

• 研究论文 •

氯金酸-小檗碱离子缔合物体系的共振瑞利散射光谱研究及其分析应用

彭敬东 刘绍璞* 刘忠芳 石燕

(西南师范大学环境化学研究所 重庆 400715)

摘要 在 pH=2.0 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液中, 小檗碱阳离子与氯金酸根阴离子由于静电引力和疏水作用力形成离子缔合物时, 将引起溶液共振瑞利散射(RRS)显著增强, 并产生新的 RRS 光谱, 其最大 RRS 波长位于 370 nm, 另在 277 nm 也有一个较强的 RRS 峰. 在 $1.83 \times 10^{-8} \sim 5.0 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内小檗碱浓度与散射强度(ΔI)成正比; 反应有很高的灵敏度, 对小檗碱的检出限($3\sigma/K$)为 1.83×10^{-8} mol/L (7.5 ng/mL). 研究了共振瑞利散射光谱测定小檗碱的影响因素, 考察了共存物质的影响, 实验表明该方法有良好的选择性. 基于小檗碱与氯金酸反应产物的 RRS 光谱, 发展了一种高灵敏、简便、快速测定小檗碱的新方法, 用于中成药和中药饮片样品的测定, 结果满意. 本文还对反应机理进行了初步的探讨.

关键词 氯金酸; 小檗碱; 共振瑞利散射光谱; 分析应用

Interaction between Chloroauric Acid and Berberine Hydrochloride Investigated by Resonance Rayleigh Scattering Spectrum and Its Analytical Applications

PENG, Jing-Dong LIU, Shao-Pu* LIU, Zhong-Fang SHI, Yan

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest China Normal University, Chongqing 400715)

Abstract In a pH=2.0 HCl-NaOAc buffer solution, when berberine cation reacted with chloroauric acid anion by electrostatic force and hydrophobic force to form an ion association complex, the Resonance Rayleigh Scattering (RRS) intensity could be enhanced greatly and a new RRS spectrum appeared. The maximum RRS peak was at 370 nm and the other RRS peak was located at 277 nm. There is a linear relationship between the RRS intensity and the berberine concentration in the range of $1.83 \times 10^{-8} \sim 5.0 \times 10^{-6}$ mol/L. The method is very sensitive and the detection limit ($3\sigma/K$) for berberine hydrochloride is 1.83×10^{-8} mol/L (7.5 ng/mL). The optimum condition and the effect of coexisting substances have been discussed and the results show that the method also has good selectivity. Based on RRS spectrum of the ion association complex, a highly sensitive, simple and rapid method for the determination of trace amounts of berberine has been developed and applied to the determination of berberine in pharmaceuticals and goldthread extracts with satisfactory results. Furthermore, the reasons for enhancement of RRS were discussed.

Keywords chloroauric acid; berberine hydrochloride; resonance Rayleigh scattering spectrum; analytical application

小檗碱(Berberine hydrochloride), 又名盐酸黄连素, 系异喹啉类生物碱, 主要来源于毛茛科(*Ranunculaceae*)

植物黄连、芸香科(*Rutaceae*)植物黄柏和小檗科(*Berberidaceae*)植物三颗针、十大功劳叶等, 具有广谱的

* E-mail: liusp@swnu.edu.cn

Received April 30, 2004; revised October 28, 2004; accepted December 21, 2004.

国家自然科学基金(No. 20175018)资助项目.

抗菌作用,是一种重要的抗菌素类药物,临床常用于治疗肠炎、急性扁桃体炎和急性支气管炎等多种疾患.其测定通常采用滴定分析法^[1]、紫外分光光度法^[2,3]、薄层扫描法^[4,5]、高效液相色谱法^[6]和荧光法^[7]等.这些方法各有其优缺点:紫外分光光度法较简便,但灵敏度和选择性不够高;高效液相色谱法分离效率高、速度快、灵敏度高,但仪器价格昂贵,且操作要求较高;薄层色谱法分离能力强,点样量少,斑点集中,但薄层板的展开、扫描都较费时.

共振瑞利散射法(RRS)具有灵敏度高、简便和快速等优点,近年来引起了越来越多的研究和应用.自1993年 Pasternack 等^[8]报道用共振瑞利散射技术研究和测定核酸,并认为生色团聚集作用是产生强烈 RRS 的主要原因以来,目前这一技术已广泛应用于核酸^[9,10]、蛋白质^[11,12]及肝素^[13,14]等生物大分子的测定和表征.近年来的研究表明:某些小分子之间由于静电引力、疏水作用力和电荷转移作用所形成的离子缔合物也会产生强烈的 RRS,这类方法已用于金属^[15]、非金属离子^[16]、有机物^[17]及某些药物^[18]的测定.但在形成离子缔合物所使用的配体,主要是一些碱性染料阳离子和酸性染料阴离子,而利用无机配离子作为 RRS 探针测定药物的研究甚少.

