

· 资源与鉴定 ·

河南产大黄类药材质量分析

王书莉, 薛淑娟, 陈随清*, 葛晓瑾
(河南中医学院 药学院, 郑州 450046)

[摘要] 目的:比较河南不同产地大黄的质量,为该药材的利用与开发提供参考。方法:检查土大黄苷,利用薄层色谱进行定性鉴别,采用HPLC测定游离蒽醌类成分的含量,流动相甲醇-0.1%磷酸溶液(85:15),检测波长254 nm。结果:9批药材中4批含有土大黄苷,鉴别为土大黄,来源为波叶组大黄的华北大黄;5批不含土大黄苷,大黄游离蒽醌类成分质量分数均>1.5%,符合《中国药典》2010年版的规定,平顶山鲁山县的大黄中游离蒽醌类成分的含量较高(4.65%),洛阳嵩县次之(4.38%),2种大黄来源分别为药用大黄、掌叶大黄。结论:河南不同产地分布的药用大黄、掌叶大黄药材符合《中国药典》2010年版的规定,具有开发利用前景;华北大黄不能作为大黄药材应用于临床。

[关键词] 药用大黄;掌叶大黄;华北大黄;芦荟大黄素;大黄素甲醚;土大黄苷

[中图分类号] R282.6;R282.5;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)03-0024-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016030024

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151214.1627.008.html>

[网络出版时间] 2015-12-14 16:27

Quality Analysis of Rhei Radix et Rhizoma in Henan

WANG Shu-li, XUE Shu-juan, CHEN Sui-qing*, GE Xiao-jin

(School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To provide basis for utilization and development of Rhei Radix et Rhizoma through comparing its quality from different areas in Henan. **Method:** Rhapontin was checked, qualitative identification was determined by TLC, HPLC was employed to determine the content of free anthraquinones with mobile phase of methanol-0.1% phosphoric acid (85:15) and detection wavelength at 254 nm. **Result:** In 9 batches of samples, 4 batches of Rhei Radix et Rhizoma contained rhapontin, it was identified as *Rheum franzenbachii*; 5 batches did not contain rhapontin, the content of free anthraquinones all exceed 1.5% and conformed to rules in the 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, the content of free anthraquinones (4.65%) was higher in samples from Lushan county, followed by samples from Song county with 4.38%, These two kinds of samples were from *R. officinale* and *R. palmatum*, respectively. **Conclusion:** *R. officinale* and *R. palmatum* from different areas in Henan are all consistent with rules in the 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, it is worthy of exploitation and utilization. *R. franzenbachii* cannot be applied in medicinal materials as Rhei Radix et Rhizoma.

[Key words] *Rheum officinale*; *R. palmatum*; *R. franzenbachii*; aloe-emodin; physcion; rhapontin

大黄来源于蓼科大黄属掌叶组掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄的干燥根及根茎^[1]。目前该药

材主要来源为人工栽培掌叶大黄,主产于甘肃、青海等省;药用大黄有少量生产,主产于四川、陕西等,以

[收稿日期] 20150606(004)

[基金项目] 国家中医药公共卫生专项(财社[2012]222号);国家中医药管理局中药行业公共卫生专项(201207002)

[第一作者] 王书莉,在读硕士,从事中药品种整理及质量标准研究,Tel:15890981237,E-mail:837964722@qq.com

[通讯作者] *陈随清,博士,教授,从事中药品种整理及质量标准研究,Tel:0371-65676686,E-mail:suiqingchen@sohu.com

野生为主;唐古特大黄主要为野生,分布我国西北部高海拔地区,资源已面临枯竭^[1-2]。资料报道河南省有药用大黄的分布^[3]。在第4次全国中药资源普查(试点)河南省中药资源普查过程中发现,虽然药用大黄产量很小,但产地有采挖作药材的情况,同时在河南灵宝发现有少量掌叶大黄;另发现在产区有同属波叶组植物华北大黄的分布,药农有时混作药用大黄。

现代研究证明大黄主要含蒽醌类衍生物,结合型蒽醌是其主要泻下成分^[4];而同属波叶组的一些大黄如华北大黄、藏边大黄、河套大黄等含有土大黄苷,不含番泻苷,可用作工业染料的原料或作兽药用,而无泻下作用。为了探索河南不同产地大黄药材的质量,从河南伏牛山区、太行山区收集到了9份大黄药材样品,经鉴定分别为药用大黄、掌叶大黄和华北大黄的根与根茎。依据《中国药典》2010年版一部“大黄”项下的方法进行检测,对河南所产大黄的质量进行了分析与评价,为大黄资源开发,特别是发展其人工栽培生产提供参考。

