

大黄浓缩干燥过程中活性成分的稳定性

哈飞^{1,2}, 李瑞明², 张兰兰^{2*}, 张依倩², 闫希军²

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津天士力集团研究院现代中药所, 天津 300410)

[摘要] 目的: 研究大黄提取后浓缩干燥过程中各活性成分的稳定性。方法: 以大黄提取液中各活性成分为研究对象, 在浓缩干燥过程中不同时间点取样, HPLC 分别对其测定, 检测相对含量变化趋势。结果: 在 70 °C 受热过程中, 各活性成分相对含量在浓缩 1 h 后降解程度较大, 浓缩 2 h 与 1 h 后相比减少不明显, 浓缩 3 h 后含量则显著降低; 70 °C 减压干燥过程中, 各活性成分含量在干燥 2 h 后降解程度较大, 干燥 3 h 与干燥 2 h 相比变化不大, 总趋势相对较稳定, 干燥过程对各活性成分含量影响较小。番泻苷 D 受热易分解。结论: 大黄提取液在 70 °C 减压浓缩干燥过程中, 浓缩时间宜控制在 2 h 之内, 各成分在干燥 3 h 过程内稳定。

[关键词] 大黄; 浓缩干燥; 活性成分; 峰归属; 稳定性

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0010-03

Stability of Active Ingredients from *Rheum officinale* in Concentration and Drying Process

HA Fei^{1,2}, LI Rui-ming², ZHANG Lan-lan^{2*}, ZHANG Yi-qian², YAN Xi-jun²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin 300193, China;

2. Institute of Modern TCM, Acedemy, Tasly Group, Tianjin 300410, China)

[Abstract] **Objective:** To study on stability of active ingredients from *Rheum officinale* in concentration and drying process. **Method:** Taking active ingredients from extraction fluid of *R. officinale* as studying target, samples were taken at different time points in concentration and drying progress, change trends of relative content was determined by HPLC. **Result:** The relative content of active ingredients were degraded greater degree after concentrated 1 h in process of heating at 70 °C, its reduction is not obvious after concentrated 2 h by comparing with 1 h, but after concentrated for 3 h, the relative content reduced significantly; At 70 °C vacuum drying process, active ingredients were in large degree of degradation after drying 2 h, the change of content was small after drying 3 h by comparing with 2 h, general trend was relative stable, the content of active ingredients was less affected in drying process. Sennoside D decomposed easily in heating. **Conclusion:** During in process of concentration and drying at 70 °C vacuum for extraction fluid from *R. officinale*, concentration time should be controlled within 2 h, components were stable in drying time for 3 h.

[Key words] *Rheum officinale*; concentration and drying; active ingredients; peaks ascription; stability

大黄为蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用

大黄的干燥根及根茎^[1], 始载于《神农本草经》, 列为中品, 因其色黄而得名^[2]。大黄性味苦寒, 归脾、胃、大肠、肝、心包经, 具有泻下攻积、清热泻火、止血、解毒、活血祛瘀等功效^[3], 其化学成分主要有蒽醌类、二蒽酮类、苯丁酮苷类、二苯乙炔苷类、鞣质类、多糖类等^[4]。传统提取工艺一般采用水提或乙醇提取后, 直接干燥成干膏, 虽然保留了大部分有效成分, 但未考虑到浓缩干燥过程中加热对大黄提取液中的活性成分的影响, 因此本研究对大黄浓缩干

[收稿日期] 20111110(013)

[基金项目] “十一五”国家重大新药创制课题(2010ZX09401-406)

[第一作者] 哈飞, 硕士研究生, 从事药物分析研究, Tel: 022-86342546, E-mail: hafeikaoyan@126.com

[通讯作者] * 张兰兰, 博士, 从事新药开发研究, Tel: 022-86342608, E-mail: zhangll2@tasly.com

燥过程中活性成分的稳定性进行考察。

1 材料

Waters2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters, 2998 PDA 检测器), BP/110s 型电子分析天平(Sartorius)。

大黄购于安国药材市场四川大黄统货,经天津中医药大学李天祥教授鉴定为药用大黄 *Rheum officinale* Baill., 大黄素、芦荟大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110756-200110, 110795-201007, 0757-200206, 110796-200615, 110758-200912, 110831-200803), 番泻苷 A, B, C, D(天津马克生物技术有限公司), 莲花掌苷、大黄酸葡萄糖苷、大黄素 1-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素-8-O-D-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-葡萄糖苷、没食子酰-肉桂酰糖苷、4-羟苯基-2-丁酮酰基糖苷类(自制,经核磁鉴定)。食用乙醇、蒸馏水为分析纯,乙腈、磷酸为色谱纯,水位自制二纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[5-6] Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B), 洗脱梯度为 0 ~ 50 min, 10% ~ 27% A; 50 ~ 55 min, 27% A; 55 ~ 78 min, 27% ~ 53% A; 78 ~ 83 min, 53% ~ 80% A; 83 ~ 93 min, 80% A; 柱温 35 °C, 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL · min⁻¹。

