

# 大黄素的极谱行为及应用研究

邹 洪 袁倬斌\*

(中国科技大学研究生院, 北京 100039)

**摘要** 在  $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (pH 8.5) 底液中, 大黄素在单扫示波极谱仪上于  $-0.75\text{ V}$  (vs. SCE) 左右有一灵敏的二阶导数峰, 峰电流与浓度在  $1.42 \times 10^{-7} \sim 5.7 \times 10^{-6}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $7.1 \times 10^{-6} \sim 7.1 \times 10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  范围内呈良好的线性关系, 检测限为  $0.7 \times 10^{-7}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。本法操作简便、快速、灵敏、选择性好, 应用于中药大黄中大黄素的测定, 结果良好。本文还研究了大黄素的极谱行为及电极反应机理, 并用电化学方法讨论了大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚和芦荟大黄素清除由邻苯三酚自氧化产生的超氧自由基 ( $\text{O}_2^-$ ) 的作用。

**关键词** 大黄素; 超氧自由基; 极谱法

大黄素又叫朱砂莲甲素, 是中药朱砂七、大黄和何首乌中的有效成分, 有抗菌、止咳和抗肿瘤作用<sup>[1]</sup>。大黄素的分析有胶束电动毛细管色谱法<sup>[2]</sup>, HPLC<sup>[3]</sup>, TLC<sup>[4]</sup> 和示波极谱法<sup>[5]</sup>。徐礼燊等用薄层色谱分离出朱砂七和何首乌中的大黄素, 再用脉冲极谱法测定大黄素的含量<sup>[6,7]</sup>。迄今未见有进一步的报道, 脉冲极谱法的线性范围窄、灵敏度低, 为提高检测灵敏度, 本文详细地研究了大黄素的极谱行为及电极反应机理, 拟定了单扫示波极谱法, 直接测定中药大黄中的大黄素, 还用电化学方法讨论了大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚和芦荟大黄素对由邻苯三酚自氧化产生的超氧自由基 ( $\text{O}_2^-$ ) 的清除作用。

## 实 验 部 分

### 1 仪器及试剂

JP<sub>3</sub>-1 和 MP-1 型极谱仪(山东电讯七厂),

本文于 1996 年 7 月 8 日收到。

本文为国家自然科学基金和中科院长春应化所电分析化学开放实验室基金资助项目

\* 联系人

XJP-821(B) 型新极谱仪(中科院长春应化所, 江苏电分析仪器厂), DME 为工作电极, 参比电极为饱和甘汞电极, 辅助电极为铂丝。大黄素(中国药品生物制品检定所)标准液:  $1.4 \times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 三羟甲基氨基甲烷(Tris), 邻苯三酚(分析纯, 遵义市第二化工厂)。其它试剂均为分析纯, 实验用水系二次石英蒸馏水。

### 2 实验方法

取 10 ml 底液, 放入电解池中, 用微量注射器注入一定量的大黄素标准液或待测液, 原点电位为  $-0.5\text{ V}$ , 阴极化扫描记录极谱峰高和峰电位, 实验温度  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 。

## 结 果 与 讨 论

### 3 条件实验

用示波极谱法考察了大黄素在  $\text{LiCl-NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ,  $\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-Na}_3\text{PO}_4$  和  $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaOH}$  底液中的电化学行为, 大黄素在  $\text{LiCl-NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$  中有 3 个峰 ( $\text{P}_1, \text{P}_2, \text{P}_3$ ), 而在其它底液中只有 2 个峰 ( $\text{P}_1, \text{P}_3$ ), 经比较发现峰  $\text{P}_1$  在  $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  中于 pH 7.80~9.60 范围内峰电流稳定, 灵敏

度也较高,故选定  $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (pH 8.50) 为底液(图 1)。

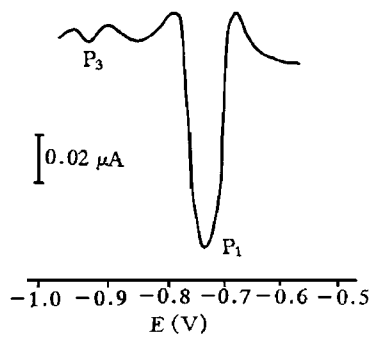


Fig 1 Second-order derivative polarogram of emodin ( $1.8 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Base solution:  $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (pH 8.50).

