

# 中药青蒿中青蒿素的脉冲极谱测定法

张秀琴 徐礼葵

(中国医学科学院药物研究所, 北京)

**提要** 本文研究用脉冲极谱法测定中药青蒿中青蒿素的含量。青蒿素是从青蒿常见品种黄花蒿中分离得到的抗疟有效成分, 结构中有过氧桥, 根据过氧桥可还原的性质, 能用极谱法测定。本试验选用 0.05 M 硫酸铵为底液, 青蒿素于 0 V(vs SCE)处出现一良好峰形。浓度在 0~6  $\mu\text{g/ml}$  范围波高与浓度呈线性关系。测定下限为 2  $\mu\text{g/ml}$ 。

生药用石油醚(bp 60~90°)提取后, 直接取提取液置极谱池中, 挥去石油醚, 加 2 ml 冰醋酸溶解样品, 再加入底液进行测定。方法快速、简便、特异, 误差在 2%以内。

**关键词** 青蒿素; 黄花蒿; 脉冲极谱

中药青蒿(菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* L.) 的化学成分研究已有很多报道<sup>(1)</sup>。青蒿素是从青蒿的常见品种黄花蒿中分离得到的抗疟有效成分, 对此成分的测定方法有紫外分光光度法<sup>(2)</sup>、滴定法<sup>(3)</sup>、薄层层析扫描法<sup>(4)</sup>等, 但这些方法都不够简便。青蒿素是一种具有过氧桥的新型饱和倍半萜内酯, 根据青蒿素分子结构的特点, 我们利用过氧桥的还原性质, 建立了脉冲极谱法测定青蒿素的含量。

## 实 验 部 分

### 一. 仪器与试剂

JMJ-I 型多功能脉冲极谱仪(武汉半导体二厂); 青蒿素纯品 mp 157°C; 硅胶 G 薄层检查无杂质点。点样量 80  $\mu\text{g}$ , 展开剂石油醚(bp 60~90°)-乙醚(5:3), 碘蒸气显色。硫酸铵 化学纯; 硅胶 G 青岛海洋化工厂, 层析用。

### 二. 实验条件的选择

(一) 底液的选择 青蒿素在许多支持电解质中如 pH 6.86 磷酸盐缓冲液、pH 6 醋酸-醋酸钠缓冲液、Britton-Robinson 缓冲液、硼砂、柠檬酸钠、醋酸铵、硫酸铵等溶液中于 0 V(vs SCE)处都能给出导数脉冲极谱峰。由于青蒿素经 NaOH 溶液处理后过氧桥即可破坏, 所以应选用偏酸性的底液。同样量青蒿素在不同底液中所给出的峰电流值不同(图 1)。实验结果表明以 pH 6.86 磷酸盐缓冲液为底液时给出的峰电流最大, 峰形较窄。其次在硫酸铵、柠檬酸钠中峰形也较好。

(二) 有机溶剂对测定的影响 介质对极谱测定的影响十分明显, 由于许多有机化合物在水中不溶解, 因此研究它的氧化与还原过程只能在与有机溶剂混合的溶液中进行。有机溶剂的加入常影响峰电流的高度。常与水相混合的有机溶剂有醇类、冰醋酸、二氧六环等, 所用的有机溶剂不同, 对测定的影响也不同。上面所选三种较好的底液与不同的有机溶剂混合, 加入青蒿素纯品进行测定, 结果发现在磷酸盐缓冲液、硫酸铵、柠檬酸钠溶液中加入乙醇, 峰电流均变小, 以磷酸盐缓冲液最好。在上面三种底液中加入冰醋酸, 同样峰电流也变

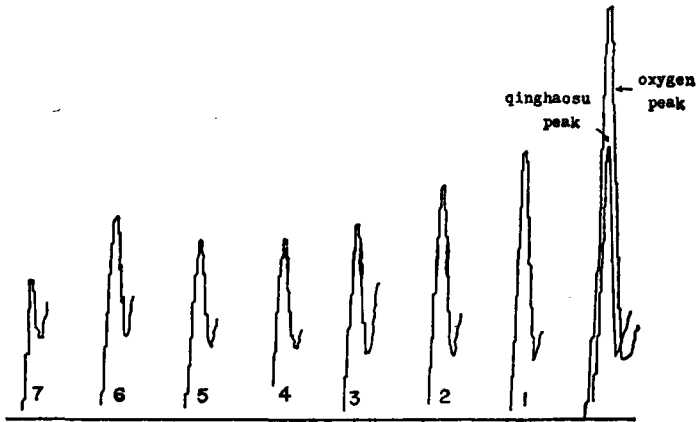


Fig 1. Pulse polarographic wave of Qinghaosu in different electrolytes. 1. Phosphate buffer (pH 6.86); 2. Ammonium sulfate; 3. Sodium citrate; 4. Sodium acetate; 5. Ammonium acetate; 6. Britton-Robinson buffer, 7. Sodium borate

