

青海栽培何首乌不同部位中蒽醌类成分的测定

星玉秀^{1,2}, 许传梅^{1,2}, 胡凤祖^{*1}, 皮立¹, 董琦¹, 肖远灿^{1,2}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 用高效液相色谱法测定青海栽培何首乌中的主要有效成分大黄素、大黄素甲醚等蒽醌类成分。采用 kromasil C₁₈ 柱 (4.6 mm i. d. × 250 mm, 5 μm); V(甲醇) : V(水) : V(H₃PO₄) = 750 : 250 : 0.001 为流动相, 检测波长为 254 nm, 流速为 1 mL/min, 进样量 10 μL。用此方法测定青海栽培何首乌不同部位中的蒽醌类成分, 大黄素和大黄素甲醚达到基线分离, 线性范围分别为 0.094 ~ 1.50 μg (r = 0.9992), 0.094 ~ 1.50 μg (r = 0.9997), 回收率分别为大黄素 95%、大黄素甲醚 102%。实验发现青海栽培何首乌块根中大黄素和大黄素甲醚成分较藤、叶中高, 大黄素含量比大黄素甲醚含量高。

关键词: 栽培何首乌; 蒽醌; 大黄素; 大黄素甲醚; 反相高效液相色谱法

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-0720(2008)02-088-04

何首乌为蓼科植物何首乌 (*Polygonum multiflorum*) 的干燥根及根茎, 为常用中药^[1] 其性微温, 味苦、甘、涩。生首乌能解毒、消痈、润肠通便, 治疗瘰疬疮痍、风疹瘙痒、肠燥便秘。有抗衰老, 提高机体非特异性免疫功能; 降血脂及抗动脉粥样硬化作用; 心肌保护作用; 保肝作用; 神经保护作用, 抗菌作用等^[2]。

何首乌主要含有二苯乙烯苷类、蒽醌类、磷脂类、糖类、多种氨基酸、多种维生素及微量元素^[3]。其中大黄素 (emodin, EM)、大黄素甲醚 (physcion, PH) 是本方法检测出的主要物质。目前以蒽醌类作为指标的定性分析方法有吸光度法、纸层析法和薄层层析法^[1], 定量研究主要以高效液相色谱法为主。青海栽培何首乌蒽醌类化学成分的测定方法尚未见报道, 本文用反相高效液相色谱法对此进行了分析, 该方法提取效率高, 操作简便、快速, 准确, 适用于栽培何首乌的质量控制。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

美国 Waters 515 型高效液相色谱仪; 二元梯度泵, Waters 2996 紫外检测器, EMPOWER 色谱工作

站。KQ-100E 型超声波清洗器 (昆山超声仪器科技有限公司), MOLELEMENT 元素型超纯水机 (上海摩勒生物科技有限公司), RES2CS-2 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂)。

甲醇为色谱纯和优级纯, H₃PO₄、CHCl₃、HCl、无水乙醇, 乙酸乙酯均为分析纯。芦荟大黄素、大黄素、大黄素甲醚、大黄酚、大黄酸对照品均购自中国药品质量检验所。本实验中栽培何首乌各部位材料由青海西宁市廿里铺蓓蕾花木有限公司提供, 样品经烘干, 粉碎后, 过孔径 0.175 mm 筛, 冷藏保存。

1.2 样品与标准溶液的制备

1.2.1 标准溶液的配制 准确称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚标准品各 3.60、3.30、3.00、3.30、3.00 mg, 分别用甲醇溶解, 定容于 10 mL 的容量瓶, 其质量浓度分别为 0.36、0.33、0.30、0.33、0.30 mg/mL。

1.2.2 混合标准溶液的配制 吸取上述标准溶液各 1 mL, 用甲醇稀释至 100 mL, 其混合标准溶液的质量浓度分别为: 芦荟大黄素 3.6 μg/mL、大黄酸 3.3 μg/mL、大黄素 3.0 μg/mL、大黄酚 3.3 μg/mL、大

* 收稿日期: 2006-12-15; 修订日期: 2007-03-04

作者简介: 星玉秀 (1982 -), 女, 硕士研究生; E-mail: hufz@nwipb.ac.cn

黄素甲醚 3.0 μg/mL。

1.2.3 供试液的制备 将样品粉碎, 准确称取约 0.500 g, 置于 50 mL 锥形瓶中, 各加甲醇 50 mL, 超声波提取 30 min 后, 冷却, 过滤, 取 25 mL 滤液, 蒸干, 加体积分数 10% HCl 溶液 30 mL, 水浴加热水解 1 h, 立即放冷, 加 CHCl₃ 振摇提取 4 次, 每次 30 mL, 合并 CHCl₃ 液, 在 40 的旋转蒸发仪上浓缩至干, 残渣用适量 V(无水乙醇) V(乙酸乙酯) = 2 : 1 溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 甲醇定容, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液供 HPLC 分析用。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件

