线, 其导数基本上为常数。根据吸收的加和性, 用一阶导数光谱的振幅对左旋多巴定量, 可以消除这种杂质吸收的干扰, 减少误差^[6]。

2. 测定条件的选择 通过试验, 波长差($\Delta\lambda$)选用2 nm比较合适, 一阶导数光谱特征比较明显, 振幅D较大, 适用于定量分析。

3. 标准曲线的绘制 精密称取左旋多巴纯品50mg, 置于100ml量瓶中, 加N/10盐酸至刻度, 摇匀, 称为标准溶液。精密量取标准溶液2 ml、4 ml、6 ml、8 ml、10 ml分别置于5个50ml量瓶中, 各加N/10盐酸至刻度。配成每毫升含左旋多巴20 μ g、40 μ g、60 μ g、80 μ g、100 μ g的系列工作溶液。以

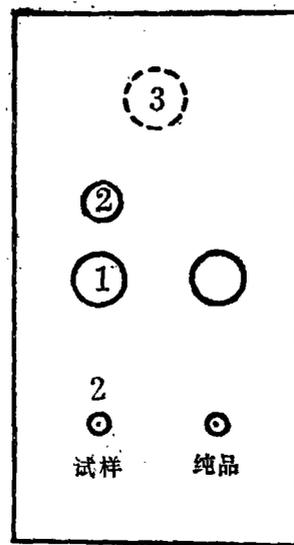


图1

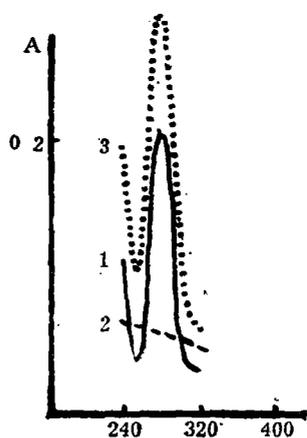


图2 吸收光谱

1. 左旋多巴纯品; 2. 杂质;
3. 左旋多巴+杂质

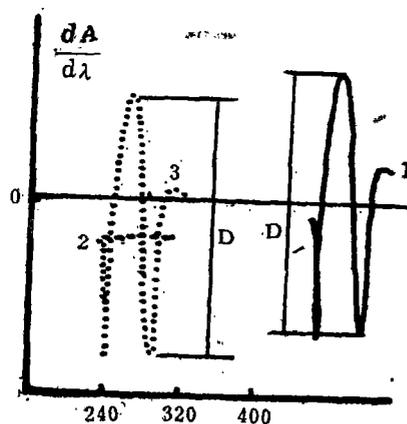


图3. 一阶导数光谱

1. 左旋多巴纯品; 2. 杂质;
3. 左旋多巴+杂质

N/10盐酸为参比, 按选定的条件测绘一阶导数光谱。以浓度C为横坐标, 振幅D为纵坐标作标准曲线(表1和图4)。

4. 回收率试验 从1项所得的2.5ml扁豆提取液中, 分若干次点样于硅胶G制备薄层上, 共点样100 μ l, 用前面所述的展开

表1

标准曲线测试结果

浓度(μ g/ml)	20	40	60	80	100
振幅(mm)	35.5	67.5	104.0	137.5	170.0
回归方程	$D=2.200+1.685C$				
相关系数(r)	0.9999				

剂展开。刮下杂质部分,用100ml N/10 盐酸洗脱。然后离心分离,制成杂质溶液备用。

精密量取标准溶液10ml,置于一个50ml量瓶中,加杂质溶液至刻度;分别精密量取该溶液4、4.5、5、5.5、6 ml,置于5个10ml量瓶中,依次加入杂质溶液2.7、3.0、3.3、3.6、3.9ml,然后分别加N/10盐酸至刻度。按前述测定条件测绘一阶导数光谱,度量振幅D,用回归方程计算测得浓度,然后计算回收率如表2。

