

黄芩抗栓胶囊中3种大黄蒽醌类成分配伍前后的含量变化

周丽¹, 汪永忠^{1*}, 高家荣¹, 李立华¹, 杨慧君², 韩燕全¹, 萧伟³

(1. 安徽中医药大学第一附属医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 合肥 230031;

2. 安徽中医药大学, 合肥 230038; 3. 江苏康缘药业股份有限公司 中药制药过程
新技术国家重点实验室, 江苏连云港 222001)

[摘要] 目的:考察黄芩抗栓胶囊中大黄与处方中其他药物配伍前后大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量变化,为该制剂的药效学研究提供参考。方法:按处方比例分别制备大黄单提样品、大黄与处方中其余药材的共提样品和大黄单提与处方中其余药材共提的合并样品,采用UPLC测定单提、共提与合并样品中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量,流动相甲醇-0.1%磷酸(85:15),流速0.25 mL·min⁻¹,检测波长254 nm。结果:大黄素、大黄酚、大黄素甲醚在单提样品中质量分数最高,分别为2.437, 17.040, 2.720 mg·g⁻¹,其次为合并样品,分别为1.914, 13.236, 2.155 mg·g⁻¹,共提样品中质量分数最低,分别为1.308, 6.478, 1.169 mg·g⁻¹。结论:黄芩抗栓胶囊中大黄与其他药物配伍对大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的溶出具有较大影响,该影响主要发生在提取过程中。

[关键词] 黄芩抗栓胶囊; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚; 配伍; 超高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1; R289.5; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)23-0025-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015230025

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151022.1416.044.html>

[网络出版时间] 2015-10-22 14:16

Determination of Three Anthraquinones from Rhei Radix et Rhizoma in Huangxiong Kangshuan Capsules

Before and After Compatibility ZHOU Li¹, WANG Yong-zhong^{1*}, GAO Jia-rong¹, LI Li-hua¹, YANG Hui-jun², HAN Yan-quan¹, XIAO Wei³ (1. *The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Grade Three Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) Preparation, State Administration of TCM, Hefei 230031, China*; 2. *Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China*; 3. *State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China*)

[Abstract] **Objective:** To observe contents variation of emodin, chrysophanol and physcion from Rhei Radix et Rhizoma in Huangxiong Kangshuan capsules before and after compatibility. **Method:** According to prescription, herbs were extracted separately in different proportion and separate extraction were combined partly. Contents of emodin, chrysophanol and physcion were determined by UPLC. **Result:** Contents of emodin, chrysophanol and physcion increased significantly when herbs extracting separately, which reached to 2.437, 17.040, 2.720 mg·g⁻¹, respectively; then declined to 1.914, 13.236, 2.155 mg·g⁻¹ in combined samples; decreased significantly when herbs extracting together, which reached to 1.308, 6.478, 1.169 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion:** Great influence of combination of Rhei Radix et Rhizoma with other herbs in this prescription on contents of main chemical constituents is mainly carried on in extraction process of Huangxiong Kangshuan capsules.

[Key words] Huangxiong Kangshuan capsules; emodin; chrysophanol; physcion; compatibility; UPLC

[收稿日期] 20150429(001)

[基金项目] 安徽省康缘中医药科技创新基金项目(KYCX201001);安徽中医学院临床科学研究基金项目(2012LC₁-021B)

[第一作者] 周丽, 硕士, 主管药师, 从事中药制剂质量控制研究, Tel:0551-62838525, E-mail: cheriling16@126.com

[通讯作者] *汪永忠, 硕士, 主任药师, 从事中药制剂分析与新药开发研究, Tel:0551-62838556, E-mail: wyzhmail@163.com

黄芩抗栓胶囊是安徽中医药大学第一附属医院脑病重点专科的特色制剂(医院制剂批准文号为皖药制字 Z20080012),该方由大黄、川芎、石菖蒲、郁金 4 味中药组成,具有行气化痰、活血解毒的功效,主治老年性中风等疾病^[1-3]。方中大黄为君药,具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、利湿退黄、逐瘀通经等功效^[4]。大黄中含有的蒽醌类物质为黄芩抗栓胶囊的主要有效成分,前期实验采用 HPLC 对该制剂中大黄的有效成分进行了含量测定^[5],并优选了该制剂的提取工艺^[6]。2010 年版《中国药典》一部收载有大黄药材的含量检测方法,复方中大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量测定报道较多,主要方法有薄层扫描法^[7]、薄层-紫外分光光度法^[8]和 HPLC^[9],各方法均存在一定的缺陷。而 UPLC 具有高效、准确等特点已被广泛使用^[6,10-12]。本实验拟采用 UPLC 对大黄中指标成分大黄素、大黄酚、大黄素甲醚在配伍前后的含量情况进行测定,分析药味之间的相互作用,为该方配伍规律的研究提供参考。

