

不同生长年限唐古特大黄中五种蒽醌衍生物的含量比较

曹伟国^{1,2}, 陶燕铎² (1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400050; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810000)

摘要:目的 探讨唐古特大黄中五种蒽醌衍生物的含量与生长年限的关系。方法 用高效液相色谱法测定不同生长年限唐古特大黄中大黄素、大黄酚、大黄酸、芦荟大黄素、大黄素甲醚的含量。色谱柱为 C_{18} 柱, 流动相为甲醇-0.1%磷酸 (85:15), 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长为 254 nm, 柱温为室温, 按外标法定量。结果与结论 唐古特大黄中五种蒽醌衍生物的含量随生长年限的增加而增加, 第4年增长趋势变缓, 且两年生唐古特大黄已符合药典要求。

关键词: 高效液相色谱法; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚

中图分类号: R917.101; R917.73 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)05-0404-03

The Comparison of the Five Kinds of Anthraquinone Derivatives Contents in *Rheum tanguticum* of Different Growing Periods

CAO Wei-guo^{1,2}, TAO Yan-duo² (1. TCM College of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400050, China; 2. The Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academic of Sciences, Xining 810000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate variations of anthraquinone derivatives in *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. of different growing periods. **METHODS** The emodin, chrysophanol, rhein, aloce-emodin and physcion in *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. of different growing periods were determined by HPLC on a Kromasil C_{18} column with methanol-0.1% phosphoric acid (85:15) as mobile phase, and the flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The wavelength of UV detector was 254 nm, and the column temperature was room temperature and the quantification used external standard method. **RESULTS AND CONCLUSION** The contents of emodin, chrysophanol, rhein, aloce-emodin and physcion in *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. increased with growing periods. The trend of growth became slow of the forth year. The *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. cultivated for two years can achieve criterion in ChP.

KEY WORDS: HPLC; aloce-emodin; rhein; emodin; chrysophanol; physcion

唐古特大黄 (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.) 为蓼科植物, 药用部分为干燥根及根茎, 为传统药材, 具有泻热通肠、凉血解毒、逐瘀通经等功能, 其质量评价指标性成分主要是蒽醌类衍生物, 如大黄素、大黄酚、大黄酸、芦荟大黄素和大黄素甲醚等^[1]。大黄中蒽醌类衍生物含量测定方法报道较多^[2-4], 本实验采用高效液相色谱法比较了不同生长年限唐古特大黄中蒽醌衍生物的含量, 研究了蒽醌类化合物的含量与生长年限的关系, 研究唐古特大黄活性成分在不同生长年限中的动态变化, 以此探讨唐古特大黄种植年限的科学性问题, 对控制药用植物原料的质量、人工栽培和生物资源可持续利用等均具有重要意义。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 600E 高效液相色谱仪, Waters 486 紫外检测器, Waters 746 数据处理系统, Millipore 溶剂过滤系统, METIER

TOLEDO AG204 万分之一电子分析天平。

1.2 试剂与试剂

大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、芦荟大黄素对照品 (含量测定用, 由中国药品生物制品检定所提供, 批号分别为 756-9301, 796-9402, 757-200110, 758-9301, 795-9301), 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余所用试剂均为分析纯。

1.3 样品采集

药材样品的采集时间为 2002 年 10 月, 唐古特大黄根茎样品采自青海省大武, 均为人工栽培品种, 分别为一年生 (实生苗)、二年生、三年生和四年生的四种不同生长年限的根茎样品, 各生长年限采样量不少于 3 kg, 所有样品经中科院西北高原生物研究所潘锦堂研究员鉴定为唐古特大黄。

2 实验方法和结果

2.1 液相色谱条件

基金项目: 中国科学院生命科学与生物技术局“十五”预研项目 (210234)

作者简介: 曹伟国, 男, 硕士, 讲师 Tel: 13452905093 E-mail: cwgzd2001@sohu.com

色谱柱: Phenomenex kromasac C₁₈柱 (250 mm × 460 mm, 5 μm);流动相: 甲醇-0.1%磷酸 (85:15);检测波长: 254 nm;流速: 1.0 mL·min⁻¹;柱温为室温;进样量 10 μL;在此条件下各组分得到良好分离,液相色谱图见图 1。

