

## 中药常山水浸液的荧光光谱研究

张英华, 史训立, 刘雅兰, 刘翠格, 魏永巨\*

河北师范大学化学学院, 河北 石家庄 050016

**摘要** 报道了中药常山沸水浸取液的荧光光谱。在三维荧光等高线光谱图中出现3个喹啉类生物碱(常山的主要活性成分)的荧光峰,其激发波长分别为235, 270和320 nm,发射波长均为430 nm。三维荧光等高线光谱是一种形象的指纹图谱,可以作为中药定性分析的依据。在pH 3~6范围内,常山水浸液二维荧光激发光谱的形状随pH的变化而改变,推测是由于喹啉类生物碱分子中喹啉酮环上N-1的质子化所致。在近中性条件下,常山水浸液的荧光强度与溶液浓度之间有良好的线性关系,可以作为喹啉类生物碱定量分析的基础。

**关键词** 常山; 喹啉类生物碱; 荧光光谱; 中药指纹图谱

**中图分类号**: O657.3 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2007)02-0342-04

### 引言

中药常山为虎耳草科植物常山(*Dichroa febrifuga* Lour.)的干燥根,是传统的抗疟药,具有祛热、催吐的功效,并且是一种有效的抑球虫药,其主要活性成分是喹啉类生物碱:常山碱甲和常山碱乙<sup>[1]</sup>。早在50多年前,常山碱的提纯、理化性质和紫外光谱已有研究<sup>[2-6]</sup>。目前,常山碱及其相似品的药理作用的研究仍被人们重视<sup>[7]</sup>,国内关于常山药材与其他易混药材如土常山、白常山等的紫外光谱鉴别也有报道<sup>[8,9]</sup>。但是,文献中未见关于常山荧光光谱的研究报道。我们在实验中观测到常山水浸液具有良好的荧光性质,可以作为常山药材定性鉴别和常山碱定量分析的基础,本文对此进行了初步研究。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

F-4500 荧光分光光度计(Hitachi); 868型pH/ISE测试仪(Orion)。

常山中药材,购自石家庄神威大药房,粉碎后准确称取0.500 g,置于10 mL离心试管中,加入5.00 mL二次蒸馏水,水浴加热,煮沸10 min,冷却,离心,取上清液4.00至100 mL容量瓶中,以水稀释至刻度,得到浓度为4.00 mg·mL<sup>-1</sup>药材水浸液,用时适当稀释。Britton-Robinson缓冲溶液。

#### 1.2 实验方法

在25 mL容量瓶中,分别加入常山水浸液和一定pH值的缓冲溶液,以水稀释至刻度,摇匀,扫描荧光光谱,再测量pH值。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 三维荧光光谱

图1为常山水浸液的三维荧光等高线光谱图。图中纵坐标为激发波长 $\lambda_{ex}$ ,横坐标为发射波长 $\lambda_{em}$ ,等高线表示荧光

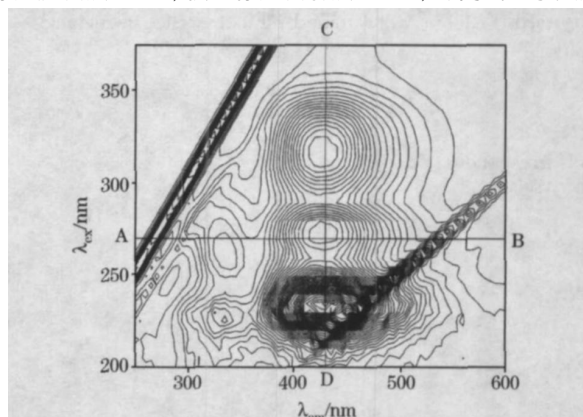


Fig 1 Three-dimensional fluorescence spectra of *Dichroa febrifuga* aqueous extraction (c: 0.070 mg·mL<sup>-1</sup>)

收稿日期: 2005-12-08, 修订日期: 2006-03-26

基金项目: 河北省自然科学基金项目(B2005000149)和河北师范大学科研基金项目(L2004204)资助

作者简介: 张英华,女,1980年生,河北师范大学化学学院硕士研究生 \*通讯联系人 e-mail: weiyju@heinfo.net

强度。图中出现 3 个明显的荧光峰, 激发波长分别位于 235, 270 和 320 nm, 发射波长均为 430 nm。

由图 1 可见, 三维荧光等高线光谱图很像人的指纹, 是一种形象的中药指纹图谱。正像每一个人都有特征的指纹一样, 每一种物质都有一定的化学组成, 因而有特征的三维荧光指纹图谱。通过比较三维荧光指纹图谱的形状、荧光峰的位置和荧光强度, 可以对中药材的真伪进行鉴别或对其品质优劣做出评价。