研究发现,在 pH=2.0 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液中,单独的氯金酸或小檗碱本身的共振瑞利散射十分微弱,氯金酸根和小檗碱阳离子由于静电引力和疏水作用力形成大体积的离子缔合物,导致共振光散射强度急剧增强,因此可用于小檗碱的测定.本文主要研究了氯金酸-小檗碱缔合物反应的适宜条件、影响因素和分析化学特性.结果表明,该方法具有高灵敏度,对小檗碱的检出限达 1.83×10^{-8} mol/L (7.5 ng/mL),也有良好的选择性,且操作简便、快速,用于某些中成药和中药黄连中小檗碱含量的测定,结果满意.文中还对反应机理和 RRS 增强原因进行了初步探讨.

1 实验部分

1.1 仪器

Hitachi F-2500 型荧光分光光度计(日本东京),测定参数:狭缝宽度 10 nm; UV-8500 型紫外可见分光光度计(中国上海天美公司); DHT 型搅拌恒温电热套(中国山东).

1.2 试剂

氯金酸标准储备溶液($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 上海试剂一厂,分析纯) 1.0×10^{-3} mol/L.

小檗碱标准储备溶液:准确称取 1.87 mg 小檗碱(对

照品,中国药品生物制品检定所)溶解后,于 50 mL 容量瓶中定容,配制成 1.0×10^{-4} mol/L 的标准溶液.

缓冲溶液: 1.0 mol/L NaOAc 和 1.0 mol/L HCl 按一定比例混合,配成不同 pH 值的缓冲溶液.

其余试剂均为分析纯;实验用水为二次蒸馏水.

1.3 实验方法

在 10 mL 比色管中依次加入一定量的 1.0×10^{-4} mol/L 小檗碱及 1.0 mL 氯金酸溶液和 pH=2.0 NaOAc-HCl 缓冲溶液 1.0 mL,加入每种试剂后均将溶液混匀,最后用水稀释至刻度,摇匀,放置 30 min 后,将溶液于荧光分光光度计上以 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}}$ 方式进行同步扫描,记录共振瑞利散射光谱,于选定的共振散射峰 $\lambda_{\text{测}}$ 处测定反应产物的散射强度 I_{RRS} 和试剂空白的强度 I_0 , $\Delta I = I_{\text{RRS}} - I_0$.

2 结果与讨论

2.1 共振瑞利散射光谱

图 1 系氯金酸-小檗碱体系的 RRS 光谱,由图可见:在测定条件下,(1)氯金酸或小檗碱单独存在时,其 RRS 强度均很弱;(2)当阴离子 AuCl_4^- 与小檗碱阳离子反应形成结合产物时则观察到 RRS 强度急剧增强;该体系的 RRS 峰分别位于 370 和 277 nm,两峰均可用于小檗碱的测定,但由于 370 nm 处,不论 ΔI 或 I_{RRS}/I_0 值均更大,所以本文选用 370 nm 作为测量波长.

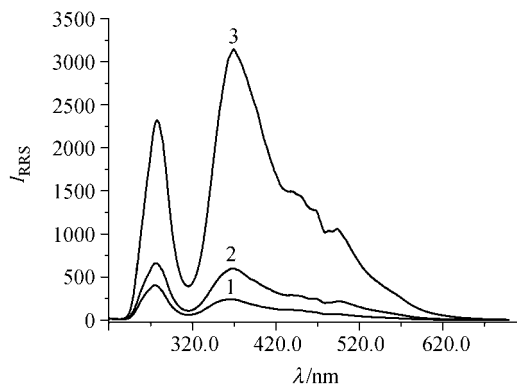


图 1 氯金酸-小檗碱体系的 RRS 光谱图

1. 氯金酸溶液; 2. 小檗碱溶液; 3. 氯金酸-小檗碱体系, [小檗碱] = 2.43×10^{-6} mol/L, [氯金酸] = 1×10^{-4} mol/L, pH=2.0 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液 1.0 mL

Figure 1 RRS spectra of berberine-HAuCl₄ system

1. HAuCl_4 solution; 2. berberine solution; 3. berberine- HAuCl_4 system, [berberine] = 2.43×10^{-6} mol/L, [HAuCl_4] = 1×10^{-4} mol/L, pH=2.0 HCl-NaOAc buffer solution 1.0 mL

2.2 适宜的反应条件

2.2.1 溶液酸度的影响

分别试验了 BR (Britton-Robinson 缓冲溶液, 0.04

mol/L H_3PO_4 , H_3BO_3 , HOAc 的三酸混合酸与 0.2 mol/L NaOH 溶液按一定比例混合)、 NaOAc-HCl 、酒石酸-酒石酸钠、 NaOAc-HOAc 等多个缓冲体系对反应体系共振瑞利散射的影响, 结果表明 HCl-NaOAc 缓冲溶液效果最好。