#### 4 线性范围、检测限

大黄素在  $\text{H}_3\text{BO}_3\text{-Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (pH 8.50) 底液中,于  $-0.75 \text{ V}$  (vs. SCE) 处有一二阶导数峰  $\text{P}_1$ ,浓度在  $1.42 \times 10^{-7} \sim 5.7 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $7.1 \times 10^{-6} \sim 7.1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  范围与峰电流有良好的线性关系 ( $\gamma = 0.998, 0.999$ ),可作定量测定,用标准加入法可作定性分析,其检测限为  $0.7 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

#### 5 样品测定

将市售大黄粉碎,准确称取 2.50 g,用无水乙醇回流 2 次,每次用 30 ml 乙醇回流 1 h,过滤,合并滤液<sup>[8]</sup>,蒸发一部分乙醇,然后用无水乙醇定容于 50 ml 棕色量瓶中,吸取一定量试液,按实验方法进行测定,用标准曲线法求大黄素的浓度,平行测定 10 次,测得大黄素的平均含量为 0.14% (即  $1.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ),RSD 为 2.2%,回收率为 98.2%~102%。

#### 6 干扰实验

将中药大黄中的其它成分大黄素甲醚、大黄酚、大黄酸和芦荟大黄素的标准品试液加入空白底液中,在  $-0.61 \text{ V} \sim -0.64 \text{ V}$  左右出峰,说明大黄中的其它成分不干扰大黄素的测定。人体中常见的金属离子  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  和无机阴离子  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  等以及  $\text{V}_{\text{B1}}$ ,  $\text{V}_{\text{B2}}$ ,  $\text{V}_{\text{C}}$ ,  $\text{V}_{\text{B6}}$ , 烟酰胺也都不影响测定,但叶酸使大黄素和大黄酸的峰高降低,推测这可能是叶酸与大黄素和大黄酸之间存在相互作用

所致。药理实验表明:大黄酸和大黄素对金黄色葡萄球菌的核酸及蛋白质合成有较强的抑制作用,并在剂量上呈平行的关系。叶酸能拮抗大黄素、大黄酸对金黄色葡萄球菌的核酸合成的抑制作用,可能是通过影响叶酸的酶系统,从而抑制核酸的合成进而阻碍蛋白质合成而影响细菌的生长<sup>[9]</sup>。

#### 7 电极反应和机理探讨

7.1 循环伏安图 大黄素在碱性的磷酸盐、碳酸盐和硼砂缓冲液中只有 2 个峰 ( $\text{P}_1, \text{P}_3$ ),而在  $\text{LiCl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  底液中则于峰  $\text{P}_1$  和峰  $\text{P}_3$  之间还有一峰  $\text{P}_2$  (图 2),该峰随 pH 增加而降低,同

