

文章编号: 1000-4025(2006)11-2378-05

# 栽培唐古特大黄蒽醌含量的季节动态变化

车国冬<sup>1,2</sup>, 李玉林<sup>1,2</sup>, 王凌云<sup>1,2</sup>, 周国英<sup>1,2</sup>, 索有瑞<sup>1</sup>, 陈桂琛<sup>1\*</sup>

(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:** 采用高效液相色谱法, 测定 3、4 年生生长季节内不同月份的青海栽培唐古特大黄中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚等 5 种蒽醌类化合物的含量。结果表明, 3 年、4 年生大黄总蒽醌含量在 5~6 月份生长初期增加, 并于 6 月初达到最大值, 6~9 月份生长旺盛期间明显降低, 10 月份又略有回升; 3 年和 4 年生大黄总蒽醌含量分别在 0.8%~2.5% 和 1.3%~2.1% 范围内波动。

**关键词:** 栽培唐古特大黄; 高效液相色谱; 蒽醌; 季节动态变化

**中图分类号:** Q949.744; Q946 **文献标识码:** A

## Seasonal Change of Anthraquinone Content in Cultivated *Rheum tanguticum*

CHE Guo-dong<sup>1,2</sup>, LI Yu-lin<sup>1,2</sup>, WANG Ling-yun<sup>1,2</sup>, ZHOU Guo-ying<sup>1,2</sup>, SUO You-rui<sup>1</sup>, CHEN Gui-chen<sup>1\*</sup>

(1 Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** The content of aloë-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion in 3 and 4 year old cultivated *Rheum tanguticum*, which grew in Qinghai in different months of its growth season, were determined by high performance liquid chromatography. It was shown that in 3 and 4 year old cultivated *Rheum tanguticum*, the anthraquinone content increases between May and June, and the early growth period, remarkably declined from June to September, the vigorous growth period, and slightly rebounded, and varied within 0.8%~2.5% and 1.3%~2.1%, respectively.

**Key words:** cultivated *Rheum tanguticum*; high performance liquid chromatography; anthraquinones; seasonal change

唐古特大黄 (*Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.) 为蓼科 (Polygonaceae) 大黄属 (*Rheum* Linn.) 多年生草本植物, 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<sup>[1]</sup>。

目前对唐古特大黄中蒽醌类成分的测定多集中于野生药材, 有关不同生长年限栽培唐古特大黄中蒽醌类成分的季节动态变化研究尚未见报道。目前

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<sup>[1-5]</sup>。

本实验采用《中华人民共和国药典》(2005 年第一部)<sup>[6]</sup> 所载 HPLC 法测定和比较了 3 年和 4 年生生长季节里不同月份的栽培唐古特大黄中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚等 5 种蒽醌类化合物的含量及其季节动态变化。由于唐古特大黄的药用需求量很大, 野生资源日渐枯竭, 因此研究不同生长年限及生长阶段大黄根部样品的蒽醌类活

收稿日期: 2006-05-30; 修改稿收到日期: 2006-10-13

基金项目: 国家中西部专项 (2001BA901A47); 青海省重大科技项目 (2001-N-107-02)

作者简介: 车国冬 (1982 - ), 女 (汉族), 在读硕士研究生, 主要从事天然药物化学研究。

\* 通讯联系人。Correspondence to: CHEN Gui-chen. E-mail: gcchen@nwipb.ac.cn

性成分,对于人工栽培大黄栽培地域的选择、采收时间的掌握以及保证栽培大黄达到药用质量标准等具有重要的意义。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters 515 高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列检测器, Mettler Toledo AG135 万分之一电子天平。

### 1.2 试剂

芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱醇,水为蒸馏水,其它试剂均为分析纯。

### 1.3 药材样品

实验样品采自青海省西宁市湟中县群加乡大黄种植基地(表 1),样品经中国科学院西北高原生物研究所陈桂琛研究员鉴定。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 栽培唐古特大黄样品

