

大黄不同饮片大孔树脂分离部位的提取物总量及其 HPLC 比较研究

李 丽, 张 村, 肖永庆*, 林 娜, 刘春芳, 逢 镇, 李桂柳, 陈东东, 田国芳
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 通过对大黄不同饮片大孔树脂分离部位的提取物总量及其 HPLC 比较, 确定饮片炮制前后成分变化明显的组分, 探索导致大黄药性变化的药效物质基础。方法: 以 75% 乙醇提取大黄各种饮片, 提取物经大孔树脂 D101 分离, 分别制备成水 20% 乙醇 50% 乙醇和 95% 乙醇部位, 以 HPLC 对各部位进行比较。结果: 饮片总提取物重量由高到低为生片、酒片 > 醋片 > 熟片 > 炭片。酒片、醋片及炭片均为 50% 乙醇洗脱物最多, 生片和熟片均为 H₂O 洗脱物最多, 但生片 20% 和 50% 乙醇洗脱物的重量基本一致, 而熟片则呈依次递减趋势。各饮片 4 个洗脱部位中均为 95% 乙醇洗脱部位的洗脱物最少。HPLC 比较结果显示, 各组分分离良好, 各饮片间的 20% 和 50% 及 95% 乙醇洗脱部位色谱峰变化显著。结论: 随着炮制条件的加剧, 各饮片化学成分的组成及含量发生了较明显的变化, 提取物重量及 HPLC 比较结果提示, 20%、50% 及 95% 乙醇洗脱部位化学成分的变化可能是导致大黄不同饮片药性变化的物质基础。

[关键词] 大黄; 饮片; 大孔树脂; 高效液相色谱; 组分

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)06-0007-05

Comparison on Weight of Macroporous Resin Separation Parts and its HPLC Profile Among Different Chinese Herbal Pieces from *Rheum palamatum* L.

LI Li, ZHANG Cun, XIAO Yong-qing*, LIN Na, LIU Chunfang, PANG Zhen,
LI Gui-liu, CHEN Dong-dong, TIAN Guofang

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the weight of macroporous resin separation parts and its HPLC profile with the different Chinese herbal pieces from *Rheum palamatum* L., and to explore the effective substance of the processed herbal medicine. **Method:** 75% ethanol was used for extraction. After the separation by the macroporous resin, four parts were analyzed by HPLC analysis. **Result:** The total extraction weight from high to low is no-parched, liquored > vinegar-baked > braising with liquor > charred. The mass of 50% ethanol elution part is highest in liquored, vinegar-baked and charred. The 20% and 50% ethanol elution part have the same weight in no-parched, however, the braising with liquor represent a degressive tendency. HPLC results demonstrate that the 20%, 50% and 95% ethanol elution parts differences are remarkably. **Conclusion:** With the increased processing conditions, the composition of chemical constituents and content in different pieces has obvious changed. Extractions weight and HPLC results indicate that the changes of chemical constituents may result in different property among different Chinese herbal pieces from *Rheum palamatum* L.

[Key words] *Rheum palamatum* L.; chinese herbal pieces; macroporous resin; HPLC; components

[收稿日期] 2009-02-02

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(30730111)

[通讯作者] * 肖永庆, Tel: (010) 84040221; E-mail: x.heqi@163.com

大黄为中医临床上应用最广的中药之一,常以不同的炮制品组方入药,生大黄以攻积泻导滞、泻火解毒为主,泻下作用峻烈,易伤胃气,炮制后其泻下作用减弱,同时增加活血、止血等作用^[1]。大黄化学成分复杂,主要含有蒽醌苷及苷元、蒽酮、苯丁酮及鞣质类成分。大黄不同炮制品所具有的功效特点,与其内在物质基础的变化有着密切的关系。本文利用乙醇提取、大孔树脂分离的方法,使各饮片中的有效成分群得以富集,通过 HPLC 分析比较以找出其变化的物质基础,对于明确其物质基础及其变化规律,揭示炮制改变大黄药性的科学内涵具有重要的意义。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(Waters 2695 Separations Module, Waters 2996 PAD 检测器, Millennium³² 数据处理软件);超声清洗器 KQ-500DB(昆山市超声仪器有限公司);EYELA 旋转蒸发器;甲醇为色谱纯,水为纯净水;其它试剂均为分析纯。