KROMASIL 菲罗门 C₁₈ 柱 (4.6 mm i. d. × 250 mm, 5 μm); 流动相: V(甲醇) V(水) V(H₃PO₄) = 750 : 250 : 0.001; 紫外检测波长: 254 nm; 流速: 1 mL/min; 进样量 10 μL, 柱温: 25 。

在该色谱条件下芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 5 种成分均被洗脱并达到基线分离(图 1)。

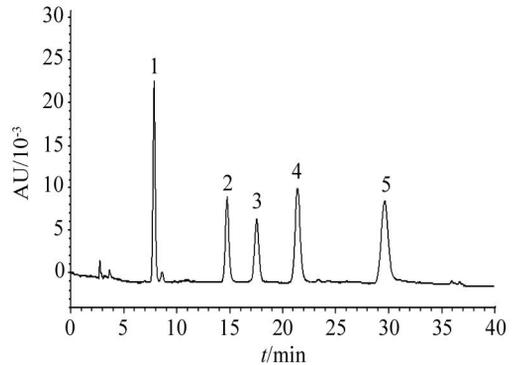


图 1 蒽醌类标准品色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of reference standards

1- 芦荟大黄素; 2- 大黄酸; 3- 大黄素; 4- 大黄酚; 5- 大黄素甲醚

2.2 方法性能考察

2.2.1 线性关系 用甲醇将上述混合标准溶液按 1/2、1/4、1/8、1/16、1/32 倍稀释, 按上述分析条件, 以蒽醌质量浓度对峰面积作图, 进行线性回归, 得标准曲线回归方程见表 1。

表 1 5 种蒽醌类成分的回归方程及线性范围

Tab. 1 Linear regression equations and linear ranges of five anthraquinones

成分	线性范围 / (μg/mL)	线性方程	R ²
芦荟大黄素	0.112 ~ 1.80	$Y_{\text{芦荟大黄素}} = 223264 + 1068$	0.9998
大黄酸	0.103 ~ 1.65	$Y_{\text{大黄酸}} = 89207 - 319.75$	0.9999
大黄素	0.094 ~ 1.50	$Y_{\text{大黄素}} = 186546 - 636.08$	0.9992
大黄酚	0.103 ~ 1.65	$Y_{\text{大黄酚}} = 2E + 06 - 15019$	0.9998
大黄素甲醚	0.094 ~ 1.50	$Y_{\text{大黄素甲醚}} = 71259 + 190.96$	0.9997

2.2.2 精密度 准确吸取混合标准溶液 10 μL 重复进样 5 次, 测得各标准峰面积, 计算 RSD 值为: 芦荟大黄素 0.96%、大黄酸 0.87%、大黄素 0.84%、大黄酚 1.01%、大黄素甲醚 1.22%。试验表明, 在该条件下精密度良好。

2.2.3 重现性 精密吸取同一批样品溶液, 进样 5 次, 测定样品中大黄素和大黄素甲醚的量。测得各峰面积, 计算 RSD 值为: 大黄素 0.68%、大黄素甲醚 0.65%。实验表明, 大黄素和大黄素甲醚的测定结果重现性良好。

2.2.4 稳定性 取同一批供试品溶液, 按含量测定法分别在 0, 4, 8, 12, 24 h 进样, 测定样品中蒽醌

类的含量。测定各目的峰面积, 计算 RSD 为: 大黄素 0.82%、大黄素甲醚 0.80%。实验表明, 供试品溶液 24 h 内稳定性良好。

2.2.5 回收率 准确称取 0.500 g 的生药样品 9 份, 取上述混合标准溶液依次加 50、100、150 μL 于每 3 份样品中, 按样品的测定方法提取及测定。以 9 次测定的平均值计算回收率分别为: 芦荟大黄素 105%、大黄酸 91%、大黄素 95%、大黄酚 94%、大黄素甲醚 102%。

