次滤液定容,即得供试品溶液。

2.4 线性关系:分别精密吸取紫丁香苷对照品溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、10.0 μL 进样,依上述色谱条件测定,以紫丁香苷峰面积积分值为纵坐标。紫丁香苷对照品的量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 5.03 \times 10^6 X - 2.23 \times 10^4$, $r = 0.999 2$, 线性范围为 0.21~2.1 μg。

2.5 精密度试验:精密吸取上述供试品溶液 20 μL,按上述色谱条件连续进样 5 次,结果紫丁香苷平均峰面积的 RSD 为 1.51% ($n=5$)。

2.6 稳定性试验:精密吸取上述供试品溶液 20 μL,于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样,结果紫丁香苷平均峰面积的 RSD 为 1.66% ($n=7$)。结果表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.7 重复性试验:精密称取同一批已恒重干燥的祖师麻粉末 0.5 g ($n=5$),每份加入 30 mL 水,依供试品溶液制备方法制备样品液,进样 20 μL,结果紫丁香苷平均峰面积的 RSD 为 3.48%。

2.8 加样回收试验^[3]:精密称取已知含量的陕西产祖师麻粉末 0.5 g ($n=5$),分别精密加入紫丁香苷对照品溶液 3 mL,依供试品溶液的制备方法制备样品液,测定回收率。平均回收率为 101.5%,RSD 为 1.16%。

2.9 样品测定:精密称取干燥至恒重的祖师麻粉末 0.5 g ($n=5$),依样品溶液制备方法制备,在上述色谱条件下各进样 20 μL,测定,根据测得的峰面积代入回归方程计算样品中紫丁香苷的量,结果见表 1。陕西眉县产祖师麻中约含 1.702 mg/g 紫丁香苷,四川产约含 2.271 mg/g,甘肃产约含 2.031 mg/g。

3 讨论

表 1 祖师麻中紫丁香苷的测定结果 ($n=5$)

Table 1 Determination of syringe in *Cortex Daphnes Giraldii* ($n=5$)

产地	紫丁香苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
陕西眉县	1.702	1.69
四川	2.271	2.55
甘肃	2.031	1.25

3.1 我国境内祖师麻的主要产地为西部山区,本实验对主要产地陕西、四川、甘肃 3 个省的祖师麻中的紫丁香苷进行了测定,建立了 HPLC 色谱方法,为中药材的质量控制提供了依据。

3.2 祖师麻中含有多种化学成分,在提取祖师麻中紫丁香苷时,曾选用不同的溶剂进行提取,例如甲醇、乙醇等,但由于提取出的杂质成分较多,干扰测定,最终选择水作为提取溶剂。

3.3 采用高效液相色谱法测定祖师麻中紫丁香苷含量时,曾对色谱条件进行考察,也分别采用了乙腈-水、甲醇-水等的不同比例作为流动相,考察了 223、267 nm 的检测波长。结果发现采用流动相乙腈-水 (1:9);波长 223 nm;体积流量 1 mL/min 的条件为佳,在此条件下,紫丁香苷能与其他物质分离良好。

3.4 本方法具有样品预处理简单,方法回收率稳定等特点,可以作为祖师麻中紫丁香苷的测定方法。

References:

[1] Yang S X, Zhao G Z, Zhang S M, et al. Determination of syringe in Ciwujia Injection by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21(1):16.
 [2] Miao A D, Sun D J, Peng Y, et al. PR-HPLC Determination of syringe in Xuelian Injection [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(4): 289.
 [3] Yu M Q, Chen J M. Determination of syringin and rutin in species of *Saussurea* by HPLC [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2001, 19(3): 243.

不同生长期和不同产地虎杖总蒽醌比较

江兰英¹, 谢细平¹, 陈华龙¹, 余少婷²

(1. 韶关市药品检验所, 广东 韶关 512028; 2. 清远市药品检验所, 广东 清远 511500)

虎杖系蓼科蓼属植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的根茎和根, 采挖时间在春秋两季。虎杖入药始见于《雷公炮制论》,《别录》列为中品, 味苦、酸, 性微寒, 归肝、胆经。传统用于血瘀诸症, 可活血散瘀, 祛风通络, 清热利湿, 解毒。临床制

剂种类较多, 例如解毒降脂片(广东雷霆国药有限公司); 胆宁片(上海中药一厂)等。虎杖根和根茎含游离蒽醌及蒽醌苷, 主要为大黄素(emodin)、大黄酚(chrysophanol)、大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷(phycion-8-O-β-D-glucoside)、大黄素 8-O-β-D-葡

葡萄糖苷(emodin-8-O- β -D-glucoside)、迷人醇(falacinol)、6-羟基芦荟大黄素(citreorosein)、大黄素 8-甲醚(questin)、6-羟基芦荟大黄素-8-甲醚(questinol)等。还含有蒽类等其他化合物。蒽醌类化合物具有消炎、降血压、影响消化道括约肌张力、抗菌抗病毒、镇咳及抗肿瘤等多种活性^[1~3]。

