

彝药蜜酒同制大黄炮制前后 17 种成分含量比较

李燕芳¹, 吕露阳¹, 李莹¹, 刘圆², 何建萍³, 王玥¹, 曾锐^{1*}

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

2. 西南民族大学青藏高原研究院, 四川 成都 610041

3. 楚雄州中医院, 云南 楚雄 675000

摘要: 目的 比较彝药蜜酒同制大黄炮制前后 17 种成分含量变化。方法 采用 HPLC 法对大黄和蜜酒同制大黄中的没食子酸、儿茶素、表儿茶素、虎杖苷、阿魏酸、番泻苷 B、大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、番泻苷 A、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 17 种成分进行定量分析。结果 没食子酸、儿茶素、表儿茶素、虎杖苷、阿魏酸、番泻苷 B、大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、番泻苷 A、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 17 种成分能够良好分离; 其线性范围为 25.94~830.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 1$)、28.20~1 805.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 8$)、77.03~2 465.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 2$)、25.00~1 600.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 3$)、11.41~730.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 6$)、7.85~1 005.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 0$)、210.47~6 735.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 0$)、113.28~3 625.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 6$)、10.94~700.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 8$)、218.80~1 415.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 6$)、55.00~1 760.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 2$)、48.44~1 550.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 7$)、19.22~625.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 6$)、18.91~1 210.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 1$)、14.06~450.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 2$)、61.41~1 965.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 4$)、25.16~805.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 5$); 17 种成分 3 个质量浓度下加样回收率平均值在 93.71%~102.77%。大黄经彝药蜜酒炮制法炮制后番泻苷类及蒽醌类成分的含量显著降低, 而没食子酸的含量则显著升高。结论 首次基于 HPLC 法对彝药蜜酒同制大黄中 17 种成分进行定量分析, 为制订彝药蜜酒同制大黄的质量标准提供参考。

关键词: 蜜酒同制; 彝药; 大黄; 炮制; HPLC; 没食子酸; 儿茶素; 表儿茶素; 虎杖苷; 阿魏酸; 番泻苷 B; 大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷; 番泻苷 A; 大黄素-1-*O*-葡萄糖苷; 大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷; 山柰酚; 大黄素-8-*O*-葡萄糖苷; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素; 大黄酚; 大黄素甲醚

中图分类号: R283.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)09-2074-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.09.010

Comparison of 17 constituents in rhubarb before and after honeyed wine processing in Yi medicine

LI Yan-fang¹, LV Lu-yang¹, LI Ying¹, LIU Yuan², HE Jian-ping³, WANG Yue¹, ZENG Rui¹

1. School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

2. Institute of Qinghai-Tibetan Plateau, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

3. Yunnan Chuxiong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chuxiong 675000, China

Abstract: Objective To compare the changes of 17 constituents in rhubarb before and after the processing of honeyed wine.

Methods HPLC method was used to quantitatively analyze 17 components including gallic acid, catechin, epicatechin, polydatin, ferulic acid, sennoside B, rhein-8-*O*- β -D-glucoside, sennoside A, emodin-1-*O*-glucoside, chrysophanol-8-*O*-glucoside, kaempferol, emodin-8-*O*-glucoside, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, and physcion in honeyed wine rhubarb. **Results** Seventeen kinds of ingredients, gallic acid, catechin, epicatechin, polydatin, ferulic acid, sennoside B, rhein-8-*O*- β -D-glucoside, sennoside A, emodin-

收稿日期: 2019-01-08

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC1700705); 四川省留学人员科技活动项目择优资助经费计划 (2018-68); 四川省科技项目 (2019YFS0174); 四川省阿坝州应用技术与开发项目 (YYJS2017004); 四川省扶贫专项 (2016NZYZF0015); 西南民族大学 2018 中央高校重点项目 (2018NZD18); 大学生创新项目 (X201810656213)