2.3 样品测定

测定何首乌中主要的蒽醌类成分是大黄素和大黄素甲醚(见图 2)。在相关文献^[1]中记载何首乌含

有大黄素、大黄素甲醚、大黄酚和大黄酸等化合物。作者采用青海省西宁市廿里铺栽培何首乌(共 9 份)作为分析样品,检测出大黄素和大黄素甲醚两种成分。

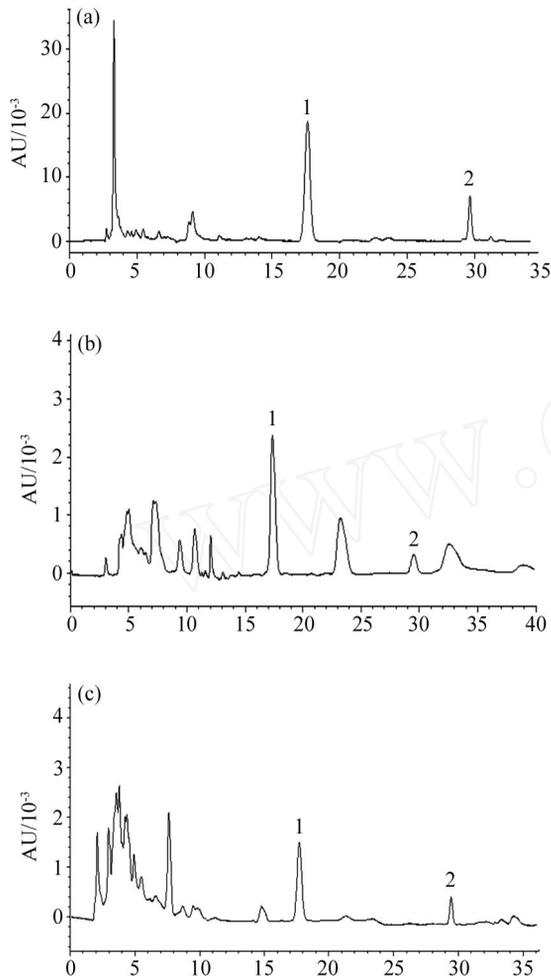


图 2 样品色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of samples

(a) 何首乌(根); (b) 何首乌(藤); (c) 何首乌(叶)
1 - 大黄素; 2 - 大黄素甲醚

表 2 样品检测结果 (n=9)

Tab. 2 The determination results of samples (n=9)

样品类型	采集地	平均值 w/(μg/g)	
		大黄素	大黄素甲醚
根	青海廿里铺	2084.0	445.0
茎	青海廿里铺	62.57	36.52
叶	青海廿里铺	77.18	42.16

2.4 讨论

根据文献^[4]报道,不同产地何首乌中蒽醌类物质的含量差异很大,本文测定青海栽培何首乌不同部位中大黄素和大黄素甲醚量,结果差异很大。块根中大黄素和大黄素甲醚成分较藤、叶中高,在同一部位中,大黄素量比大黄素甲醚量高。其中存在的生理变化机制和其它活性成分如 2,3,5,4-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷等二苯乙烯苷类成分及氨基酸,金属元素等的含量变化情况尚未进行研究,但对于药用植物而言,有效活性成分与生态环境及其周围生物因子之间必定有内在的关联,值得进一步探讨。

本实验采用 RP-HPLC 法测定了青海栽培何首乌不同部位中的蒽醌类成分。并且采用对照品中各组分的相对保留时间及紫外光谱相结合的比较方法确定了样品色谱图中各组分的位置。该方法提取效率高,操作简便、快速,准确,适用于青海栽培何首乌中蒽醌类成分的测定。

参考文献

- [1] 大岛俊幸,平山总良等. 药物分析杂志, 1996, 16(4): 221
- [2] 罗瑞芝,贾伟等. 中草药, 2005, 36(7): 1097
- [3] 赵声兰,赵荣华等. 中草药, 2006, 37(10): 1496
- [4] 左红香,金勇,尹寿玉. 华西药学杂志, 2006, 21(1): 76

Analysis of anthraquinones in polygonum multiflorum by RP-HPLC

XING Yr-xiu^{1,2}, XU Chuang-mei^{1,2}, HU Feng-zu^{*1}, PI Li¹, DONG Qi¹ and XIAO Yuan-can^{1,2} (1. Northwest institute of plateau biology of Chinese Academy of Sciences, Xining 810008; 2. Graduate school of Chinese Academy of sciences, Beijing 100049), Fenxi Shiyanshi, 2008, 27(2): 88~91

Abstract: High performance liquid chromatographic method was developed for the determination of emodin and physcion in polygonum multiflorum. A phenomenex kromasil C₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used, methanol-water-phosphate acid (750:250:0.001) was used as the mobile phase. UV detection wavelength was 254 nm, and the flow rate

was 1 mL/min. This method was applied to determining anthraquinones in different parts of polygonum multiflorum, two detected compounds were isolated on base line. The linear ranges of emodin and physcion were 0.094 ~ 1.50 μg ($r = 0.9992$), 0.094 ~ 1.50 μg ($r = 0.9997$). The average recoveries were 95 %、102 %. The results showed that the contents of emodin and physcion in the root were higher than the others, and the content of emodin was higher than that of physcion in the root of polygonum multiflorum cultivated in Qinghai.

Key words: Cultivated polygonum multiflorum; Anthraquinones; Emodin; Physcion; Rp-HPLC

www.cnki.net