1 材料

Acquity UPLC H-Class 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),AG285 型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。大黄、川芎、石菖蒲、郁金药材均购自合肥和义堂中药饮片有限责任公司,经安徽中医药大学第一附属医院黄玉霞主管中药师鉴定,均符合《中国药典》2010 年版相关规定;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 110756-201110, 117953-201111, 110758-200910),甲醇为色谱纯,水为屈臣氏蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Acquity UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸(85:15),流速 0.25 mL·min⁻¹,检测波长 254 nm,柱温 25 °C,进样量 1 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取适量大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品,加甲醇超声溶解,冷却至室温,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得对照品母液。分别精密移取一定体积对照品母液混合,得大黄素、大黄酚、大黄素甲醚质量浓度分别为 40.6, 54.0, 18.6 mg·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 大黄单提样品 依照黄芩抗栓胶囊现行制剂工艺。称取大黄粉末(过 24 目筛)10.0 g,置 500 mL 置圆底烧瓶中,加 10, 8 倍量 70% 乙醇回流提取

2 次,提取时间分别为 2, 1.5 h, 过滤,合并滤液,回收乙醇;滤渣加 8 倍量水煎煮 1.5 h, 滤过,静置,吸取上清液同醇提液合并,干燥得干浸膏。精密称取干浸膏粉末(过 80 目筛)适量(相当于大黄原材料质量 1 g)至具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,超声 1 h,放冷,用甲醇补足失重,摇匀,滤过,取续滤液 5 mL,挥去溶剂,加 8% 盐酸 10 mL,超声处理 2 min,加三氯甲烷 10 mL,加热回流 1 h,放冷,置分液漏斗中,用少量三氯甲烷洗涤容器,并入分液漏斗中,分取三氯甲烷层,酸液用三氯甲烷提取 3 次,每次 10 mL,合并三氯甲烷液,减压回收溶剂至干,残渣加甲醇使溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,充分溶解后用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.3.2 共提样品 称取大黄 10.0 g,石菖蒲 8.0 g,郁金 8.0 g 和川芎 8.0 g 置于 1 L 圆底烧瓶中,加乙醇回流提取 2 次,其他操作同 2.3.1 项,即得。

2.3.3 大黄单提与处方中其余药材共提合并的样品 称取大黄 10.0 g,川芎 8.0 g + 石菖蒲 8.0 g + 郁金 8.0 g,分别置于 500 mL 圆底烧瓶中,加乙醇回流提取 2 次,其他操作同 2.3.1 项,即得。

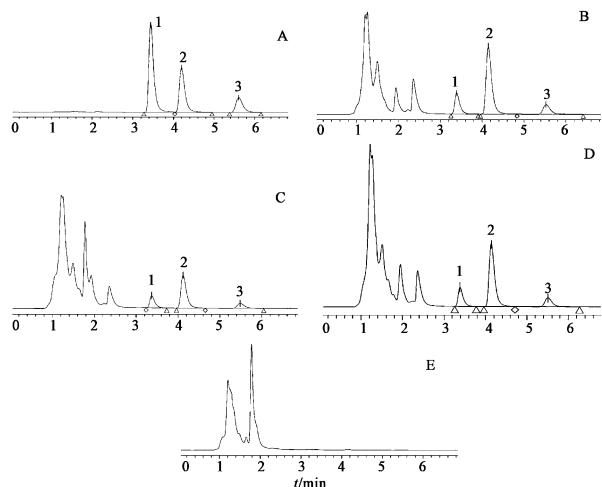
2.4 阴性样品溶液 称取川芎、石菖蒲、郁金各 8.0 g,按 2.3.1 项下方法处理,得缺大黄阴性样品。

2.5 专属性试验 分别精密进样混合对照品溶液、大黄单提样品溶液、共提样品溶液、合并样品溶液、阴性样品溶液各 1 μL,按 2.1 项下色谱条件测定,结果显示除阴性样品外,其他样品溶液和对照品溶液在相应位置有对应色谱峰,分离度 > 1.5,且阴性样品溶液在相应位置无干扰,见图 1。

2.6 线性关系考察 取 2.2 项下混合对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 μL,按 2.1 项下色谱条件测定,以色谱峰峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的回归方程分别为 $Y = 820\ 718X - 191\ 522$ ($r = 0.999\ 9$), $Y = 476\ 101X - 116\ 038$ ($r = 0.999\ 9$), $Y = 202\ 622X - 57\ 936$ ($r = 0.999\ 8$),线性范围依次为 0.041 ~ 0.284, 0.054 ~ 0.378, 0.019 ~ 0.130 μg。

2.7 精密度试验 取 2.2 项下混合对照品溶液 1 μL,按 2.1 项下条件连续测定 6 次,计算大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 0.3%, 0.5%, 0.5%,表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验 取同一批大黄单提样品于室温放置 0, 2, 4, 6, 8 h,按 2.1 项下色谱条件测定,结果大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.4%, 1.1%, 1.1%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。