1 材料

BT25S型1/10万电子分析天平(德国艾科勒有限公司),JT601N型电子天平(上海精天电子仪器有限公司),LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津,含SPD-20A型紫外检测器,CTO-10AS vp型柱温箱,CBM-102型工作站),WD-9403C型紫外分析仪(上海康华生仪器制造厂),Milli-Q型自动双重纯水蒸馏器(郑州中谱仪器设备有限公司)。

大黄对照药材及芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为121249-201304,110795-201007,110757-200206,110756-200110,110796-201319,110758-201013),水为双蒸水,甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯。

9种大黄样品采自河南不同地区,经河南中医学院陈随清教授鉴定1,2,4,8,9号样品为蓼科植物药用大黄 *Rheum officinale* 及掌叶大黄 *R. palmatum* 的干燥根及根茎,3,5,6,7号样品为蓼科植物大黄属波叶组华北大黄 *R. franzenbachii* 的干燥根及根茎。

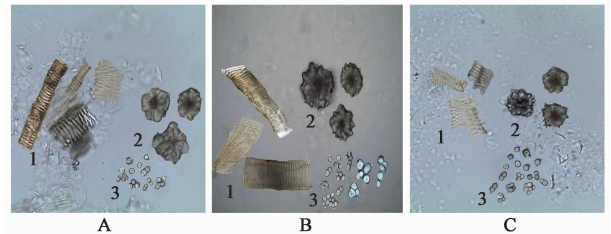
2 方法与结果

2.1 显微鉴别 1号样品为深黄色粉末。草酸钙簇晶较多,直径21~135 μm,棱角大多短而钝。导管多为网纹导管,同时还有少数具缘纹孔,螺纹导管,直径20~110 μm。淀粉粒甚多,单粒类球形或长圆形,直径4~28 μm,脐点多点状、缝状,三叉状

或星状,复粒较多,由2~8分粒组成。见图1A。

2,4,8,9号样品为黄棕色粉末。草酸钙簇晶众多,直径20~175 μm,有的230 μm,棱角多宽而短尖。网纹、螺纹、具缘纹孔导管非木化,直径12~190 μm。淀粉粒甚多,单粒类球形或多角形,直径4~32 μm,脐点星状、点状、缝状或“人字”状,大粒层纹稀而较粗,复粒较多,由2~12分粒组成。见图1B。

3,5,6,7号样品为棕黄色粉末。极少数的草酸钙簇晶散在,直径30~50 μm,棱角多锐尖。具有网纹、螺纹,具缘纹孔导管,直径11~144 μm。淀粉粒单粒球形或长圆形,直径3~22 μm,脐点多为星状或点状,复粒由2~6分粒组成,较掌叶组大黄少。见图1C。



1. 导管;2. 草酸钙簇晶;3. 淀粉粒

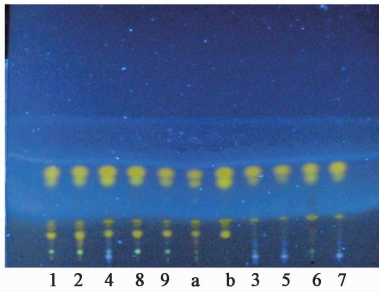
图1 大黄样品粉末显微照片

Fig. 1 Micrograph of Rhei Radix et Rhizoma powder

2.2 土大黄苷检查 分别取9种大黄样品粉末,各加甲醇2 mL,水浴温浸10 min,取出,放冷,分别吸取上清液各10 μL,点于滤纸上,以45%乙醇展开,取出,晾干,置紫外光灯365 nm下检视,结果发现3,5,6,7号样品显持久的亮紫色荧光,其余样品未发现亮蓝紫色荧光。

2.3 TLC鉴别 取9种大黄药材粉末各0.1 g,置具塞锥形瓶中,分别加甲醇20 mL,浸泡1 h,滤过,各取滤液5 mL,水浴蒸干,残渣分别加水10 mL使溶解,加盐酸1 mL,加热回流30 min,立即冷却,分别将溶液置分液漏斗中,用乙醚分2次振摇提取,每次20 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加三氯甲烷1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取大黄对照药材0.1 g,同法制成大黄对照药材溶液。分别取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品,加甲醇制成质量浓度均为0.2 g·L⁻¹的溶液,作为混合对照品溶液。分别吸取上述溶液各4 μL,点于同一个以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶H薄层板上,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,1,2,4,8,9号

