

人工栽培唐古特大黄中蒽醌含量水平的分析

李玉林^{1,2}, 索有瑞¹, 王洪伦¹, 李天才¹, 周国英^{1,2}, 陈桂琛^{1*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 采用醋酸镁比色法测定青海省不同海拔种植基地中栽培唐古特大黄的总蒽醌含量, 并和野生大黄药材进行了比较。结果表明, 在海拔较高地区栽培的二、三年生唐古特大黄中, 其总蒽醌含量均明显高于较低海拔地区栽培的同龄唐古特大黄, 3年生人工栽培大黄总蒽醌含量只有野生大黄药材的一半左右。

关键词: 栽培唐古特大黄; 分光光度法; 蒽醌

中图分类号: R284.1; Q949.95

文献标识码: A

Analysis of Total Anthraquinones Content in Cultivated *Rheum tanguticum*

LI Yu-lin^{1,2}, SUO You-rui¹, WANG Hong-lun¹, LI Tian-cai¹, ZHOU Guo-ying^{1,2}, CHEN Gui-chen^{1*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: The total anthraquinones content of cultivated *Rheum* in different altitude region of Qinghai Province was analyzed by visible spectrophotometry. The results showed that the total anthraquinones content of two and three-year cultivated *Rheum tanguticum* in high altitude region was higher than that in low altitude region. The total anthraquinones content of three-year cultivated *Rheum tanguticum* was about half of wild *Rheum tanguticum*.

Key words: cultivated *Rheum tanguticum*; spectrophotometry; anthraquinones

大黄是我国传统的中药材,《中华人民共和国药典》收藏了3种即掌叶大黄(*Rheum palmatum* Linn.)、唐古特大黄(*Rheum tanguticum* ex Regel)和药用大黄(*Rheum officinale* Baill.),称为正品大黄。大黄含有蒽醌类、芪类、苯丁酮甙类、鞣质类等多种生理活性物质,其中蒽醌衍生物是主要的成分,具有泻下、利胆、保肝、降血脂、抗菌、止血等功效^[1]。青海地道药材“西宁大黄”以其质地优良、色泽好、有效成分含量高、加工手段独特和高海拔、纯天然、无污染而驰名中外,是我省重要出口换汇的重要药材品种之一。由于大黄喜凉爽的特性,在青海适生范围极广,是青海省最具优良生长条件、产量最大、质地最优、最具开发前景的药材品种。随着大黄药用价值不断提高及应用范围不断扩大,其需求量逐年增加,它已成为中成药、新特药、保健品、绿色食品加工的重要原料^[2]。但经过多年无计划、掠夺性的采挖,

青海野生大黄资源锐减、濒临枯竭。随着西部大开发战略的实施和青海地方产业结构的调整,青海省大黄种植规模不断扩大,人工种植大黄已经成为供应市场大黄的主要部分。由于蒽醌类化合物为大黄的主要活性部分,因此定期采集栽培大黄样品,测定其蒽醌含量,并和野生大黄比较,对于人工栽培大黄栽培地域的选择、采收时间的掌握、以及品质的评价等具有重要的意义。测定大黄中蒽醌含量的主要方法有高效液相色谱法、薄层扫描法、比色法等^[2-4]。运用高效液相色谱法测定大黄中的蒽醌类化合物,虽然结果更准确、可靠,但只能测定样品中大黄酸、大黄素、大黄酚等单个化合物的含量,而用比色法测定则能较全面评价大黄样品中总蒽醌的含量水平,比色法的测定又可分为醋酸镁法和碱溶液法^[4,5]。两种方法的比较研究表明,醋酸镁法较碱溶液法更为稳定(不易受光线的影响)、准确,且操作简便,可作为测定大黄样品中蒽醌含量的常规分析方法。本研究采用醋酸镁比色法^[4]测定了青海省湟源大黑沟、湟中群加及西宁二十里铺三个大黄种植基地的唐古特大黄样品中的总蒽醌含量,并和野生大黄药材进行了评价比较。

收稿日期: 2005-07-08 接受日期: 2005-08-17

基金项目: 国家科技计划课题(2001BA901A47); 中科院、中组部“西部之光”; 青海省重大科技招标项目(2001-107-02)

*通讯作者 Tel: 86-971-6143523; E-mail: gcchen@nwipb.ac.cn

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器与试剂

CARY300 紫外-可见分光光度仪 (Varian), AG135 万分之一电子天平 (Mettler Toledo), 1,8-二羟基蒽醌标准品 (批号 0829 9702) 购自中国生物制品检定所, 甲醇、醋酸镁等试剂均为分析纯。