当用 HCl-NaOAc 缓冲溶液作为反应介质时, 在 pH 1.5~3.5 之间 RRS 强度最高且稳定(见图2), 反应有较宽的 pH 范围, 但是当 pH 较低, 根据平衡: $\text{HAuCl}_4 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{AuCl}_4^-$, 会抑制 HAuCl_4 的离解, 使一价阴离子 AuCl_4^- 的有效浓度降低, 将不利于 AuCl_4^- 与小檗碱阳离子(HA^+)的离子缔合反应, 导致 RRS 强度降低. 当 pH 过高时, 一价小檗碱阳离子会发生去质子化作用, 使部分小檗碱阳离子变为无反应能力的小檗碱分子而使 RRS 强度降低. 此外, 在 pH 值较高时, HAuCl_4 可能发生水解反应, 也会使 AuCl_4^- 的有效浓度降低, 这也可能导致反应不完全. 因此本法在以下实验中, 均采用 $\text{pH}=2.0$ 作为反应酸度。

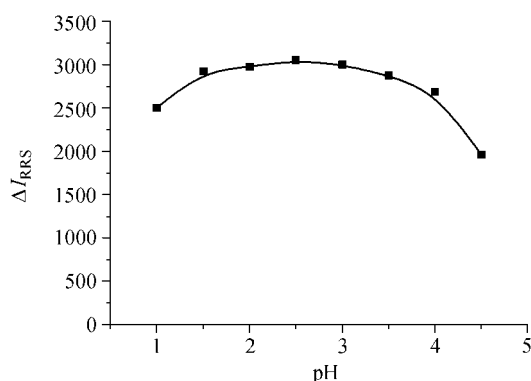


图2 酸度的影响

HCl-NaOAc 缓冲溶液 1.0 mL, [小檗碱] = 2.43×10^{-6} mol/L, [氯金酸] = 1×10^{-4} mol/L

Figure 2 Effect of acidity

HCl-NaOAc buffer solution 1.0 mL, [berberine] = 2.43×10^{-6} mol/L, [HAuCl₄] = 1×10^{-4} mol/L

试验表明, 缓冲溶液加入量在 1.0~1.5 mL 范围内时, 离子缔合物的 RRS 强度最高且稳定, 所以, 以下实验加入 $\text{pH}=2.0$ 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液 1.0 mL。

2.2.2 氯金酸浓度对离子缔合物 RRS 强度的影响

氯金酸浓度对散射强度的影响如图3所示. 当氯金酸浓度在 1×10^{-4} mol/L 左右, 其 ΔI_{RRS} 最大且稳定, 因此, 实验中选择氯金酸浓度为 1×10^{-4} mol/L。

氯金酸浓度太低时, 其与小檗碱反应不完全, 结合产物的浓度较低, 溶液的 RRS 强度较低; 随着氯金酸溶液的量逐渐增加, 反应逐渐完全, 小檗碱全部形成离子缔合物, 溶液的 ΔI_{RRS} 值逐渐增大到最大. 但是, 随着氯金酸浓度的进一步增加, 由于氯金酸空白值增大, ΔI_{RRS} 强度有所降低。

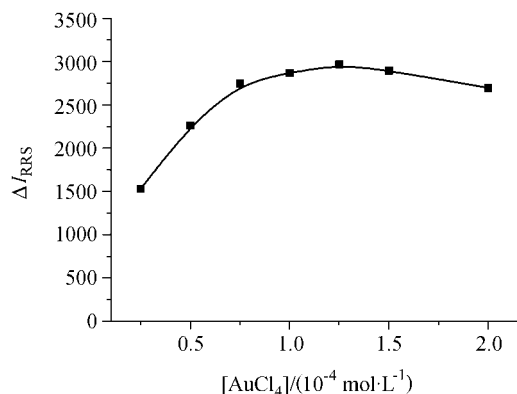


图3 氯金酸浓度对离子缔合物 RRS 强度的影响

[小檗碱] = 2.43×10^{-6} mol/L, $\text{pH}=2.0$ 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液 1.0 mL

Figure 3 Effect of HAuCl_4 concentration on RRS intensities

[berberine] = 2.43×10^{-6} mol/L, $\text{pH}=2.0$ HCl-NaOAc buffer solution

2.2.3 离子强度的影响

研究了离子强度对 RRS 强度的影响, 强电解质 NaCl 的加入, 对氯金酸溶液本身的散射强度影响不大, 但对氯金酸-小檗碱体系的影响较大, 随着离子强度的增大, I_{RRS} 迅速下降, 由动力学盐效应的 Brönsted 方程:

$$\lg\left(\frac{k}{k_0}\right) = \lg \frac{\gamma_{\text{R}_1} \gamma_{\text{R}_2} \dots}{\gamma_{\text{X}}}, \text{R}_1, \text{R}_2 \text{ 为反应物; X 为活化配合物; } \gamma$$

