

中药研究

测定大黄中总蒽醌含量的分光光度法改进*

刘翠哲, 王汝兴, 刘喜纲

(承德医学院中药研究所, 承德 067000)

摘要: [目的]改进大黄药材中总蒽醌的含量测定方法。[方法]1,8-二羟基蒽醌与碱显色后,2 h内隔时扫描光谱图;对照品和样品同样处理后绘制标准曲线。[结果]确定了最大吸收波长,消除了测定过程中样品湿热降解带来的误差。[结论]通过方法学考察,证明此方法精密准确、回收率高,可以作为大黄中总蒽醌的含量测定方法。

关键词: 大黄;总蒽醌;分光光度法;最大吸收波长;降解

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-1519(2004)04-0335-02

大黄是一种常用的中药材,大黄的化学成分复杂,其中蒽醌类成分是最重要的活性成分之一,利用蒽醌在碱溶液中生成红色的反应,总蒽醌一般以1,8-二羟基蒽醌为参考标准,用比色法来测定^[1]。笔者在用此方法测定过程中发现,最大吸收波长在一定时间内随时间变化,而且测定过程中由于蒽醌成分湿热降解^[2],造成测定结果偏低,本文针对以上问题,对此方法进行了改进。

1 仪器与试剂

HP-8453 紫外-可见分光光度计(惠普公司);大黄饮片(市售饮片购于安国,经鉴定为唐古特大黄);1,8-二羟基蒽醌(购自中国药品生物制品检定所,0829-9702)、乙醚、氢氧化钠、氨水、三氯化铁、盐酸、甲醇等试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 比色波长的选择 取5 mg 1,8-二羟基蒽醌,用乙醚溶于25 mL容量瓶中,再取5 mL移至50 mL容量瓶中,加乙醚至刻度摇匀,为标准品液。取1 mL乙醚液,置10 mL带塞的比色管中,水浴蒸去乙醚,加5%氢氧化钠-2%氢氧化氨(1:1)混合碱液8 mL,45 min以后,以混合碱液为空白用HP-8453(惠普)紫外-可见分光光度计在300~600 nm波长范围内进行光谱扫描,选择最大吸收波长,最大吸收波长在520 nm。

2.2 标准曲线的制备 分别精密量取2.1中的标准液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL分别置于10 mL干燥具塞刻度试管中,水浴挥干乙醚,加

2.0 mL水溶解残渣,再加0.5 mL 40%三氯化铁溶液于沸水浴中加热20 min,然后再加入6 mol/L的盐酸0.2 mL,于沸水浴中加热水解并不断振摇,30 min后流水冷却,用乙醚萃取至醚层无色,醚层再用(5 mL, 3 mL) 5%氢氧化钠-2%氢氧化氨混合碱液萃取两次,将混合碱液萃取液合并于刻度试管中,碱液水浴挥醚,流水冷却至室温,用氨水补加至原体积,在520 nm处测吸收度A,以1,8-二羟基蒽醌浓度C对吸收度A进行线性回归并做图,可得标准曲线方程,其线性范围为1.25~15 μg/mL。 $C = 18.8626559A - 0.07751017$ $r = 0.999$ 。

2.3 碱液显色后样品稳定性 取高、中、低3个浓度的标准品液,按标准曲线制备方法,加混合碱液显色,分别在0、10、20、30、45、60、80、120、150 min,在300~600 nm范围内进行光谱扫描,见图1,开始最大吸收波长随时间变化,45 min以后最大吸收波长固定在520 nm处,45 min后分别于45、60、80、120、150 min在520 nm处测定3个浓度样品碱碱化后的吸收值,3个浓度样品的吸收值峰面积(RSD)均小于0.3%,说明显色的碱液在45 min至2.5 h之间稳定。

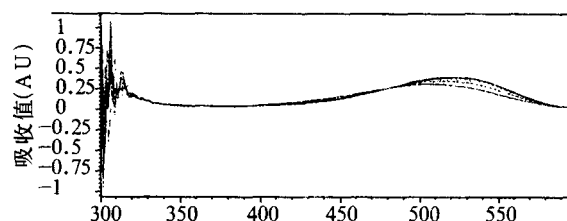


图1 1,8-二羟基蒽醌碱液显色后 λ_{max} 在45 min内随时间变化光谱图

* 基金项目:河北省医药开发重大项目(No:02276408D-2)
作者简介:刘翠哲(1964-),女,硕士,副教授,硕士生导师,主要研究方向为中药制剂现代化研究。

中
药
研
究

2.4 样品的制备 取大黄饮片粉碎过 60 目筛, 精密称质量约 100 mg 置于 50 mL 带塞三角瓶中, 精确加入 20 mL 甲醇, 冷浸 12 h, 过滤, 取续滤液备用^[3]。