1.2 材料

实验用唐古特大黄 (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf) 样品分别采自青海省西宁市二十里铺、湟中县群加、湟源县大黑沟大黄种植基地 (表 1)。野生大黄药材购自青海省果洛藏族自治州。取采集的大黄样品根部, 洗净, 自然干燥, 粉碎, 过 60 目筛, 备用。

表 1 栽培唐古特大黄和野生唐古特大黄药材样品概况

样品编号 No.	采样时间 Collecting time	生长期 Grown age	栽培地点 Cultivated region	海拔 (m) Altitude
DH1	2003.09.27	二年	湟源大黑沟	2900
DH2	2003.09.27	三年	湟源大黑沟	2900
DH3	2003.09.30	二年	湟中群加	2900
DH4	2003.09.30	三年	湟中群加	2900
DH5	2003.09.26	二年	西宁二十里铺	2300
DH6	2004.09.20	三年	西宁二十里铺	2300
DH7	(野生药材)	不详	青海果洛	3600~3900

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备

准确称取 105 烘至恒重的 1,8-二羟基蒽醌 5.0 mg, 用甲醇溶解后转移至 50 mL 的容量瓶中, 定容, 摇匀, 即得浓度为 0.10 mg/mL 的对照品溶液。

2.2 样品溶液制备

精确称取 0.2 g 于具塞三角瓶中, 加入 40 mL 甲醇, 浸泡 24 h 后, 再超声 30 min, 过滤, 滤液转移至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即为供试品溶液。

2.3 测定波长的选择

精确吸取 1.0 mL 标准溶液, 置于 50 mL 容量瓶中, 水浴挥去甲醇, 加 1% 醋酸镁甲醇溶液定容, 以溶剂为空白调零, 在 400~600 nm 波长范围内扫描, 结果在 510 nm 处有最大吸收峰, 故选定 510 nm 为测定波长。

2.4 线性关系考察

精确吸取对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL

于 25 mL 容量瓶中, 水浴挥干甲醇后, 加 1% 醋酸镁甲醇溶液显色并定容, 避光放置 30 min 后, 于 510 nm 波长处测定吸光度, 结果见表 2。

表 2 1,8-二羟基蒽醌在 510 nm 波长处的吸光度

Table 2 The absorbency of 1,8-dihydroxyanthraquinones in 510 nm

标准液浓度 Concentration of standard solution (mg/mL)	0.1000	0.2000	0.3000	0.4000	0.5000
吸光度 A Absorbency	0.2220	0.3995	0.5852	0.7528	0.9334

上述数据经回归处理, 得回归方程: $Y = 1.7760X + 0.0458$ ($R = 0.9999$), 由此可见, 1,8-二羟基蒽醌在 100~500 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.5 样品测定

取供试品溶液 2.0 mL 各 3 份于 20 mL 左右的具塞试管中, 水浴挥去甲醇, 加 2 mL 蒸馏水超声混匀后, 加 40% FeCl_3 溶液 1.0 mL, 置沸水浴 30 min, 再加 HCl 1.0 mL, 沸水浴 30 min, 转移至分液漏斗中, 另加 4 mL 蒸馏水洗涤试管, 洗涤液合并至分液漏斗中。加 25 mL 乙醚一次萃取, 另用 30 mL 蒸馏水分三次洗乙醚萃取液, 收集乙醚萃取液, 水浴挥去乙醚, 残渣加入 1% 醋酸镁甲醇溶液, 并定容于 25 mL 容量瓶中, 摇匀, 避光放置 30 min 后, 于 510 nm 波长处测定吸光度。测定结果代入回归方程并计算平均百分含量, 结果见表 3。

表 3 栽培唐古特大黄和野生唐古特药材大黄总蒽醌含量比较 (%)

Table 3 Comparison of content of total anthraquinones between cultivated and wild *Rheum tanguticum*

样品编号 No.	总蒽醌含量 (%) Content of total anthraquinones
DH1	1.96
DH2	2.11
DH3	1.77
DH4	2.00
DH5	1.53
DH6	1.68
DH7	4.52

2.6 回收率试验

精密量取已知含量的大黄药材供试品溶液 1.0 mL 各 5 份, 分别加入 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液 1.0 mL, 按 2.5 的方法测定, 平均回收率 99.45%, $\text{RSD} = 1.56\%$ 。

