

# 紫外分光光度法测定贵州马兰总蒽醌含量

谢浪, 李嘉, 陈晓兰<sup>▲</sup>, 邓显仪, 王洁洁

(贵阳中医学院药学院, 贵州贵阳 550002)

**【摘要】**目的:测定贵州马兰中总蒽醌的含量。方法:将 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液和马兰样品溶液于 200~400nm 波长范围内进行扫描,确定检测波长为 223nm,建立紫外分光光度计测定贵州马兰中总蒽醌含量。结果:1,8-二羟基蒽醌对照品溶液浓度在 2.2~6.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的范围内,其浓度与吸光度呈良好的线性关系, $C=169.43A-0.1899$  ( $r=0.9996$ );样品加样回收率为 98.31%,RSD 为 2.82% ( $n=6$ );贵州马兰中总蒽醌含量为 3.146mg/g, RSD 为 1.60% ( $n=5$ )。结论:建立的紫外分光光度法操作简便,重复性良好,可用于马兰中总蒽醌的含量测定;该法可为马兰质量控制和制定质量标准提供参考。

**【关键词】**马兰,含量测定,紫外分光光度法,总蒽醌

**【中图分类号】**R282.4

**【文献标识码】**A

**【文章编号】**1003-6563(2018)02-0016-05

马兰为菊科马兰 (*Kalimeris indica* (L.) Sch-Bip.) 带根的全草, 异名: 鱼鳅串、紫菊、灯盏细辛、竹节草, 生长于路边、田野、山坡, 分布于我国的江苏、浙江、江西、福建、湖南、湖北、广东、广西、四川、贵州等地<sup>[1]</sup>。张德欲《本草正义》提到“马兰, 最解热毒, 能专入血分, 凉血止血, 尤其特长”<sup>[2]</sup>。具有清热解毒, 止痛止血, 温肺止咳, 散瘀散寒, 消积化食之功效<sup>[3]</sup>。主治感冒引起的一系列炎症、肠胃炎症、传染性肝炎等, 外用治疮疡肿毒、外伤出血、胃脘冷痛等。贵州民间常用其水煎口服, 治疗肝病、胃病, 具有较好疗效。多种复方汤剂的重要组成原料之一就是马兰, 马兰中主要的化学成分有醌类、萜类、甾体类、脂肪族、黄酮类等化合物, 并且含有许多种微量元素<sup>[4]</sup>。近年来, 关于马兰的研究涉及到植物学特征、成分、药理、栽培、产品加工技术等方面的研究<sup>[5]</sup>。张雪梅等<sup>[6]</sup>从性状鉴别、显微鉴别、薄层鉴别方面提出了马兰的生药学鉴定方法。徐秀芳等<sup>[7]</sup>发现马兰中含有不同的维生素、矿物质和氨基酸, 营养极为丰富, 具有很高的食用价值。许文清<sup>[8]</sup>利用硅胶柱色谱分离方法反复分离纯化马兰的乙醇提取物, 通过各种波谱数据分析来鉴定化合物的结构。结果从马兰的乙醇提取物中分离得到多达 14 个的脂肪类化合物。康文艺等<sup>[9]</sup>用 GS-MS 法分析了野生马兰挥发油中的化学成分, 发现马兰挥发油化学成分非常复杂, 已鉴定成分约占 55.98%, 主要为萜类化合物、脂肪族化合物和芳香族化合物。关于药理作用方面, 吕世杰、徐庆荣等<sup>[10-11]</sup>通过研究发现全叶马兰具有治疗二甲苯与新鲜鸡蛋清引起的炎症作用, 并能增加哌替啶的镇痛效果, 并且治疗效果与空白组对照具有非常显著的差异性 ( $P<0.01$ )。郑和权等<sup>[12]</sup>测定了马兰中总黄酮含量高达 16.45%, 且富含 Se、Zn、Mg、Ca。黄酮类化合物是一种十分重要的抗氧化剂, 具有抗病毒、抗衰老、抑菌消炎、抗氧化、防治癌症等诸多功效, 其中 Se 元素是抗氧化酶 (GSH-PS) 的必需组成成分, 可提高此酶的活性, 具有抑制血管疾病、抗衰老、抗癌作用。在马兰植物栽培育种方面, 经过研究, 使用 MS+6-BA0.5mg/L 的培养基培养后, 马兰茎尖接种 6d 后开始增殖, 基部萌发新芽, 30d 后新芽长至 2cm, 芽增殖率为 9%~11%; 在 1/2MS+IBA2.0mg/L 的生根培养基上接种 3d 以后, 马兰开始生根, 根生长迅速, 7d 后大量辐射状根长出, 长度约为 1~3cm, 诱导生根率为 100%; 将幼苗移栽到混合基质中, 基质处方配比为: 草炭: 珍珠岩: 蛭石=1:1:1, 遮荫 5~7d 即可确定成活率, 成活率高达 90%<sup>[13]</sup>。在产品技术加工方面, 徐秀芳等采用热风干燥法对马兰嫩茎叶进行脱水处理, 得出最佳工艺条件: 漂烫液中添加 ZnCl<sub>2</sub> 及 CuSO<sub>4</sub> (1:1) 含量为 0.05%, 马兰干燥前脱水率 >50%, 干燥温度 75℃, 干燥时间 180min<sup>[14]</sup>。陈湘宁, 黄漫青等<sup>[15]</sup>通过研究, 得出马兰凝胶软糖的最佳配方是: 卡拉胶 0.6%、琼脂: 卡拉胶=2:1、白砂糖 18%、蜂蜜: 砂糖=2.2:1、菜汁 12%, 此法制备出的马兰凝胶软糖符合要 求, 口感好。目前, 虽然有文献报道马兰中含有蒽醌类化合物, 但关于马兰中蒽醌类化合物的含量没有报道。本研究初步建立了马兰中总蒽醌紫外分光光度计的 含量测定方法, 马兰具有药食两用的作用, 有很高的研究价值, 本研究为进一步研究马兰总蒽醌的药理药效提供基础性依据, 也可为马兰质量控制提供参考。