为活度系数; k 和 k_0 分别表示存在和不存在动力学盐效应时的反应速度常数. 根据 Debye-Hückel 的静电理论, $-\lg \gamma_i = AZ_i^2 F(I)$, Z_i 为离子的离子价; $F(I)$ 为离子强度的函数. 对 298 K 的水溶液, $A=0.5115$, 如果两种离子是同号离子, 将产生正盐效应, 反之, 则产生负盐效应. 氯金酸-小檗碱体系属于异号离子间反应, 所以, 产生负盐效应. 因此, 测定体系中应尽可能避免高浓度电解质的存在。

2.2.4 共振瑞利散射强度(I_{RRS})的稳定性

室温下, 按实验方法将各试剂加完混匀后, 反应即刻进行, 氯金酸-小檗碱体系的 I_{RRS} 在 30~120 min 内比较稳定, 120 min 后逐渐降低, 试剂空白的 I 从反应开始便缓慢增加, 至 25 min 后逐渐稳定. 因此, 可以选择试剂混合 30 min 后进行测定。

2.2.5 有机溶剂的影响

研究了与水互溶的有机溶剂乙醇、丙酮对共振散射和吸光度的影响. 结果表明: 随着乙醇、丙酮的加入, 溶液的共振散射迅速降低. 这是由于乙醇、丙酮能将疏水性、粒径较大的缔合物微粒分解成粒径较小的缔合物直至缔合物分子, 与水的界面消失, 并且由于疏水作用力的减弱而降低了离子缔合作用能力, 造成散射强度迅速降低^[19]。

2.3 标准曲线的某些参数及其检出限

在最佳的实验条件和选定波长(370 nm)处测定反应产物和试剂空白的 RRS 强度, 用 ΔI 对相应的小檗碱浓度作图并绘制标准曲线. 体系的一元线性回归方程、相关系数、检出限(当信噪比 $S/N=3$ 时)和线性范围见表 1.

由表 1 可见: (1)小檗碱在一定的浓度范围内与 RRS 强度成正比, 如果浓度超过该范围, 标准曲线将会发生弯曲; (2)在氯金酸-小檗碱体系中, 其 370 nm 处的 RRS 强度明显大于 277 nm 处的 RRS 强度, 而且 370 和 277 nm 处试剂空白的 RRS 强度相差不大, 所以, 370 nm 处试剂空白的相对标准偏差(σ)远远低于 277 nm 处试剂空白的相对标准偏差; 又因检出限(当信噪比 $S/N=3$ 时)为 $3\sigma/K$ (K 为线性回归方程的斜率), σ 越小, 检出限越低, 因此在 370 nm 处的检出限最低, 即以 370 nm 为测量波长时, 方法的灵敏度最高, 体系的检出限为 1.83×10^{-8} mol/L (7.5 ng/mL). 较常用的紫外光度法和荧光法等更为灵敏(见表 2).

2.4 方法的选择性

考察了一些常见共存物质, 如金属离子、非金属离子、无机及有机酸根、糖类、氨基酸类及蛋白质的影响, 结果见表 3. 发现常见金属离子、非金属离子、无机及有机酸根、糖类等均有较大的允许量, 因而方法具有较好的选择性. 虽然两倍量的 Fe(III), Cd(II)等有干扰影响, 氨基酸和蛋白质的允许量也不高, 但是对于天然产物和中成药中小檗碱的测定一般并不能构成干扰, 而且由于 Fe(II)的允许量较大, 因此在实际样品分析中, 可以加入抗坏血酸, 使 Fe(III)还原成 Fe(II)可以避免 Fe(III)的影

响, 因此该方法可用于中成药和植物提取液中小檗碱的测定.

3 分析应用

3.1 复方黄连素片剂和三黄片中小檗碱的测定

分别取复方黄连素片剂和三黄片各 20 片, 分别去糖衣后研细, 精密称取适量(约相当于小檗碱 30 mg)置 250 mL 烧杯中. 加沸水约 150 mL 搅拌使溶解. 稍冷后加入稀盐酸 3 mL, 放冷后转移至 250 mL 量瓶中. 加水至刻度, 摇匀, 取 10 mL 离心, 精密量取上述溶液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度. 从其中取 1 mL 加入到 10 mL 容量瓶中, 再分别加入 pH=2.0 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液 1 mL, 5×10^{-4} mol/L 的氯金酸溶液 1 mL, 加水稀释至刻度, 在荧光分光光度计上进行测定, 测定结果见表 4.

3.2 黄连中小檗碱的测定

按文献[20]准确称取黄连粗粉 1.0000 g, 然后用 0.05 mol/L 的硫酸 50 mL 浸渍过夜, 过滤之后, 再用 0.05 mol/L 的硫酸 40 mL 浸泡过夜, 过滤, 残渣用少量二次水洗, 合并两次所得滤液, 加水定容成 100 mL, 为待测样品液. 平行试验 3 次.