作者简介: 李燕芳 (1992—), 女, 硕士研究生。Tel: 18980022734 E-mail: yanfangli8225@126.com

***通信作者** 曾锐, 副教授, 主要从事中药及民族药炮制制剂研究。Tel: (028)85522099 E-mail: rzeng@swun.edu.cn

1-*O*-glucoside, chrysophanol-8-*O*-glucoside, kaempferol, emodin-8-*O*-glucoside, aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, and physcion, were well separated. The linear ranges of which were 25.94—830.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 1$), 28.20—1 805.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 8$), 77.03—2 465.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 2$), 25.00—1 600.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 3$), 11.41—730.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 6$), 7.85—1 005.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 0$), 210.47—6 735.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 0$), 113.28—3 625.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 6$), 10.94—700.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 8$), 218.80—1 415.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 6$), 55.00—1 760.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 2$), 48.44—1 550.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 7$), 19.22—625.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 6$), 18.91—1 210.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 1$), 14.06—450.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 2$), 61.41—1 965.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 4$), and 25.16—805.00 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.999\ 5$), respectively. The averages of the total recovery were 93.71%—102.77% at the three concentrations of 17 components. The content of sennoside and anthraquinone was significantly reduced after rhubarb was processed by Yi method, while the content of gallic acid was significantly increased. **Conclusion** For the first time, HPLC method was used to quantitatively analyze the 17 components in honeyed wine rhubarb, which provided a reference for the quality standards of honeyed wine rhubarb.

Key words: honeyed wine process; Yi medicine; *Rhei Radix et Rhizoma*; processing; HPLC; gallic acid; catechin; epicatechin; polydatin; ferulic acid; sennoside B; rhein-8-*O*- β -*D*-glucoside; sennoside A; emodin-1-*O*-glucoside; chrysophanol-8-*O*-glucoside; kaempferol; emodin-8-*O*-glucoside; aloe-emodin; rhein; emodin; chrysophanol; physcion

彝药冻巴或勒乌,即大黄,是我国传统的中、彝药材,汉医和彝医文献均有记载;彝药中其来源于蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根及根茎^[1]。大黄的化学成分主要有蒽醌类、鞣质类、二苯乙烯苷类等^[2-9],具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒等功效^[1]。现代药理研究表明,番泻苷类及蒽醌苷类为大黄泻下作用的主要活性成分^[10],没食子酸等鞣质类为大黄解热、收敛、止血的主要活性成分^[11-12]。其不同的炮制品具有不同的药理作用^[13],且酒大黄、熟大黄、醋大黄、大黄炭等炮制品的化学成分及药理作用已有许多研究报道^[14-19]。而蜜酒同制大黄是彝药特色炮制品种,经蜜酒制及发酵后,可清上焦血分热毒,减缓大黄的峻下作用,可治疗目赤咽痛,清胃肠湿热和消暑等^[13]。

但目前,蜜酒同制大黄的化学成分及质量标准的相关研究尚未见报道。本研究参考《中国药典》对大黄及其炮制品的质量控制,以及与致泻相关的番泻 B、大黄酸-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷等蒽醌类衍生物和与解热相关的没食子酸、儿茶素等鞣质类等的研究,通过 HPLC 对大黄与蜜酒同制大黄中 17 种成分(没食子酸、儿茶素、表儿茶素、虎杖苷、阿魏酸、番泻苷 B、大黄酸-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、番泻苷 A、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚)的含量进行测定,为进一步对蜜酒同制大黄的质量和药效物质基础提供参考依据。

1 仪器与材料

Waters 2695/2996 型高效液相色谱仪,包括真

空脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱,UV 2489 检测器,Empower 2.0 工作站,美国 Waters 公司;Diamondsil C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;ESJ200-4 型万分之一电子天平,沈阳龙腾电子有限公司;BT25S 型十万分之一电子天平,北京赛多利斯科学仪器有限公司;KQ5200E 型超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司;DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司。

对照品没食子酸(批号 18032703)、儿茶素(批号 18061201)、虎杖苷(批号 141121)、山柰酚(批号 150929)、芦荟大黄素(批号 18032708)、大黄酸(批号 131220)、大黄素(批号 120210),质量分数均 $\geq 98\%$,为成都普菲德有限公司的产品;对照品表儿茶素(批号 CHB180831)、番泻苷 A(批号 CHB170508)、番泻苷 B(批号 CHB170509)、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷(批号 141209)、大黄酚(批号 CHB180724)和大黄素甲醚(批号 CHB170817),质量分数均 $\geq 98\%$,为成都克洛玛生物科技有限公司的产品;对照品阿魏酸(批号 111020),质量分数 $\geq 98\%$,为四川省维克奇生物科技有限公司的产品;对照品大黄酸-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷,质量分数均 $\geq 98\%$,为南京森贝伽生物科技有限公司的产品。流动相甲醇为色谱纯,批号 171223, Fisher 公司;甲酸(质量分数 $\geq 85.0\%$)、提取用甲醇(质量分数 $\geq 99.5\%$),分析纯,购于成都市科龙化工试剂厂;水为自制超纯水, Thermo Barnstead GenPure UV/UF 系统制备。

