

3 种大黄饮片在贮存过程中 5 种蒽醌成分的含量变化

李佳¹, 李红磊², 许珊^{3*}

(1. 海军总医院药剂科, 北京 100048; 2. 总后勤部机关第一门诊部, 北京 100842;
3. 解放军第 404 医院药剂科, 山东威海 264200)

[摘要] 目的: 分析生大黄、酒大黄和熟大黄 3 种大黄饮片在贮存过程中 5 种蒽醌成分的含量变化。方法: 采用超高效液相色谱仪, 分别对贮存 1, 3, 6, 9 和 12 月的生大黄、酒大黄和熟大黄中的芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚含量进行检测。结果: 检测的 5 种蒽醌成分在 3 种大黄饮片的贮存过程中均呈明显的下降趋势, 其中以大黄酚和大黄素甲醚含量下降最为明显。3 种饮片中熟大黄的蒽醌成分含量下降较小, 而酒大黄的蒽醌成分含量下降最为明显。结论: 大黄饮片在贮存过程中蒽醌成分下降明显。炮制工艺的不同对大黄饮片贮存中蒽醌成分含量变化有影响。

[关键词] 大黄; 蒽醌; 贮存; 超高效液相色谱仪

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0094-03

Study on Change of Content of Five Kind of Anthraquinone in Rhubarb, Rhubarb Atir-fried with Wine and Rhubarb Steamed with Wine During Storage

LI Jia¹, LI Hong-lei², XU Shan^{3*}

(1. Department of Pharmacy, Navy General Hospital of PLA, Beijing 100048, China;
2. First Clinic Department of GLD of PLA, Beijing 100842, China;
3. Department of Pharmacy, The 404rd Hospital of PLA, Weihai 264200, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the changes of the contents of five kinds of anthraquinone in rhubarb, rhubarb stir-fried with wine (W- rhubarb) and rhubarb steamed with wine (S- rhubarb) during storage. **Method:** The content of aloe-emodin, emodic acid, emodin, chrysophanol and rheochrysidin was determined by UPLC in rhubarb, W- rhubarb and S- rhubarb at 1, 3, 6, 9, 12 month storage. **Result:** The content of five kinds of anthraquinone was all decreased. Chrysophanol and rheochrysidin were decreased obviously. The content of anthraquinone in S- rhubarb was lower than these of other. **Conclusion:** The content of anthraquinone in rhubarb obviously decreased during storage. Process method had effects on the contents of anthraquinone in rhubarb.

[Key words] rhubarb; anthraquinone; storage; UPLC

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxin. ex Balf. 或药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根及根茎, 其功能

泻热通便, 凉血解毒, 逐瘀通经, 利湿退黄, 为临床最常用中药品种之一^[1]。由于大黄具有多种的有效成分主要为不稳定的蒽醌类衍生物, 在饮片贮存过程中可能会出现有效成分含量变化较大的情况。本文对 3 种常用的不同炮制工艺大黄饮片(生大黄、酒大黄和熟大黄)在 12 个月贮存期中的 5 种主要蒽醌成分的含量变化进行研究, 为大黄饮片的合理保存提供参考。

[收稿日期] 2011-01-25

[第一作者] 李佳, 本科, 主管药师, 研究方向: 临床药理, Tel: 010-66958227, E-mail: Tanyes@tom.com

[通讯作者] *许珊, 本科, 主管药师, 研究方向: 中药质量控制, Tel: 13863020968, E-mail: 86803392@qq.com

1 仪器与试药

Waters Acquity 超高效液相色谱仪(美国),配二元高压梯度泵,自动进样器,柱温箱及二极管阵列检测器(PDA),Empower 2 色谱工作站;Hamilton 微量进样器(25 μL ,美国);ZK-82B 型真空干燥箱(上海市实验仪器总厂);LGJ-18 冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂);Laborota 4000 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司);SHB-95 型循环水式真空泵(郑州华中仪器厂);AE 163 型电子分析天平(1/10 万,瑞士 Mettler 公司);KQ-500B 型超声波清洗器(江苏省昆山市超声仪器有限公司)。

芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品均购自中国药品生物制品检定所,批号分别为 110795-200604, 0757-200606, 110756-200710, 110796-200710, 110758-200609, 含量分别为 99.5%, 99.5%, 98.5%, 96.5%, 96.5%; 甲醇(色谱纯, Fisher 美国), 水为超纯水其余试剂为分析纯。