《中国药典》(2000年版一部)中规定,总蒽醌量的高低是评价虎杖药材质量的指标,也是许多含虎杖制剂的质控指标。为了探明产地对药材中总蒽醌的影响,保证药材和制剂质量的稳定,笔者采集了虎杖主要出产地区的药材样品,比较其含总蒽醌的量。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂:0.5%醋酸镁甲醇溶液,大黄素(中国药品生物制品检定所),甲醇(分析纯)。

虎杖药材采自韶关、四川、江苏、贵州、浙江、安徽等几个产地,采集的生药样品及植物标本,均由作者和第二军医大学张汉明教授共同鉴定,并按照《中国药典》(2000年版一部)规定进行干燥,切片,粉碎,过60目筛等预加工。

岛津UV-2450紫外分光光度仪(日本),AG-135电子天平(瑞士),CQ-2200超声波清洗器(上海新超超声波仪器有限公司)。

1.2 测定波长的选择:取大黄素对照品适量,用0.5%醋酸镁甲醇溶液溶解,在400~600 nm波长扫描,大黄素在510 nm处有最大吸收,故选510 nm作为检测波长。

1.3 对照品溶液的制备:精密称取大黄素对照品(105℃干燥至恒重)约5 mg,置50 mL量瓶中加甲醇40 mL溶解后,加甲醇至刻度。精密吸取上述溶液1 mL,置10 mL量瓶中,加0.5%醋酸镁甲醇溶液至刻度,作为对照品溶液。

1.4 供试品溶液的制备:不同来源的供试品经过干燥、粉碎,过60目筛,粉末经恒温(60℃)干燥24 h后,精密称取约0.5 g,置100 mL量瓶中,加甲醇约90 mL,超声提取30 min,加甲醇至刻度,摇匀,滤过。精密量取续滤液10 mL置100 mL圆底烧瓶中,挥干甲醇并加入2.5 mol/L硫酸约20 mL,回流2 h。稍冷,加入氯仿约30 mL,继续回流2 h。停止加热,冷却至室温后,转移至分液漏斗内,用约10 mL氯仿分两次洗涤烧瓶,转移至分液漏斗内,小心分取氯仿层至50 mL量瓶中,加氯仿至刻度。精密量取氯仿提取液5 mL,置10 mL量瓶中,蒸去氯仿,残渣加0.5%醋酸镁甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀。以0.5%醋酸镁甲醇溶液为空白,在 $\lambda=510$ nm

处测定吸光度。

1.5 线性关系考察:精密称取大黄素对照品(105℃干燥至恒重)约5 mg,置50 mL量瓶中,加甲醇40 mL溶解后,加甲醇至刻度。精密吸取0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.6、2.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,加0.5%醋酸镁甲醇溶液至刻度,以0.5%醋酸镁甲醇溶液为空白,分别测定溶液在 $\lambda=510$ nm处的吸光度。以吸光度对浓度进行线性回归,得到回归方程: $Y=21.3125X-0.94159$,线性范围:3.688~18.440 $\mu\text{g/mL}$, $r=0.9999$ 。

1.6 精密度试验:取1.3项对照品溶液,重复测定5次,测得的吸光值RSD为1.3%($n=5$)。

1.7 重现性试验:取同一产地和生长期的供试品5份,按供试品溶液的制备方法制备,依法测定,测得的吸光值RSD为1.0%($n=5$)。

1.8 稳定性试验:精密称取大黄素对照品和虎杖适量,按对照品溶液和供试品溶液的制备方法制备,每间隔20 min测定吸光度,共测6次,大黄素和虎杖的首次测定结果分别为4.789和5.538 $\mu\text{g/mL}$,以后各次测定结果均不超过首次结果的千分之一,表明0.5%醋酸镁甲醇溶液显色在2 h内稳定。

1.9 回收率试验:精密称取虎杖粉末约0.25 g,加入约20 $\mu\text{g/mL}$ 大黄素甲醇溶液1 mL,按样品制备项下方法测定回收率,测得平均回收率为98.2% RSD=2.32%($n=5$)。

2 结果

2.1 不同生长期的虎杖总蒽醌测定:虎杖系多年生药材,因此首先考察不同生长年限对总蒽醌积累的影响。实地采挖样品时,发现不同生长年限药材的表面和横切面的性状虽无法确定药材生长的实际年限,但发现在各个生长阶段其表面和横切面的性状有明显区别,并经过向当地药农请教和核实,将来源地相同的样品按照生长时间分类为3期。(1)早期的药材呈淡黄色,表皮有光泽,表皮无腐烂,横切面白至浅黄色,木质化程度低,直径通常 <1.5 cm,生长时间为1年;(2)中期的药材表面呈棕色或棕褐色,无光泽,表皮无腐烂,横切面黄色或深黄色,木质化程度较高,直径通常在2.0~3.5 cm间,生长时间为2至4年;(3)后期的药材表面呈深褐色或乌黑色,无光泽,表面已明显腐烂,横切面暗黄色,木质化程度很高,直径通常 >3.5 cm,生长时间为5年以上。

