

# 液相色谱方法分析茜草中遗传毒性成分 Lucidin 及其苷

司南, 杨健, 王宏洁, 边宝林\*, 何希荣  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:对茜草药材中是否含有有毒成分 lucidin 及其苷 lucidin-3-O-primeveroside(EKU-4)进行初步研究。方法:分别采用 RP-HPLC, HPLC-DAD, LC-MS 对 6 份不同来源茜草药材进行了定性检测。结果:各个药材中均能检测到 EKU-4 信号;②,⑤,⑥号药材中检测到 Lucidin 信号。结论:茜草中含有遗传毒性成分 EKU-4。

[关键词] 茜草; lucidin; lucidin-3-O-primeveroside(EKU-4)

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0088-03

## HPLC Study on *Rubia cordifolia* L. Contains Toxic Compositions of Lucidin and Lucidin-3-O-primeveroside

SI Nan, YANG Jian, WANG Hong-jie, LI Peng-yue, BIAN Bao-lin\*, HE Xi-rong  
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study on whether *Rubia cordifolia* L. contains toxic compositions of lucidin and lucidin-3-O-primeveroside (EUK-4). **Method:** RP-HPLC, HPLC-DAD, LC-MS were used to evaluate *R. cordifolia* from 6 different regions. **Result:** The same signal with EUK-4 was detected for all the herbal samples, and in the sample of ②⑤⑥ the same signal with lucidin was found. **Conclusion:** *R. cordifolia* contains the genotoxicity composition of lucidin ;lucidin-3-O-primeveroside(EUK-4).

[Key words] *Rubia cordifolia* ; lucidin; lucidin-3-O-primeveroside

茜草在中医中药中应用十分广泛,卫生部 2002 年公布的《关于进一步规范保健食品原料管理的通知》中,将茜草列为可用于保健食品的药品之一。

近年来,茜草的用药安全性遭到了德国、日本等国家的质疑,据有关文献报道,西茜草(又名欧茜草 *Rubia tinctorum*) 中的蒽醌类色素 Lucidin 及其苷 EKU-4 是具有遗传毒性和致癌性的一种化合物<sup>[1-2]</sup>。2002 年,国际癌研究机构(IARC)报告欧茜草中的 lucidin 及 EKU-4 具有致癌性。之后,日本对其进行了安全评价,确认此 2 种成分具有遗传毒性和致癌

性(肾癌)<sup>[3,4]</sup>。2004 年,日本汉方制剂协会和日本汉方生药制剂协会特制定“关于含有茜草根的生药制剂中 lucidin 及 EKU-4 的行业标准”——禁止含有茜草的生药制剂中检出上述 2 种成分。

目前,对茜草的研究报道中尚未发现含有此化合物<sup>[5-6]</sup>。该试验从茜草用药安全性出发,运用 LC-MS 等色谱检测手段对基原确定的中药茜草以及部分市售茜草中是否含有该化合物及其苷进行分析研究。

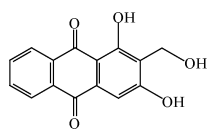
### 1 试验材料

1.1 各个不同来源的中药茜草药材 ① 正品茜草,中药研究所标本馆,1978 年延安产标本;② 北京市场购买茜草;③ 上海市场购买茜草(批号 23301260,河南产,日本株式会社津村提供);④ 正品茜草(2004 年采集自延安);⑤ 上海市场购买茜草(批号 THS70386,日本株式会社津村提供);⑥ 上

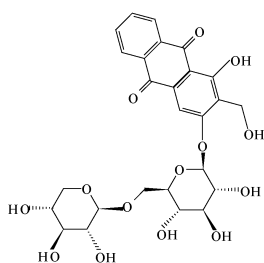
[收稿日期] 2009-12-25

[第一作者] 司南,助理研究员,硕士

[通讯作者] \* 边宝林,研究员,硕士生导师,研究方向:中药化学与新药开发, Tel/Fax: (010) 64021008; E-mail: bianbaolin9@yahoo.com.cn



Lucidin



Lucidin-3-O-primeveroside(EKU-4)

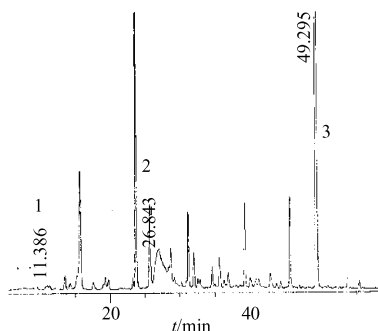


图 1 药材②HPLC-UV 分析

1. EKU-4; 2. lucidin; 3. 大叶茜草素

海市场购买茜草(批号 THS73231, 日本株式会社津村提供); 以上药材均由中国中医科学院中药研究所何希荣主管药师鉴定, 为茜草科植物茜草 *Rubia cordifolia* L. 的干燥根及根茎。

**1.2 对照品及试剂** 对照品 Lucidin (批号 T07478) 及其苷 EUK-4 (批号 T07468) 由日本株式会社津村提供; 乙醇(分析纯, 北京化工厂); 磷酸(分析纯, 北京化工厂); 乙腈(Lajota, SPAIN); 高纯水(本所自制)。

## 2 方法及结果

### 2.1 RP-HPLC-UV 方法测定

#### 2.1.1 药材 ①, ②, ③。

**2.1.2 HPLC-UV 色谱条件** 安捷伦 1100 型 HPLC 色谱仪, 色谱柱, YMC-pack ODS-A (4.6 mm × 150 mm, 4 μm), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 40 °C, 检测波长 280 nm, 流动相(A: CH<sub>3</sub>CN, B: 0.05% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 梯度洗脱, 梯度变化(溶剂比例 A:B)为: 0 min(16:84) → 20 min(30:70) → 60 min(100:0)。