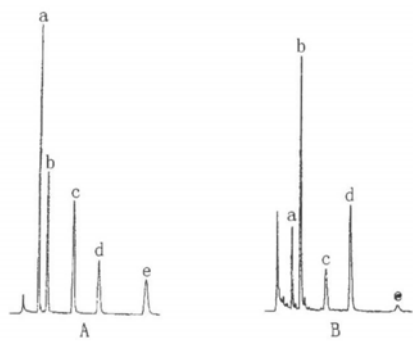


图 1 样品高效液相色谱图

A-对照品色谱图; B-样品样品色谱图; a-芦荟大黄素; b-大黄酸; c-大黄素; d-大黄酚; e-大黄素甲醚

Fig 1 Chromatograms of samples

A-Chromatograms of reference substance; B-Chromatograms of *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. a-aloe-emodin; b-rhein; c-emodin; d-chrysophanol; e-phycione

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取芦荟大黄素 7.5 mg,大黄酸 9.0 mg,大黄素 5.0 mg,大黄酚 5.5 mg,大黄素甲醚 9.5 mg,分别置 250 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,作为对照品储备溶液,用时各精密量取 1 mL混合即得对照品溶液。

2.3 线性关系考察

精密量取“2.2”中配制的大黄素,大黄酸,大黄酚,芦荟大黄素,大黄素甲醚对照品溶液适量混合,加甲醇制成标准系列进样测定。以色谱峰面积 A作为纵坐标,对照品溶液浓度 C(mg·mL⁻¹)作为横坐标,进行线性回归,结果表明:各组分在各自进样量范围内线性关系良好,线性范围、回归方程、回归系数见表 1。

表 1 标准曲线

Tab 1 Calibration curve

对照品	线性范围 /mg·mL ⁻¹	回归方程	回归系数
芦荟大黄素	0.003 0~0.036 0	A = 122 266 928 C + 5 219	r = 0.999 4
大黄酸	0.003 6~0.043 2	A = 7 194 244 C + 1 052	r = 0.999 8
大黄素	0.002 8~0.033 6	A = 10 065 425 C - 2 378	r = 0.999 4
大黄酚	0.002 2~0.026 4	A = 7 861 635 C - 1 006	r = 0.999 7
大黄素甲醚	0.003 8~0.045 6	A = 4 258 943 C + 483	r = 0.999 2

2.4 总蒽醌衍生物的提取^[5]

将唐古特大黄根茎切片晾干后,随机取样品粉碎成细粉,每生长年限各取 3 份样品,每份约 0.2 g,精密称取,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定重量,加热回流 60 min,冷却至室温,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 5 mL,置烧瓶中,挥去溶剂,加 8%盐酸 10 mL,超声处理 10 min,再加氯仿 10 mL,加热回流 1 h,放冷,移至分液漏斗中,用少量氯仿洗涤容器,并入分液漏斗中,分取氯仿层,酸液再用用氯仿进行萃取,每次约 10 mL,重复操作 3 次,合并氯仿液,以无水硫酸钠脱水,氯仿液

移至烧杯中,挥去氯仿,残渣加甲醇溶解,转移至 50 mL量瓶,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液即得样品溶液。

2.5 样品测定

分别精密吸取对照品混合溶液和供试品溶液各 10 μL,按上述色谱条件进行测定,以外标法计算样品中大黄素,大黄酸,大黄酚,芦荟大黄素,大黄素甲醚的含量,结果见表 2。

表 2 样品测定结果

Tab 2 Analytical results of samples

生长年限 /年	芦荟大黄素 /mg·g ⁻¹	大黄酸 /mg·g ⁻¹	大黄素 /mg·g ⁻¹	大黄酚 /mg·g ⁻¹	大黄素甲醚 /mg·g ⁻¹	蒽醌衍生物总量 /mg·g ⁻¹
1	0.396	5.191	1.045	2.663	0.412	9.707
2	1.463	13.563	3.117	8.710	1.418	28.271
3	2.404	17.342	4.112	12.285	1.827	37.970
4	2.553	17.939	5.122	12.649	1.592	39.855