Table 1 The samples of cultivated *Rheum tanguticum*

样品编号 No. of samples	采样时间 Sampling time	生长期 Growing period (Year)	样品编号 No. of samples	采样时间 Sampling time	生长期 Growing period (Year)
QJ040430C	2004.04.30	3	QJ040430D	2004.04.30	4
QJ040601C	2004.06.01	3	QJ040601D	2004.06.01	4
QJ040630C	2004.06.30	3	QJ040630D	2004.06.30	4
QJ040731C	2004.07.31	3	QJ040731D	2004.07.31	4
QJ040831C	2004.08.31	3	QJ040831D	2004.08.31	4
QJ041008C	2004.10.08	3	QJ041008D	2004.10.08	4

## 2 实验方法

### 2.1 高效液相色谱条件

色谱柱: Phenomenex kromasic C18 柱; 流动相: 甲醇 0.1% 磷酸 (85:15); 检测波长: 254 nm; 流速: 1.0 mL/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

精密称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚及大黄素甲醚对照品适量,用甲醇溶解分别制成每 1 mL 含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚各 80  $\mu$ g, 大黄素甲醚 40  $\mu$ g 的溶液; 分别精密量取上述对照品溶液 2 mL, 混匀, 即得对照品溶液。

### 2.3 线性关系分析

精密量取大黄素、大黄酸、大黄酚及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 ( $\mu$ g) 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 2。

### 2.4 供试样品的制备

取本品粉末约 0.30 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 1 h, 放冷再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 过滤, 精密量取滤液 5 mL, 置烧瓶中, 挥去甲醇, 加入 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理 2 min, 再加

三氯甲烷 10 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 移至分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分

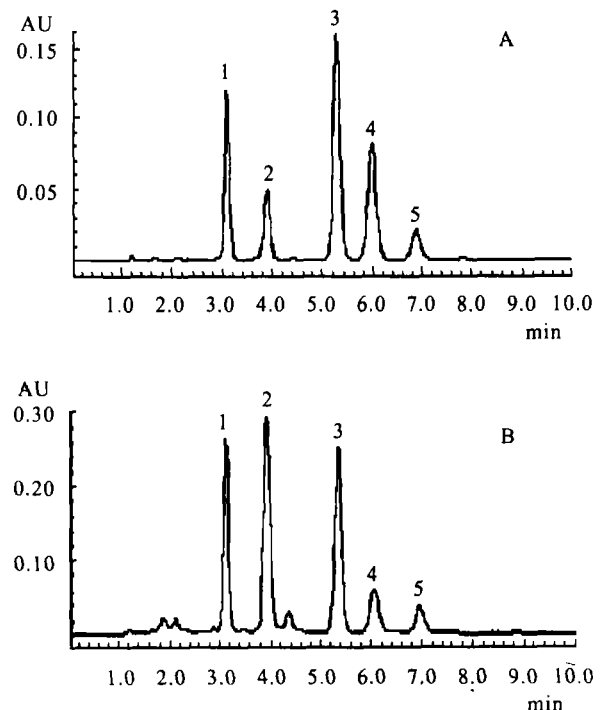


图 1 对照品及栽培样品高效液相色谱图

A. 对照品; B. 栽培唐古特大黄; 1. 芦荟大黄素; 2. 大黄酸; 3. 大黄素; 4. 大黄酚; 5. 大黄素甲醚

Fig. 1 HPLC patterns of the samples

A. Reference substances; B. Cultivated *Rheum tanguticum*;

1. aloë-emodin; 2. rhein; 3. emodin;

4. chrysophanol; 5. physcion

表2 5种蒽醌衍生物对照品标准曲线

Table 2 Standard curve of 5 anthraquinone derivative controls

对照品 Reference substances	回归方程 Regressive equation	线性系数 Regressive coefficient	线性范围 Linear range ( $\mu\text{g}$ )
芦荟大黄素 aloe-emodin	$y = 49\ 654\ 500x + 12\ 970$	0.999 6	0.005 ~ 0.16
大黄酸 rhein	$y = 41\ 723\ 300x + 173\ 577$	0.999 6	0.005 ~ 0.16
大黄素 emodin	$y = 49\ 327\ 800x + 266\ 023$	0.999 2	0.005 ~ 0.16
大黄酚 chrysophanol	$y = 34\ 584\ 600x + 136418$	0.999 0	0.005 ~ 0.16
大黄素甲醚 physcion	$y = 24\ 179\ 800x + 45923$	0.998 6	0.002 5 ~ 0.08