## 2.2 二维荧光光谱

图 2 为常山水浸液的荧光激发与发射光谱。在 pH 7.3 ~ 10.6 范围内, 常山水浸液的荧光光谱基本不随 pH 的变化而改变。激发光谱中出现 3 个激发峰, 分别位于 235, 270 和 320 nm, 发射峰只有 1 个, 位于 430 nm。对照图 1 与图 2, 可知图 2 中的激发光谱和发射光谱分别对应于图 1 中的 CD 线和 AB 线上的激发和发射光谱。由于图 2 中的荧光发射峰只有 1 个, 根据荧光光谱的一般规律, 可以推知 235, 270 和 320 nm 的激发峰是由同一种荧光化合物产生的。常山水浸液中可能还有其他成分, 但由图 1 和图 2 可知, 共存组分对这种荧光化合物的荧光光谱基本无影响。

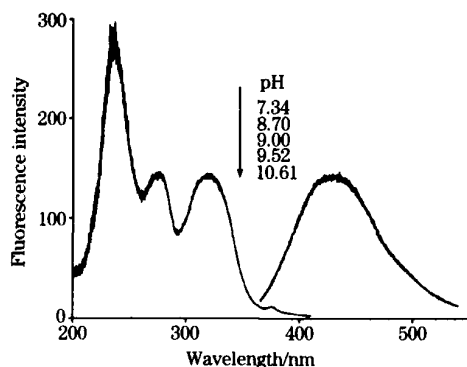
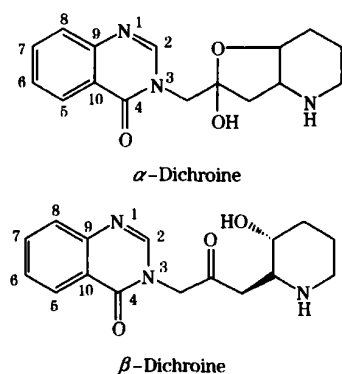


Fig 2 Fluorescence excitation and emission spectra of *Dichroa febrifuga* in alkali solutions ( $c: 0.070 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;  $ex/em: 270/430 \text{ nm}$ )

常山的主要活性成分是两种喹唑啉类生物碱(Quinazoline alkaloids): 常山碱甲(-dichroine, isofebrifugine)和常山碱乙(-dichroine, febrifugine), 其分子结构如 Scheme 1 所示<sup>[1]</sup>。



Scheme 1 Molecular structure

两种常山碱的母核均为 4-喹唑酮(4-quinazolone), 环上 N-3 连接的基团与喹唑酮环以 2 个以上单键相连, 不能形成共轭体系, 因此, 两种常山碱的吸光与荧光性质应当主要与喹唑酮环有关。实验证明, 两种常山碱的吸收光谱基本相同<sup>[3-5]</sup>, 则其荧光光谱也应当基本相同。由于常山碱甲在加热的情况下可以转变成常山碱乙<sup>[2]</sup>, 在本文实验条件下, 常山沸水浸取液中的荧光成分应当主要是常山碱乙。

## 2.3 弱酸性条件下的荧光光谱

图 3 为酸性条件下常山水浸液的荧光光谱。随着 pH 的降低, 430 nm 处的荧光发射峰增强, 但最大发射波长不变。荧光激发峰出现有规律的变化: 235 nm 的激发峰随 pH 升高略有上升, 270 nm 的激发峰随 pH 升高而逐渐降低, 315 nm 处的激发峰随 pH 升高而逐渐升高, 在 253, 280 和 305 nm 附近形成等荧光点。这种光谱特征表明, 常山碱在弱酸性条件下存在质子离解平衡<sup>[10, 11]</sup>, 其质子化型体与非质子化型体的荧光激发光谱不同, 荧光发射强度也不同, 但荧光发射波长相同。

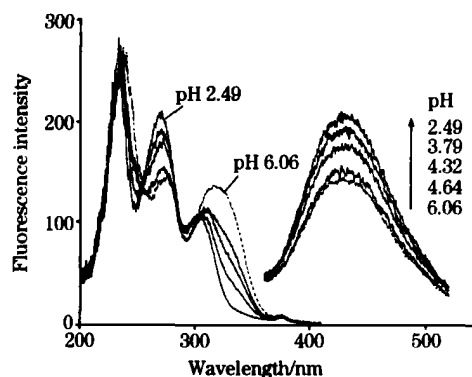


Fig 3 Fluorescence excitation and emission spectra of *Dichroa febrifuga* in acidic solutions ( $c: 0.070 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;  $ex/em: 270/430 \text{ nm}$ )

在激发波长 270 nm, 发射波长 430 nm, 得到荧光强度与 pH 的关系如图 4 所示。在 pH 2 ~ 3 左右, 荧光强度大致稳定; 在 pH 3 ~ 6 时, 随 pH 的增加荧光强度减小; pH 6 ~ 11 之间, 荧光强度基本稳定。