所收集的 14 批样品信息见表 1。其中 7 批大黄经中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所

表 1 样品来源

Table 1 Origin of samples

编号	品种	来源	编号	样品	来源
RT3	唐古特大黄	四川若尔盖	RT3-MJ	炮制品	自制
RT4		3~6 年生	RT4-MJ	炮制品	自制
RT5			RT5-MJ	炮制品	自制
RT6			RT6-MJ	炮制品	自制
RYZ	掌叶大黄	四川黑水	RYZ-MJ	炮制品	自制
RZZ			RZZ-MJ	炮制品	自制
RQT	唐古特大黄	青海省	RQT-MJ	炮制品	自制

黄林芳教授鉴定为唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim. ex Baff. 和掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.; 7 批炮制品为实验室自制, 具体炮制方法为取大黄细粉-炼老蜂蜜-黄酒的质量比为 100:40:45, 混匀, 捣成泥状, 蒸透(约 2 h), 搓成直径为 4 cm 的长条, 50 °C 烘至含水量 40%, 置密封容器内, 于 30 °C 焖润 10 d, 取出, 切成 3~5 mm 厚片, 晾干即得^[18,20-21]。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Hypersil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱程序为 0~5 min, 20%~25% 甲醇; 5~25 min, 25%~45% 甲醇; 25~40 min, 45%~75% 甲醇; 40~50 min, 75%~85% 甲醇; 50~67 min, 85% 甲醇; 柱温 30 °C; 体积流量为 1 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长 260 nm。典型图谱见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取适量的表儿茶素、大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、番泻苷 A 置于 50 mL 量瓶中; 没食子酸、儿茶素、虎杖苷、阿魏酸、番泻苷 B、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚置于 100 mL 量瓶中。用甲醇做溶剂分别溶解稀释, 制成质量浓度分别为没食子酸 16.6 mg/mL、儿茶素 36.0 mg/mL、表儿茶素 49.4 mg/mL、虎杖苷 32.0 mg/mL、阿魏酸 14.6 mg/mL、番泻苷 B 20.0 mg/mL、大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 129.4 mg/mL、番泻苷 A 72.4 mg/mL、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷 14.0 mg/mL、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷 28.4 mg/mL、山柰酚 35.2 mg/mL、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷 31.0 mg/mL、芦荟大黄素 12.3 mg/mL、大黄酸 24.2 mg/mL、大黄素 9.0 mg/mL、大黄酚 39.4 mg/mL、