A. 混合对照品; B. 大黄单提样品; C. 共提样品; D. 合并样品; E. 阴性样品; 1. 大黄素; 2. 大黄酚; 3. 大黄素甲醚

图 1 黄芩抗栓胶囊 UPLC

Fig. 1 UPLC chromatograms of Huangxiong Kangshuan capsules

2.9 重复性试验 取同一批大黄,按 2.3.1 项下平行制备 6 份样品,按 2.1 项下色谱条件测定,记录峰面积,测得大黄素、大黄酚、大黄素甲醚含量的 RSD 分别为 0.6%、0.3%、0.5%,表明本法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批大黄样品 6 份(大黄素、大黄酚、大黄素甲醚质量分数分别为 2.629,18.547,2.910 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$),精密加入适量大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品,按 2.3.1 项下方法制备样品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算加样回收率分别为 98.50%、98.46%、97.47%,RSD 分别为 1.2%、1.4%、1.3%。

2.11 样品测定 制备大黄单提液、共提液、合并液各 2 批,按 2.1 项下色谱条件测定,计算各样品中大黄素质量分数分别为 2.437,1.308,1.914 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,大黄酚质量分数依次为 17.040,6.478,13.236 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,大黄素甲醚质量分数分别为 2.720,1.169,2.155 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

大黄中含有的蒽醌类物质为黄芩抗栓胶囊的主要有效成分,本文结果显示大黄中指标成分大黄素、大黄酚、大黄素甲醚在单提样品中含量最高,其次为合并样品,共提样品中含量最低。说明不同提取方式对方剂中这 3 种成分的提取率有一定的影响。该制剂目前的提取工艺为将处方中药材共提,与单提液相比,大黄素、大黄酚、大黄素甲醚质量分数分别降低了 46.33%、61.98%、57.02%;与合并液相比,大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的质量分数分别降低了 31.66%、51.06%、45.75%。但与单提液和合并液

相比,大黄酚含量在共提液中占 3 种成分总量的比例有所下降,大黄素和大黄素甲醚含量在共提液中占 3 种成分总量的比例却有所上升。原因可能是该复方在水浴回流过程中,由于 pH 的改变,蒽醌类成分、有机酸、挥发油等的相互作用,各化学成分之间的反应、提取过程中的受热水解及新化合物的生成,会产生一系列的物理、化学变化,导致该复方在煎煮、提取过程中化学成分发生量或质的变化。

本文反映的处方中 3 种大黄蒽醌类成分在单提、共提与合并后的含量变化。由于中药及其复方这一复杂体系含有的化学成分众多,只有这些成分的相对含量达到特定比例,才有利于药效的最大发挥,缺少某些重要的成分或所含成分相对比例发生变化时都会影响整体药效的发挥。

[参考文献]

- [1] 谢道俊,江停战,李之和,等. 通脑精胶囊对 IR 大鼠局灶性脑缺血和胰岛素敏感性的影响[J]. 北京中医药大学学报,2003,26(1):36-39.
- [2] 李其英,江停战,陈永华. 黄芩抗栓胶囊治疗糖尿病并发急性脑梗死疗效评价[J]. 中医药临床杂志,2011,23(12):1050-1051.
- [3] 谢道俊,张鑫,鲍远程,等. 黄芩抗栓胶囊治疗缺血性中风急性期(痰瘀证候)的临床研究[J]. 中医药临床杂志,2012,24(11):1063-1065.
- [4] 牛笑怡,张振秋,郑艳超. 赤芍、大黄药对不同比例配伍提取物指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(7):86-89.
- [5] 韩燕全,洪燕,夏伦祝,等. 高效液相色谱法同时测定黄芩抗栓胶囊中 5 种大黄成分的含量[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(6):47-49.
- [6] 左冬,汪永忠,韩燕全,等. 正交试验结合 UPLC 检测法优选黄芩抗栓胶囊提取工艺的研究[J]. 中国医药学报,2011,39(6):65-67.
- [7] 陈浩. 薄层扫描法测定通脑精胶囊中大黄素的含量[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(1):103-104.
- [8] 肖文平,李巍. 紫外分光光度法测定三黄片中大黄素的含量[J]. 湖北中医杂志,2009,31(12):74-75.
- [9] 吴海霞,郭迎霞,曹宇峰. 高效液相色谱法测定肾石消胶囊中大黄素含量[J]. 中国药业,2013,22(5):49-50.
- [10] 刘利辉,徐剑,张永萍. UPLC 测定银翘散中的多指标性类成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(24):67-70.
- [11] 石绍淮,刘冰,李欢,等. 超高效液相色谱法同时测定益智中 4 种抗氧化活性成分[J]. 中国药学杂志,2014,49(7):592-595.
- [12] 陈宁,韩永成,刘伟,等. 野菊花的 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(3):83-85.

[责任编辑 刘德文]