

文章编号 :1000-4025(2004)11-2140-03

青海省道地药材唐古特大黄中^{*} 4种蒽醌衍生物的含量测定

曹纬国^{1,2}, 刘志勤¹, 绍 贽¹, 陶燕铎^{1*}

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810000 2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要 用高效液相色谱法·甲醇 0.1% 磷酸(85:15), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 254 nm, 柱温为室温, 按外标法定量, 测定青海省道地药材唐古特大黄中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素和大黄素甲醚的含量。结果表明, 青海省唐古特大黄中蒽醌衍生物的含量较高, 明显高于市售药材, 为大黄中的上品。

关键词 高效液相色谱·芦荟大黄素·大黄酸·大黄素·大黄酚

中图分类号 Q946.8 文献标识码 A

Determination of four anthraquinone derivatives in trueborn Rheum tanguticum of Qinghai Province

CAO Wei-guo^{1,2}, LIU Zhi-qin¹, SHAO Yun¹, TAO Yan-duo^{1*}

(1 The Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810000, China 2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract The contents of aloë-emodin, rhein, emodin and chrysophanol in trueborn *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf from Qinghai was determined. HPLC on kromasil C₁₈ column using methanol 0.1% phosphoric acid (85:15) as mobile phase was used, and the flow rate was 1.0 mL/min. The wavelength of UV detector was 254 nm, and the column temperature was room temperature and the quantification used external standard method. The contents of emodin, chrysophanol, rhein and aloë-emodin in *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf of Qinghai were more times than medicinal material for sale.

Key words HPLC aloë-emodin rhein emodin chrysophanol

唐古特大黄 (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.) 为蓼科植物, 是药典中大黄药材的主要来源, 是青海省的道地药材之一。其有效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, 具有泻热通肠, 凉血解毒, 逐瘀通经等功能^[1]。有关大黄中蒽醌类衍生物含量测定方法报道较多^[2~4], 方法比较成熟, 本实验采用高效液相色谱法比较了唐古特大黄和市售药材中大黄素、大

黄酚、大黄酸和芦荟大黄素的含量, 结果表明方法简便, 重复性好, 青海省唐古特大黄中蒽醌衍生物的含量较市售药材的高。

1 仪器与试药

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

* 收稿日期 2004-02-18 修改稿收到日期 2004-05-24

基金项目 中国科学院知识创新方向性项目

作者简介 曹纬国(1978-), 男(汉族), 在读硕士研究生。

* 通讯联系人 Correspondence to TAO Yan-duo Email: twd2001@sohu.com

剂过滤系统,METIER TOL EDO AG204万分之一电子分析天平.

1.2 试药

大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、芦荟大黄素对照品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 药材样品

药材样品的采集时间为2002年10月,唐古特大黄样品采自青海省大武,海拔3900m,采样量5kg,样品经中国科学院西北高原生物研究所潘锦堂研究员鉴定.

2 实验方法和结果

2.1 高效液相色谱条件

色谱柱:Phenomenex kromasic C₁₈柱(5μm,250mm×460mm);流动相:甲醇-0.1%磷酸(85:15);检测波长254nm;流速:1.0mL/min;柱温:室温.在此条件下各组分得到良好分离,HPLC液相色谱图见图1.

2.2 对照品溶液的制备

精密称取大黄素1.4mg,大黄酸1.8mg,大黄酚1.1mg,芦荟大黄素1.5mg,分别置50mL容量

表1 4种蒽醌衍生物对照品标准曲线

Table 1 Calibration curve of four anthraquinone derivatives

| 对照品种类 Kinds of reference substance | 线性范围 Linear range(μg) | 回归方程 Regressive equation | 回归系数 Regressive coefficient |
|---------------------------------------|--------------------------|--|--------------------------------|
| 芦荟大黄素 Aloe-emodin | 0.003~0.036 | $C = 8.152 \times 10^{-8}A - 4.255 \times 10^{-4}$ | $r = 0.9998$ |
| 大黄酸 Rhein | 0.0036~0.0432 | $C = 1.390 \times 10^{-7}A - 1.463 \times 10^{-4}$ | $r = 0.9998$ |
| 大黄素 Emodin | 0.0028~0.0336 | $C = 9.935 \times 10^{-8}A + 2.363 \times 10^{-4}$ | $r = 0.9997$ |
| 大黄酚 Chrysophanol | 0.0022~0.0264 | $C = 1.272 \times 10^{-7}A + 7.914 \times 10^{-5}$ | $r = 0.9996$ |

2.4 精密度试验

在上述色谱条件下,对同一对照品溶液重复进样5次,测得峰面积的RSD为芦荟大黄素1.42%,大黄酸1.64%,大黄素1.56%,大黄酚1.43%(n=5).

2.5 重现性试验

在上述色谱条件下,对同一批样品按样品溶液的制备方法平行制备5份,分别进样10μL,同时取混合对照品溶液进样10μL,按外标法测定其含量并计算RSD,芦荟大黄素2.81%,大黄酸2.63%,大黄素2.69%,大黄酚3.45%.