取三氯甲烷层,酸液用三氯甲烷提取3次,每次约10 mL,合并三氯甲烷萃取液,减压回收溶剂至干,残渣加甲醇使溶解,转移至10 mL容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀即得供试样品。

### 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  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件进行测定,以外标法计算样品中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量。

### 2.6 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1.38%,大黄酸1.22%,大黄酚1.42%,大黄素1.65%,大黄素甲醚1.88%( $n=5$ )。

### 2.7 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10  $\mu\text{L}$ ,同时取

混合对照品溶液进样10  $\mu\text{L}$ 进行HPLC分析,按外标法测定含量的结果计算RSD,芦荟大黄素2.46%,大黄酸2.24%,大黄酚2.65%,大黄素3.09%,大黄素甲醚3.45%。

### 2.8 加样回收率试验

取已知含量大黄样品5份,精密称定,分别精密加入一定量对照品溶液,按照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98.2%(RSD为2.58%);大黄酸的平均回收率99.0%(RSD为2.46%);大黄素的平均回收率98.6%(RSD为2.72%);大黄酚的平均回收率97.5%(RSD为3.08%);大黄素甲醚的平均回收率96.5%(RSD为3.37%)。

## 3 结果与分析

### 3.1 大黄样品中蒽醌类化合物含量

本实验样品中蒽醌类化合物的含量样见表3。

表3 样品中蒽醌类化合物含量测定结果

Table 3 Anthraquinone derivatives contents in the samples

生长期(年) Growing period(year)	采样时间 Collected time	蒽醌类化合物含量 Anthraquinone derivatives contents (%)					总含量 Total contents (%)
		芦荟大黄素 aloe-emodin	大黄酸 rhein	大黄素 emodin	大黄酚 chrysophanol	大黄素甲醚 physcion	
3	040430	0.34	0.89	0.52	0.11	0.12	1.98
	040601	0.54	0.94	0.79	0.12	0.14	2.53
	040630	0.33	0.68	0.78	0.15	0.16	2.10
	040731	0.23	0.58	0.30	0.06	0.08	1.25
	040831	0.24	0.39	0.14	0.01	0.06	0.84
	041008	0.16	0.55	0.23	-	0.02	0.96
4	040430	0.35	0.72	0.36	0.11	0.08	1.62
	040601	0.41	0.94	0.49	0.13	0.12	2.09
	040630	0.40	0.75	0.53	0.13	0.16	1.97
	040731	0.35	0.74	0.37	0.07	0.07	1.60
	040831	0.24	0.70	0.30	0.03	0.06	1.33
	041008	0.23	0.76	0.31	0.03	0.05	1.38

注:- .未检测到。

Note:- .Not detectable.