---

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

TU-1810PC 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);紫外 UV-5900 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司);AUW120D 电子分析天平(菲律宾制造);JA2003 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);SK8200H 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司, 频率 53Hz, 功率 500W);电热恒温水浴锅(天津天泰仪器有限公司)。

### 1.2 药材

马兰采于贵州毕节,经贵阳中医学院生药实验室田源红教授鉴定为菊科植物马兰(*Kalimeris indica*(L.)Sch-Bip)的带根全草。洗净,自然阴干,打粉,过 3 号筛得到马兰药材粉末。

### 1.3 试药

1,8-二羟基蒽醌对照品(贵州迪大生物科技有限公司,批号:GZDD-0199),甲醇为分析纯,95%乙醇。

## 2 方法与结果

### 2.1 对照品溶液的制备

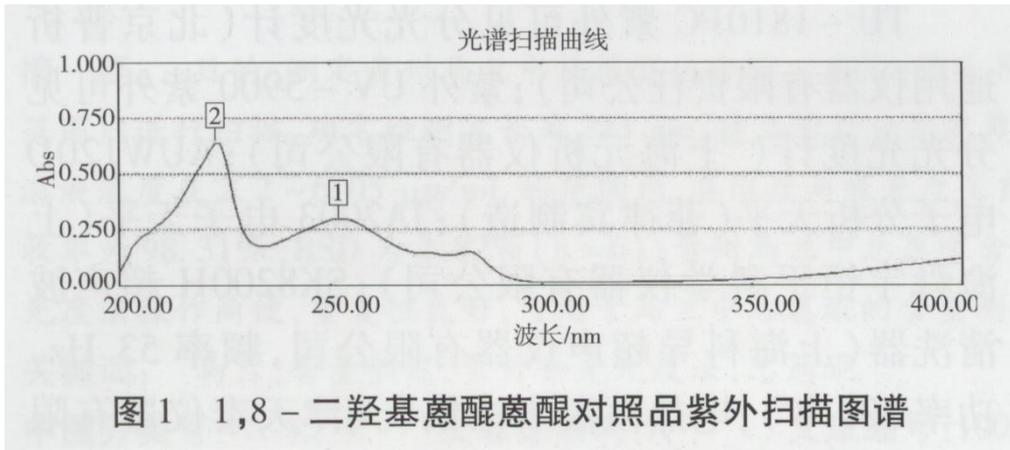
精密称取 1,8-二羟基蒽醌对照品 2.20mg,置 10mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,超声 30min 使之完全溶解,得浓度为 0.220mg/mL 的 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液,备用。

### 2.2 供试品溶液的制备

精密称取干燥马兰药材粉末 1.0g(过 3 号筛),至 50mL 圆底烧瓶中,精密加入 25mL95%乙醇溶液,80T 回流 1h,过滤,滤液水浴挥干,甲醇定容至 10mL,取 150  $\mu$ L 甲醇定容至 10mL,得到供试品溶液。