根据分期情况,测定了不同采集地的不同生长期虎杖样品总蒽醌,结果见表1。可知随着植物生长时间的延长,总蒽醌也会逐渐增加。

表 1 不同生长期虎杖总蒽醌

Table 1 Total anthraquinone in *Rhizoma Polygoni Cuspidati* in different growing ages

产地	总蒽醌/%		
	早期	中期	后期
上海	1.37	2.20	2.28
南京	1.09	1.15	1.18
江苏	1.10	1.32	1.40

2.2 不同采集地虎杖总蒽醌的比较:考虑到目前虎杖药材的来源多为野生多年生草本植物,虎杖中总蒽醌又受不同生长年限的影响,而生长 2 年以后采挖的虎杖又难以确定生长的确切年限,因此选择用生长时间较易确定的早期(生长期为 1 年)虎杖作为实验材料,来评价不同产地虎杖总蒽醌量的高低。结果见表 2(表中样品采集时间为 2002 年 5 月)。

表 2 不同采集地虎杖总蒽醌

Table 2 Total anthraquinone in *Rhizoma Polygoni Cuspidati* from different collecting areas

产地	总蒽醌/%	产地	总蒽醌/%
安徽滁州	2.13	南京马群	1.09
安徽合肥	2.12	南京牛首山	1.15
安徽金寨	2.15	重庆	2.22
广西德宝	1.73	浙江建德	1.52
贵州岑巩	2.00	浙江临安	1.12
贵州贵阳	2.04	上海市区	1.37
江苏宜兴	1.66	韶关曲江	1.26
江苏张浦	1.10	韶关武江区	1.40

3 讨论

3.1 提取时间的选择:按供试品制备项下制备,比较超声提取时间对测量结果的影响。20、30、40 min 提取结果分别是 7.78、8.46、8.47 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。测定结果显示,提取时间在 30 min 时,提取结果比 20 min 明显要高,而提取 40 min 与之相比则差别不明显,故选取提取 30 min。

3.2 多年生药材的化学分量通常受植物生长年限的影响,因此评价多年生药材中某一化学成分的量高低,必须选择同一生长年限的样品进行比较才有实际意义。本试验根据药材表面和横切面的色泽、直径等特征,采挖生长年限易于确定的药材(早期,

即生长 1 年),作为平行比较的供试品,所得结果更为可靠。

3.3 本实验结果表明,不同产地的虎杖总蒽醌存在显著差异($P < 0.05$),可见产地不同是造成虎杖药材和虎杖制剂总蒽醌产生较大波动的一个重要因素。从实验测定结果来看,安徽、四川两地产药材总蒽醌较高。这一结果又与文献报道^[4]的不一致,原因有可能和实验样品采集的方法不同而造成药材生长的实际年限不同有关。

3.4 本研究结果表明虎杖生长 1 年的总蒽醌量,还不等于商品药材的总蒽醌的实际量。本实验也表明,随着年限的增加,总蒽醌的量还会明显提高,但提高的幅度和药材早期的结果是基本一致的。实际调查发现,药农出于经济效益的角度考虑,一般采挖中期生长的粗壮、质实、色黄的药材加工出售。而一些生长年限特别长的虎杖药材,虽然粗大、质重,总蒽醌量会比较高,但表面腐烂,已缺乏商品价值,药农也不会采用。

3.5 虎杖是多年生植物,目前药材的来源基本上都是依靠药农自发地野生采挖,因而药材中活性成分的量难于控制,这给制剂质量的稳定带来了很大的麻烦。为解决这一常用中药的质量稳定问题,建议将这一野生资源按 GAP 要求进行栽培管理和生产,从而满足医疗用药和工厂生产的要求。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.
- [2] Ouyang C F. Chemical component of *Polygonum cuspidatum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1987, 18(8): 45-46.
- [3] Luo S F, Jin X Z, Ye J F, et al. Advances in research on 3, 4', 5-trihydroxystilbene-3-D-glucoside, an effective component from *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1999, 13(1): 1-4.
- [4] Wan S Y, Li J, Pan S J, et al. Determination of anthraquinone in *Rhizoma Polygoni Cuspidati* from different origins by differential spectrophotometry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993, 24(8): 407-408.

常年供北虫草

我国所供北虫草(蛹虫草)及菌丝体干品,是采用仿野生育草盘栽培,质量特优,欢迎看样订货。诚征虫草深加工合作商及贸易伙伴。供东方 8 号特高产草王菌种及特选育草技术,来电咨询赠草王彩照一套。

地址:山东省夏津县菌业发展协会东方虫草科技园

邮编:253216

电话:0534-3552487 13455398198

联系人:邓玉福