### 3.2 5种蒽醌类化合物的季节动态变化

#### 3.2.1 3年生栽培唐古特大黄蒽醌类化合物季节动态变化规律

图2表明,5种蒽醌类成分的含量

整体呈现波浪形的变化趋势,5~6月份呈现上升趋势,7~9月份整体则呈现下降的趋势(芦荟大黄素含量9月份时略有增长),10月份又有所回升(大黄

酚除外),其中大黄素含量的变化最为显著。

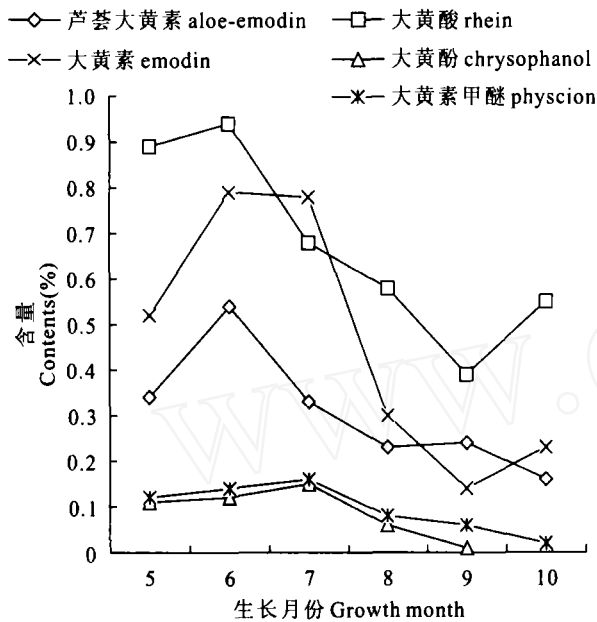


图2 3年生栽培唐古特大黄蒽醌类化合物含量的季节动态变化

Fig. 2 The variations of 5 anthraquinones contents in three-year-old cultivated *Rheum tanguticum*

3.2.2 4年生栽培唐古特大黄蒽醌类化合物含量季节动态变化规律 图3表明,4年生栽培唐古特大黄中蒽醌类成分含量的变化趋势与3年生的类似,但各成分含量在生长季内的变化幅度明显较小。

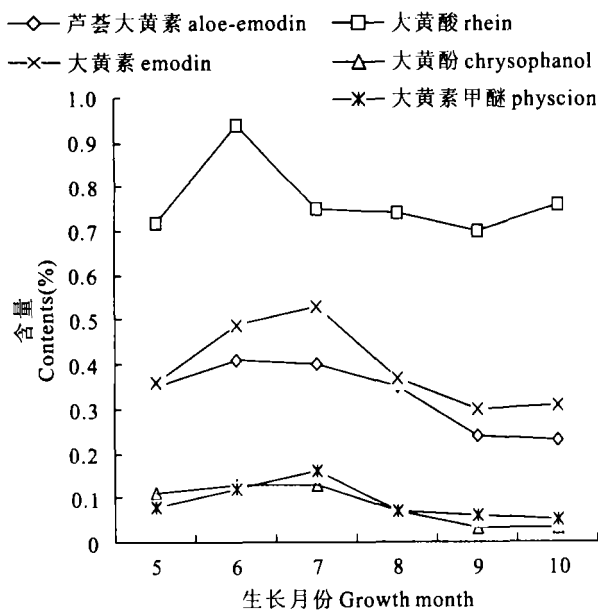


图3 4年生栽培唐古特大黄蒽醌类化合物含量的季节动态变化

Fig. 3 The variations of 5 anthraquinones contents in four-year-old cultivated *Rheum tanguticum*

### 3.3 总蒽醌含量的季节动态变化

图4表明,3、4年生栽培唐古特大黄总蒽醌含量在4~10月份间基本在1.5%上下波动,尤以3年生大黄波动幅度较大(在0.8%~2.5%之间)。5~7月份5种蒽醌总量3年生高于4年生;而在7~10月份,3年生的总量明显低于4年生的。

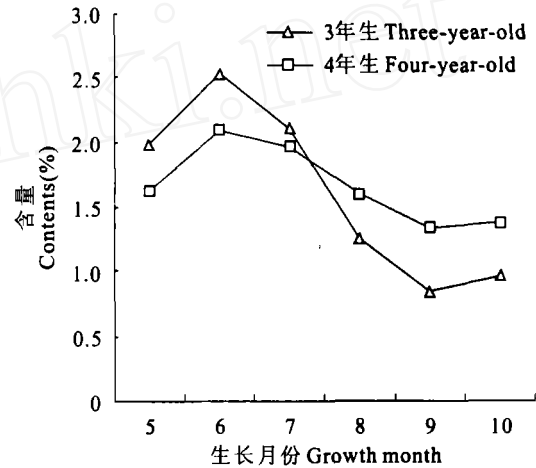


图4 栽培唐古特大黄总蒽醌含量季节动态变化

Fig. 4 The variations of total anthraquinones contents in cultivated *Rheum tanguticum*