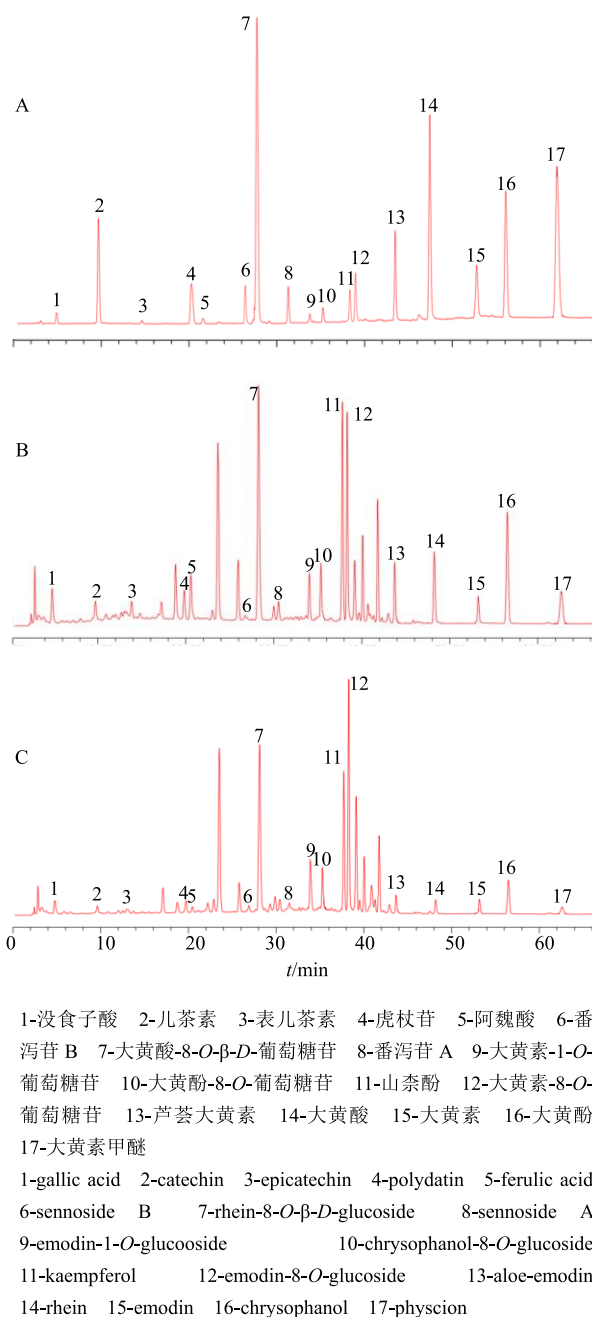


图 1 混合对照品 (A)、大黄 (RZZ, B)、蜜酒同制大黄 (RZZ-MJ, C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substance (A), rhubarb (RZZ, B) and honeyed wine rhubarb (RZZ-MJ, C)

大黄素甲醚 16.2 mg/mL 的单一对照品储备液。再分别依次量取 17 种对照储备液各 0.5 mL 置于同一 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度分别为没食子酸 0.83 mg/mL、儿茶素 1.80 mg/mL、表儿茶素 2.47 mg/mL、虎杖苷 1.60 mg/mL、阿魏酸 0.73 mg/mL、番泻苷 B 1.00 mg/mL、大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 6.74 mg/mL、番泻苷 A 3.62

mg/mL、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷 0.70 mg/mL、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷 1.42 mg/mL、山柰酚 1.76 mg/mL、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷 1.55 mg/mL、芦荟大黄素 0.615 mg/mL、大黄酸 1.21 mg/mL、大黄素 0.45 mg/mL、大黄酚 1.97 mg/mL、大黄素甲醚 0.81 mg/mL 的混合对照品溶液。对照品储备液及混合对照品溶液均在-4℃条件下储存备用。

2.3 供试品溶液的制备

取各批样品 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 25 mL 甲醇, 称定质量, 超声处理(功率 500 W, 频率 40 kHz) 45 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密量取“2.2”项下的 17 种成分混合对照品溶液, 纯甲醇连续稀释为一系列不同质量浓度的混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别进样测定, 记录各待测物质的色谱峰面积。以峰面积为纵坐标(Y), 进样质量浓度为横坐标(X), 进行线性回归, 得回归方程分别为没食子酸 $Y=2 \times 10^7 X-5\ 878.1$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 25.94~830.00 μg/mL; 儿茶素 $Y=2 \times 10^6 X+4\ 139.9$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 28.20~1 805.00 μg/mL; 表儿茶素 $Y=3 \times 10^6 X-1\ 038.6$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 77.03~2 465.00 μg/mL; 虎杖苷 $Y=4 \times 10^6 X+13\ 643$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 25.00~1 600.00 μg/mL; 阿魏酸 $Y=8 \times 10^6 X-1\ 362.2$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 11.41~730.00 μg/mL; 番泻苷 B $Y=1 \times 10^7 X-468.86$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 7.85~1 005.00 μg/mL; 大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 $Y=4 \times 10^6 X+77\ 596$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 210.47~6 735.00 μg/mL; 番泻苷 A $Y=361\ 140 X+6\ 914.3$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 113.28~3 625.00 μg/mL; 大黄素-1-*O*-葡萄糖苷 $Y=2 \times 10^7 X-931.02$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 10.94~700.00 μg/mL; 大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷 $Y=7 \times 10^6 X-2\ 954.1$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 218.80~1 415.00 μg/mL; 山柰酚 $Y=3 \times 10^7 X-28\ 697$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 55.00~1 760.00 μg/mL; 大黄素-8-*O*-葡萄糖苷 $Y=2 \times 10^7 X+3\ 866.9$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 48.44~1 550.00 μg/mL; 芦荟大黄素 $Y=4 \times 10^7 X-8\ 631$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 19.22~625.00 μg/mL; 大黄酸 $Y=1 \times 10^7 X+61\ 256$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 18.91~1 210.00 μg/mL; 大黄素 $Y=3 \times 10^7 X+$