**2.1.3 对照品溶液的制备** 精密称取 lucidin 对照品 0.133 mg 以 67% 乙腈-水溶解并定容 5 mL, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得 lucidin 对照品溶液; 精密称取 EUK-4 对照品 1.070 mg, 以 50% 乙腈-水溶解并定容至 25 mL, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得 EUK-4 对照品溶液。

**2.1.4 供试品溶液的制备** 精密称取上述茜草样品(略粉碎)各 0.5 g, 分别加入 80% 乙醇 5 mL, 于室温超声提取 30 min, 提取液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.1.5 HPLC-UV 分析方法及结果** 分别吸取对照品溶液 10 μL, 供试品溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪, 按照上述色谱条件进行检测, 测定结果见图 1。

### 2.2 HPLC-DAD 方法测定

#### 2.2.1 试验药材 ①, ②, ③。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 同 2.1.3。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 分别精密称取上述茜

草样品各 1.0 g, 加入 20 mL CHCl<sub>3</sub>, 于室温超声提取 30 min, 55 °C 减压回收溶剂至干, 残渣用 2 mL 甲醇溶解, 溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.2.4 HPLC-DAD 色谱条件** Waters 996 型 HPLC 色谱仪, 色谱柱 YMC-pack ODS-A (4.6 mm × 150 mm, 4 μm), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 40 °C, DAD 检测器, 流动相条件同 2.1.2。

**2.2.5 HPLC-DAD 分析结果** 见表 1。

表 1 HPLC-DAD 分析

样品	称样量 /mg	lucidin	EUK-4
①	1 040.0	±	+
②	1 034.0	+	+
③	1 020.0	±	+

注: “+”含有; “±”试验结果不十分明确; 进样量均为 10 μL。

### 2.3 LC-MS 方法测定

#### 2.3.1 药材 ①, ②, ③, ④, ⑤, ⑥。

**2.3.2 对照品溶液的制备** 同 2.1.3。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 精密称取上述生药茜草各 0.5 g, 分别加入 80% 乙醇 5 mL, 于室温超声提取 30 min, 提取液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**2.3.4 LC-MS 分析条件** Micromass LCT 型 LC-MS 色谱仪, 色谱柱 YMC-pack ODS-A (4.6 mm × 150 mm, 4 μm), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 40 °C, DAD 检测器, 流动相 A: CH<sub>3</sub>CN, B: 0.0005% trifluoroacetic) 梯度洗脱, 梯度变化为(A:B): 0 min(10:90) → 20 min(30:70) → 60 min(100:0)。

**2.3.5 LC-MS 分析结果** 见表 2。

## 3 讨论

通过对收集到不同来源的 6 份茜草样品采用 HPLC-UV, HPLC-DAD, LC-MS 的方法进行检测并综

表 2 LC-MS 分析

样品	称样量 /mg	lucidin	EUK-4
①	526.8	-	+
②	512.2	+	+
③	554.5	-	+
④	526.6	-	+
⑤	501.1	+	+
⑥	502.3	+	+

注：“+”含有；“-”不含有；进样量均为 10 μL。

合分析试验,可以初步得出如下结论:通过样品与对照品 HPLC,LC-MS 的分析,上述 6 份药材中均能检测到与 EUK-4 保留时间及分子量相一致的信号。药材②,⑤,⑥均检测到含有 Lucidin;而①,③,④中均未能检测到该成分。

综合上述结果分析,中药茜草中均含有 EUK-4,个别能够检测到 Lucidin。由于 Lucidin 及 EUK-4 具有遗传毒性,因此,提示中医药工作者应当谨慎使用茜草。但是中医药不同于西医药,没有特定的有毒和有效界限,需要辨证论治,有时有毒成分可以治病,有效成分也可使人中毒,因此是否可以仅仅根据茜草中含有遗传毒性成分就完全否定它的药用价值,还需要在中医药理论的指导下,更加深入和全面

的对茜草进行全方位的研究。

[参考文献]

- [1] Johannes Westendorf, Hildegard Marquardt, Barbara Poginsky, *et al.* Genotoxicity of naturally occurring hydroxyanthraquinones[J]. *Mutat Res*, 1990, 240:1.
- [2] Barbara Pogindky, Johnnes Westendorf, Loemeke Bruhilde, *et al.* Evaluation DNA-binding activity of hydroxyanthr-aquinones occuring in *Rubia tinctorum* L [J]. *CA*, 1991, 115(9):84974Z.
- [3] M Frantisek, K Ivana, J Alexandr. Mutagenicity of natural anthraquinones from *Rubia tinctorum* in the Drosophila Wing Spot Test[J]. *Planta Med*, 2001, 67:127.
- [4] Blomeke B, Poginsky B, Schmutte C, *et al.* Formation of genotoxic metabolites from anthraquinone glycosides, present in *Rubia tinctorum* L [J]. *Mutat Res*, 1992, 265(2):263.
- [5] 王钢力, 田金改, 陈德昌. 茜草与欧茜草的化学成分研究 II. 反相高效液相色谱法测定茜草素和芦西定的含量[J]. *药物分析杂志*, 1997, 17(4):219.
- [6] 储秋萍, 胡浩彬. 茜草与欧茜草薄层色谱法鉴别[J]. *中草药*, 2000. 31(5):352.

[责任编辑 顾雪竹]