实验用药材采自青海玉树,经中国中医科学院中药研究所胡世林教授鉴定为掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的根及根茎;供试饮片以掌叶大黄药材为样品,按照《中国药典》、《全国中药炮制规范》相关项下的炮制方法,分别制备成 10 批大黄生片、酒炙片、醋炙片、熟大黄片以及大黄炭片,供实验分析用。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件^[2] Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), phenomenex 保护柱,柱芯(C₁₈, 5 μm, 3 mm × 4 mm);流动相:甲醇(A)-1.0%冰醋酸溶液(B)梯度洗脱,0~10 min:A 由 5% 升至 30%,10~40 min:A 由 30% 升至 60%,40~60 min:60% A,60~70 min:A 由 60% 升至 100%,70~75 min:100% A;检测波长:280 nm,430 nm。柱温:30 °C;流速为 1.0 mL·min⁻¹。在此条件下,不同大黄饮片大孔树脂分离部位均可得到较好分离。

2.2 供试品溶液的制备 称取大黄各饮片粉末(40 目)各 5 g,分别加 75% 乙醇超声提取 3 次(150, 150, 100 mL; 30, 30, 20 min),滤过,合并滤液,减压浓缩至干,称定重量,计算总提取物重量。取各饮片提取物,加水 50mL 溶解,上大孔树脂柱 D101(Φ2.5 cm × 60 cm),依次以水、20% 乙醇、50% 乙醇、95% 乙醇洗脱 8 倍量柱体积,收集各洗脱部位,减压回收至干,称定重量,计算各洗脱部位重量。再以甲醇-水

溶解,定容至 25 mL,作为供试品溶液。

2.3 各饮片大孔树脂分离部位质量比较 各饮片总提取物重量从大到小依次为生、酒>醋>熟>炭。酒片、醋片及炭片均为 50% 乙醇洗脱物最多,生片和熟片均为水洗脱物最多,但生片 20% 乙醇和 50% 乙醇洗脱物的重量基本一致,而熟片则呈依次递减趋势。另外,不同饮片同一部位的比较也显示,各饮片 4 个洗脱部位中均为 95% 乙醇洗脱部位的洗脱物最少,见图 1。

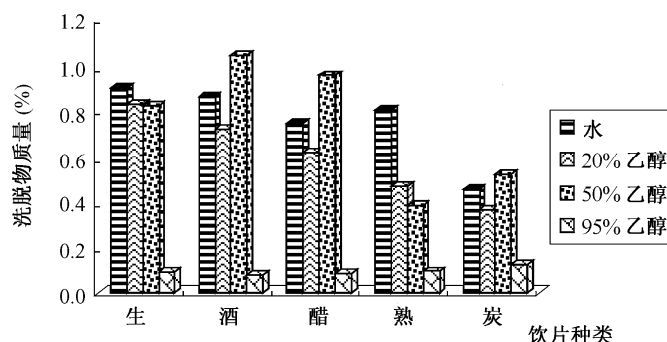


图 1 不同饮片各洗脱部位洗脱物质量比较

2.4 HPLC 图谱比较

2.4.1 不同饮片同一部位比较 各饮片水洗脱部位色谱峰较少,280 nm 下主要为没食子酸,其峰面积大小依次为:熟>生>酒>醋>炭。430 nm 下主要为 Rt 20~32 min 的两个峰,峰面积生片>酒片>醋片>熟片>炭片。见图 2~3。

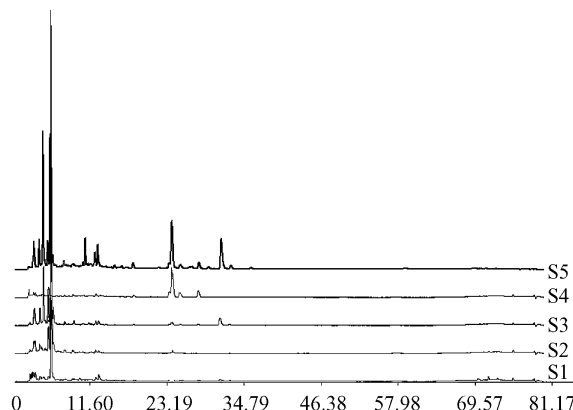


图 2 各饮片 H₂O 部位(280 nm)