精密量取 1 mL 该待测样品液稀释成 50 mL, 用本文的 RRS 法测定, 并用药典法^[21]进行了验证. 测量结果如表 5 所示.

采用标准加入法进行回收率试验, 于已知样品中加入不同量的小檗碱, 然后按上述条件和方法进行测定, 回收率在 87.3%~104.0%之间.

表 1 标准曲线的相关系数, 线性范围和检出限

Table 1 Correlation coefficient, linear ranges and detection limits for standard curves

方法	测定波长/nm	线性回归方程($c \times 10^{-6}$ mol·L ⁻¹) ^a	相关系数 r	线性范围/(10 ⁻⁶ mol·L ⁻¹)	检出限/($3\sigma/K$, 10 ⁻⁸ mol·L ⁻¹)
RRS	370	$\Delta I = -22.32 + 1291.04c$	0.9996	0.0183~5.0	1.83
RRS	277	$\Delta I = -14.82 + 953.71c$	0.9995	0.0248~5.0	2.48

^a c 为小檗碱浓度.

表 2 某些测定盐酸小檗碱方法的灵敏度比较

Table 2 Comparison of the sensitivities of RRS with the other methods for the determination of berberine

方法	试剂	测定波长	检出限/(ng·mL ⁻¹)	参考文献
双波长薄层扫描法	乙酸乙酯-氯仿-甲醇-二乙胺-氨水	$\lambda_s/\lambda_R = 342/200$	400	22
HPLC	乙腈-H ₃ PO ₄	$\lambda = 349$	600	23
荧光法	气溶胶/环己胺/水	$\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 340/512$	83	24
流动注射-荧光法	过氯酸钠	$\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 355.2/516.8$	326.3	25
极谱法	Na ₂ B ₄ O ₇ -Na ₂ CO ₃ -H ₂ O ₂	-1.40 V	9.15	26
化学发光法	高锰酸钾-多聚磷酸	—	24.6	27
RRS 法	HAuCl ₄	$\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 377$	7.5	本法

表3 共存物质的影响(含小檗碱 2.43×10^{-6} mol/L)
Table 3 Effects of coexistent substances ($c_{\text{berberine}} = 2.43 \times 10^{-6}$ mol/L)

共存物质	试验浓度/(10^{-6} mol·L ⁻¹)	误差/%	共存物质	试验浓度/(10^{-6} mol·L ⁻¹)	误差/%
Pb(II)	562	-0.4	麦芽糖	24.6	9.7
Co(II)	1680	-1.8	L-异白氨酸	30.2	-1.1
Ni(II)	985	-3.3	人血清白蛋白	2	3.7
Al(III)	160	-6.1	DL-天冬酸	11.6	1.4
Zn(II)	543	9.1	胰蛋白酶	0.02	4.5
HCO ₃ ⁻	1200	-0.35	卵白蛋白	0.02	7.3
NO ₃ ⁻	796	-9.3	乳糖	13.3	5.2
Hg(II)	212	9.1	蔗糖	15.6	-4.5
Cu(II)	74.6	9.3	葡萄糖	26.8	-3.7
SiO ₃ ²⁻	90.4	-8.9	L-苯丙氨酸	3.21	5.2
Mn(II)	33	-2.6	DL-半胱氨酸	6.52	3.3
Cl ⁻	796	-3.2	DL-苏氨酸	9.54	3.5
Fe(III)	3.04	-5.6	L-酪氨酸	3.33	7.3
Fe(II)	300	-2.1	D-色氨酸	7.68	4.6
SO ₄ ²⁻	65	-1.7	α-淀粉酶	0.02	-2.0
Mg(II)	164	-9.1	核酸	0.16	7.2
Cd(II)	6.49	6.6	L-色氨酸	8.47	-8.3
Na(I)	717	5.8	柠檬酸根	613	7.1
Ca(II)	1175	6.1	酒石酸根	311	-1.2
K(I)	1332	-8.5	淀粉	120	4.2

表4 样品测定结果

Table 4 Results for determination of samples

样品名称	测定含量/(mg·g ⁻¹)	平均值/(mg·g ⁻¹)	相对标准偏差 RSD/% (n=6)	药典法 ^[21]
复方黄连素片剂	110.6, 97.7, 122.9, 125.7, 119.2, 116.8	115.5	8.79	128.3
三黄片	12.58, 13.47, 10.73, 13.66, 12.79, 14.23	12.91	9.45	14.27

表5 黄连提取液中盐酸小檗碱的测定(n=6)

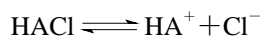
Table 5 Results for determination of Chinese goldthread extracts (n=6)

样品	含量/% (n=6)	RSD/%	药典法测得 含量/% (n=6)	RRS 法回收率实验		
				小檗碱加入量/($\mu\text{g} \cdot 10 \text{ mL}^{-1}$)	小檗碱回收量/ μg	回收率/%
1	5.50	3.1	5.47	10.0	10.4	104.0
2	5.46	4.8	5.53	10.0	9.50	95.0
3	5.63	2.4	5.57	15.0	13.1	87.3

