

· 工艺与制剂 ·

## 黄连-大黄合煎蒽醌类成分溶出变化

霍志鹏<sup>1,2</sup>, 王玉<sup>2</sup>, 张兰兰<sup>2</sup>, 周水平<sup>2</sup>, 冯锋<sup>1\*</sup>

(1. 中国药科大学, 南京 210009; 2. 天津天士力集团研究院中药所, 天津 300410)

**[摘要]** 目的: 分析大黄-黄连不同配伍比例合煎时大黄中蒽醌类成分的溶出变化。方法: 水煎液经盐酸加热水解、三氯甲烷萃取等方法处理后, 用 RP-HPLC 分析大黄单煎和配伍合煎液中 5 个蒽醌成分的溶出。结果: 黄连-大黄 5 个配伍比例(1:2~2:1 之间) 中芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚等 4 个蒽醌类成分有不同程度溶出增加, 大黄酸有较大幅度的溶出降低。结论: 在特定配伍比例范围内, 配伍黄连对大黄中主要蒽醌成分有助溶作用。

**[关键词]** 黄连; 大黄; 配伍; 蒽醌; 溶出变化

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0001-04

## Dissolution Changes of Anthraquinones from *Coptis chinensis* and *Rheum tangaticum* Decoction

HUO Zhi-peng<sup>1,2</sup>, WANG Yu<sup>2</sup>, ZHANG Lan-lan<sup>2</sup>, ZHOU Shui-ping<sup>2</sup>, FENG Feng<sup>1\*</sup>

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Traditional Chinese Medicine Research and Development Institute of Tasy Academy, Tianjin 300410, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze dissolution changes of anthraquinones from *Rheum tangaticum* in different compatibility ratio of *R. tangaticum* and *Coptis chinensis*. **Method:** After decoction and hydrochloric acid were hydrolyzed by heating, CHCl<sub>3</sub> extraction method and so on, RP-HPLC method was used to analysis dissolution of five anthraquinones from single-boiled of *R. tangaticum* and compatibility decoction. **Result:** In five combination ratios of *R. tangaticum*-*C. chinensis*(1:2-2:1), dissolution of emodin, emodin, chrysophanol, and physcion had different degrees increased, dissolution of rhein decreased greatly. **Conclusion:** In range of specific compatibility ratio, compatibility with *C. chinensis* had solubilization effect for major anthraquinones from *R. tangaticum*.

**[Key words]** *Coptis chinensis*; *Rheum tangaticum*; compatibility; anthraquinone; dissolution changes

黄连和大黄为古方中常见配伍,《伤寒论》收录的大黄黄连泻心汤、附子泻心汤和《金匱要略》收录的泻心汤(三黄泻心汤)等方中的大黄-黄连配伍比例为2:1;近年来在减肥降脂、治疗代谢综合征和治

疗糖尿病的验方<sup>[1-4]</sup>中大黄和黄连配伍使用时有黄连用量大于大黄用量的方剂。大黄具有清热泻火、凉血解毒<sup>[5]</sup>、泻下<sup>[6]</sup>等作用;黄连具有清热燥湿、泻火解毒<sup>[5]</sup>、缓泻<sup>[6]</sup>等作用,两药配伍使用有调和药性和协同起效的作用。对两药配伍后蒽醌类成分溶出的变化进行研究,有助于解释两药配伍使用的意义。本文采用 HPLC 分析不同配伍比例大黄-黄连配伍合煎时的大黄蒽醌成分的溶出变化,为临床应用和新药开发提供依据。

### 1 材料

芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚等对照品(均购于中国药品生物制品检定所,批号分别为 110795-200806, 110757-200206, 110756-

**[收稿日期]** 20111009(007)

**[基金项目]** “重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09401-406)

**[第一作者]** 霍志鹏,在读硕士,从事中药制药工艺、中药分析研究, Tel: 022-26736053, E-mail: thecoldest1987@163.com

**[通讯作者]** \*冯锋,博士,教授,从事中药及天然药物活性成分研究, Tel: 025-83271517, E-mail: fengsunlight@163.com

200110, 110796-201017, 110758-201013), 磷酸、甲醇为色谱纯, 标准 pH 缓冲液 (Merck), 试验用水为蒸馏水或二纯水, 黄连药材采购自重庆石柱, 经中国药科大学冯锋教授鉴定为黄连 *Coptis chinensis* Franch., 大黄药材采购自四川, 经天津中医药大学李天祥副教授鉴定为唐古特大黄 *Rheum tanguticum*, 经检测均符合 2010 年版《中国药典》一部相对应药材项下的规定<sup>[5]</sup>, BP-110S 型电子天平 (Sartorius), SevenEasy S20K 型 pH 计 (Mettler Toledo), 超纯水系统 (MilliQ), 1100 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent), MF10 型粉碎机 (德国 IKA 集团)。