(从上至下:生大黄,酒大黄,醋大黄,熟大黄,大黄炭。以下同)

20% 乙醇洗脱部位 280 nm 和 430 nm 下,生、酒、醋饮片的图谱较近似,色谱峰主要集中在 Rt 10~24 min。熟、炭片的图谱相似,与生、酒、醋饮片相比其峰数及峰面积变化显著。见图 4~5。

50% 乙醇部位,生、酒饮片的图谱较近似,280nm 下色谱峰主要为两组,即 Rt 10~22 min 和 Rt 34~44 min,430 nm 色谱峰数比同一波长下的其他洗脱部位

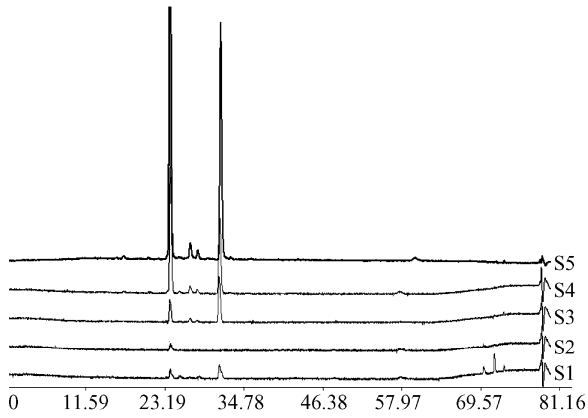


图 3 各饮片 H₂O 部位(430 nm)

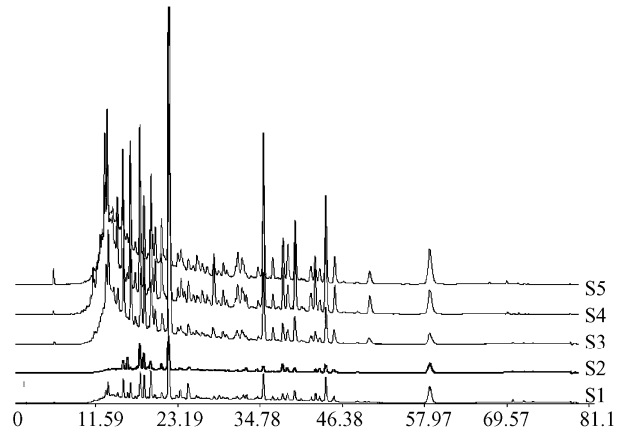


图 6 各饮片 50% 乙醇洗脱部位(280 nm)

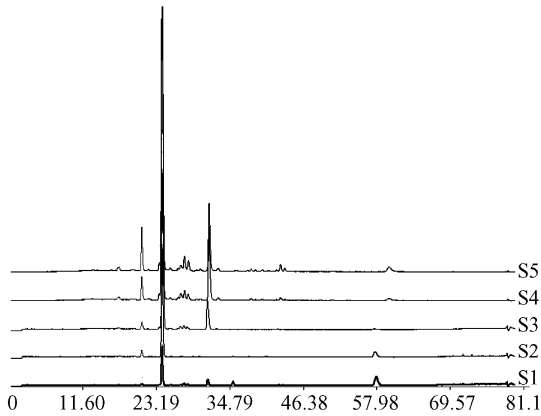


图 4 各饮片 20% 乙醇洗脱部位(430 nm)

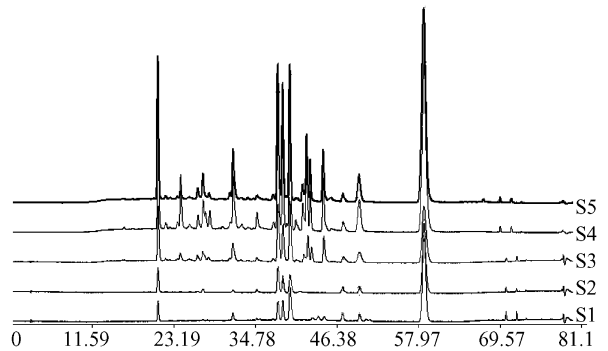


图 7 各饮片 50% 乙醇洗脱部位(430 nm)