## 4 讨论

唐古特大黄总蒽醌化学成分有明显的季节动态变化特点,3年和4年生唐古特大黄中总蒽醌含量在5~10月期间的变化趋势基本一致。在植物返青及生长初期的5~6月间先上升,6月初含量达到最高;在生长旺盛期(花果期)7~9月份呈明显下降趋势,9月份达到最低水平;10月份又略有回升。3年生唐古特大黄总蒽醌含量变化较4年生的更大,其总蒽醌含量在0.8%~2.5%之间波动;而四年生大黄的总蒽醌含量总体水平较高,波动幅度较小。

唐古特大黄中5种蒽醌含量的动态变化趋势基本和总蒽醌的一致。芦荟大黄素和大黄酸的含量6月份最高,而大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量则在7月份达到最高值,它们均呈现较明显的先上升、后逐渐下降趋势。

俞森等<sup>[7]</sup>曾报道栽培掌叶大黄生长时间越久,其成分含量越高,3年生大黄质量就可以达到国家药典要求。按照《中华人民共和国药典》规定:药用大黄中5种蒽醌的总量不得少于1.5%<sup>[6]</sup>。本实验结果表明青海3年、4年生栽培唐古特大黄中总蒽醌含量在4~10月份基本在1.5%上下波动,尤以3

年生大黄波动幅度较大(在 0.8%~2.5%之间);5~7月份5种蒽醌总量高于1.5%,而在7~10月份,则明显低于1.5%。因此采收时间的控制对于3年、4年生大黄能否达到国家药典规定的质量要求尤为重要,这与传统野生大黄的采收一般在秋末季节进行明显不同。

唐古特大黄属多年生高大草本植物,主要分布于青藏高原的东北部地区。在栽培地植物的物候期

是每年的5月上旬返青,7~8月份为花果期,9月底植物的地上部分已全部枯死,植物的生长时间较为短暂,一般不超过5个月。但从唐古特大黄的春秋两季的化学成分含量来看,二者有较大的差异,这表明在唐古特大黄植物的地上部分枯死之后至次年土壤化冻植物返青之前,大黄的次生代谢产物蒽醌类化学物质的转化和积累仍十分活跃,其机制仍有待进一步的探讨。

### 参考文献:

- [1] CAO W G(曹伟国), LIU ZH Q(刘志勤), SHAO Y(邵 贇), *et al.* Determination of four anthraquinone derivatives in trueborn *Rheum tanguticum* of Qinghai Province[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2004, **24**(11): 2140 - 2142 (in Chinese).
- [2] XIONG H Y(熊辉岩), ZHANG X F(张晓峰). HPLC determination of anthraquinones from various parts of *R. tanguticum*, *R. undulatum* and *R. spiciforme*[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2003, **23**(2): 328 - 331 (in Chinese).
- [3] HEL Y(何丽一), LUO SH R(罗淑荣). Study on the analysis of anthraquinone derivatives of Chinese Medicinal Herbs[J]. *Acta Pharm Sin.* (药学报), 1980, **15**(9): 555 - 562 (in Chinese).
- [4] ZHU Y(朱 晔), LIN ZH Q(林竹青). The study on assay anthraquinone content of *Radox et Rihizoma Rhei*[J]. *Heilongjiang Medical Journal* (黑龙江医药), 2003, **16**(3): 171 - 172 (in Chinese).
- [5] YAO CH Y(么春艳), LIU W ZH(刘文哲). Seasonal change of anthraquinone in vegetative organs of *Polygonum cuspidatum*[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2005, **25**(1): 179 - 182 (in Chinese).
- [6] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部)[M]. 北京:化学工业出版社, 2005: 17 - 18.
- [7] YU S(俞 森), ZHANG H(张 浩), LIU X F(刘显福), *et al.* Comparison of contents of emodin and chrysophanol in *Rheum palmatum* L. in different growing periods and by distinctive cultivated method[J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences* (华西药科学杂志), 2005, **20**(3): 221 - 223 (in Chinese).