3 种供试饮片(生大黄、酒大黄和熟大黄)均由北京鹤延龄中药饮片有限公司提供,均为试验前新炮制好的饮片成品。实验前每种饮片都均分为 5 份,分别保存在饮片库贮存 1, 3, 6, 9, 12 月,贮存期间温度(20 \pm 5) $^{\circ}\text{C}$,湿度在 65% 以下。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Waters Acquity BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μm); 以甲醇-0.1% 磷酸水溶液(69:31)为流动相,流速 0.75 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,检测波长 254 nm,进样量 1 μL ,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ [2]。理论板数按大黄素峰计算应不低于 2 000,见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称量大黄素、大黄酚、大黄酸、芦荟大黄素、大黄素甲醚 5 种对照品约 0.4 mg,加置于同一 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,作为混合对照品溶液,其 5 种成分浓度分别为 4.02, 4.02, 4.08, 4.05, 4.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3 供试品溶液制备 分别称取上述 3 种大黄饮片适量,精密称定后加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 1 h,放冷,称量后用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 5 mL,置烧瓶中,挥去溶剂,加三氯甲烷 10 mL 溶解,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,残液再用三氯甲烷提取 3 次,每次 10 mL,合并三氯甲烷液,减压回收三氯甲烷,残渣加甲醇使溶解后置 10 mL 量瓶,加甲醇至刻

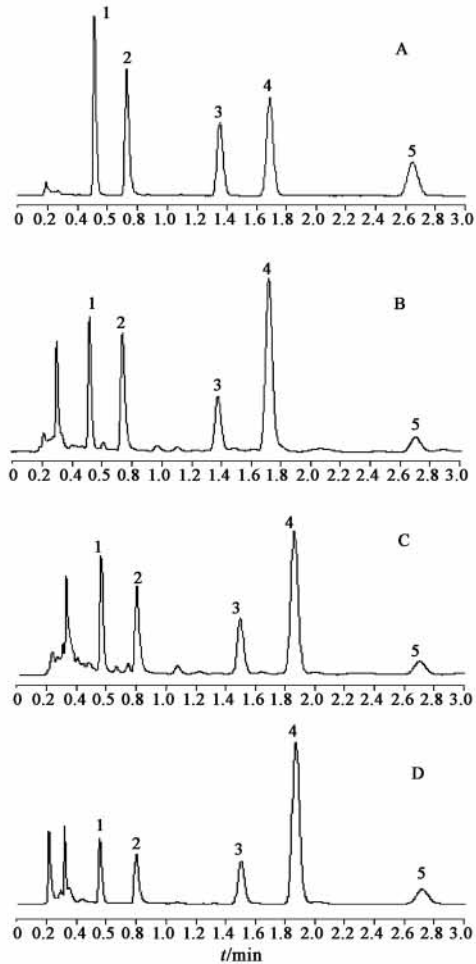


图 1 样品 UPLC

A. 对照品; B. 生大黄; C. 酒大黄; D. 熟大黄;

1. 芦荟大黄素; 2. 大黄酸; 3. 大黄素; 4. 大黄酚; 5. 大黄素甲醚度, 摇匀, 微孔滤膜(0.22 μm) 滤过即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 0.5, 1, 2, 4, 8, 10, 15, 20 mL 至 50 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 将贮备液和 5 种稀释所得溶液在 UPLC 上依次进样 1 μL , 分别记录峰面积。以 5 种成分峰面积(Y)为纵坐标, 进样量(X)为横坐标, 绘制标准曲线, 得不同对照品的 UPLC 回归方程、相关系数、线性范围见表 1。

表 1 5 种待测蒽醌组分的回归方程、相关系数和线性关系

对照品	线性方程	r	线性范围/ μg
芦荟大黄素	$Y = 3.2590X + 6.5519$	0.9996	0.0402 ~ 1.608
大黄酸	$Y = 2.7133X + 2.6294$	1.000	0.0402 ~ 1.608
大黄素	$Y = 1.8245X + 0.9064$	0.9998	0.0408 ~ 1.632
大黄酚	$Y = 2.2150X + 1.0516$	0.9998	0.0405 ~ 1.620
大黄素甲醚	$Y = 6.3006X - 3.5113$	0.9998	0.0400 ~ 1.600

2.5 精密度试验 取混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件,连续进样 6 次,每次 1 μL ,测定记录与对照品相对应的各峰峰积,计算其 RSD(表 2),结果表明该仪器精密度较好。

表 2 方法学考察的 RSD($n=6$) %

项目	RSD				
	芦荟 大黄素	大黄酸	大黄酚	大黄素	大黄素 甲醚
精密度	0.88	1.20	1.72	1.06	1.22
稳定性	0.94	1.35	1.02	1.79	1.82
重复性	0.96	0.99	0.89	1.03	1.26
加样回收率	1.44	1.71	1.84	1.92	1.42