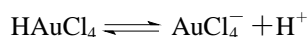
4 反应机理和 RRS 增强的原因

4.1 反应的机理及其讨论

在 pH 1.5~3.5 的酸性溶液中, 小檗碱分子将以一价阳离子形式存在(HA^+):



氯金酸在溶液中电离呈阴离子:



用摩尔比法和等摩尔连续变化法(见图 4 和 5)测定了离子缔合物中 Au(III)与小檗碱(A^+)的组成比, 结果为 $\text{HA}^+ : \text{Au(III)} = 1 : 1$, 因此离子缔合反应为:



4.2 共振瑞利散射增强的原因

(1) 瑞利散射位于分子吸收带中产生了共振增强瑞利散射

图 6 是氯金酸根和小檗碱体系的吸收光谱图与 RRS

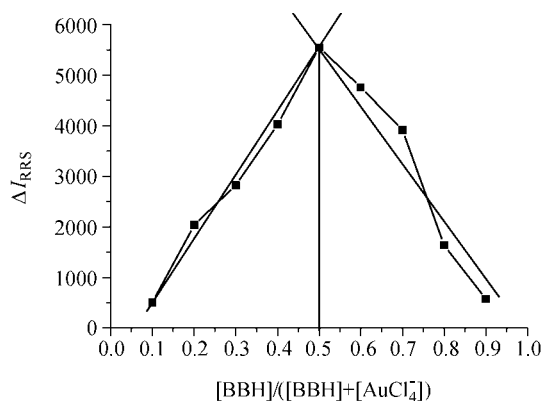


图 4 连续变化法测定氯金酸与盐酸小檗碱的组成比
pH=2.0 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液 1.0 mL, [BBH]+[AuCl₄⁻]=9.6×10⁻⁵ mol/L
Figure 4 Determination of the composition ratio of berberine and HAuCl₄ by Job's method
pH=2.0 HCl-NaOAc buffer solution 1.0 mL, [BBH]+[AuCl₄⁻]=9.6×10⁻⁵ mol/L

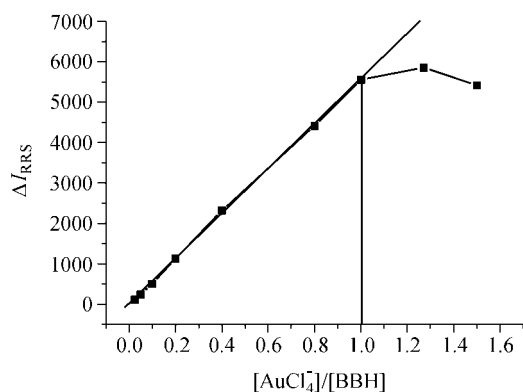


图 5 摩尔比法测定氯金酸与盐酸小檗碱的组成比
pH=2.0 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液 1.0 mL, [AuCl₄⁻]=4.8×10⁻⁵ mol/L, [盐酸小檗碱]=4.8×10⁻⁵ mol/L
Figure 5 Determination of the composition ratio of berberine and HAuCl₄ by molar ratio method
pH=2.0 HCl-NaOAc buffer solution 1.0 mL, [AuCl₄⁻]=4.8×10⁻⁵ mol/L, [berberine]=4.8×10⁻⁵ mol/L

光谱图的比较(以试剂空白作参比), 由图可见: (1) RRS 光谱带均位于其分子吸收带之中; (2) RRS 峰与吸收峰具有对应关系, 如: 离子缔合物的两个较为明显的 RRS 峰分别位于 277 和 370 nm, 相应的吸收峰则分别位于 262 和 344 nm, RRS 峰都正好位于其吸收峰附近, 这可能是瑞利散射在吸收了 262 和 344 nm 的光能, 发生散射-吸收-再散射的共振瑞利散射的过程中, 有少量的能量损失, 故 RRS 峰略有红移, 分别从 262 和 344 nm 移至 277 和 370 nm. 已知 RRS 光谱特征除与吸收光谱有关外, 还受测量仪器(主要是光源的发射光谱特征和检测器对光谱的响应曲线)的影响, 当用 Hitachi F-2500 型荧

光分光光度计测量时, 通常在 280 nm 有较强的散射, 从离子缔合物的 RRS 光谱中 277 和 370 nm 的散射峰与相应的吸收峰 262 和 344 nm 十分接近, 可以认为 370 nm 峰是受吸收光谱和仪器因素的双重影响, 因此散射特别强烈, 而 277 nm 的峰则主要是由仪器因素产生的散射峰.