34 746, $r=0.999\ 2$, 线性范围 14.06~450.00 μg/mL; 大黄酚 $Y=3 \times 10^7 X-46\ 147$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 61.41~1 965.00 μg/mL; 大黄素甲醚 $Y=2 \times 10^6 X+14\ 616$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 25.16~805.00 μg/mL。结果表明 17 个待测成分在相应进样质量浓度范围内的线性关系良好, $r \geq 0.999\ 0$ 。

2.4.2 精密度考察 取“2.2”项下同一混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录各待测成分的色谱峰面积并计算。结果显示没食子酸、儿茶素、表儿茶素、虎杖苷、阿魏酸、番泻苷 B、大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、番泻苷 A、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 0.18%、0.39%、0.49%、0.82%、0.81%、0.62%、0.32%、0.71%、0.69%、0.90%、0.97%、0.73%、0.95%、0.79%、0.42%、0.08%、0.45%, 结果表明方法精密度良好。

2.4.3 稳定性考察 取按“2.3”项下方法制备的供试品溶液(RT6), 分别于 0、2、6、10、12、24 h 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 测定没食子酸、儿茶素、表儿茶素、虎杖苷、阿魏酸、番泻苷 B、大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、番泻苷 A、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积的 RSD 分别为 1.26%、1.41%、0.71%、0.30%、0.57%、2.13%、1.79%、2.86%、0.85%、2.44%、1.40%、2.00%、3.89%、2.64%、1.85%、1.68%、1.88%, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.4 重复性考察 按“2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液(RT6), 按“2.1”项下色谱条件分别进样测定并计算 17 种成分质量分数和 RSD 值。结果显示没食子酸、儿茶素、表儿茶素、虎杖苷、阿魏酸、番泻苷 B、大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、番泻苷 A、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均质量分数分别为 0.52、1.71、2.15、1.25、0.73、0.89、5.83、2.21、0.46、1.21、1.36、1.68、0.13、2.40、0.25、1.09、2.40 mg/g, RSD 值分别为 1.50%、1.06%、4.35%、2.72%、2.81%、3.62%、1.99%、2.40%、4.22%、3.84%、4.27%、1.18%、2.93%、1.06%、1.80%、1.51%、1.69%, 表明该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已测定的大黄样品

(RT6) 粉末约 0.25 g, 共 9 份, 精密称定, 分别加入没食子酸、儿茶素、表儿茶素等 17 种对照品适量, 使之加入后的各成分含量分别为样品中相应成分含量的 80%、100%、120% (每个质量浓度平行 3 份), 按照“2.3”项方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算各成分的回收率和 RSD 值。结果显示 17 种成分在 3 个质量浓度下求得的总

加样回收率平均值在 93.71%~102.77%, 其 RSD 在 0.88%~4.21%。表明方法的准确度较好, 适合 17 种成分的定量测定。

2.5 样品含量测定

按照“2.3”项下方法制备 14 批供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 计算 17 种待测成分的质量分数, 结果见表 2。

表 2 17 种成分的含量测定结果 ($n=3$)

Table 2 Content determination results of 17 compounds ($n=3$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	没食子酸	儿茶素	表儿茶素	虎杖苷	阿魏酸	番泻苷 B	大黄酸-8- <i>O</i> -β-D-葡萄糖苷	番泻苷 A	大黄素-1- <i>O</i> -葡萄糖苷
RT6	0.60	1.76	2.46	1.27	0.71	0.84	5.88	2.29	0.53
RT5	0.55	1.79	2.24	1.15	0.69	0.65	5.42	2.46	0.42
RT4	0.42	1.19	1.82	1.14	0.32	0.67	4.60	2.92	0.37
RT3	0.41	0.85	1.29	1.26	0.20	0.59	2.35	1.33	0.37
RYZ	0.38	1.55	2.07	1.53	0.42	0.79	4.16	3.60	0.51
RZZ	0.56	1.54	2.72	1.59	0.21	0.62	5.59	2.05	0.68
RQT	0.42	1.11	1.19	0.58	0.17	0.99	6.72	2.54	0.46
RT6-MJ	0.65	0.79	1.77	0.54	0.66	0.10	3.65	0.85	0.20
RT5-MJ	0.68	0.70	1.83	0.85	0.52	0.31	3.24	0.73	0.14
RT4-MJ	0.49	0.52	1.52	0.61	0.54	0.46	2.43	0.62	0.16
RT3-MJ	0.45	0.38	0.84	0.52	0.37	0.25	1.92	0.58	0.11
RYZ-MJ	0.76	0.48	0.46	0.68	0.65	0.32	2.36	0.70	0.18
RZZ-MJ	0.82	0.99	1.15	0.52	0.41	0.21	2.46	0.59	0.19
RQT-MJ	0.74	0.57	0.26	0.66	0.28	0.15	2.01	0.58	0.13