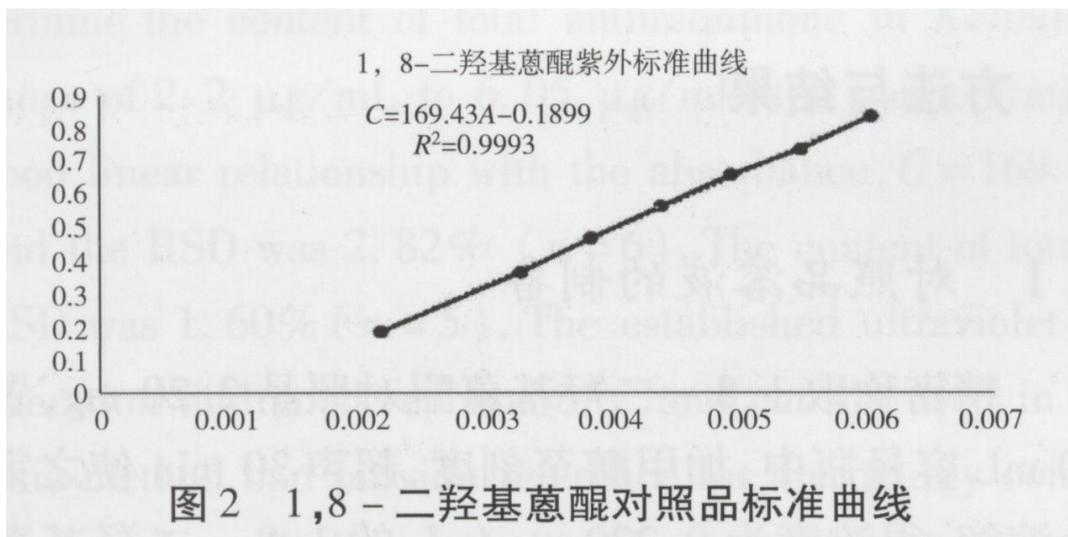
### 2.3 检测波长的确定

精密量取 1,8-二羟基蒽醌对照品 200  $\mu$ L,转移至 10mL 容量瓶中,甲醇溶液定容至刻度线,配制浓度为 4.4mg/mL 的 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液,以甲醇作为空白溶液,使用紫外分光光度计在 200~400nm 蓝围内进行波长扫描,最大吸收波长确定为 223nm,实验结果见图 1。



#### 2.4 标准曲线的绘制

精密量取上述对照品溶液 100  $\mu$ L、150  $\mu$ L、175  $\mu$ L、200  $\mu$ L、225  $\mu$ L、250  $\mu$ L、275  $\mu$ L 分别置于 10mL 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 以甲醇作为空白对照溶液, 在 223nm 波长处测定其吸光度, 以浓度 C 为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标得直线回归方程:  $C=169.43A-0.1899$ ,  $r=0.9996$ 。结果表明, 在 2.2~6.05mg/mL 范围内, 浓度与吸光度呈良好的线性关系(图 2)。



#### 2.5 精密度考察

取浓度为 4.4mg/mL 的对照品溶液, 以甲醇作为空白对照溶液, 在 223nm 波长处连续依次测定 6 次吸光度, 吸光度 RSD=0.56%, 结果表明本方法精密度良好。

#### 2.6 稳定性考察

取供试品溶液, 使用紫外分光光度计, 以甲醇作为空白对照溶液, 在 223nm 波长处分别在 0h、1h、2h、4h、6h、8h、12h 时进行吸光度测定, 吸光度 RSD=0.90%, 实验结果表明样品溶液 12h 内稳定性良好。

#### 2.7 重复性考察

取马兰粉末,按照“2.2”项下方法制得供试品溶液6份,使用紫外分光光度计,以甲醇为空白对照溶液,在223nm波长处测定吸收度,平均吸光度为0.606,RSD=1.39%,样品中总蒽醌平均含量为3.13mg/g,RSD=0.98%,结果表明重复性良好。

## 2.8 加样回收率考察

取已知总蒽醌含量马兰粉末6份(3.13mg/g),每份0.5g,精密称定。分别加入1,8-二羟基蒽醌1.58mg,按照“2.2”项下方法依法制得供试品溶液6份,使用紫外分光光度计,以甲醇为空白溶液,于223nm波长处测定吸光度,平均回收率为98.31%,RSD=2.82%,结果见表1,表明加样回收率符合要求。

表1 加样回收试验结果(n=6)

样品量/g	含总蒽醌量/mg	加入标品量/mg	吸光度	总蒽醌含量/mg	回收率%
0.502	1.57	1.58	0.598	3.100	96.84
0.496	1.55	1.58	0.587	3.057	95.38
0.499	1.56	1.58	0.618	3.179	102.47
0.499	1.56	1.58	0.592	3.077	96.01
0.501	1.57	1.58	0.605	3.128	98.61
0.501	1.57	1.58	0.613	3.159	100.57

## 2.9 含量测定

精密取马兰粉末1g,按照“2.2”项下样品制备方法制备5份供试品溶液。以甲醇为空白对照溶液,在223nm波长处测定吸光度,马兰中总蒽醌平均含量为3.146mg/g,RSD=1.60%。结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=5)