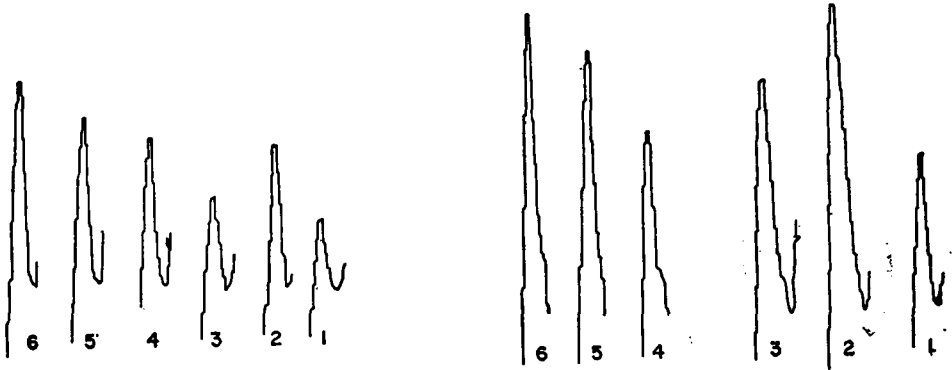


Fig 2. Effect of different electrolyte on peak current of Qinghaosu. 1~3: 2 ml glacial acetic acid added to sodium citrate, ammonium sulfate or phosphate buffer solution. 4~6: 2 ml ethyl alcohol added to sodium citrate, ammonium sulfate or phosphate buffer solution

Fig 3. Pulse polarographic wave of crude drug. 1~3: 2 ml glacial acetic acid added to sodium citrate, ammonium sulfate or phosphate buffer solution. 4~6: 2 ml ethyl alcohol added to sodium citrate, ammonium sulfate or phosphate buffer solution

小，但以硫酸铵系统最好(图 2)。

(三) 生药提取液的测定条件 上述实验指出，青蒿素的测定较好的底液为磷酸盐缓冲液—乙醇(8:2)和硫酸铵—冰醋酸(8:2)，但从青蒿生药提取物的溶解情况看，冰醋酸较乙醇更好，且醇的加入去氧较冰醋酸费时，起峰部位不规律，电流的高度不好测量，试验证实硫酸铵—冰醋酸做底液最为适宜(图 3)。

(四) 硫酸铵的浓度 浓度在 0.01~0.1 M 范围内均可应用。本实验选用 0.05 M 硫酸铵底液。

(五) 青蒿素的浓度与峰电流的关系 仪器参数为：脉冲高度：40 mV；灵敏度：0.1  $\mu$ A；延迟：2 s；扫描速度：5 mV/s；汞柱高度：60 cm。青蒿素的浓度在 0~6  $\mu$ g/ml 范围波高与浓度呈线性关系。测定下限为 2  $\mu$ g/ml。

(六) 氧的影响 青蒿素的峰电位与氧的相近，因而测定中去氧要去净，以免影响结果。实验证明每次测定需通高纯氮 10 min，这样对测定下限则无影响。

### 三、青蒿中青蒿素的提取

(一) 提取溶剂 生药分别用甲醇、乙醇、乙醚、己烷、石油醚(bp 60~90°)提取, 然后取一定量提取液进行测定, 由实验结果看出, 用醇类和乙醚提取时, 提取液颜色较深, 提取出的杂质多, 影响测定。己烷提取液测定时起波部位有干扰, 石油醚提取较好。

(二) 提取时间 称取 0.5 g 生药于提取器中, 加入适量石油醚 (bp 60~90°), 分别提取 1, 2, 4 h, 取一定量提取液测定, 结果见表 1。