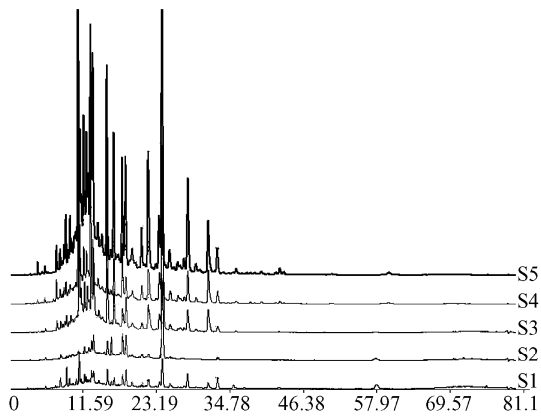


图 5 各饮片 20% 乙醇洗脱部位(280 nm)

离葱醌峰面积与其它饮片相比增加显著。见图 8 ~ 9。

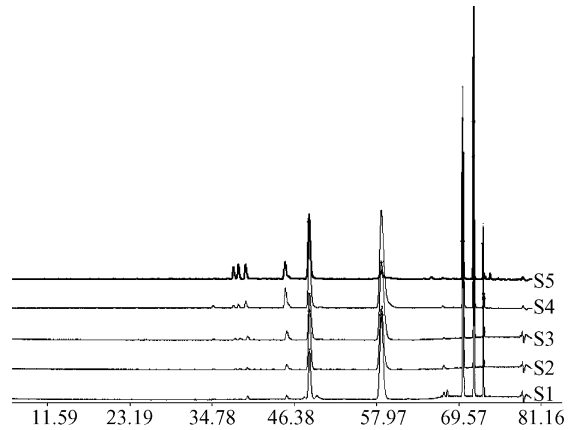


图 8 各饮片 95% 乙醇洗脱部位(430 nm)

多,醋片图谱与生、酒片相似但峰面积相对减少。熟、炭饮片的色谱图相似,与生、酒、醋饮片相比,280 nm 及 430 nm 图谱色谱峰数及峰面积均显著降低。见图 6~ 7。

95% 乙醇部位在各饮片的 4 个洗脱部位中洗脱物总量均为最少。生、酒、醋饮片 280 nm 下图谱较近似,主要为 Rt 45 min 的色谱峰及 3 个游离葱醌成分(大黄素、大黄酚、大黄素甲醚)。熟、炭饮片与之相比,3 个游离葱醌成分峰面积相差不大,但 Rt 45 min 的色谱峰变化显著。430 nm 下,酒、醋、熟及炭片图谱相似,主要为 4 个游离葱醌成分及 Rt 48min 的色谱峰,而生片中大黄酸峰面积积极低。炭品的游

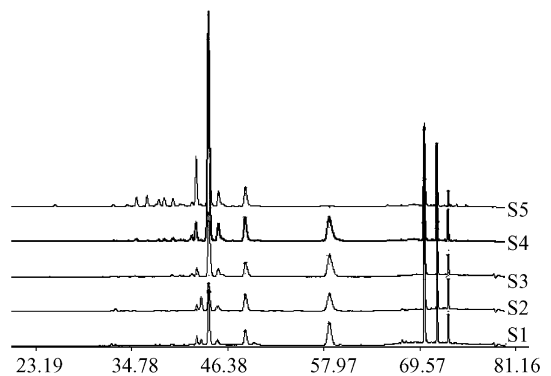


图 9 各饮片 95% 乙醇洗脱部位(280 nm)

2.4.2 同一饮片不同部位比较 大黄饮片各洗脱部位色谱峰分离较好,均以 20% 和 50% 乙醇部位的色谱峰较多(见图 12~ 15)。与之相比,熟大黄及大黄炭饮片只有 95% 乙醇洗脱部位色谱峰相对较多。见图 16~ 19。

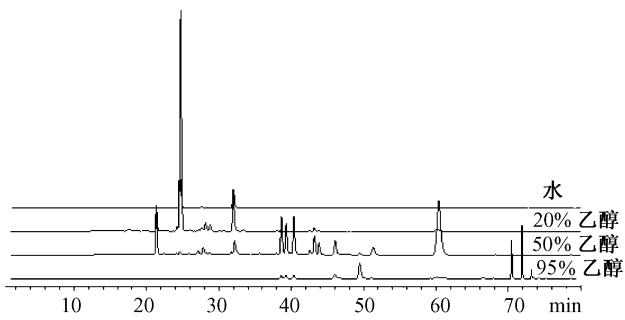


图 10 生大黄各洗脱部位(430 nm)