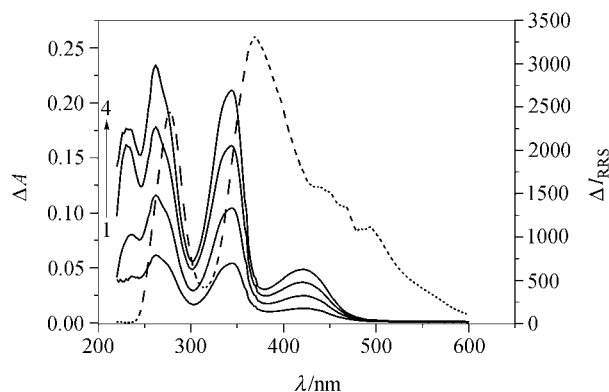


图 6 吸收光谱和 RRS 光谱的比较(以试剂空白作参比)
---RRS 光谱, [小檗碱]=2.43×10⁻⁶ mol/L; —吸收光谱, 小檗碱浓度分别为 2.43×10⁻⁶, 4.86×10⁻⁶, 7.29×10⁻⁶, 9.72×10⁻⁶ mol/L; [氯金酸]=1×10⁻⁴ mol/L, pH=2.0 的 HCl-NaOAc 缓冲溶液 1.0 mL
Figure 6 The comparison of RRS spectra and absorption spectra
---RRS spectra, [berberine]=2.43×10⁻⁶ mol/L; —absorption spectra. The concentration of berberine are 2.43×10⁻⁶, 4.86×10⁻⁶, 7.29×10⁻⁶ and 9.72×10⁻⁶ mol/L respectively; [AuCl₄⁻]=1×10⁻⁴ mol/L, pH=2.0 HCl-NaOAc buffer solution 1.0 mL

由于共振瑞利散射是瑞利散射位于或接近于散射分子吸收带时所产生的一种特殊的散射, 其散射强度比单纯的瑞利散射提高了几个数量级, 并且不再遵循 $I \propto 1/\lambda^4$ 的瑞利定律, 因此它是一种共振瑞利散射, 这是散射增强的一个重要原因.

从图 6 可以看出, 在吸收光谱中, 一定范围内, 吸收光谱强度(ΔA)与小檗碱浓度成正比, 经计算, 其摩尔吸光系数为 $\epsilon=2.41 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 据此可以建立测定盐酸小檗碱的分光光度分析法, 但灵敏度大大低于 RRS 法.

(2) 离子缔合物的形成使散射分子的体积增大
根据简化的瑞利散射公式:

$$I_{\text{RRS}} = k c M I_0$$

式中 I_{RRS} 为共振 Rayleigh 散射强度, I_0 为入射光强度, c 为散射光粒子浓度, k 为比例系数, M 为散射光粒子的分子量. 当 I_0 和 M 一定时, RRS 强度与散射光粒子浓度成正比; 当 I_0 和 c 一定时, RRS 强度与散射光粒子的分子量成正比. 以单个离子缔合物计, 分子量从 338 提高至 749, 分子量提高一倍以上, 这就可能使 RRS 强度有更大程度的提高.

(3) 摩尔吸光系数的增大

小檗碱和氯金酸本身的摩尔吸光系数分别为 7.31×10^3 和 $6.08 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 而小檗碱与氯金酸根阴离子结合产物的摩尔吸光系数为 $2.41 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 根据共振瑞利散射光强度公式:

$$I_{\text{RRS}} = I_0 \frac{(2.303)^2 \times 1000 c n^2}{N_A} \times \left\{ \frac{\varepsilon^2(\lambda_0)}{4\lambda_0^2} + \left[\frac{1}{\pi} \int_0^\infty \frac{\varepsilon(\lambda)}{\lambda_0^2 - \lambda^2} d\lambda \right]^2 \right\} C_v$$

在其它条件一定时, 共振瑞利散射强度与分子的摩尔吸光系数密切相关, 摩尔吸光系数越高, 共振瑞利散射愈强, 因此, 由于 $[\text{HA}^+][\text{AuCl}_4^-]$ 离子缔合物的形成, 引起了共振瑞利散射的增强。

由于散射分子位于吸收带产生的共振增强光散射效应, 以及离子缔合物的形成导致分子体积的增大和摩尔吸光系数的提高, 这些均使得 AuCl_4^- 与小檗碱结合产物产生强烈的共振瑞利散射。

