

不同产地决明子中9种蒽醌类成分的测定

袁 晓, 高俊飞, 舒楚金, 陆峰平, 袁 萍

中国科学院武汉植物园, 湖北 武汉 430074

摘要: 目的 建立HPLC法测定决明子中9种蒽醌类成分的方法。方法 采用HPLC法测定, 色谱柱为YMC-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 检测波长 280 nm, 流动相为乙腈(A)-0.2%磷酸水(B)溶液梯度洗脱, 0~35 min, 15%~30% A; 35~60 min, 30%~95% A; 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 ℃。结果 决明子内酯-9-O-β-葡萄糖苷、橙黄决明素、芦荟大黄素、大黄酸、决明素、美决明素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚分别在 0.050~0.500 μg、0.020~0.200 μg、0.030~0.300 μg、0.040~0.400 μg、0.001~0.10 μg、0.080~0.800 μg、0.088~0.880 μg、0.040~0.400 μg、0.049~0.490 μg呈现良好线性关系; 回收率分别为 102.01%、97.99%、99.39%、101.31%、99.12%、98.89%、99.68%、98.21%、100.53%; RSD分别为 0.46%、0.56%、2.19%、0.91%、0.73%、1.27%、0.69%、0.31%、1.32%。结论 该方法简便、准确、具有专属性, 可用于同时测定决明子中9个成分的量, 为决明子的质量控制提供基础。

关键词: 决明子; 决明子内酯-9-O-β-葡萄糖苷; 橙黄决明素; 芦荟大黄素; 大黄酸; 决明素; 美决明素; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)09-1773-03

Determination of nine anthraquinones in *Cassiae Semen* from different habitats

YUAN Xiao, GAO Jun-fei, SHU Chu-jin, LU Feng-ping, YUAN Ping

Wuhan Botanic Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China

Key words: *Cassiae Semen*; toralactone-9-O-β-glucoside; aurantio-obtusin; aloe emodin; rhein; obtusin; obtusifolin; emodin; chrysophanol; physcion

决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *C. tora* L. 的干燥成熟种子, 具有清肝明目、润肠通便的功效。用于治疗目赤涩痛、羞明多泪、头痛眩晕、目暗不明, 大便秘结等症^[1-2]。决明子中含蒽醌类、萘啉吡喃酮类、脂肪酸类、氨基酸和无机元素等, 主要为蒽醌类成分, 其中大黄酚为主要活性成分^[1-4]。本实验采用HPLC法对决明子进行了研究, 为决明子的鉴别、质量评价以及质量标准的制定提供依据。

1 仪器与材料

L—2000 型高压液相色谱-四元梯度泵, 自动进样器, DAD 检测器和柱温箱(日本日立公司); JK5200DB 型数控超声波清洗器(合肥金尼克超声仪器有限公司); 电子分析天平[(万分之一, 奥豪斯仪器(上海)有限公司)]; 微型植物试样粉碎机(河北黄液中兴仪器有限公司)。决明子来

源于四川、广西、甘肃、河南、陕西、河北、浙江、安徽和山东9个产地, 经中国科学院武汉植物园吴金清研究员鉴定为豆科决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *Cassia tora* L. 的干燥成熟种子。乙腈(美国 Tedia 公司, 色谱纯), 水为双重蒸馏水; 其余所用试剂均为分析纯。

大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、橙黄决明素、芦荟大黄素、美决明素、决明素、决明子内酯-9-O-β-葡萄糖苷对照品均为本实验室自制, 质量分数均大于98%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

YMC-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.2%磷酸水(B)梯度洗脱, 0~35 min, 15%~30% A; 35~60 min, 30%~95% A; 柱温 25 ℃, 体积流量 1 mL/min, 检测波长 280 nm。

收稿日期: 2011-11-22

基金项目: 国家科技部科技基础性工作专项: “含醌类地道中药材的测试分析标准方法及标准物质研制”(2008FY230400)