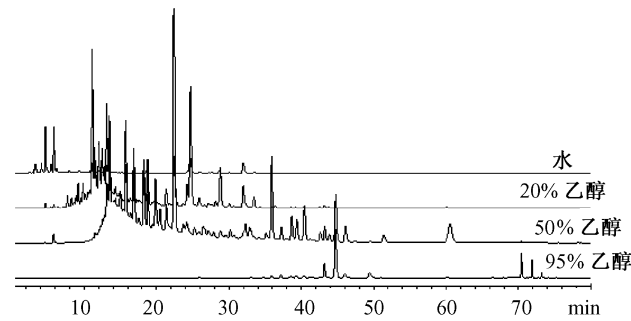


图 11 生大黄各洗脱部位(280 nm)

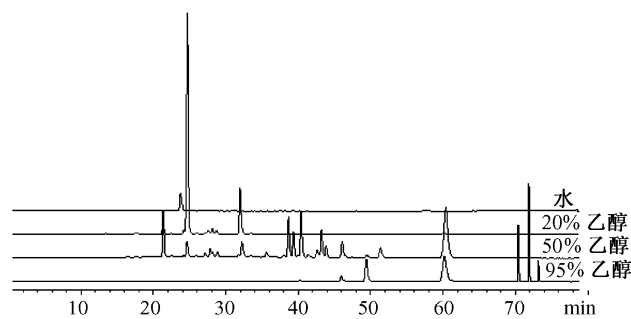


图 12 酒大黄各洗脱部位(430 nm)

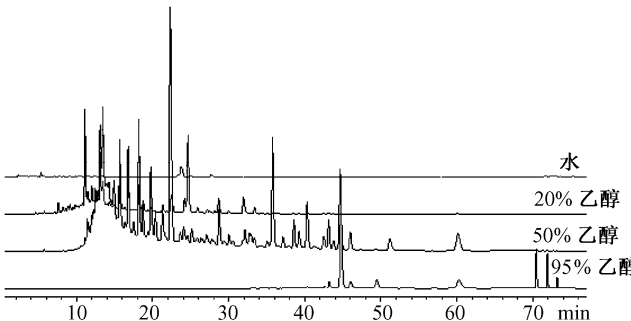


图 13 酒大黄各洗脱部位(280 nm)

3 讨论

大黄生片入汤剂一般应后下,或用开水泡服,久煎则泻下力减弱^[3]。本课题对水煎、及乙醇提取的生大黄 HPLC 图谱的比较也显示,水煎提取后生大黄成分破坏较多,其 HPLC 图谱与熟大黄相似,而乙

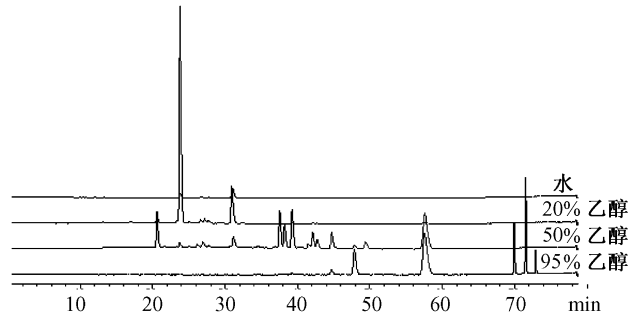


图 14 醋大黄各洗脱部位(430 nm)

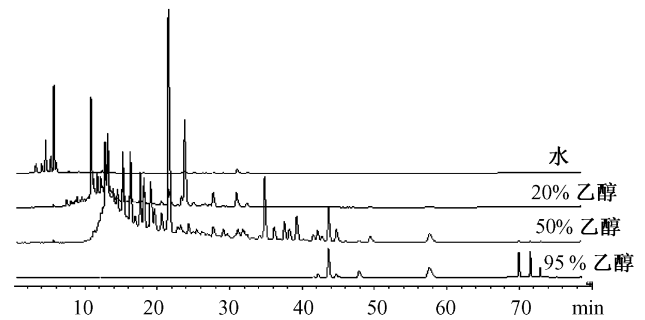


图 15 醋大黄各洗脱部位(280 nm)