2.5 样品的测定 精密吸取 2.4 中的样品制备液 3 mL, 于 20 mL 带塞试管中, 水浴蒸干溶剂, 按 2.2 标准曲线的制备中加 2.0 mL 水溶解残渣, 置于 520 nm 处测吸收度, 由回归方程计算含量。

2.6 重复性实验 分别精密称取大黄粉 5 份, 按样品测定方法制备样品液, 测定含量平均为 1.045%, 峰面积(RSD)为 4.3%。结果见表 1。

表 1 用分光光度法测得大黄的含量 %

一氧化氮	1	2	3	4	5	平均回收率	RSD
样品	1.089	1.045	1.09	1.016	0.987	1.045	4.3

2.7 回收率试验 分别精密称取大黄粉 100 mg, 5 份(每份约含总蒽醌 1 mg), 分别加 1 mg/mL 的 1, 8-二羟基蒽醌对照品溶液各 1 mL, 水浴挥干乙醚其余按 2.5 项下样品测定方法操作, 平均回收率为 99.71%, 峰面积(RSD)为 2.15%。

3 讨论

3.1 关于最大吸收波长 本文通过实验, 发现最大吸收波长随时间在蒽醌碱液显色后在 0~45 min 间不断变化, 45 min 后最大吸收波长固定, 而一般往往只注意到吸收值在变化, 测定最大吸收波长时没有时间的限制, 文献中在测定不同药物中大黄蒽醌

的含量时, 选择的波长也不一样^[4-8], 由此造成最大吸收波长的差异。

3.2 关于测定过程中有效成分的降解 通过文献资料^[2]及研究发现大黄蒽醌类成分在湿热的条件下不稳定, 用 1, 8-二羟基蒽醌直接加碱液显色做标准曲线时, 对照品没有受到湿热的影 响, 吸收值偏高; 而测定样品的过程中需要将苷水解为苷元, 样品受到湿热的影 响, 吸收值偏低。做标准曲线时标准品与样品测定的过程一样处理, 消除了以上误差, 使测定结果更加准确。

参考文献:

- [1] 郑占虎, 董泽平, 余 靖. 中药现代研究与应用[M]. 北京: 科学技术出版社, 1997. 388.
- [2] 苏子人, 周 华, 刘中秋, 等. 大黄在提取精制工艺中的化学成分变化研究[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(2): 83.
- [3] 何丽一, 罗淑荣. 中草药中蒽醌类衍生物分析方法的研究[J]. 药学学报, 1980, 15(9): 556.
- [4] 陈雨安, 李 芳. 中药口服固体剂型释放性能的实验研究[J]. 中成药研究, 1984, 6(4): 1.
- [5] 张永红. 大黄中蒽醌类成分提取条件的选择[J]. 西北药学杂志, 1997, 12(2): 59.
- [6] 严子炎, 吴志明, 何明三, 等. 一捻金中大黄总蒽醌分光光度法含量测定研究[J]. 湖北中医学院学报, 1999, 17(1): 23.
- [7] 王溶溶, 陈丹菲. 大黄在四季三黄胶囊工艺中的最佳处理[J]. 中药新药与临床药理, 1997, 8(3): 171.
- [8] 刘业飞, 陶良宝. 薄膜衣大黄栀子片质量标准研究[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(4): 52.

(收稿日期: 2004-04-05)

Improvement of determining method total Rehum Anthraquinone in Rehum Herb by visible-spectrophotometric

LIU Cui-zhe, WANG Ru-xing, LUI Xi-gang

(Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical College, Chengde 06700, China)

Abstract: [Objective] To improve the determining method of total Rehum anthraquinone in Rehum herb by visible-spectrophotometric. [Methods] Scanning the spectrum interval in two hours after the coloration of 1, 8-dihydro-anthraquinone and alkine. The standard curve was drawn after that the control was handled with same process as samples. [Result] The maximum wavelength was confirmed. The error due to wet hot decomposing of the sample during the determination course was eliminated. [Conclusion] By the methodology inspection, the method.

Key words: Rehum; Total anthraquinone; Visible-spectrophotometric; max; Decompose

2005 年征订启事

刊名	刊期	定价(元)	邮发代码	邮政编码	地址
北京中医	月刊	6.50	2-587	100005	北京市东单三条甲七号
湖南中医学院学报	双月刊	5.00	42-64	410007	长沙市韶山中路 113 号
新疆中医药	双月刊	4.00	58-88	830001	乌鲁木齐市龙泉街 66 号
江苏中医药	月刊	5.00	28-8	210029	南京市汉中路 282 号
辽宁中医学院学报	双月刊	5.00	8-179	110032	沈阳市崇山东路 79 号