

中藥大黃的綜合研究

III. 蒽醌衍生物在体液及組織中含量的測定法

陈琼华 于文学* 賴渭声

(天津医学院生物化学教研组)

提要 本文初步报导了体液和組織中大黃蒽醌衍生物的簡便測定法。一般平均回收率为98—101%，唯糞中回收率稍低，为95—98%，检出限量为5微克。实验也証明了蒽醌衍生物在血浆和血球中的分布相等。

中藥大黃蒽醌衍生物具有強大抗菌作用和广泛抗菌譜^[1]。关于藥物中蒽醌衍生物含量的測定法文献已有报告^[2-5]，但其在体液及組織中含量的測定法則尚未見有报告，而这一問題在研究大黃在体内的代謝是首先必須解决的，本实验初步提供一种簡便的測定法。

实 驗 方 法

(一) 蒽醌衍生物在血中含量的測定法与回收試驗

蒽醌衍生物总量的測定：取醇醚混合液(3:1)約5毫升置于离心管中，加入含有定量蒽醌衍生物的全血或血浆0.5毫升，混勻后靜置15分钟。过滤或离心，沉淀再以醇醚混合液重复提取2—3次，直至提取液无色为止。合并上清液或滤液于小錐瓶中，在水浴上蒸干。加入20%硫酸10毫升，在水浴回流45分钟。然后加入氯仿10—20毫升，再回流15分钟。将混合液移入分液漏斗，分出氯仿层。以氯仿洗淨錐瓶，洗液一并倒入分液漏斗中，充分振蕩，分出氯仿。以少量氯仿重复提取数次，直至提取液无色为止(合并氯仿液在水浴上浓缩，以少量5%氢氧化鈉提取数次，直至提取液无色为止。合并碱液，以盐酸酸化，再以氯仿提取数次)。合并氯仿液，必要时过滤，滤液在水浴上蒸干。加入甲醇2毫升以溶解殘渣，再加入0.5%乙酸鎂甲醇溶液2毫升以显色^[4]，混勻，必要时过滤或离心，用分光光度計比色。比色时所用波长为：大黃酸467毫微米、芦荟大黃素468毫微米、大黃素367毫微米、大黃酚470毫微米^[4]。混合蒽醌衍生物以大黃酚为标准物^[2,6]。由样品讀数及标准液讀数(或用标准曲綫)即可計算样品中蒽醌衍生物的含量。

游离蒽醌衍生物的測定：取含有定量蒽醌衍生物的全血或血浆0.5毫升滴在滤紙上成若干点。干后将各点剪下，置于微量 Soxhlet 回流提取器，以氯仿連續提取2小时。氯仿液按上述总量測定法相应步驟进行測定。

結合蒽醌衍生物的測定：以蒽醌衍生物总量減去游离者即得。

蒽醌衍生物在全血中的分布：取全血，加入一定量蒽醌衍生物，在室温放置半小时后

本文1962年9月20日收到。

*河北省医学科学院进修生。

离心。以上述方法分別測定全血、血浆和血球中葱醌衍生物的含量。

(二) 葱醌衍生物在尿中含量的測定法和回收試驗

葱醌衍生物总量的測定：取含有定量葱醌衍生物的尿液 0.5—1.0 毫升，置于小錐瓶中，加入 20% 硫酸 10 毫升，然后按上述血中測定法进行測定，但可免去以碱反复提取等步驟。

游离葱醌衍生物的測定：取含有定量葱醌衍生物的尿液 0.5—1.0 毫升，置于分液漏斗中，加入稀酸至呈明显酸性，以氯仿反复提取数次，直至提取液无色为止，合并氯仿液，然后按上述測定法进行測定。