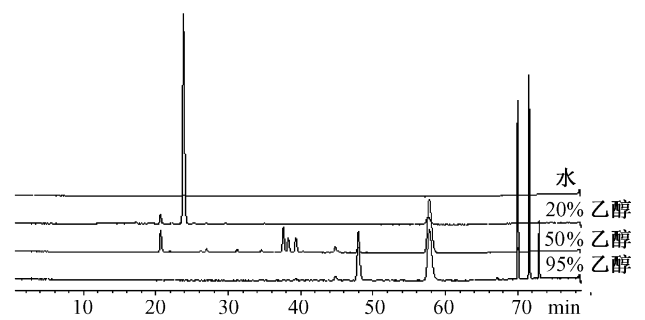


图 16 熟大黄各洗脱部位(430 nm)

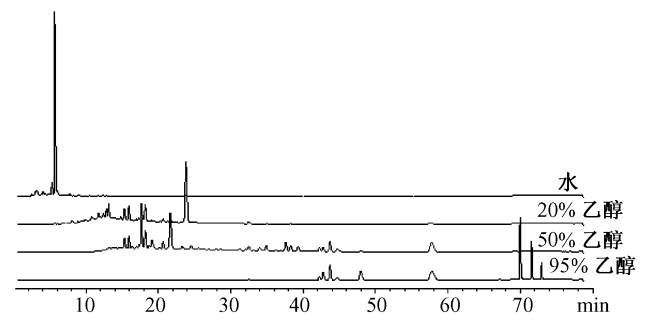


图 17 熟大黄各洗脱部位(280 nm)

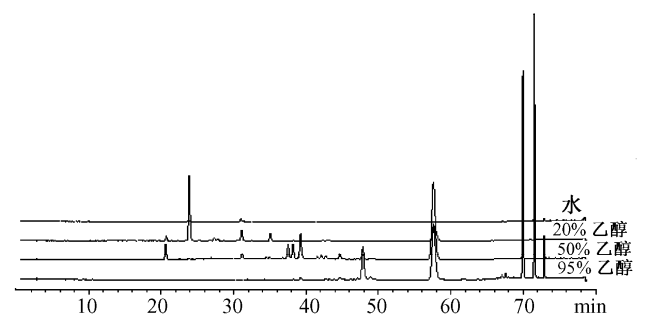


图 18 大黄炭各洗脱部位(430 nm)

醇提取可以较好地避免高温对成分的破坏,且能反

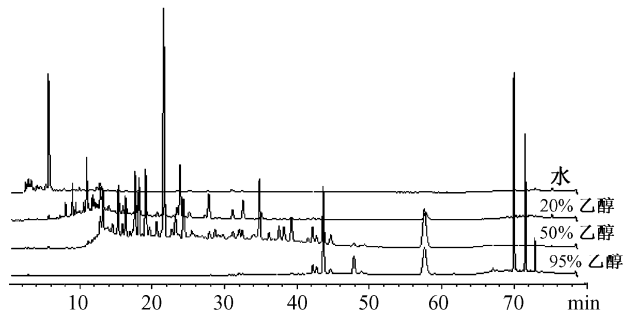


图 19 大黄炭各洗脱部位(280 nm)

映出不同饮片间的差异,故本实验选择乙醇作为提取溶剂。

通过对大黄不同饮片大孔树脂分离部位的提取物总量及其 HPLC 比较,确定了大黄饮片炮制前后成分变化明显的组分。各饮片均以 20% 乙醇、50% 乙醇及 95% 乙醇洗脱部位色谱峰变化显著,说明随

着炮制条件的加剧,各饮片化学成分的组成及含量发生了较明显的变化。20% 乙醇、50% 乙醇及 95% 乙醇洗脱部位化学成分的变化可能是导致大黄不同饮片药性变化的物质基础,有待对各部位进行药效学研究,探明其物质基础和生物化学的变化规律及其相互间的内在联系,剖析炮制改变大黄药性的科学内涵。

[参考文献]

- [1] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 170.
- [2] 张 村, 肖永庆, 李 丽, 等. 大黄不同饮片指纹图谱研究[J]. 北京中医药大学学报. 2009, 32(2): 118.
- [3] 雷载权. 中药学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 171.