作者简介: 袁 晓(1962—), 男, 中国科学院武汉植物园一级副研究员, 博士, 长期从事中药及天然产物研究。

Tel: (027)87510126 E-mail: yuanxiaomail@yahoo.com.cn

2.2 对照品溶液的制备

精密称取大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、橙黄决明素、芦荟大黄素、美决明素、决明素、决明子内酯-9-*O*-β-葡萄糖苷对照品适量,分别置10 mL量瓶中,加甲醇溶解稀释,配制成质量浓度分别为0.088、0.040、0.040、0.049、0.020、0.030、0.080、0.001、0.050 mg/mL的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取决明子粉末(过4号筛)约1 g,精密称定,

置于50 mL量瓶中,加30 mL甲醇,超声提取30 min,放冷,用甲醇补足减失的质量,滤过,取续滤液适量,以0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

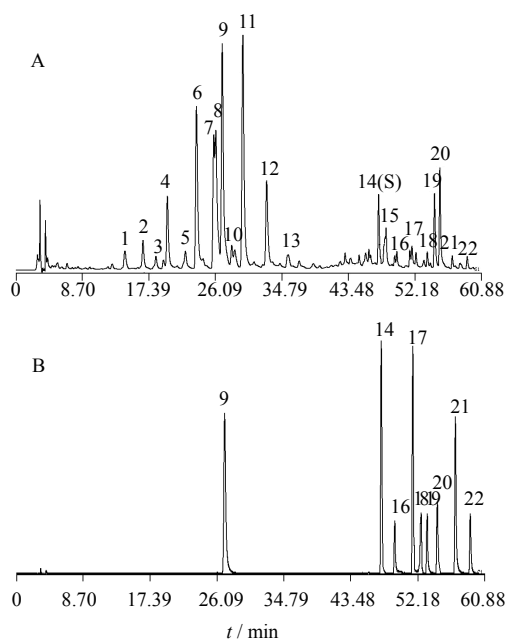
2.4 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液1、2、5、7、10 μL进样,测定峰面积,记录数据。以各成分峰面积平均值为纵坐标(Y),其对应成分进样量为横坐标(X),进行回归计算,得各成分回归方程,见表1,色谱图见图1。

表1 各对照品的回归方程

Table 1 Regression equations of each reference substance

对照品	线性方程	<i>r</i>	线性范围 / μg
决明子内酯-9- <i>O</i> -β-葡萄糖苷	$Y=2.21 \times 10^3 + 3.10 \times 10^9 X$	0.999 5	0.050~0.500
橙黄决明素	$Y=-6.65 \times 10^3 + 2.23 \times 10^8 X$	0.999 8	0.020~0.200
芦荟大黄素	$Y=-3.21 \times 10^3 + 8.12 \times 10^8 X$	0.999 5	0.030~0.300
大黄酸	$Y=-2.62 \times 10^4 + 1.38 \times 10^9 X$	0.999 5	0.040~0.400
决明素	$Y=-7.99 \times 10^3 + 1.49 \times 10^9 X$	0.999 2	0.001~0.010
美决明素	$Y=-6.01 \times 10^3 + 2.23 \times 10^8 X$	0.999 3	0.080~0.800
大黄素	$Y=-2.62 \times 10^4 + 1.38 \times 10^9 X$	0.999 8	0.088~0.880
大黄酚	$Y=3.23 \times 10^3 + 1.05 \times 10^9 X$	0.999 8	0.040~0.400
大黄素甲醚	$Y=-2.43 \times 10^4 + 1.09 \times 10^9 X$	0.999 8	0.049~0.490



9-决明子内酯-9-*O*-β-葡萄糖苷 14-橙黄决明素 16-芦荟大黄素
17-大黄酸 18-决明素 19-美决明素 20-大黄素 21-大黄酚
22-大黄素甲醚
9-toralactone-9-*O*-β-glucoside 14-aurantio-obtusin
16-aloe emodin 17-rhein 18-obtusin 19-obtusifolin
20-emodin 21-chrysophanol 22-physcion

图1 样品(A)和混合对照品(B)色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of sample (A) and mixed reference substances (B)

