

分光光度法测定中药中蒽醌类化合物的含量

郭华, 侯冬岩*, 回瑞华

(鞍山师范学院化学系, 鞍山 114005)

摘要 目的: 建立直接分光光度法测定中药中蒽醌类化合物的含量。方法: 初步建立对照品和各种样品直接扫描方法, 并以大黄为样品将本法与比色法作了比较。结果: 对照品和各种样品均在 (222 ± 3) nm 产生吸收, 本法相对比色法简便快捷, 回收率和精密度好, 稳定性高。结论: 该法可直接测定大黄中蒽醌类化合物的含量, 且对于其他中药中蒽醌类化合物定量分析具有良好的方法学意义。

关键词: 分光光度法; 蒽醌类化合物; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2009)02-0326-04

Research on determination of anthraquinones in Chinese traditional medicine by spectrophotometry

GUO Hua, HOU Dong-yan*, HUI Rui-hua

(Department of Chemistry, Anshan Normal University Anshan 114005, China)

Abstract Objective To establish a method for the determination of anthraquinones in Chinese traditional medicine by direct spectrophotometry. **Methods** The method was established by UV-scan to a series of anthraquinones and Chinese traditional medicines, and the total anthraquinones in Rhubarb were determined to compare direct spectrophotometry and colorimetry. **Results** The series of anthraquinones and Chinese traditional medicines showed absorption at the same wavelength (222 ± 3) nm, the method is simpler, quicker and more stable than colorimetry. **Conclusion** The new method can be applied to determine anthraquinones in Rhubarb and other Chinese traditional medicines.

Key words spectrophotometry; anthraquinones; determination

蒽醌类化合物在天然植物药中较为常见, 在自然界植物中分布很广, 如蓼科的大黄、虎杖、何首乌、拳参, 百合科的芦荟, 豆科的决明子、番泻叶, 茜草科的茜草、鼠李等。除高等植物以外, 蒽醌化合物还存在于低等植物地衣和菌类的代谢产物中, 具有杀菌、消炎和抗病毒等功效, 并有一定抗氧化作用, 故在医药及食品中有重要作用^[1,2]。其含量测定方法有比色法^[3]、差示分光光度法^[4]、近红外光谱法^[5]、薄层扫描法^[6]、高效液相色谱法^[7]等。对于植物药中蒽醌单体含量测定常用高效液相色谱法, 而对于总蒽醌类化合物含量(包括游离态蒽醌和结合态蒽醌), 常用比色法, 一般以 1,8-二羟基蒽醌、大黄素或大黄酸为对照品, 用醋酸镁甲醇溶液或碱液显色后测定总蒽醌或游离蒽醌, 结合蒽醌的量等于总蒽醌减

去游离蒽醌^[1,2]。作者研究发现可以不加显色剂直接测定植物中蒽醌含量。本文首先建立该方法并以大黄为样品将本方法与比色法作了比较。

1 仪器、样品与试剂

TU-1202 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司), KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司)。

对照品: 1,8-二羟基蒽醌、大黄酸、大黄素、芦荟大黄素、芦荟苷由中国药品生物制品检定所提供, 批号分别为 0829-9702(供含量测定用), 0757-200005(供含量测定用), 110756-200110(供含量测定用), 0795-9803(供鉴定用), 0787-200102(供鉴定用)。

样品: 大黄、何首乌、决明子、拳参、虎杖、番泻

* 通讯作者 Tel: (0412)2960006 Email: dhy@mail.asnc.edu.cn

叶、芦荟购自辽宁沛芝堂大药房, 经辽宁沛芝堂大药房陈学良中医鉴定为 *Rheum palmatum* L、*Polygonum multiflorum* Thumb、*Cassia obtusifolia* L、*Polygonum bistorta* L、*Polygonum cuspidatum* Sieb et Zucc、*Cassia angustifolia* Vahl 和 *Aloe vera* L。实验前粉碎, 干燥备用。