2.6 稳定性试验 取同一生大黄样品按 2.3 项下项下方法配制溶液,分别在 0, 1, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样,按 2.1 项下色谱条件,连续进样 6 次,每次 1 μL ,测定记录与对照品相对应的各峰峰积,计算其 RSD(表 2),结果表明供试品溶液可在 24 h 内保持稳定。

2.7 重复性试验 取生大黄样品 6 份,按 2.3 项下方法配制溶液,按 2.1 项下色谱条件,测定记录与对照品相对应的各峰峰积,计算其 RSD(表 2),结果表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知各游离蒽醌含量的同批生大黄提取物适量,置 100 mL 量瓶中,分别加入混合对照品溶液 10, 12.5, 15 mL,甲醇定容至刻度,摇匀,按 2.1 项下色谱条件,依法测定,平行操作 2 次,记录峰面积,计算回收率,结果如表 2,表明该方法准确性良好。

2.9 样品的测定与结果 分别取新制成和保存 1, 3, 6, 9, 12 月的生大黄、酒大黄和熟大黄饮片,按 2.3 项下方法制备各供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定各待测样品的各组分峰面积,计算 5 种蒽醌成分的含量。结果 3 种大黄饮片含有的 5 种游离蒽醌类成分变化如图 2 所示。所检测的 5 种蒽醌成分均呈下降趋势,其中大黄素甲醚和大黄酚在 12 个月贮存期内下降最为明显;大黄酸和芦荟大黄素略有下降。3 种饮片中,酒大黄的蒽醌成分含量损失最为明显,其次是生大黄,熟大黄的 5 种蒽醌成分含量损失相对最小。

3 讨论

大黄是临床常用中药,其蒽醌成分在煎药过程中容易分解,故在入煎剂时多后下。由于中药饮片在厂家发货至药房,再调配至患者处需要一定的时

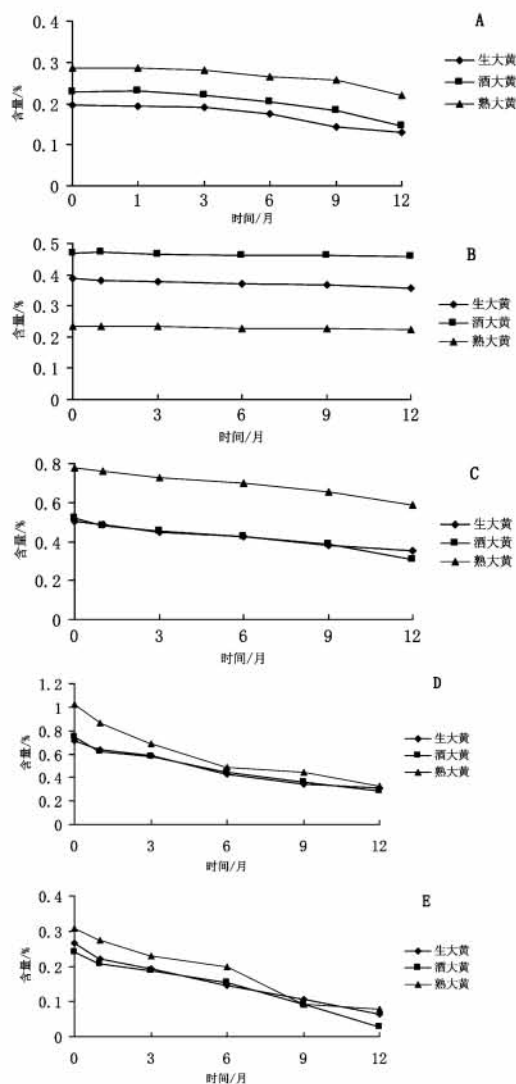


图 2 不同贮存时间样品蒽醌成分含量变化
A. 芦荟大黄素; B. 大黄酸; C. 大黄素;
D. 大黄酚; E. 大黄素甲醚

间间隔。虽然饮片在饮片厂出厂前都经过检测,但是在该时间段其含量仍然会发生较大变化。从本文研究可知,在相同贮藏时间大黄 3 种炮制工艺饮片在相同贮存时间内,其蒽醌成分含量均有下降,但是不同炮制工艺的大黄饮片下降程度具有明显差异(稳定性:熟大黄 > 酒大黄 > 生大黄),说明不同炮制工艺对大黄饮片保存时限有不同程度影响。由于温度对大黄的蒽醌成分影响显著^[3],酒大黄、熟大黄在炮制过程中存在加热因素,在炮制过程中最容易变化的蒽醌成分已经丢失,可能是其在贮存中蒽醌成分含量下降较小的原因。

另据报道^[4]大黄饮片中不同蒽醌成分含量比例