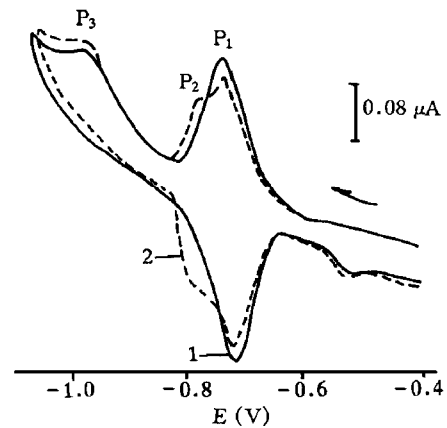
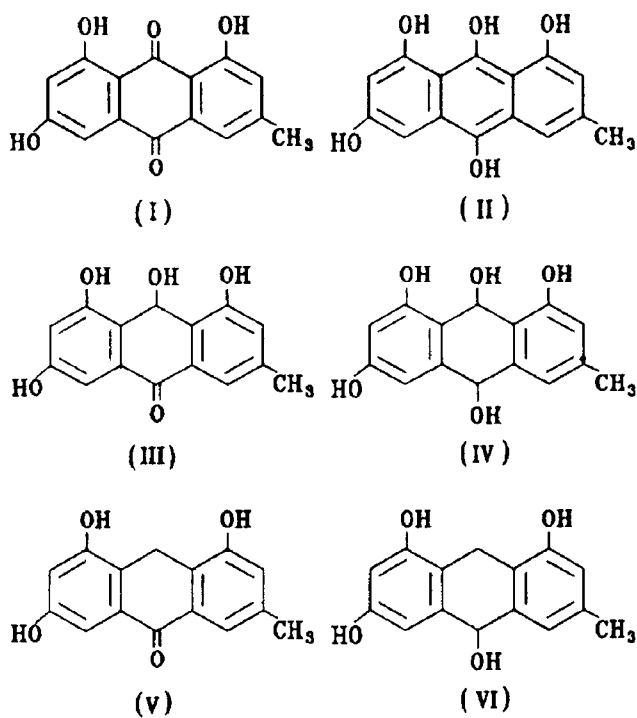


Fig 2 Cyclic voltammogram emodin ( $7.1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). 1.  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\text{-NaHCO}_3$  (pH 9.50); 2.  $\text{LiCl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (pH 9.50).  $\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ .

时峰  $\text{P}_3$  增高。峰  $\text{P}_1$  和峰  $\text{P}_2$  的氧化还原峰的电位差均为 30 mV。Sommermann<sup>[10,11]</sup>认为 2-取代-9,10-蒽醌在碱性介质中还原为氢醌后可发生异构重排反应,在有良好质子源的体系中有利于该重排反应,酮式异构体于更负的电位处被还原。大黄素(I)经过第一步还原后生成氢醌(II),在碳酸盐等底液中,(II)由  $\text{H}_2\text{O}$  催化转化为(III),但反应速度慢,而  $\text{LiCl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  是良好的质子源<sup>[12]</sup>,可加速(II)向(III)的转化;(III)被还原后生成(IV),经过酸-碱催化重排生成(V),而碱催化可促进该重排反应,故 pH 增加,峰  $\text{P}_2$  降低,同时峰  $\text{P}_3$  增高;(V)最后生成(VI),在  $-0.5 \text{ V}$  左右的氧化峰则是产物(VI)的氧化峰,这与文献<sup>[10,11]</sup>中所述的取代的 9,10-蒽醌还原的最终产物被氧化的情况相似。



**7.2 极谱性质** 在 9~45℃ 之间,用直流极谱法求得峰 P<sub>1</sub> 的温度系数 β = -0.59%, 峰 P<sub>2</sub> 和 P<sub>3</sub> 的温度系数分别为 +2.9% 和 +3.3%, 说明峰 P<sub>1</sub> 具有吸附性质, 峰 P<sub>2</sub> 和 P<sub>3</sub> 则具有动力学性质。通过记录大黄素在各峰电位处的瞬时电流 *i* 与时间 *t* 的关系得 lg *i* - lg *t*, 求得 β<sub>1</sub> = 1.18, β<sub>2</sub> = 0.66, β<sub>3</sub> = 0.69, β<sub>1</sub> 大于 1 具有吸附性质, β<sub>2</sub> 和 β<sub>3</sub> 接近动力学性质的理论值 2/3, 说明峰 P<sub>2</sub> 和 P<sub>3</sub> 具有动力学性质。大黄素峰 P<sub>1</sub> 的常规脉冲极谱图还原峰呈峰形, 表明峰 P<sub>1</sub> 具有吸附性。含大黄素溶液的电毛细管曲线在 -0.2 V ~ -1.5 V 范围内较纯底液有明显降低, 也说明大黄素在电极上有吸附性。阴离子表面活性剂十二烷基硫酸钠使峰 P<sub>1</sub> 降低最严重, 中性表面活性剂 Triton X-100 次之, 阳离子表面活性剂四丁基碘化铵最小。另外, 四丁基碘化铵也使 P<sub>2</sub> 降低, 峰电位正移, 最后消失于峰 P<sub>1</sub> 电位处, 这可能是四丁基碘化铵抑制了 LiCl-NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 的给质子作用, 阻碍了 (II) 向 (III) 转化所致。