(三) 葱醌衍生物在粪中含量的測定法与回收試驗

葱醌衍生物总量的測定：取含有定量葱醌衍生物的粪便 0.5 克，以醇醚混合液提取，然后按血中測定法进行測定。

游离葱醌衍生物的測定：

(1) 湿法：取含有定量葱醌衍生物的粪便 0.5 克，置于分液漏斗中，加入酸性水 5 毫升，以氯仿提取数次，直至提取液无色为止，然后按上述方法进行測定。

(2) 干法：取含有定量葱醌衍生物的已烘干粪便 0.2 克，在 Soxhlet 提取器中以氯仿連續提取数小时，直至提取液无色为止，再如上述方法进行測定。

(四) 葱醌衍生物在組織中含量的測定法与回收試驗

将禁食 24 小时的小白鼠杀死，立即解剖，分別摘取心、肝、脾、肺、腎和胃腸等脏器官，用剪刀剖开心脏放血。各脏器官以生理盐水洗淨血液，用滤紙条吸干。称取 0.5 克置于小乳鉢中，加入定量葱醌衍生物及处理过的淨砂或玻璃粉，研成糜状(必要时可加少量蒸餾水)。将組織糜移置离心管中，以醇醚混合液洗滌乳鉢，洗液一并倒入管中，重复数次。混匀后靜置 15 分钟，过滤或离心。再用醇醚混合液重复提取数次，直至提取液无色为止。合并上清液或滤液，然后按血中測定法进行測定。至于胃腸及其内容物則以生理盐水洗滌，以滤紙吸干后剪成小段，加入定量葱醌衍生物，在小型电打碎机較成糜状，称取 0.5 克，以醇醚混合液浸泡 15 分钟，傾出上清液并过滤，反复提取数次，直至提取液无色为止。合并滤液，調整至一定体积(如 25 毫升)，取一部分(如 1 毫升)按上述方法进行測定。

以上体液及組織中葱醌衍生物的回收試驗，每种样品进行三种不同浓度的測定，每种浓度又进行三个以上測定。計算回收率，取平均值。如果需要測定葱醌衍生物各成分，可以上述方法最后步驟所得甲醇溶液在未显色前濃縮至一定体积，然后取一定量进行紙上层析^[3]。

結 果 及 討 論

葱醌衍生物在組織和体液中含量的測定及回收試驗，結果見下列表 1—3。

从測定結果，血、尿和組織中葱醌衍生物的回收率在 98—101%，而粪便略低，为 95—98%，表明上述測定法基本上是适宜的。但是样品中，葱醌衍生物浓度必須在 5 微克/毫升或克以上才能显色(紅色)，而給出准确讀数，在此浓度下則不显色，有时呈现极浅黄色，虽也有极微讀数，应視為杂质干扰，必要时可以空白为对照。其次在測定粪便等样品时，由于杂质干扰較多，将使測定值大为偏高。所以在以氯仿提取后，需要再以碱液反复

表 1 蒽醌衍生物在血、尿及粪中的回收

样 品	游 离			总 量		
	加入量(微克)	回收量(微克)	回收率(%)	加入量(微克)	回收量(微克)	回收率(%)
全	10.6	10.2	96	29.2	30.0	103
	10.6	10.4	98	29.2	30.1	103
	10.6	10.1	95	29.2	29.8	102
	21.2	20.8	98	58.4	59.0	101
	21.2	22.1	104	58.4	57.5	98
	21.2	21.6	102	58.4	60.0	103
	31.8	33.0	104	87.6	82.0	94
	31.8	30.8	97	87.6	85.0	97
	31.8	30.9	97	87.6	91.0	104
平 均		99(±3.2)			101(±3.3)	
血	10.6	10.8	101	29.2	29.4	101
	10.6	10.0	94	29.2	28.0	97
	10.6	10.8	101	29.2	28.0	97
	21.2	21.0	99	58.4	58.5	100
	21.2	20.4	96	58.4	60.0	103
	21.2	19.8	94	58.4	60.0	103
	31.8	32.4	102	87.6	89.8	103
	31.8	31.0	98	87.6	92.0	105
	31.8	31.5	99	87.6	90.8	104
平 均		99(±2.9)			101(±2.8)	
尿	51.2	53.0	104	143.2	153.0	107
	51.2	56.0	109	143.2	142.0	99
	51.2	51.0	100	143.2	149.0	104
	102.4	99.4	97	286.4	284.0	99
	102.4	105.6	103	286.4	294.0	103
	102.4	103.4	101	286.4	271.0	94
	153.6	149.1	97	429.6	411.0	96
	153.6	150.9	98	429.6	420.0	98
	153.6	148.8	97	429.6	420.0	98
	平 均		101(±3.9)			100(±3.9)
粪	20.5	19.2	96	52.0	51.2	98
	20.5	20.4	99	52.0	52.8	102
	30.8	32.0	104	78.0	74.0	95
	30.8	28.0	91	78.0	70.8	91
	30.8	30.8	100	78.0	70.0	90
	平 均		98(±4.3)			95(±4.4)

[注] 括号内数字为标准差, 以下各表均同。

提取;但步骤較多,并且有些蒽醌衍生物在碱性溶液中較不稳定^[7],有时容易导致测定值稍为偏低。所以在测定干扰杂质較少的样品(如尿液等)时,最好免去以碱反复再提取等步骤。