References

- 1 The Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China, *The Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2000 Chinese Edition)*, Chemical Industry Press, Beijing, **2000**, pp. 437~439 (in Chinese).
(中华人民共和国卫生部药典委员会编, 中华人民共和国药典(2000), 化学工业出版社, 北京, **2000**, pp. 437~439.)
- 2 Chi, J.-P.; Han, S.-Z. *Chin. Trad. Pat. Med.* **1991**, *13*, 17 (in Chinese).
(迟家平, 韩守智, 中成药, **1991**, *13*, 17.)
- 3 Lü, H.-Y.; Zhang, H.-C.; Yang, L.-J. *Chin. Trad. Pat. Med.* **1992**, *14*, 16 (in Chinese).
(吕慧怡, 张洪昌, 杨令家, 中成药, **1992**, *14*, 16.)
- 4 Mei, H.-Y.; Jiang, L.-Q.; Wang, J.-S. *Chin. Trad. Pat. Med.* **1989**, *11*, 42 (in Chinese).
(梅洪勇, 江利强, 汪建生, 中成药, **1989**, *11*, 42.)
- 5 Jia, Y.-Y.; Gou, J.-G.; Zhao, B.-N. *Chin. Trad. Pat. Med.* **1995**, *17*, 17 (in Chinese).
(贾元印, 勾建刚, 赵渤年, 中成药, **1995**, *17*, 17.)
- 6 Shi, X.-R.; Guo, L. *West Chin. J. Pharm. Sci.* **1998**, *13*, 192 (in Chinese).
(石雪荣, 郭力, 华西药理学杂志, **1998**, *13*, 192.)
- 7 Yang, G.-D.; Yang, E.-K.; Wang, C.-J. *Northwest Pharm. J.* **2000**, *15*, 159 (in Chinese).
(杨广德, 杨二库, 王嗣岑, 西北药理学杂志, **2000**, *15*, 159.)
- 8 Pasternack, R. F. *Science* **1995**, *269*, 935.
- 9 Pasternack, R. F.; Bustamante, C.; Collings, P. J.; Giannetto, A.; Gibb, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5393.
- 10 Liu, S.-P.; Hu, X.-L.; Luo, H.-Q. *Sci. China, Ser. B* **2002**, *32*, 18 (in Chinese).
(刘绍璞, 胡小莉, 罗红群, 中国科学 B 辑, **2002**, *32*, 18.)
- 11 Liu, S.-P.; Yang, R.; Liu, Q. *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 243.
- 12 Liu, S. P.; Liu, Q. *Anal. Sci.* **2001**, *17*, 239.
- 13 Liu, S. P.; Luo, H. Q.; Li, N. B. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 3907.
- 14 Luo, H. Q.; Liu, S. P.; Liu, Z. F. *Anal. Chem. Acta* **2001**, *449*, 261.
- 15 Liu, S. P.; Liu, Z. F.; Li, M. *Fresenius's J. Anal. Chem.* **2000**, *368*, 848.
- 16 Jiang, Z.-L.; Li, F.; Liang, H. *Acta Chim. Sinica* **2000**, *58*, 1059 (in Chinese).
(蒋治良, 李芳, 梁宏, 化学学报, **2000**, *58*, 1059.)
- 17 Liu, S. P.; Zhou, G. M.; Liu, Z. F. *Fresenius's J. Anal. Chem.* **1999**, *363*, 651.
- 18 Liu, S. P.; Hu, X. L.; Li, N. B. *Anal. Lett.* **2003**, *36*, 2801.
- 19 Zhou, J. M.; Jiang, H. L.; Wang, L. S.; Jiang, Z. L. *Acta Pharm. Sinica* **2003**, *38*, 530 (in Chinese).
(邹节明, 江洪流, 王力生, 蒋治良, 药学学报, **2003**, *38*, 530.)
- 20 Pang, X.-X.; Xu, W.-L. *Acad. J. Guangdong Coll. Pharm.* **1996**, *12*, 263 (in Chinese).
(庞小雄, 徐位良, 广东药学报, **1996**, *12*, 263.)
- 21 The Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China, *The Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2000 Chinese Edition)*, Chemical Industry Press, Beijing, **1995**, p. 567 (in Chinese).
(中华人民共和国卫生部药典委员会编, 中华人民共和国药典, 北京, **1995**, p. 567.)
- 22 Wang, K.; Zhu, H.; Yang, X.-J.; Feng, S.-Y. *J. Chin. Mater. Med.* **1994**, *19*, 712 (in Chinese).
(王坤, 朱红, 杨秀娟, 冯淑英, 中国中药杂志, **1994**, *19*, 712.)
- 23 Hassan, S. M.; Belal, F.; Sultan, M. *Tanlant* **1988**, *35*, 977.
- 24 Sakai, T. *Analyst* **1983**, *108*, 608.
- 25 Sakai, T.; Ohno, N.; Chung, Y. S.; Nishikawa, H. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 329.
- 26 Song, J.-F.; He, Y.-Y.; Guo, W. *Chin J. Anal. Chem.* **2000**, *28*, 1538 (in Chinese).
(宋俊峰, 何盈盈, 过伟, 分析化学, **2000**, *28*, 1538.)
- 27 Li, L.-Q.; Huang, W.; Feng, M.-L.; Lü, J.-R. *J. Shandong Agric. Univ. (Nat. Sci. Ed.)* **2002**, *33*, 365 (in Chinese).
(李丽清, 黄薇, 封满良, 吕九如, 山东农业大学学报(自然科学版), **2002**, *33*, 365.)

(A0404303 LU, Y. J.; DONG, H. Z.)