样品量/g	吸光度	含量/mg	平均含量/mg	RSD
1.001	0.617	3.172		
0.998	0.589	3.071		
0.999	0.624	3.206	3.146	1.60%
0.999	0.605	3.131		
1.002	0.612	3.149		

### 3 讨论

天然植物药中蒽醌类化合物较为常见,在自然界植物中分布很广,如蓼科大黄、虎杖、何首乌,百合科芦荟,豆科决明子,茜草科茜草、鼠李等。除了高等植物以外,低等植物地衣和菌类的代谢产物中也有蒽醌类化合物。蒽醌类化合物具有消炎杀菌和防治抗病毒等功效,并有一定抗氧化作用,故在医药及食品中有重要作用<sup>[16]</sup>。目前,当测定植物药中蒽醌单体含量时,通常使用高效液相色谱法,而植物药中蒽醌类成分的总量测定大多采用紫外分光光度法,通常需要加入显色剂使之显色,显色剂为醋酸镁甲醇溶液或碱液,一般加入醋酸镁显色剂后溶液呈现紫色或紫红色。而蒽醌类成分在进行醋酸镁甲醇溶液显色时,需要蒽醌类成分能与之反应产生络合物才能显色,从络合机理来看,化合物结构中必须具有  $\alpha$ -酚羟基或具有邻位二酚羟基,而蒽醌类化合物不具有这 2 种结构则不能被测到。与碱液显色时,化合物结构中则必须要具有  $\alpha$ -酚羟基或具有 0-酚羟基,才能与其发生显色反应。因此,当用比色法测定植物中总蒽醌含量时,测得量比实际含量要小,不能完全反应出植物中总蒽醌类化合物的含量。比色法由于操作步骤和影响因素较多,常给实际实验操作带来不便。郭华等<sup>[17]</sup>通过比较大黄、何首乌、决明子、拳参、虎杖、番泻叶、芦荟等药材与 1,8-二羟基蒽醌、大黄素、大黄酸吸收波长的范围,建立了以直接紫外分光光度法测定蒽醌类化合物含量的依据。金乾兴等<sup>[18]</sup>根据郭华等人的研究使用直接紫外分光光度法,测定了各产地大黄中总蒽醌含量,得出直接紫外分光光度法简便快捷,准确度高,重复性好的结论。

本实验结果表明,建立的直接紫外分光光度法样品前处理步骤简单,操作方便,具有良好的准确性、重复性及稳定性,可作为马兰中总蒽醌含量的测定方法。本实验只是初步测定贵州马兰中总蒽醌含量,总蒽醌含量为 0.31%,后期将对马兰总蒽醌进行提取、纯化等工艺研究。由于样品产地来源单一,对于不同产地的马兰总蒽醌含量测定仍有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第七册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:886-889.
- [2] 尚志钧. 本草拾遗[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2003:218.
- [3] 林彬彬,王刚,刘劲松,等. 马兰化学成分研究[J]. 安徽中医学院学报,2008,27(6):48-49.
- [4] 熊灿霞,田源红,马敬原,等. 马兰草中微量元素的研究[J]. 微量元素与健康研究,2013,30(1):25-28.
- [5] 刘跃钧,姜根平,兰冬香,等. 野生马兰研究开发现状概述[J]. 中药材,2011,34(6):992-993.
- [6] 张雪梅,刘圆,孟庆艳,等. 民族药马兰的生药学鉴定[J]. 时珍国医国药,2007,18(3):557-558.
- [7] 徐秀芳,张海洋. 浙江省马兰资源及其开发利用[J]. 北方园艺,2005(2):36-37.
- [8] 许文清,龚小见,周欣,等. 马兰化学成分研究[J]. 中草药,2010,41(7):1056-1057.
- [9] 康文艺,赵超,穆淑珍. 马兰挥发油成分的研究[J]. 中草药,2003,34(3):210-211.
- [10] 石乐鸣,吕世杰,张连凯,等. 全叶马兰镇咳作用的实验研究[J]. 中药材,1990,13(11):36-37.
- [11] 徐庆荣,吕世杰,石乐鸣,等. 全叶马兰对中枢神经系统的抑制作用[J]. 中药材,1991,14(7):4143.

---

[12] 郑和权, 周守标, 朱肖锋, 等. 马兰总黄酮提取工艺优化及不同部位含量测定 [J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(11):188-193.

[13] 石丽敏, 陈劲枫, 杨寅桂, 等. 野生蔬菜马兰的离体培养与快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(1):133.

[14] 徐秀芳, 张海洋. 野生马兰的组培快繁技术研究 [J]. 长江蔬菜(学术版), 2008(5b):36-37.

[15] 陈湘宁, 黄漫青, 张艳霞, 等. 马兰凝胶软糖的研制 [J]. 食品科技, 2004(6):4244.