2.2 对照品溶液制备 取各对照品 1 mg, 甲醇溶解配制定容至 10 mL, 即得。

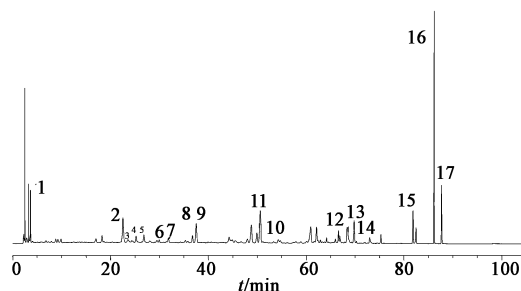
2.3 供试品制备 称取大黄 20.0 g, 加入 10 倍生药量 80% 乙醇回流提取 3 次, 每次提取 0.5 h, 即得。

2.4 浓缩过程考察 分别精密吸取 25 mL 大黄提取液置于 12 个 50 mL 锥形瓶中, 分为 4 组, 每组 3 份, 置于 70 °C 水浴锅中, 分别在 0.5, 1, 2, 3 h 后取出样品, 移至 25 mL 量瓶中, 80% 乙醇补足至刻度, 过 0.45 μm 滤膜, 得待测样品。

2.5 干燥过程中考察 分别精密吸取 25 mL 大黄提取液置 9 个 50 mL 圆底烧瓶中, 分为 3 组, 每组 3 份, 旋转蒸发仪蒸至浸膏, 70 °C 真空干燥箱, 分别在 1, 2, 3 h 后取出样品, 80% 乙醇溶出定容于 25 mL 量瓶中, 过 0.45 μm 滤膜, 得待测样品。

2.6 样品测定 精密吸取各样品溶液 10 μL, HPLC 测定(图 1), 方法见 2.1。每组样品平行

3 份, 比较峰面积值, 结果 RSD 均 < 3%。



1. 没食子酸; 2. 大黄酸葡萄糖苷; 3. 莲花掌苷; 4. 番泻苷 D; 5. 番泻苷 B; 6. 番泻苷 C; 7. 番泻苷 A; 8. 大黄素 1-O-β-D-葡萄糖苷; 9. 没食子酰-肉桂酰糖苷; 10. 大黄素-8-O-D-葡萄糖苷; 11. 大黄酚-8-O-葡萄糖苷; 12. 4-羟苯基-2-丁酮酰基糖苷类; 13. 芦荟大黄素; 14. 大黄酸; 15. 大黄素; 16. 大黄酚; 17. 大黄素甲醚

图 1 大黄提取液 HPLC

2.7 稳定性试验 提取液活性成分绝对峰面积设为 100%, 浓缩干燥过程中各时间点成分峰面积的相对含量见表 1, 2。

$$\text{相对含量} = \frac{\text{浓缩后峰面积}}{\text{原液峰面积}} \times 100\%$$

由表 1 可知, 在 70 °C 受热过程中, 浓缩 1 h 后各活性成分相对含量降解程度较大, 浓缩 2 h 后的相对含量和浓缩 1 h 后的相比差异不大, 浓缩 3 h 后各相对含量则显著降低。苯丁酮苷类成分降解程度较大, 大黄酸降解明显, 其他游离蒽醌相对较稳定, 二蒽酮类番泻苷 D 降解程度明显。

由表 2 结果可知, 在 70 °C 减压干燥过程中, 在干燥 2 h 后各活性成分含量有所降解, 干燥 3 h 后的各相对含量和干燥 2 h 后的相比降解较少, 总趋势相对较稳定, 干燥过程对各活性成分含量影响较小。番泻苷 D 受热易分解。

综合结果可知, 大黄提取液在 70 °C 减压浓缩干燥过程中, 番泻苷 D 成分降解程度大, 其他各活性成分相对含量均有所降低, 浓缩时间宜控制在 2 h 之内, 各成分在干燥 3 h 过程内稳定。

3 讨论

实验结果表明, 在 70 °C 受热过程中, 浓缩过程中容易发生降解; 干燥过程中不易变化。实验中浓缩 25 mL 样品液, 由于量少选用旋转蒸发仪旋干时间 < 0.5 h, 各成分基本未变, 表明在浸膏干燥过程中相对稳定。对大黄提取后浓缩干燥过程中加热对活性成分稳定性进行研究, 防止大黄用药过程中药效成分的流失, 对其中成药生产提供指导。