样品在与对照药材相应的位置上,均显相同的 5 个橙黄色荧光主斑点;置氨蒸气中熏后,斑点变为红色。3,5,6,7 号样品只出现 3 个橙黄色荧光斑点,未发现芦荟大黄素与大黄酸。见图 2。



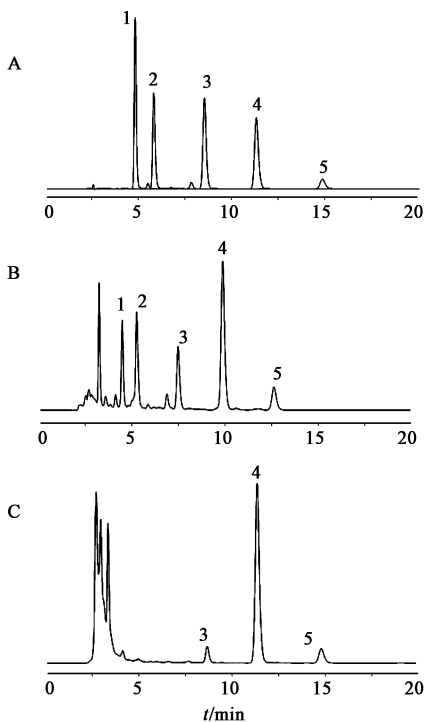
a. 大黄对照药材; b. 混合对照品; 1~9. 样品

图 2 大黄药材 TLC

Fig. 2 TLC of Rhei Radix et Rhizoma

2.4 指标成分的含量测定

2.4.1 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(85:15),检测波长 254 nm。理论塔板数按大黄素峰计算应不低于 3 000。见图 3。



A. 混合对照品; B. 大黄样品; C. 华北大黄; 1. 芦荟大黄素; 2. 大黄酸; 3. 大黄素; 4. 大黄酚; 5. 大黄素甲醚

图 3 大黄 HPLC

Fig. 3 HPLC of Rhei Radix et Rhizoma

2.4.2 供试品溶液的制备 分别精密称取 9 种大黄样品粉末(过四号筛)各约 0.15 g,置于具塞锥形

瓶中,各加入甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 1 h,自然放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取滤液各 5 mL,置烧瓶中,挥去溶剂,分别加 8% 盐酸溶液 10 mL,超声处理 5 min,加入三氯甲烷 10 mL,加热回流 1 h,自然放冷,分别置分液漏斗中,用三氯甲烷萃取 3 次,每次 10 mL,合并三氯甲烷液,回收溶剂至干,残渣加甲醇使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4.3 对照品溶液的制备 精密称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚对照品各 400 μg ,大黄素甲醚对照品 200 μg ,分别置 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,精密量取上述对照品溶液各 2 mL,混匀,得混合对照品溶液。

2.4.4 线性关系考察 精密称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇分别制成每 1 mL 含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚 80 μg ,大黄素甲醚 40 μg 的溶液。吸取上述对照品溶液各 0.5, 1, 2, 4, 8 μL ,按 2.4.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程分别为 $Y = 5 \times 10^6 X + 3\ 803.7$ ($r = 0.999\ 5$), $Y = 3 \times 10^6 X + 27\ 158$ ($r = 0.999\ 1$), $Y = 4 \times 10^6 X - 25\ 431$ ($r = 0.999\ 5$), $Y = 5 \times 10^6 X - 36\ 635$ ($r = 0.999\ 3$), $Y = 1 \times 10^6 X + 4\ 430.7$ ($r = 0.999\ 4$),线性范围依次为 0.04 ~ 0.64, 0.04 ~ 0.64, 0.04 ~ 0.64, 0.04 ~ 0.64, 0.02 ~ 0.32 μg 。

2.4.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL ,按 2.4.1 项下色谱条件重复进样 6 次,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 0.9%, 1.2%, 1.3%, 1.0%, 1.2%,说明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,室温放置,分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 按 2.4.1 项下色谱条件进样 10 μL ,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.0%, 1.1%, 0.8%, 0.8%, 1.1%,表明供试液在 12 h 内基本稳定。