## 2 方法与结果

### 2.1 配伍合煎液中蒽醌类成分溶出分析

**2.1.1 色谱条件** Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (80:20), 柱温 30 °C, 检测波长 254 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup><sup>[5,7]</sup>。

**2.1.2 对照品溶液配制** 精密称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品适量, 加甲醇配制每 1 mL 含芦荟大黄素 34.0 μg, 大黄酸 14.0 μg, 大黄素 12.8 μg, 大黄酚 50.0 μg, 大黄素甲醚 7.6 μg 的蒽醌混合对照品溶液。

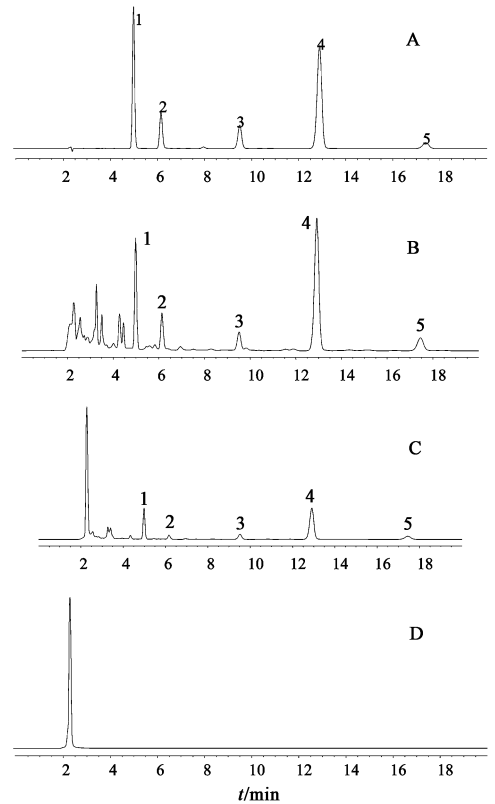
**2.1.3 样品制备** 黄连、大黄药材分别适当粉碎 (4 mm 筛板), 按照表 1 比例配伍, 每个配伍比 3 份, 分别精密称量适量药材置圆底烧瓶中, 加入生药量 15 倍量蒸馏水, 加热回流 30 min, 放冷, 加蒸馏水补足失重, 摇匀, 静置, 200 目滤布滤过。精密移取 1~7 号续滤液 10 mL, 置 100 mL 平底烧瓶中, 加浓盐酸 1 mL, 三氯甲烷 10 mL, 沸水浴加热回流 60 min 水解, 放冷, 转移置分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 水液再用三氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 减压回收溶剂至干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 25 mL 量瓶, 加甲醇至刻度, 摇匀, 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液既得供试品溶液<sup>[5,7-8]</sup>。

**2.1.4 专属性试验** 按 2.1.1 项下分析条件检测 7 号样品 (黄连单煎), HPLC 见图 1, 大黄单煎样品在黄连中 5 个主要蒽醌类成分的出峰位置无色谱峰, 配伍合煎样品的中来自黄连的成分不干扰大黄中蒽醌类成分的分析。

**2.1.5 标准曲线的绘制** 分别精密吸取蒽醌混标溶液 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30 μL, 按 2.1.1 项下分析条件检测, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得到线性方程见表 2。

表 1 黄连-大黄配伍合煎样品制备试验

No.	黄连: 大黄	黄连/g	大黄/g	加水量/g
1	0:1	-	10	150
2	1:2	5	10	225
3	2:3	6	9	225
4	1:1	5	5	150
5	3:2	9	6	225
6	2:1	10	5	225
7	1:0	10	-	150



A. 蒽醌混标; B. 大黄单煎样品; C. 黄连-大黄 (1:2) 样品; D. 黄连单煎样品; 1. 芦荟大黄素; 2. 大黄酸; 3. 大黄素; 4. 大黄酚; 5. 大黄素甲醚

图 1 5 种蒽醌类成分 HPLC

表 2 5 个蒽醌成分标准曲线绘制

成分	线性方程	R <sup>2</sup>	线性范围 /mg·L <sup>-1</sup>
芦荟大黄素	Y = 165.3 X - 36.14	0.999 5	3.40 ~ 102
大黄酸	Y = 56.04 X - 13.00	0.999 5	1.40 ~ 42.0
大黄素	Y = 46.95 X - 0.761	0.999 9	1.28 ~ 38.4
大黄酚	Y = 253.9 X - 0.433	0.999 9	5.00 ~ 150
芦荟大黄素	Y = 19.93 X - 0.602	0.999 9	0.76 ~ 22.8