甲醇、乙醚等试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 新方法建立与大黄中总蒽醌含量的测定

2.1.1 新方法建立 准确称取各对照品 10 mg 用甲醇溶解并定容于 100 mL 量瓶中, 作为对照品溶液。同时准确称取各样品 0.5 g 用甲醇 30 mL 超声

(250 W, 40 kHz) 提取 20 min, 过滤, 滤液用水定容至 100 mL 量瓶中, 作为供试品溶液。分别移取一定量对照品溶液或供试品溶液, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 以甲醇为空白, 在波长 200~400 nm 处进行扫描。结果见图 1。从图 1 可以看出: 测定蒽醌类化合物所用 1, 8-二羟基蒽醌、大黄酸、大黄素对照品都在 (222 ± 3) nm 产生最大吸收, 其他蒽醌类化合物如芦荟大黄素及其结合态芦荟苷也在 (222 ± 3) nm 产生最大吸收, 常见植物药中除决明子外也都在 (222 ± 3) nm 产生最大吸收 (决明子为第二吸收峰), 这是建立直接法测定蒽醌类化合物含量的基本依据。

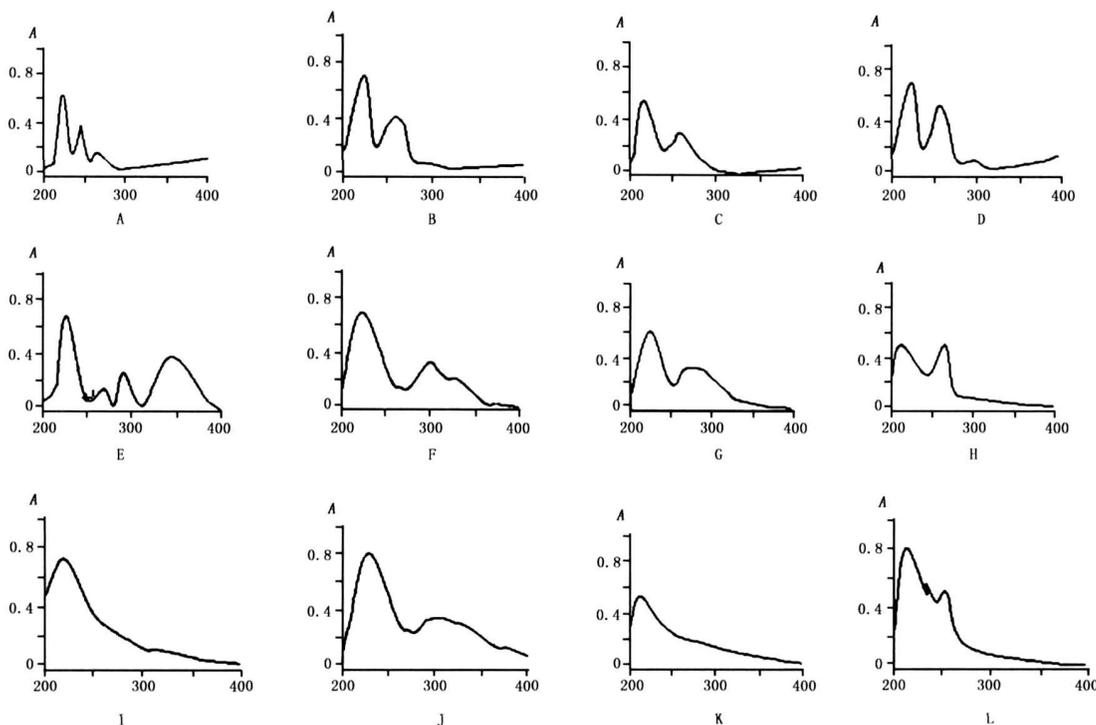


图 1 对照品和样品的吸收曲线

Fig 1 Absorption curves of a series of anthraquinones and Chinese traditional medicines