表 1 各活性成分浓缩过程对各活性成分的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

成分	原液绝对峰面积	峰面积平均值相对含量比率/%			
		浓缩 0.5 h	浓缩 1 h	浓缩 2 h	浓缩 3 h
没食子酸	1 919 940.3	99.1 ± 1.56	73.5 ± 1.78	71.3 ± 1.89	54.3 ± 1.67
大黄酸葡萄糖苷	1 684 523.1	99.5 ± 1.23	73.9 ± 1.89	68.5 ± 1.65	64.8 ± 1.87
莲花掌苷	166 751.4	84.2 ± 0.92	72.5 ± 1.35	72.2 ± 1.55	64.4 ± 1.76
番泻苷 D	22 190.6	-	-	-	-
番泻苷 B	157 649.6	96.7 ± 1.15	76.7 ± 1.26	73.1 ± 1.62	63.8 ± 2.23
番泻苷 C	85 519.4	96.1 ± 1.24	65.3 ± 1.53	65.1 ± 1.32	62.1 ± 1.65
番泻苷 A	160 105.4	94.1 ± 1.46	69.8 ± 1.33	68.1 ± 1.26	57.5 ± 2.11
大黄素 1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	240 953.9	93.9 ± 1.19	66.6 ± 1.54	66.5 ± 1.60	55.8 ± 1.97
没食子酰-肉桂酰糖苷	1 247 218.3	99.8 ± 1.18	70.1 ± 1.86	69.7 ± 1.92	64.1 ± 1.81
大黄素-8- <i>O</i> - <i>D</i> -葡萄糖苷	39 5371.1	97.0 ± 0.92	76.3 ± 1.19	70.2 ± 1.93	59.2 ± 2.08
大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	1 966 333.0	98.7 ± 1.45	78.1 ± 0.96	75.9 ± 1.69	61.0 ± 2.41
4-羟苯基-2-丁酰基糖苷	1 225 795.1	45.9 ± 1.31	26.8 ± 1.42	26.1 ± 2.10	18.8 ± 2.29
芦荟大黄素	853 142.1	99.6 ± 1.59	91.3 ± 1.68	89.9 ± 1.77	82.1 ± 1.91
大黄酸	211 663.5	78.8 ± 1.09	60.0 ± 1.35	55.8 ± 1.84	47.7 ± 1.96
大黄素	1 015 485.7	99.4 ± 1.68	74.7 ± 1.59	72.8 ± 1.36	63.5 ± 1.23
大黄酚	5 719 083.3	97.2 ± 1.65	77.3 ± 1.86	77.2 ± 1.88	72.9 ± 1.75
大黄素甲醚	1 611 604.3	98.8 ± 1.26	75.8 ± 1.69	71.8 ± 1.83	71.8 ± 1.28

表 2 各活性成分干燥过程对各活性成分的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

成分	原液绝对峰面积	峰面积平均值相对含量比率/%		
		干燥 1 h	干燥 2 h	干燥 3 h
没食子酸	1 919 940.3	104.2 ± 1.12	103.3 ± 1.47	94.5 ± 1.36
大黄酸葡萄糖苷	1 684 523.1	95.2 ± 1.54	97.2 ± 1.61	98.7 ± 1.29
莲花掌苷	166 751.4	93.1 ± 1.11	90.5 ± 1.48	82.8 ± 1.68
番泻苷 D	22 190.6	-	-	-
番泻苷 B	157 649.6	99.4 ± 0.96	95.4 ± 1.65	81.6 ± 1.76
番泻苷 C	85 519.4	99.7 ± 1.15	75.6 ± 1.87	74.4 ± 1.93
番泻苷 A	160 105.4	100.5 ± 1.26	89.9 ± 1.43	90.1 ± 1.31
大黄素 1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	240 953.9	99.2 ± 0.96	89.7 ± 1.68	87.9 ± 2.03
没食子酰-肉桂酰糖苷	1 247 218.3	97.6 ± 1.26	96.9 ± 1.59	93.3 ± 1.99
大黄素-8- <i>O</i> - <i>D</i> -葡萄糖苷	395 371.1	99.8 ± 1.12	94.4 ± 1.95	86.3 ± 2.06
大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	1 966 333.0	100.1 ± 1.17	96.1 ± 1.68	95.7 ± 1.69
4-羟苯基-2-丁酰基糖苷类	1 225 795.1	95.1 ± 1.16	93.3 ± 1.69	95.6 ± 1.88
芦荟大黄素	853 142.1	99.8 ± 1.19	99.6 ± 1.23	98.8 ± 1.66
大黄酸	211 663.5	86.3 ± 1.54	70.1 ± 1.63	61.6 ± 1.59
大黄素	1 015 485.7	97.4 ± 1.72	90.4 ± 1.89	87.7 ± 1.96
大黄酚	5 719 083.3	74.6 ± 1.56	59.8 ± 1.81	60.4 ± 1.33
大黄素甲醚	1 611 604.3	86.8 ± 1.66	76.5 ± 1.52	76.7 ± 1.71

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2010:22.
 [2] 张向红,程黎晖.大黄的药理作用及临床应用研究进展[J].中国药业,2009,18(21):76.
 [3] 陈燕,赵辉,谢锐.大黄的药理及临床研究近况[J].西南国防医药,2005,15(2):178.

[4] 傅兴圣,陈菲,刘训红.大黄化学成分与药理作用研究新进展[J].中国新药杂志,2011,20(16):1534.
 [5] 田国芳,李丽,张村等.大黄生、熟饮片质量评价方法研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):48.
 [6] 刘翠哲,刘喜纲,王汝红.大黄中总蒽醌的提取工艺研究进展[J].天津药学,2004,16(4):40.

[责任编辑 全燕]