2.7 稳定性试验

取对照品溶液 1.0 mL 于 25 mL 容量瓶中,加入 1% 醋酸镁甲醇溶液定容、摇匀,在室温避光情况下放置 3 h,每隔 1 h 测定一次吸收度,其值基本不变。

2.8 精密度试验

精确吸取对照品溶液 2.0 mL 各 5 份于 25 mL 容量瓶中,加 1% 醋酸镁甲醇溶液,定容,摇匀,避光放置 30 min 后,于 510 nm 波长处测定吸光度。平均值为 0.3926, RSD 1.06%。

2.9 重现性试验

取野生大黄药材制备液 1.0 mL 各 5 份,照 2.5 项下的方法测定总蒽醌含量,平均值为 4.48%, RSD 2.36%。

3 结果分析与讨论

3.1 结果分析

测定结果表明:在海拔 2900 m 左右的青海省湟源县和湟中县山区种植的二年生栽培唐古特大黄根部总蒽醌含量分别为 1.96%、1.77%;三年生栽培唐古特大黄根部总蒽醌含量分别为 2.11%、2.00%。而在海拔 2300 米左右的西宁郊区种植的二年生和三年生栽培唐古特大黄根部总蒽醌含量明显较低,其含量分别为 1.53%、1.68%。野生唐古特大黄药材总蒽醌含量为 4.52%。

3.2 讨论

3.2.1 海拔高度是影响大黄品质的一个重要因子,随着海拔的升高,唐古特大黄中蒽醌类活性成分的含量均呈现增加趋势,高海拔地区的蒽醌类活性成分总量为低海拔地区的几倍以上^[6]。本实验研究表明,在不同海拔地区栽培的唐古特大黄,其主要有效成分蒽醌含量有较明显的差异。在海拔 2900 m 左右气候凉爽的山区栽培的大黄较在 2300 m 左右气候温热的谷地栽培的大黄,无论是两年生,还是三年生的,其蒽醌含量均高于 0.2%~0.4%。海拔 3600 m 以上的野生唐古特大黄药材中蒽醌含量比

二、三年生的栽培大黄明显高 1~2 倍,说明唐古特大黄适宜在海拔较高、气候凉爽的地区种植,这为科学选择大黄种植地域提供一定的科学依据。生态环境是化学物质形成和变异的重要因素,药用植物中有效成分的形成和积累与其生态环境中的光照、温度、土壤等因素息息相关^[7]。在高海拔地区,光照时间长,光照强度大,唐古特大黄的光合作用更加明显,因而积累了含量更高的活性成分。

3.2.2 蒽醌类化合物为唐古特大黄的主要活性部分,测定大黄中蒽醌含量的主要方法有高效液相色谱法、薄层扫描法、比色法等,但只有比色法能较全面评价大黄样品中总蒽醌的含量水平,并且方法简单,结果可靠。

参考文献

- 1 Lou ZQ(楼之岑). Retrospect and prospect of *Rhubarb* research. *J Beijing Med Univ* (北京医科大学学报), 1993, 25 (5Suppl.): 1-3.
- 2 Rai PP, Turner TD. High pressure liquid chromatography of naturally anthraquinones. *J Chromatogr*, 1975, 110: 401-402.
- 3 He LY(何丽一), Luo SR(罗淑荣). Study on the analysis of anthraquinone derivatives of Chinese medicinal herbs. *Acta Phama Sin* (药理学学报), 1980, 15: 555-562.
- 4 Zhu Y(朱晔), Lin ZQ(林竹青). The study on assay anthraquinone content of *Rhdix et Rihizoma Rhei*. *Heilongjiang Med J* (黑龙江医药), 2003, 16: 171-172.
- 5 Ma CQ(马长清), Cheng L(程岚), Peng Y(彭彦). Determination of *Rhubarb anthraquinones* in Qingchangyin by colorimetric analysis. *Herald of Med* (医药导报), 2002, 21: 173-174.
- 6 Cao WG(曹纬国), Liu ZQ(刘志勤), Tao YD(陶燕铎). The comparison of anthraquinone content in *Rheum tanguticum* growing indifferent regions. *Chin J Ana Lab* (分析实验室), 2004, 23 (Suppl.): 53-55.
- 7 Tao SH(陶曙红), Wu FE(吴凤钊). Effect of ecological environment on active constituents of medicinal plants. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2003, 15: 174-177.