A. 1, 8-二羟基蒽醌 (1, 8-dihydroxyanthraquinone) B. 大黄素 (rheum emodin) C. 大黄酸 (rhein) D. 芦荟大黄素 (aloe-emodin) E. 芦荟苷 (barbaloin) F. 大黄 (rhubarb) G. 何首乌 (polygonum multiflorum) H. 决明子 (sennaloin) I. 拳参 (bistortin) J. 虎杖 (Polygonum cuspidatum) K. 芦荟 (aloe) L. 番泻叶 (senna)

2.1.2 标准曲线的绘制 准确称取 1, 8-二羟基蒽醌 10 mg 以甲醇为溶剂, 溶于 100 mL 量瓶中, 配制成浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。再用甲醇稀释, 配制成浓度为 1, 2, 3, 4, 5, 6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 在 224 nm 测其吸光度 (A), 回归方程为:

$$C = 7.126A - 0.036 \quad r = 0.9997$$

线性范围为: $1 \sim 6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.1.3 总蒽醌含量测定 准确称取大黄样品 0.5

g 用 30 mL 甲醇超声提取 20 min, 过滤, 滤液用水定容至 100 mL 量瓶中, 作为供试品溶液。移取一定量供试品溶液, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 以甲醇为空白, 在 224 nm 测其吸光度, 并换算成质量百分含量。

2.2 比色法^[3]测定大黄中总蒽醌含量

2.2.1 标准曲线的绘制 准确称取 1, 8-二羟基蒽醌 6 mg 用甲醇溶解并定容于 100 mL 量瓶中。

取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 加入 0.5% 的乙酸镁-甲醇溶液定容至 10 mL, 在 512 nm 处测定其吸光度 (A), 回归方程为:

$$C = 30.3754 + 0.412 \quad r = 0.9996$$

线性范围为: $6 \sim 36 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.2 总蒽醌含量测定 准确称取样品 0.5 g 加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸溶液 30 mL, 在水浴上加热 1 h, 趁热抽滤, 并转移至分液漏斗中, 用乙醚萃取 3 次, 每次 30 mL, 合并乙醚溶液于 100 mL 量瓶中, 加乙醚至刻度, 作为供试品溶液。移取一定量供试品溶液于锥形瓶中, 水浴挥干乙醚, 加入 0.5% 醋酸镁甲醇溶液定容至 10 mL 量瓶中, 在 512 nm 处测定其吸光度, 并换算成质量百分含量。

2.3 精密度试验 精密吸取同一提取液 6 份, 按“2.1”和“2.2”项下方法操作, 测定吸光度并计算 RSD。本法和显色法的 RSD 分别为 0.4%, 0.8%。

2.4 重复性试验 取同一大黄样品 6 份, 按“2.1”和“2.2”项下方法操作, 测定吸光度并计算 RSD。本法和显色法的 RSD 分别为 1.2%, 2.0%。

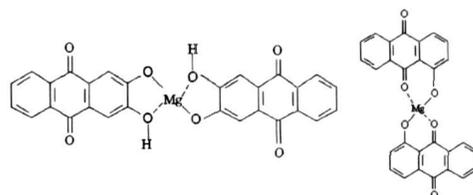
2.5 稳定性试验 移取对照品溶液和提取液, 按“2.1”和“2.2”项下方法操作, 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定吸光度, 考察稳定性。比色法在显色后 2 h 内比较稳定, 本法在 24 h 内的吸光度均保持稳定, 不存在稳定性问题。

2.6 回收率试验 采用加样回收法, 精密称取已知含量的同一大黄样品 6 份, 每份约 0.5 g 分别精密加入 1, 8-二羟基蒽醌对照品溶液适量, 按“2.1”和“2.2”项下方法操作, 进行平行测定。结果本法和显色法的平均回收率分别为 98.32% 和 101.82%, RSD 分别为 0.8% 和 1.6%。