**2.1.6 精密度试验** 精密吸取蒽醌混标 10 μL, 按 2.1.1 项下分析条件检测, 重复进样 6 次, 5 个蒽醌

类成分的峰面积 RSD 均  $\leq 0.48\%$ ,说明方法精密良好。

**2.1.7 稳定性试验** 取 4 号样品分别于 0,2,4,8,16,24 h 进样 10  $\mu\text{L}$ ,测定峰面积,6 次进样 5 个蒽醌类成分峰面积 RSD 均  $\leq 0.56\%$ ,说明配伍合煎样品 24 h 内稳定性良好。

**2.1.8 重复性试验** 各样品 3 次平行操作测得 5 个蒽醌的含量的 RSD 均  $\leq 2.42\%$ 。

**2.1.9 加样回收率试验** 分别精密移取 2.1.2 项下中蒽醌混合对照品溶液 25.00 mL 置 6 个 100 mL 圆底烧瓶中,减压回收溶剂至干,精密移取 2.1.3 项下中 4 号续滤液 10 mL 置以上 6 个圆底烧瓶中,按 2.1.3 项下从加 1 mL 浓盐酸起操作得加对照品供试品,按 2.1.1 项下分析方法检测,计算回收率,结果芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均回收率分别为 108.1%,107.5%,98.1%,

105.5%,107.4%;RSD 分别为 1.91%,2.82%,4.01%,2.41%,2.36%。

**2.1.10 样品测定** 分别精密取各样品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,按 2.1.1 项下分析条件测定,根据进样量和峰面积计算各样品中蒽醌类成分的溶出。

**2.2 水煎液 pH 测量** Mettler Toledo pH 计用 pH 4,7,9 的标准缓冲液校正后,测量黄连单煎液、配伍合煎液和大黄单煎液的 pH 分别为 4.51,4.65,4.68,4.72,4.74,4.77,5.01。

**2.3 水煎液蒽醌分析** 对照品和典型样品的 HPLC 见图 1;以大黄单煎液中各蒽醌质量浓度为 100%,黄连-大黄比例为横坐标,配伍合煎液中各蒽醌的相对质量浓度为纵坐标作图(图 2);每克大黄的蒽醌类成分溶出见表 3,以大黄单煎液中各蒽醌的溶出为 100%,配伍合煎液中各蒽醌的相对溶出为纵坐标作图(图 3)。

表 3 黄连-大黄不同配伍比时主要蒽醌成分溶出情况

$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

黄连-大黄	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
0:1	0.88	0.48	0.33	2.14	0.87
1:2	1.06	0.23	0.41	2.27	0.96
2:3	1.25	0.21	0.48	2.44	1.14
1:1	1.67	0.28	0.57	3.70	1.61
3:2	1.17	0.26	0.44	2.53	1.19
2:1	1.16	0.26	0.45	2.42	1.30

注:溶出量表示每克大黄药材溶出量。

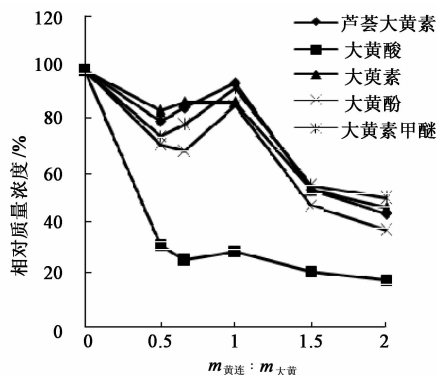


图 2 配伍合煎时蒽醌的相对质量浓度

从相对质量浓度看,配伍后大黄酸的浓度下降最多,黄连-大黄配伍量从 0:1 增加到 1:2 时大黄酸的溶出急剧下降,继续增加黄连比例降低趋势变缓。配伍后溶液中的芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 4 个蒽醌的质量浓度也有降低,从 0:1 到 1:1 这 4 个蒽醌质量浓度降低较少,3:2 和 2:1 时降低量较多;从相对溶出看,在特定配伍比例,配伍黄连合煎对大黄中芦荟大黄素、大黄素、大黄酚、大黄素甲