表 2 蒽醌衍生物在血浆和血球中的分布

游 离				总 量			
全 血 (微克/毫升)	血 浆 (微克/毫升)	血 球 (微克/毫升)	分配系数	全 血 (微克/毫升)	血 浆 (微克/毫升)	血 球 (微克/毫升)	分配系数
53.0	50.0	49.8	1.01	146.0	143.5	139.5	1.07
53.0	50.0	—	—	146.0	157.0	—	—
53.0	52.5	—	—	146.0	—	—	—
106.0	95.0	95.0	1.00	292.0	290.0	270.0	1.07
106.0	100.0	100.0	1.00	292.0	300.0	270.0	1.11
106.0	105.0	116.0	0.96	292.0	290.0	265.0	1.09
平 均			0.99(±0.02)				1.08(±0.02)

表 3 蒽醌衍生物总量在組織中的回收

加入 量	回 收 量																	
	心		脾		腎		肺		肝		胃		腸		胃內容物		腸內容物	
	微克	%	微克	%	微克	%	微克	%	微克	%	微克	%	微克	%	微克	%	微克	%
52.0	52.0	100	48.8	94	55.0	106	50.0	96	53.2	102	53.0	101	48.8	94	53.0	102	50.8	98
52.0	52.0	100	54.8	105	48.8	94	50.0	96	52.4	101	54.0	103	53.2	102	52.0	100	51.2	99
52.0	50.0	96	54.8	105	54.5	104	51.2	98	54.4	104	51.2	98	51.6	99	52.8	102	52.0	100
78.0	81.2	104	80.4	103	80.2	103	78.8	101	74.0	95	74.8	96	76.8	98	72.8	93	76.8	98
78.0	81.2	104	81.2	104	80.4	103	76.0	97	78.8	101	72.0	92	77.8	100	76.5	98	76.0	97
78.0	77.6	99	72.4	93	76.0	97	76.8	98	76.4	98	76.8	98	76.8	98	76.0	97	80.0	103
平均		101 (±2.9)		101 (±5.1)		101 (±4.2)		98 (±1.7)		100 (±2.9)		98 (±2.7)		99 (±2.5)		99 (±3.2)		99 (±1.9)

至于蒽醌衍生物在血浆和血球中的分配系数为 0.99 (游离)和 1.08 (总量),表明蒽醌衍生物几乎平均地分布于血浆和血球中,因此以全血样品进行测定是方便的。

致謝 本教研組張桂芝和成沛田等同志曾參加本實驗部分技術工作,謹此致謝。

参 考 文 献

- [1] 陈琼华、郑武飞、苏学良、賴渭声: 中藥大黃的綜合研究 I. 大黃中蒽醌衍生物抗菌效价的研究, 藥学学报, 1962, 9, 757.
- [2] Fairbairn, J. W. and Lou, T. C.: Vegetable Purgatives Containing Anthracene Derivatives. Part IV—The Active Principles of Rhubarb, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1951, 3, 93.
- [3] 苏学良、陈琼华: 中藥大黃的綜合研究 II. 大黃中蒽醌衍生物的紙上层析, 尚未发表.
- [4] Shibata, S. and Takito, M.: Studies on the Evaluation of Crude Drug II. Paper Chromatography Studies of Rhubarb (1). *J. Pharm. Soc., Japan*, 1952, 72, 1311.
- [5] Tsukida, K., Suzuki, N. and Yokota, M.: Studies on the Constituents of Polygonaceous Plants I. Detection of Hydroxyanthraquinone and its Distribution in Plants. *J. Pharm. Soc., Japan*, 1954, 74, 224.
- [6] 陈琼华、高士美、杜学芳、于文学: 中藥大黃的綜合研究 IV. 大黃蒽醌衍生物在体内的吸收、排泄和分布, 藥学学报, 待发表.
- [7] 陈琼华、刘明洲、苏学良、王嘉仪、李雷东: 中藥大黃的綜合研究 V. 蒽醌衍生物的稳定性, 抗菌性质和拮抗作用, 尚未发表.

STUDIES ON CHINESE RHUBARB

III. DETERMINATION OF ANTHRAQUINONE DERIVATIVES IN BODY FLUIDS AND TISSUES

CHEN CHIUNG-HUA, YU WEN-HSUEH AND LAI WEI-SHENG
(*Department of Biochemistry, Tientsin Medical College, Tientsin*)

ABSTRACT

A method is proposed for the determination of anthraquinone derivatives in whole blood, plasma, urine, faeces and various organs or tissues. The anthraquinone derivatives in the sample is first extracted with alcohol-ether mixture and hydrolysed with acid. The free anthraquinone derivatives are then extracted successively with chloroform and alkali. The alkaline solution is acidified and again extracted with chloroform. Evaporate the chloroform to dryness. Dissolve the residue with methyl alcohol. Add Mg-acetate reagent to give a pink colour which is determined colorimetrically. The recovery of this method is practically complete.

The anthraquinone derivatives are equally distributed between the plasma and red cells.