2.5 精密度试验

取四川产决明子样品,按“2.3”项方法制备供试品溶液,连续进样6次,每次5 μL,记录峰面积,大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、橙黄决明素、芦荟大黄素、美决明素、决明素、决明子内酯-9-*O*-β-葡萄糖苷的RSD分别为0.93%、1.23%、1.12%、1.02%、1.84%、1.89%、1.53%、1.64%、1.95%。

2.6 稳定性试验

取四川产决明子样品,按“2.3”项方法制备供试品溶液,分别在0、2、4、6、12、24 h进样10 μL,测定大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、橙黄决明素、芦荟大黄素、美决明素、决明素、决明子内酯-9-*O*-β-葡萄糖苷的峰面积,计算得RSD分别为0.78%、0.54%、0.33%、0.19%、0.50%、0.37%、0.77%、0.38%、0.57%。

2.7 重复性试验

取四川产决明子样品6份,按“2.3”项方法制备供试品溶液,进样测定,大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、橙黄决明素、芦荟大黄素、美决明素、决明素、决明子内酯-9-*O*-β-葡萄糖苷质量分数的RSD分别为1.92%、1.53%、1.02%、1.22%、1.34%、1.55%、1.15%、1.66%、1.89%。

2.8 加样回收率试验

精密称取四川产决明子样品 5 份,按照“2.3”项制备供试品溶液分别加入大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、橙黄决明素、芦荟大黄素、美决明素、决明素、决明子内酯-9-*O*- β -葡萄糖苷对照品,按样品测定法测定,计算回收率,平均回收率分别为 99.68%、98.21%、101.31%、100.53%、

97.99%、99.39%、98.89%、99.12%、102.01%; RSD 分别为 0.69%、0.31%、0.91%、1.32%、0.56%、2.19%、1.27%、0.73%、0.46%。

2.9 样品测定

取 9 批决明子药材按照“2.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.1”项方法测定,计算各成分量,结果见表 2。

表 2 样品测定结果

Table 2 Determination of samples

产地	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	决明子内酯-9- <i>O</i> - β -葡萄糖苷	橙黄决明素	芦荟大黄素	大黄酸	决明素	美决明素	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
四川	0.010	0.649	0.020	0.007	0.018	0.191	0.029	0.007	0.025
广西	0.011	0.459	0.032	0.009	0.020	0.126	0.029	0.008	0.025
甘肃	0.013	0.822	0.043	0.011	0.019	0.022	0.026	0.010	0.027
河南	0.008	0.691	0.065	0.010	0.018	0.200	0.030	0.007	0.026
陕西	0.025	0.506	0.023	0.011	0.019	0.234	0.032	0.021	0.030
河北	0.019	0.693	0.054	0.005	0.018	0.229	0.037	0.014	0.027
浙江	0.088	0.599	0.033	0.018	0.025	0.298	0.040	0.075	0.054
安徽	0.030	0.665	0.012	0.020	0.023	0.221	0.034	0.028	0.041
山东	0.009	0.341	0.012	0.015	0.019	0.094	0.024	0.006	0.024

3 讨论

本实验建立 HPLC 法测定了决明子药材中 9 种蒽醌类成分的量。试验采用的优化色谱条件稳定、可靠、重复性好,与《中国药典》2010 年版相比,保留时间显著缩短,可以用作四川、广西、甘肃、河南、陕西、河北、浙江、安徽和山东等产地决明子的质量控制。测定结果表明,决明子内酯-9-*O*- β -葡萄糖苷最低量为 0.009 mg/g,橙黄决明素最低量为 0.341 mg/g,芦荟大黄素最低量为 0.012 mg/g,大黄酸最低量为 0.005 μ g/mL,决明素最低量为 0.018 mg/g,美决明素最低量为 0.022 mg/g,大黄素

最低量为 0.024 mg/g,大黄酚最低量为 0.006 mg/g,大黄素甲醚最低量为 0.024 mg/g。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 郝延军, 桑育黎, 赵余庆. 决明子的研究进展 [J]. 中草药, 2001, 32(9): 858-859.
- [3] 王文燕, 赵 强, 张铁军, 等. 决明子的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1638-1641.
- [4] 肖培根. 新编中药志 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.