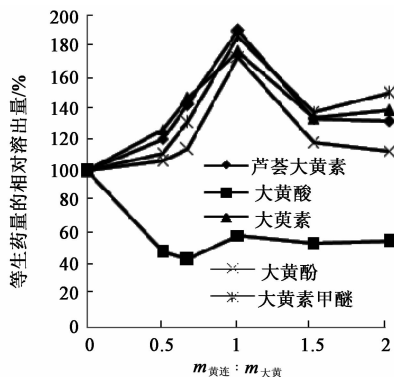


图 3 配伍合煎时蒽醌的相对溶出

醚 4 个蒽醌类成分有增加溶出的作用,在考查的黄连-大黄 1:2~2:1 的 5 个配伍比中,1:2,2:3,1:1 3 个配伍比中,随黄连比例增加助溶作用增强,1:1 配伍时助溶作用最大;进一步增加黄连用量时,助溶作用减弱。和黄连配伍后大黄中大黄酸的溶出明显减少,从大黄单煎到黄连-大黄 1:2 配伍,大黄酸的溶出明显降低,增大黄连配伍量大黄酸的溶出不再继续降低。

### 3 讨论

有文献报道大黄和黄连配伍后总蒽醌溶出降低<sup>[6,8]</sup>,本实验测得蒽醌类成分的溶出变化与文献报道不同,除大黄酸的溶出降低外,其他 4 个蒽醌类成分在配伍合煎液中均有不同程度的增加。原因可能是本研究中水煎液使用 200 目滤布滤过,加盐酸水解的方法进行样品前处理,结合蒽醌转化为游离蒽醌测量,采用该方法时,药液中悬浮的沉淀也有可能在此条件下水解出游离蒽醌;但本实验采用的过滤方式保留了药液中悬浮的沉淀成分,更接近传统中药汤剂中的成分组成。

配伍合煎液 pH 随黄连所占比例增加而升高;芦荟大黄素、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 4 个蒽醌类成分的溶出随配伍黄连量的增加先增加后减少。原因可能是大黄中存在鞣质和蒽醌类两大类酸性成分,两类成分因酸性不同,与黄连生物碱类成分的反应性不同,鞣质类成分优先与生物碱反应,导致溶液 pH 升高,pH 升高促进蒽醌类的解离为离子形式,从而增加蒽醌类成分在水煎液中的溶出,当配伍的黄连增加到一定比例后,鞣质类成分降低到一定程度,黄连生物碱类成分和蒽醌类成分结合形成沉淀又导致了黄连比例偏大时蒽醌溶出的降低。

大黄酸的溶出变化规律与其他 4 个蒽醌类成分差异较大,原因可能为该成分结构中有羧基,酸性较强,与生物碱结合性较强,更容易和生物碱成分结合形成沉淀而导致大黄酸的溶出降低。有研究显示大黄酸为 4 个蒽醌类成分中毒性较大的成分<sup>[9-10]</sup>,本实验初步推测大黄和黄连配伍后大黄酸的溶出降低可能有配伍减毒意义。

综上所述,在特定的黄连-大黄配伍比例,大黄中主要的蒽醌类成分溶出增加,已有研究显示以黄连-大黄为主要药味的泻心汤系列方<sup>[11]</sup>和其他的一些临床验方<sup>[2-5]</sup>有良好的疗效,本实验初步推测大黄

和黄连配伍后蒽醌类成分溶出增加可能为其配伍增效物质基础之一。

### [参考文献]

- [1] 仝小林,朱永宏,周水平. 一种治疗糖尿病的药物组合物:中国,CN101357174[P]. 2007-08-21.
- [2] 张国基. 治疗糖尿病的中药制剂及其制备方法:中国,CN102058762[P]. 2009-11-17.
- [3] 王旭,洪兵,孙斯凡,等. 一种治疗糖尿病的中药复方外用制剂及其制备方法和应用:中国,CN101934032[P]. 2010-09-07.
- [4] 王丽娟. 具有调节血脂作用的药物组合物及其制备方法:中国,CN101288726[P]. 2008-05-15.
- [5] 中国药典. 一部[S]. 2010;22,285.
- [6] 关怀,穆阳,高燕,等. 不同配伍剂量对大黄-黄连药对的有效成分及药理作用的影响研究[J]. 北京中医,2000,19(2):53.
- [7] 薛小平,鹿燕敏,王倩,等. HPLC 法测定清热解毒方芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚及大黄素甲醚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(7):6.
- [8] 秦云,李祥,陈建伟,等. 大黄中蒽醌类成分配伍前后的量变规律[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):94.
- [9] 王清秀,吴纯启,廖明阳. 大黄及其主要成分的毒性毒理研究[J]. 毒理学杂志,2007,21(4):301.
- [10] 王青秀,吴纯启,杨红莲,等. 大黄中游离蒽醌对 HK-2 细胞系的毒性作用研究[J]. 中国新药杂志,2007,16(3):189.
- [11] 柴剑波,李冀,毕珺辉,等. 大黄黄连泻心汤、理中丸对幽门结扎型及醋酸涂抹型胃溃疡寒、热证大鼠模型的药效学比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):134.

[责任编辑 仝燕]