5. 样品测定 精密称取猫豆粉(过80目)约100mg,共称5个样品,分别置于5个50ml三角瓶中,各加5 ml N/10盐酸,同时在沸水浴上加热搅拌提取5分钟。放冷后各加15ml无水

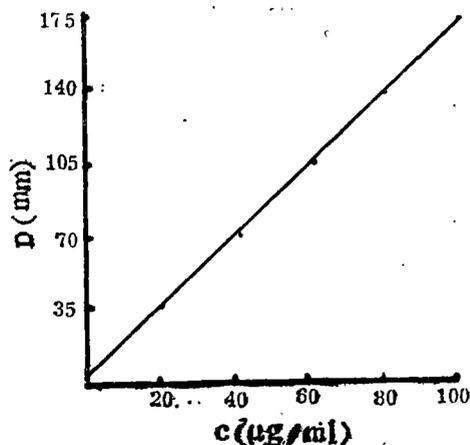


图4 左旋多巴的标准曲线

表2 左旋多巴回收试验结果

编号	实际浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	测得浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	回收率 (%)
1	40.00	40.83	102.1
2	45.00	45.27	100.6
3	50.00	50.91	101.8
4	55.00	55.67	101.2
5	60.00	61.01	101.7
平均值			101.5
变异系数(%)			0.58

乙醇,使蛋白质、多糖等杂质充分析出。离心分离。残渣再用同样方法提取一次。分别合并上清液,并置于5个100ml量瓶中,加纯水至刻度。按上述条件测绘各样品的一阶导数光谱。用下面的公式计算含量。结果如表3。

$$\text{含量}(\%) = \frac{c \cdot 100}{a \cdot 1000} \cdot \%$$

c——用回归方程算出的浓度,单位: $\mu\text{g/ml}$ 。

a——所测样品的重量,单位:mg。

表3 猫豆中左旋多巴的含量

	样品重量 (mg)	测得浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	含量 (%)
1	118.6	65.76	5.5
2	93.4	53.89	5.8
3	107.7	64.56	6.0
4	94.7	56.85	6.0
5	99.4	53.89	5.4
平均值			5.74
标准差			0.279

小 结

1. 实验结果表明,采用一阶导数光谱法测定猫豆中左旋多巴的含量,可以不经分离而消除其它成分的干扰。此法简单易行,重现性较好。

2. 从测定结果来看,所用猫豆虽已存放两年,但所含左旋多巴还高达5.4~6.0%。而生产上一般收率为1%左右,可见左旋多巴的提取工艺还有改进的潜力。

本文承蒙成桂仁研究员和吴树荣副教授审阅,吴祖祥和方宏同志协助测紫外,特此致谢。

参 考 文 献

- 〔1〕中国医学科学院卫生研究所, 1981:《食物成分表》第三版。
〔2〕北京医学院药理学系, 1974:中草药通讯, (4) 20。
〔3〕广西东南制药厂, 1966:中草药通讯, (5) 10。
〔4〕中国人民解放军一九九医院, 1979:中草药通讯, (8), 7。
〔5〕崔兴义, 1982:中草药, (11) 4。
〔6〕徐嘉凉等, 1984:药物分析杂志, 4(2)。

THE CONTENT OF LEVODOPA IN MUCUNA PRURIENS VAR. UTILIS WAS DETERMINED BY MEANS OF FIRST DERIVATIVE SPECTROMETRY

Chen Gui-chu

(Guangxi Institute of Botany)

Abstract The content of levodopa in *Mucuna pruriens* var. *utilis* was determined by means of first derivative spectrometry. This method may exclude the absorption interference of irrelevant impurity, rid of the complicated procedure of separation and extracion. The results showed that the related coefficient attained to 0.9999 and the average recovery ratio was 101.5%, and have good reproduction quality.

Key words Levodopa; *Mucuna pruriens* var. *utilis*; First derivative spectrometry