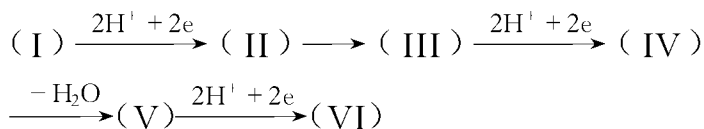
**7.3 电极反应的电子转移数(*n*)和质子转移数(*m*)**

通过对峰 P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> 和 P<sub>3</sub> 三峰的直流极谱的 lg *i* / (*i<sub>d</sub>* - *i*) 对 *E* 作图, 进行对数分析, 得到 *n*<sub>1</sub>

$$= 2, n_2 = 2, n_3 = 2, \alpha_3 n_3 = 1.09, \alpha_3 = 0.55。$$

实验得到: 峰 P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> 的 Δ*E<sub>p</sub>* / ΔpH 为 -60 mV, -62 mV 和 -108 mV。根据电极反应质子数 (*m*) 与 *E<sub>p</sub>* 和 pH 线性关系, 斜率 Δ*E<sub>p</sub>* / ΔpH = -  $\frac{2.303RT \cdot m}{\partial nF}$  pH, 求得 *m*<sub>1</sub> = *m*<sub>2</sub> = *m*<sub>3</sub> = 2。

综上所述, 大黄素的电极反应机理应为:



**7.4 对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除作用** 实验证明, 大黄提取液具有清除活性氧自由基的作用<sup>[13]</sup>, 利用化学方法加邻苯三酚在碱性条件下自氧化产生有色中间产物和超氧自由基, 通过加入 SOD 或中药, 清除活性氧自由基, 阻止中间产物的积累, 用光化学方法监测邻苯三酚自氧化产物的紫外吸收峰受到抑制这一特点说明 SOD 或中药对活性氧自由基的清除作用<sup>[14]</sup>。也可用电化学方法, 通过加入中药中一些有效成分观察邻苯三酚自氧化产物在 -0.96 V 或 -1.45 V 处的还原峰受到抑制这一特点<sup>[15]</sup>, 考察大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚和芦荟大黄素对邻苯三酚自氧化自由基反应的抑制情况(图 3), 可以发现于 -0.96 V 处的还原峰降低, 说明大黄

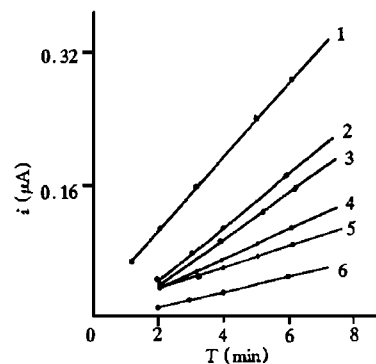


Fig 3 Inhibition of emodin on the autoxidation of pyrogallol. 1. Pyrogallol  $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  + HCl-Tris (pH 8.30); 2. Physcion  $3.57 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 3. Rhein  $3.57 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 4. Chrysophanol  $3.57 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 5. Aloe-emodin  $3.57 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 6. Emodin  $3.57 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