2.6 加样回收率试验

取已知含量的大黄药材细粉6份,精密称定,分

瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,得对照品储备溶液.

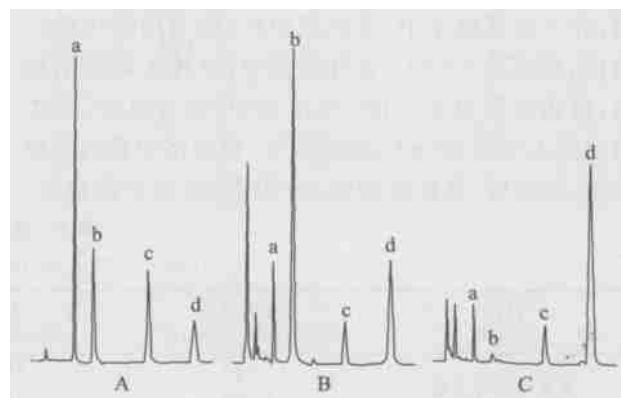


图1 样品高效液相色谱图

A. 对照品 B. 唐古特大黄 C. 市售药材

a. 芦荟大黄素 b. 大黄酸 c. 大黄素 d. 大黄酚

Fig. 1 HPLC patterns of samples

A. Reference substance B. *Rheum tanguticum* :

C. Material for sale

a. aloe-emodin b. rhein c. emodin d. chrysophanol

2.3 线性关系考察

精密量取大黄素、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素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对进样量C(μg)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.

别精密加入对照品溶液,按照行样品溶液制备方法制备并测定,计算平均回收率.结果芦荟大黄素的平均回收率X=99.2%,RSD=2.78%;大黄酸的平均回收率X=98.4%,RSD=2.65%;大黄素的平均回收率X=98.6%,RSD=2.69%;大黄酚的平均回收率X=96.5%,RSD=3.23%.

2.7 样品制备

将大黄根茎切片晾干后,随机取少量样品粉碎成细粉,各取3份样品,每份约0.2g,精密称取,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25mL,密塞,称定重量,加热回流30min,放冷再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,过滤,精密量取续滤液5mL,置50mL圆底烧瓶中,挥去甲醇,加2.5mol/L硫酸溶

液 10 mL, 超声处理 5 min, 再加氯仿 10 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 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, 酸液用氯仿提取两次, 每次约 10 mL, 合并氯仿液, 以无水硫酸钠脱水, 氯仿液移至 100 mL 锥形瓶中, 挥去氯仿, 残渣精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 置水浴中微热溶解残渣, 放冷后, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量,

摇匀, 滤过, 取续滤液即得.

2.8 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 μ L, 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、芦荟大黄素的含量, 结果见表 2.

表 2 样品测定结果

Table 2 The analytical results of samples

| 样品 Sample | 芦荟大黄素 Aloe-emodin(mg/g) | 大黄酸 Rhein(mg/g) | 大黄素 Emodin(mg/g) | 大黄酚 Chrysophanol(mg/g) |
|------------------------------|----------------------------|--------------------|---------------------|---------------------------|
| <i>Rheum tanguticum</i> | 1. 958 | 11. 897 | 3. 638 | 13. 007 |
| | 1. 987 | 11. 361 | 3. 432 | 12. 585 |
| | 1. 863 | 11. 244 | 3. 579 | 12. 760 |
| 市售药材 Material for sale | 0. 390 | 0. 315 | 1. 157 | 9. 331 |
| | 0. 381 | 0. 323 | 1. 216 | 9. 214 |
| | 0. 402 | 0. 330 | 1. 228 | 9. 571 |

3 结 论

(1) 从表 2 数据可以看出青海省唐古特大黄中的 4 种蒽醌衍生物都明显高出市售药材的数倍; 另外市售药材可能存放时间较长, 蒽醌衍生物受氧化

等因素影响, 含量降低.

(2) 采用 HPLC 法测定青海省唐古特大黄中蒽醌衍生物的含量, 方法简便快速, 结果准确可靠, 可作为道地药材唐古特大黄质量控制的依据.

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典(第一部)[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 262- 263.
- [2] HUA X D (华晓东), WANG ZH H (王智华), WANG J M (王菊美), XIE Q (谢琴). Determination of rhein, emodin and chrysophanol in Huanddanyinchen by HPLC[J]. Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2002, 24(5): 340- 341(in Chinese).
- [3] L I T P (李太平), WANG X W (王小文), LIU D Q (刘东权). Determination of emodin and rhein in Niuhuangjiedu Tablets by HPLC[J]. Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2003, 25(4): 293- 295(in Chinese).
- [4] CAO H (曹红), LIU Y (刘云). Determination of rhein, emodin, chrysophanol, physcion and aloe-emodin in Jinyiniao shi granules and radix rhein by HPLC[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis(药物分析杂志), 1998, 18(1): 3- 5(in Chinese).