3 分析讨论

用 SPSS 10.0 进行数据分析,研究唐古特大黄中蒽醌衍生物的含量与生长年限的关系,唐古特大黄中蒽醌衍生物随生长年限的变化趋势见图 2。

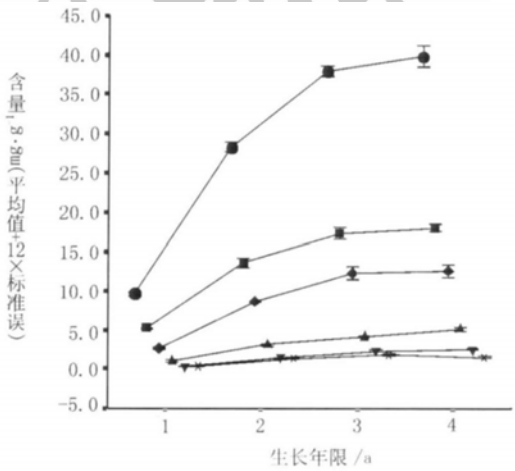


图 2 不同生长年限唐古特大黄中蒽醌衍生物的含量变化
●-总蒽醌; ■-大黄酸; ◆-大黄酚; ▲-大黄素; ▼-芦荟大黄素; * -大黄素甲醚

Fig 2 Variation of the contents of anthracene ramifications in *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. of different growing periods

●-total anthraquinone; ■-rhein; ◆-chrysophanol; ▲-emodin; ▼-aloe-emodin; * -phycione

从图 2 中可以明显的看出来,不同生长年限大黄药材中蒽醌衍生物的含量差异较大,随着生长年限的增加,唐古特大黄中五种蒽醌衍生物的含量均呈现增加趋势,且增加趋势显著。但是也有例外,大黄素甲醚的含量在 1~3 年生长阶段呈增加趋势,但在第 4 年却有所降低。其次从图中可以明显看出,唐古特大黄中五种蒽醌衍生物的含量在 1~3 年的生长期增加迅速,其中第 2 年增加尤为迅速,进入第 4 个生长年则增速减缓。本实验样品处理及测定方法与 2005 版药典一部大黄项下相同,2005 版药典一部规定,大黄干燥品中五种蒽醌衍生物的总量不得少于 1.5%,从图表中可以看出 2 年生的唐古特大黄已经符合药典标准。

药材个体发育的特征是与种质相关的特性、不同的药

材、有不同的最佳栽培年限有关,通常考虑的是产量和质量的问题,在保证质量的前提下达到高产。唐古特大黄是一种特殊的多年生植物,由其个体发育中有三个阶段:实生苗阶段,为生长的第1年,通常生3~5片叶;叶簇期,2~3年期,此阶段植株仅为叶簇,无地上茎;成年期为4年以上的植株,开始生地上茎。通常唐古特大黄1~3年不生花茎,植株仅为一基生叶簇,第4年生苔(花茎)后,唐古特大黄地下部分虚糠,引起产量下降。

因此,在保证产量和质量的前提下,唐古特大黄的最佳栽培年限是三年。由于唐古特大黄野生资源日渐枯竭,现使用唐古特大黄主要为人工栽培,本研究结果可以对唐古特大黄的规范化种植提供一定的参考。

REFERENCES

- [1] MIAO M S, LI Z G. Quality controlling technique of modern TCM (现代实用中药质量控制技术) [M]. Beijing: People's Medical

Publishing House, 2000, 12: 529-539.

- [2] HUA X D, WANG Z H, WANG J M, *et al.* Determination of rhein, emodin and chrysophanol in Huangdanyinchen granules by HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2002, 24(5): 340-341.
- [3] ZHANG D, JIANG X H. Determination of aloe-emodin, rhein, emodin and chrysophanol in radix by reversed high performance liquid chromatography[J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2003, 31(4): 459-462.
- [4] CAO H, LIU Y. Determination of rhein, emodin, chrysophanol, physcion and aloe-emodin in Jinyiniaoshi granules and radix rhei by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 1998, 18(1): 3-6.
- [5] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005年版.一部) [S]. 2005: 17-18.

收稿日期: 2007-07-24