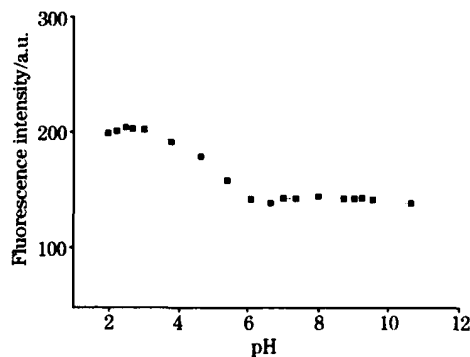


Fig 4 Relationship between fluorescence intensity and pH  $c: 0.07 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;  $ex/em: 320/430 \text{ nm}$

图 3 和图 4 表明, 溶液 pH 由 6 变化到 3 时, 常山碱可

以结合质子而成为另一种荧光型体。从分子结构来看,常山碱的喹唑酮环 N-1 原子类似于喹啉环的 N 原子,以  $sp^2$  杂化轨道成键,有一个  $p$  电子参与形成共轭体系,3 个  $sp^2$  杂化轨道中,有 2 个分别与 C-2 和 C-9 成键,另一个被一对未成键电子占据,可在弱酸性条件下结合质子。已知喹啉共轭酸的  $pK_a$  为 4.94<sup>[12]</sup>,常山碱共轭酸的  $pK_a$  也应当与此接近,因此,在 pH 3~6 之间发生的质子离解,可以判定为常山碱喹唑酮环 N-1 原子的质子化。

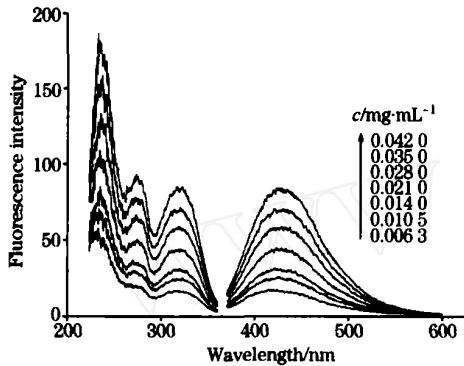


Fig 5 Fluorescence spectra of *Dichroa febrifuga* in different concentrations  $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ : 320/430 nm

## 2.4 荧光强度与浓度的关系

根据图 4,欲对常山水浸液中的荧光成分进行定量分析,选择在 pH 2~3 进行测定,灵敏度较高;若直接用水浸液(中性条件)进行测定,灵敏度虽不是最高,但实验手续简便,荧光强度稳定。不同浓度的常山水浸液的荧光光谱见图 5。随浓度的增大,荧光强度增强,光谱形状不变。在浓度 0.0049~0.07  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的范围内,其荧光强度与浓度呈良好的线性关系,回归方程为  $F = 4.96 + 1.877c(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$ ,相关系数  $r = 0.999$ 。

荧光分析法是相对分析,测定常山药材中的常山碱含量,需要获得常山碱标准品作为参比。有关常山碱纯品的荧光性质和药材中常山碱的荧光定量分析方法有待进一步研究。

## 3 结 论

中药材常山沸水浸取液具有良好的荧光性质,三维荧光等高线光谱图中呈现 3 个常山碱的荧光峰,其激发波长分别为 235, 270 和 320 nm,发射波长均为 430 nm。三维荧光等高线光谱是 1 种形象的指纹图谱,可以作为中药定性分析的依据。在 pH 3~6 范围内,荧光光谱随 pH 的变化而改变,是由于常山碱喹唑啉环上 N-1 的质子离解平衡移动所致。在近中性条件下,不同浓度常山水浸液的荧光强度与浓度之间存在良好的线性关系,可作为常山碱定量分析的基础。

## 参 考 文 献

- [1] Deng Yonghong, Xu Rensheng, Ye Yang. J. Chin. Pharm. Sci., 2000, 9(3): 116.
- [2] Chou T Q, Fu F Y, Kao Y S. J. Am. Chem. Soc., 1948, 70: 1765.
- [3] Koepfli J B, Mead J F, Brockman J A Jr. J. Am. Chem. Soc., 1947, 69: 1837.
- [4] Kuehl F A Jr, Spencer C F, Folkers K. J. Am. Chem. Soc., 1948, 70: 2091.
- [5] Koepfli J B, Mead J F, Brockman J A Jr. J. Am. Chem. Soc., 1949, 71: 1048.
- [6] Koepfli J B, Brockman J A Jr, Moffat J. J. Am. Chem. Soc., 1950, 72: 3323.
- [7] Jiang S P, Zeng Q, Gettayacamin M, et al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(3): 1169.
- [8] PAN Feng, ZHANG Jie (潘峰, 张节). China Pharmaceuticals (中国药业), 2001, 10(5): 55.
- [9] DENG Jun-li, XUN Gui-hua (邓君丽, 寻桂华). Chinese Traditional and Herbal Drugs (中草药), 1996, 27(6): 369.
- [10] WEI Yong-ju, LI Na, QIN Sheng-jun (魏永巨, 李娜, 秦身钧). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2004, 24(6): 647.
- [11] LIU Cui-ge, XU Yi-Zhuang, WEI Yong-ju, et al (刘翠格, 徐怡庄, 魏永巨, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(9): 1446.
- [12] XING Qi-yi, XU Rui-qiu, ZHOU Zheng, et al (邢其毅, 徐瑞秋, 周政, 等). Fundamentals of Organic Chemistry, 2nd ed. (基础有机化学). Beijing: Higher Education Press (北京: 高等教育出版社), 1994. 922.