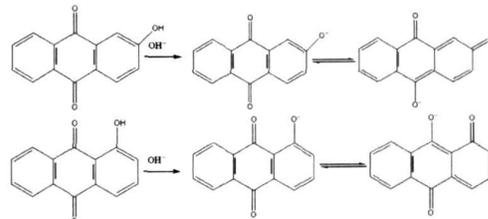
2.7 样品含量测定 取大黄样品, 按“2.1”和“2.2”项下方法操作, 测定吸光度并计算含量。本法和显色法测得的总蒽醌含量分别为 2.31%, 2.12% ($n = 3$)。

3 讨论

3.1 通过“2.7”项下样品测定结果可以看出, 本法与显色法测得的总蒽醌含量不同。直接法测定总蒽醌含量, 是基于样品中被提取出的物质在 224 nm 处产生吸收, 此吸收峰是蒽醌类化合物的特征强吸收峰^[8]。而应用醋酸镁显色法测定总蒽醌含量, 是基于被提取出的蒽醌类化合物能够与镁离子产生络合, 生成的产物可能具有以下结构^[8]:



与镁离子络合后具有一定的颜色, 从而使吸收峰位发生红移。从络合机理来看, 必须有 α -酚羟基或具有邻位二酚羟基, 而不具有这 2 种结构的蒽醌类化合物不能被测到, 所以相应的测定结果较实际含量小。如用碱性溶液显色测定总蒽醌含量, 反应式为^[8]:



显色后也使吸收峰位发生红移。从显色机理来看, 必须有 α -酚羟基或具有 β -酚羟基, 同样, 相应的测定结果也较实际含量小。因此, 本法测定结果高于显色法。

3.2 本文所测为 大黄中总蒽醌含量, 对于游离蒽醌含量测定同样不需加入显色剂, 提取后用乙醚萃取, 然后挥去乙醚, 甲醇溶解直接测定。作者尝试提取样品, 无论用乙醇、60% 乙醇、水提取后, 用同样溶剂定容, 只要测定时移取少量提取液 (小于 1 mL), 用甲醇定容于 10 mL 量瓶中, 以甲醇为空白测定, 结果都很满意。

3.3 由于分光光度法具有设备简单、操作方便等优点, 因此目前植物药中蒽醌类成分的总量测定仍普遍采用经典的比色方法, 但比色法由于操作较为烦琐, 影响测定结果的人为因素较多, 造成精密度和重复性不太理想, 且比色法的稳定性不佳, 给实验操作带来诸多不便。本文实验结果证明, 直接测定法和比色法一样可用于大黄蒽醌类成分含量, 而且与比色法相比具有以下优点: ①省去了比色操作, 特别对于总蒽醌含量测定, 不需用乙醚萃取, 更为简便快捷。②不存在比色法所存在的稳定性差的问题。③重复性和精密度优于比色法。直接测定法不仅可用于大黄中蒽醌类化合物的含量测定, 而且对于其他植物或中药制剂中蒽醌类化合物定量分析亦具有良好的方法学意义。