2.4.7 重复性试验 取同一批号样品 6 份,按 2.4.2 项下方法制备供试品溶液,各吸取 10 μL 按 2.4.1 项下色谱条件测定,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 1.8%, 0.7%, 0.7%, 1.2%,表明该方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率试验 精密称定已知含量的粉末 6 份,各约 0.075 g,置锥形瓶中,于每份样品中精密加入适量芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚对照品,按 2.4.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件测定,计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均加样

回收率分别为 98.64%, 98.67%, 98.06%, 99.51%, 98.87%, RSD 分别为 1.0%, 2.0%, 1.1%, 1.6%, 1.5%, 表明该方法准确可靠。

2.4.9 样品测定 分别精密吸取上述对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,按 2.4.1 项下色谱条件测定,结果见表 1。

表 1 大黄药材中指标成分的含量测定

No.	采样地	采收日期	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚	总游离蒽醌 %
1	灵宝市阳平镇	2014-06-21	0.46	0.17	0.17	1.12	0.79	2.71
2	灵宝市阳平镇	2014-06-21	0.43	0.28	0.10	0.79	0.52	2.12
3	辉县市万仙山	2014-07-13	-	-	0.14	1.17	0.50	1.81
4	灵宝市寺河乡	2014-09-05	0.35	0.10	0.24	1.45	1.40	3.54
5	林州市合涧镇	2014-08-29	-	-	0.10	0.90	0.44	1.44
6	嵩县大章乡	2014-10-28	-	-	0.15	0.23	0.23	0.61
7	济源市邵原镇	2014-07-13	-	-	0.17	1.62	0.60	2.39
8	嵩县木植街乡	2014-08-20	0.66	0.35	0.18	1.99	1.20	4.38
9	鲁山县尧山乡	2014-09-13	0.73	0.16	0.17	2.17	1.42	4.65
s			0.22	0.52	0.28	0.63	0.57	2.22

注:s 表示对照药材。

3 讨论

大黄为中医临床常用中药材,同时也是藏族医学、蒙族医学常用的良药,功效泻热通便、凉血解毒、逐瘀通经^[5],具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗高血脂症、抗肝纤维化等药理作用^[6]。因此研究与开发大黄的药材资源具有重要意义。

对上述 9 批大黄药材进行含量测定,结果发现含有芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 5 种成分的 5 批大黄,5 种成分的总量均 > 1.5%,符合《中国药典》2010 年版一部的规定,但每种成分的含量有区别。大黄对照药材中 5 种成分的比例为芦荟大黄素-大黄酸-大黄素-大黄酚-大黄素甲醚(1:2.36:1.27:2.86:2.59),与此对比,5 批药用大黄中芦荟大黄素的比例偏高,而大黄酸、大黄素的比例明显偏低。说明这些药材资源的开发利用有待进一步研究与评价。

通常认为含有土大黄苷是“土大黄”生药的标志性成分。在《中国药典》2010 年版中多规定大黄生药中不得检出这一成分。本文研究结果表明 4 批华北大黄样品中含有土大黄苷,蒽醌类成分含量较低,且不含芦荟大黄素与大黄酸,显示与药用大黄和掌叶大黄有明显区别。研究发现大黄属波叶组的一

些大黄种类,除泻下作用很弱或几乎无泻下作用外,其止血、抗菌、消炎、利胆等作用在某些方面与正品大黄近似^[7],而将其在加工炮制成熟大黄或大黄炭后能否与正品大黄一样药用,仍值得作深入研究证实。

[参考文献]

[1] 王岩,宋良科,王小宁,等. 大黄种质考证与资源分布[J]. 中国药房,2013,24(11):1040-1043.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:22-23.

[3] 丁宝章. 河南植物志[M]. 郑州:河南科学技术出版社,1978:319.

[4] 果艳凤,王会丽. 大黄与土大黄的鉴别及应用[J]. 河北中医,2010,32(10):1546-1547.

[5] 徐翔,郇柏平,张慧芬. 大黄的研究进展[J]. 上海中医药杂志,2003,37(4):56-59.

[6] 仲伟法,李振娥. 大黄及其有效成分药理作用研究概况[J]. 滨州医学院学报,1999,22(5):535-537.

[7] 严孝金,冯天师,王玉刚,等. 从化学、药效和毒性角度比较认识正品大黄与土大黄[J]. 中国中药杂志,2014,39(19):3876-3880.

[责任编辑 刘德文]