## Fluorescence Spectra of *Dichroa febrifuga* Aqueous Extraction

ZHANG Ying-hua, SHI Xun-li, LIU Ya-lan, LIU Cui-ge, WEI Yong-ju\*

College of Chemistry, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China

**Abstract** Fluorescence spectra of chang shan (*Dichroa febrifuga* Lour) aqueous extraction were studied. In the three-dimensional fluorescence contour spectrum, three fluorescence peaks of quinazoline alkaloids, which are the active components of chang

shan, were observed. The excitation wavelengths of the peaks were 235, 270 and 320 nm, respectively, and the emission wavelength of all the peaks was 430 nm. Three-dimensional fluorescence contour spectrum is the very image of fingerprint, suitable for qualitative identification of traditional Chinese medicine. In the range of pH 3 to pH 6, the fluorescence spectrum of chang shan aqueous extractions changes with the variation in pH value. The reason for this spectral change might be the protonation of N-1 in quinazoline ring of -dichroine (febrifugine) molecule. There is an excellent linear relationship between the fluorescence intensity and the concentration of chang shan under nearly neutral conditions, thereby a quantitative method for the determination of quinazoline alkaloids may be established.

**Keywords** *Dichroa febrifuga*; Quinazoline alkaloids; Fluorescence spectra; Fingerprint of traditional Chinese medicine

(Received Dec. 8, 2005; accepted Mar. 26, 2006)

\*Corresponding author

## 《光谱学与光谱分析》2007 年征订启事

欢迎投稿 欢迎订阅

《光谱学与光谱分析》1981 年创刊, 国内统一刊号: CN 11-2200/O4, 国际标准刊号: ISSN 1000-0593, CODEN 码: GYGFED, 国内外公开发刊, 大 16 开本, 208 页, 月刊; 是中国科协主管, 中国光学学会主办, 钢铁研究总院、中国科学院物理研究所、北京大学、清华大学共同承办的学术性刊物。北京大学出版社出版, 每期售价 30.00 元, 全年 360 元; 国内邮发代码 82-68, 国外发行代码 M905。刊登主要内容: 激光光谱测量、红外、拉曼、紫外、可见光谱、发射光谱、吸收光谱、X 射线荧光光谱、激光显微光谱、光谱化学分析、国内外光谱化学分析领域内的最新研究成果、开创性研究论文、学科发展前沿和最新进展、综合评述、研究简报、问题讨论、书刊评述。

《光谱学与光谱分析》适用于冶金、地质、机械、环境保护、国防、天文、医药、农林、化学化工、商检等各领域的科学研究单位、高等院校、制造厂家、从事光谱学与光谱分析的研究人员、高校有关专业的师生、管理干部。

《光谱学与光谱分析》为我国首批自然科学核心期刊, 中国科协优秀科技期刊, 中国科协择优支持基础性、高科技学术期刊, 中国科技论文统计源刊, “中国科学引文数据库”, “中国物理文摘”, “中国学术期刊文摘”, 同时被国内外的 CSCI, SCI, AA, CA, EI, MEDLINE 等文献机构收录。根据国家科技部信息研究所发布信息, 中国科技期刊物理类影响因子及引文量《光谱学与光谱分析》都居前几位。欢迎国内外厂商在《光谱学与光谱分析》发布广告 (广告经营许可证号: 京海工商广字第 8094 号)。

《光谱学与光谱分析》的主编为黄本立院士。

欢迎新老客户到全国各地邮局订阅, 若有漏订者可直接与光谱学与光谱分析期刊社联系。

联系地址: 北京市海淀区学院南路 76 号, 光谱学与光谱分析期刊社

邮政编码: 100081

联系电话: 010-62181070, 62182998

电子信箱: chngpxygpfx@vip.sina.com; 修改稿专用邮箱: mengzh1018@vip.sina.com

网 址: <http://www.gpxygpfx.com>