参考文献

- 1 DUAN Shu-e(段淑娥), LIM in(李敏). Advance in anthraquinone of Chinese herbal medicine(中草药中蒽醌化合物的研究进展). *J Xian Univ Arts Sci*(西安文理学院学报), 2005 8(1): 24
- 2 WU Ting(武婷), LIN an(李楠), LI Jie(李洁), et al. The recent research of the anthraquinone (蒽醌类物质的研究近况). *Life Sci Instrum* (生命科学仪器), 2005 3(8): 42
- 3 LI Yu-lin(李玉林), SUO You-ni(索有瑞), WANG Hong-lun(王洪伦), et al. Analysis of total anthraquinones content in Cultivated *Rheum tanguticum* (人工栽培唐古特大黄中蒽醌含量水平的分析). *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2006 18: 1020
- 4 WANG Jin-long(王金龙), LIU Jin-ling(刘金玲), LI Hu(厉辉). Colorimetric determination of the content of hydroxyanthraquinone in Runchang capsules by difference-spectra(差示比色法测定润肠胶囊中游离羟基蒽醌的含量). *Cent South Pharm* (中南药学), 2006 4(5): 364
- 5 FAN Ji-ping(范积平), ZHANG Zhen-liang(张贞良), ZHANG Liu-ying(张柳瑛), et al. Near infrared spectroscopy in determination of 4 anthraquinones in *Rheum officinale* Baili(近红外光谱法测定药用大黄中 4 种蒽醌类成分). *Acad J Second Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2005, 26(10): 1194
- 6 HE Ming-san(何明三), LIU Hai-hong(刘海宏), XU Hai-xing(徐海星). Determination of emodin in *Yishen* granules by TLC-spectrophotometry(薄层色谱-分光光度法测定益肾颗粒剂中大黄素含量). *J Hubei Coll Tradit Chin Med* (湖北中医学院学报), 2000 2(3): 42
- 7 SHAN Ming-qiu(单鸣秋), ZHANG Li(张丽), LIU Jing(刘静). Determination of five anthraquinones in Danjieshi granules by HPLC(高效液相色谱法测定消胆石颗粒中 5 种游离蒽醌的含量). *Chin J Hosp Pharm*. (中国医院药学杂志), 2006, 26(9): 1106
- 8 YAO Xin-sheng(姚新生). *Natural Product Chemistry*(天然药物化学). 2th Ed(第 2 版). Beijing(北京): People's Medical Publishing House (人民卫生出版社), 1994. 175

(本文于 2007 年 11 月 29 日收到)

中国药学会 2009 年新春联谊会在北京举行

2009 年 1 月 20 日, 中国药学会 2009 年新春联谊会在北京万达索菲特大酒店举行, 来自中国科协、卫生部、国家食品药品监督管理局、总后卫生部等有关部门领导, 国家食品药品监督管理局直属单位领导, 中华医学会等兄弟学会领导, 学会在京理事、常务理事、专业委员会名誉主委、主委、副主委, 主办期刊编辑部主任, 团体会员代表, 药学专家及新闻媒体记者等社会各界朋友 400 人参加了联谊会。联谊会由李少丽副理事长主持, 全国人大常委会副委员长、学会理事长桑国卫院士致欢迎辞, 卫生部副部长、国家食品药品监督管理局局长邵明立, 中国科协书记处书记冯长根, 北京医药控股集团总经理傅明仲, 阿斯利康公司无锡贸易有限公司中国区总裁尹旭东发表热情洋溢讲话。

桑国卫理事长代表学会向长期以来关心和支持中国药学会事业发展的上级领导部门、专家学者、医药企业、新闻界及社会各界的朋友们, 表示衷心的感谢和崇高的敬意。桑理事长说, 回首刚刚过去的 2008 年, 是我国社会发展进程中很不寻常、很不平凡的| 年, 也是中国药学会经历| 百年风雨历程后, 进入新的| 百年的第| 年; 我们在党中央、国务院的坚强领导下, 按照中国科协和国家食品药品监督管理局的工作部署, 认真学习实践科学发展观, 继续推进学会改革和发展大业, 坚持围绕中心、服务大局, 坚持发挥优势、服务监管, 坚持鼓励创新、服务发展, 坚持以人为本、服务社会, 坚持民主办会、服务会员, 为我国医药卫生事业的繁荣和发展尽心尽力, 尽职尽责, 为创新型国家建设、构建和谐社会做出了我们应有的贡献。同时, 希望全国广大药学界同仁要站在时代发展前列, 扎实工作, 开拓进取, 坚持药学科技为国家发展服务, 切实担负起提高医药自主创新能力的战略任务, 创造出无愧于国家、无愧于人民的辉煌业绩, 以优异的成绩向共和国成立六十周年献礼!

详情请浏览: www.cpa.org.cn