Tab 1. Effect of extraction time

Ext time (h)	Amount of sample (μg)	Peak height	Content of Qinghaosu (%)
1	50	7.7	0.082
2	50	8.8	0.096
4	50	8.7	0.095

(三) 青蒿中青蒿素测定的特异性 青蒿素是一种具有过氧桥结构的化合物, 过氧桥能还原, 可用极谱法测定, 但生药中除青蒿素外是否存在类似成分, 需要进一步探讨。为了更确切地说明测定的专一性, 我们将生药提取液进行薄层分离与直接取样测定的结果进行比较, 结果见表 2。由表 2 看出, 经薄层分离后与直接取样测定结果基本一致。

Tab 2. Determination of Qinghaosu in crude drug

No.	Direct determination (peak height)	Determined after TLC (peak height)
1	2.7	2.6
2	2.6	2.5
3	4.5	4.3

1. 生药提取液的薄层分离与测定 取一定量生药提取液, 点于硅胶 G 薄板上, 用石油醚(bp 60~90°)—乙醚(5:3)展开, 碘蒸气显色, 挥去碘后, 定量刮取青蒿素色带于 10 ml 带塞试管中, 加 2 ml 冰醋酸, 振摇片刻, 再加 8 ml 硫酸铵底液, 振摇, 离心后倾取上清液测定。

2. 青蒿素纯品薄层回收率 取一定量纯品点在硅胶 G 薄板上, 同上展开, 显色、测定, 回收率见表 3。

Tab 3. Recovery of Qinghaosu from TLC plate

Amount of sample (μg)	Determined after TLC (μg)	Recovery (%)
45	44	97.8
45	44	100.0
53	51	96.2
53	52	98.2
		Average 98.0

### 四、测定方法

(一) 标准曲线制备 准确称取约 10 mg 青蒿素纯品于 10 ml 容量瓶中, 用冰醋酸溶解并

稀释到刻度, 用微量注射器取此溶液 20, 30, 40, 50, 60, 置电解池中, 加冰醋酸至 2 ml, 再加 8 ml 0.05 M 硫酸铵底液, 通氮 10 min, 记录极谱图, 绘制标准曲线。

(二) 生药的测定 称取 0.5 g 生药粉(60目)置提取器中, 用约 30 ml 石油醚(b p 30~60°)提取 2 小时, 冷到室温, 定量移入 10 ml 容量瓶中, 稀释到刻度, 摇匀, 吸取此溶液一定量置电解池中, 在水浴上挥去石油醚, 准确加入 2 ml 冰醋酸, 轻轻摇动, 使残渣溶解, 再准确加入 8 ml 0.05 M 硫酸铵底液, 通氮 10 min 后进行测定。

用此法测定了不同产地的青蒿生药, 结果见表 4。

Tab 4. Analysis of samples

Sample	Origin	Content of Qinghaosu(%)
<i>Artemisia nakai</i> Pap.	Tienjin	0.143
<i>Artemisia anethoides</i> Mattf.	Tienjin	0.164
<i>Artemisia annua</i> L.	Beijing	0.030
<i>Artemisia annua</i> L.	Hubei	0.095

### 参 考 文 献

1. 屠呦呦等. 中药青蒿化学成分的研究 I. 药化学报 1981; 16:366.
2. 沈旋坤等. 紫外分光光度法测定青蒿素含量. 药物分析杂志 1983; 3:24.
3. 朱汉松. 青蒿素的滴定分析法. 药学通报 1980; 15:342.
4. 罗李明等. 青蒿中青蒿素的薄层扫描定量法. 同上 1980; 15:344.

## DETERMINATION OF QINGHAOSU (ARTEANNUIN) IN *ARTEMISIA ANNUA* L. BY PULSE POLAROGRAPHY

ZHANG Xiu-Qin and XU LI-Xin

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

**ABSTRACT** The polarographic behavior of Qinghaosu in various electrolytes was studied. It was found that a well-defined wave was obtained in 0.05M ammonium sulfate supporting electrolyte for quantitative analysis. It is recommended to use a medium containing 20% glacial acetic acid and 0.05M ammonium sulfate. The peak potential of Qinghaosu under these conditions is 0 V (vs SCE). The peak current is proportional to concentration in the range of 0~6  $\mu\text{g/ml}$ .

**Key words** Arteannuin; *Artemisia annua* L.; Pulse polarography; Qinghaosu