中 5 种有效成分对活性氧自由基有不同程度的

清除作用。经线性回归处理,计算出直线 1~6 的斜率值分别为 0.040, 0.032, 0.027, 0.016, 0.013, 0.011 (其线性相关系数在 0.990~0.999 之间), 根据斜率值, 以直线 1 的斜率为标准, 计算得大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素和大黄素的抑制率分别为 20.0%, 32.5%, 60.0%, 67.5%, 72.5%。这可能由于蒽醌分子中羟基与  $O_2^-$  发生了单电子转移反应<sup>[16]</sup>, 从而阻断了邻苯三酚自氧化的自由基链反应, 且蒽醌分子中羟基越多, 其清除  $O_2^-$  能力越强。

### 参 考 文 献

- 1 国家医药管理局中草药情报中心站编. 植物药有效成份手册. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 384
- 2 宗玉英, 余满堂, 朱自强, 等. 胶束电动毛细管色谱法分离和测定几种大黄含量. 药理学报, 1995, **30**: 594
- 3 郑俊华, 西泽信, 山岸乔, 等. 商品大黄 34 种化学成份的高压液相色谱法定量分析. 北京医科大学学报, 1989, **21**: 499
- 4 周晶, 房志仲, 李崇芳. 薄层扫描法测定中成药中大黄. 中成药研究, 1987, **10**: 31
- 5 徐礼燊, 沙世炎. 中草药有效成分分析法, 上册. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 21
- 6 张秀琴, 徐礼燊. 朱砂七中蒽醌类成分的脉冲极谱测定. 药理学报, 1984, **19**: 519
- 7 张秀琴, 徐礼燊. 脉冲极谱法测定何首乌中蒽醌类化合物. 药物分析杂志, 1984, **4**: 347
- 8 蒋孟良, 郭建生, 杨平华. 提取方法对大黄中总蒽醌含量的影响. 现代应用药学, 1993, **10**: 33
- 9 赵俊康主编. 生物化学. 北京: 中国中医药出版社, 1994: 257
- 10 Broadbent AD, Sommermann EF. The reduction of 9, 10-anthraquinones. Part 2. Polarography of 2-hydroxy-9, 10-anthraquinones. *J Chem Soc (B)*, 1968: 519
- 11 Broadbent AD, Sommermann EF. The reversible tautomerism of 9, 10-anthraquinols. *Tetrahedron Lett*, 1965, **30**: 2649
- 12 Zuman P, ed. *Progress in Polarography*. Vol. 3. New York: Wiley-Interscience, 1972: 195
- 13 郭澄, 张纯. 大黄抗衰老作用的研究概况. 中医药信息, 1996, **3**: 24
- 14 邹国林, 桂兴芳, 钟晓凌, 等. 一种 SOD 的测活方法-邻苯三酚自氧化法的改进. 生物化学和生物物理进展, 1986, **4**: 71
- 15 邹洪, 袁倬斌. 邻苯三酚自氧化的电化学研究. 分析实验室(待发表)
- 16 Lee-Ruff E. The organic chemistry of superoxide. *Chem Rev*, 1977, **6**: 195

## INVESTIGATION ON ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF EMODIN AND ITS APPLICATION

H Zou and ZB Yuan

(Graduate School, USTC, Academia Sinica, Beijing 100039)

**ABSTRACT** Emodin showed a second-order derivative reduction wave with peak potential of  $-0.75$  V (SCE) by single sweep oscillopolarography using  $H_3BO_3-Na_2B_4O_7$  (pH 8.50) as base solution. The peak height of emodin is proportional to the concentration in the range of  $1.42 \times 10^{-7} \sim 5.7 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $7.1 \times 10^{-6} \sim 7.1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively. The detection limit is  $0.7 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . It can be employed for the determination of emodin in *Rheum officinale* Baill with satisfaction. The electrochemical behavior of emodin was studied and the electrode reaction mechanism was proposed. In addition, it was found that emodin, aloë-emodin, chrysophanol, rhein and physcion can scavenge superoxide anion radical produced by the autoxidation of pyrogallol. The scavenging activity is in the order: emodin > aloë-emodin > chrysophanol > rhein > physcion.

**KEY WORDS** Emodin; Superoxide anion radical; Polarography