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)							
	大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	山柰酚	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
RT6	1.40	1.76	1.51	0.15	0.42	0.21	0.94	2.60
RT5	1.00	1.75	1.40	0.31	0.42	0.21	0.94	2.38
RT4	0.64	1.23	1.18	0.27	0.45	0.19	0.96	1.60
RT3	0.51	1.11	0.99	0.16	0.38	0.13	0.59	1.14
RYZ	1.20	1.70	1.80	0.50	0.93	0.22	1.95	2.52
RZZ	1.20	1.46	1.45	0.48	0.84	0.15	1.66	2.80
RQT	1.32	1.37	1.08	0.37	0.85	0.27	1.78	1.80
RT6-MJ	0.98	0.85	0.80	0.10	0.92	0.04	0.90	0.77
RT5-MJ	0.92	0.83	0.75	0.25	0.76	0.05	0.73	1.13
RT4-MJ	0.85	0.71	0.65	0.31	0.83	0.05	0.74	1.03
RT3-MJ	0.41	0.51	0.61	0.14	0.67	0.06	0.45	0.78
RYZ-MJ	0.66	0.52	1.00	0.37	1.08	0.05	1.41	1.49
RZZ-MJ	0.68	0.65	0.63	0.60	1.19	0.03	1.04	1.02
RQT-MJ	0.87	0.73	0.90	0.57	1.17	0.06	1.44	1.05

2.6 统计分析

将 14 批样品中 17 种成分的含量用 Graphpad Prism 7.0 (美国 GraphPad Software) 进行 *t* 检验, 其结果见表 3。

结果显示, 大黄经过炮制后, 除阿魏酸、大黄

酚-8-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酚外, 其余 13 种成分均有显著变化。即大黄经彝药炮制法炮制后, 大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷等蒽醌类成分及番泻苷 A、B 的含量显著降低; 而没食子酸的含量则显著升高。

表 3 大黄和蜜酒同制大黄中 17 种成分含量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 3 Contents comparison of 17 compounds in rhubarb and honeyed wine rhubarb ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	没食子酸	儿茶素	表儿茶素	虎杖苷	阿魏酸	番泻苷 B
R	0.48±0.08	1.40±0.33	2.00±0.53	1.22±0.31	0.39±0.21	0.74±0.13
MJ	0.66±0.13 ↑ **	0.63±0.19 ↓ **	1.12±0.58 ↓ *	0.63±0.11 ↓ ***	0.49±0.13	0.26±0.11 ↓ ***
样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	大黄酸-8- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	番泻苷 A	大黄素-1- <i>O</i> -葡萄糖苷	大黄酚-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	山柰酚	大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷
R	4.96±1.32	2.46±0.65	0.48±0.10	1.04±0.32	1.48±0.24	1.35±0.26
MJ	2.58±0.59 ↓ **	0.66±0.09 ↓ ***	0.16±0.03 ↓ ***	0.77±0.18	0.69±0.13 ↓ ***	0.76±0.14 ↓ **
样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚	
R	0.32±0.13	0.61±0.23	0.20±0.04	1.26±0.48	2.12±0.57	
MJ	0.33±0.18	0.95±0.19 ↓ *	0.05±0.01 ↓ ***	0.96±0.34	1.04±0.22 ↓ **	

R-大黄; MJ-蜜酒同制大黄; 大黄与蜜酒同制大黄含量比较: **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001; ↑-增加, ↓-降低

R-rhubarb; MJ-honeyed wine rhubarb; Content comparison of rhubarb and honeyed wine rhubarb: **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001; ↑-increase ↓-decrease

3 讨论

本研究首次采用 HPLC 对大黄和蜜酒同制大黄中的没食子酸、儿茶素、表儿茶素等 17 种成分进行定量, 并比较这 17 种成分炮制前后的变化情况。炮制过程中, 蒽醌类及其衍生物类成分受热后分解导致这些成分的含量显著降低, 而大黄酸-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷等蒽醌类成分及番泻苷 A、B 蒽醌类衍生物类为大黄中泻下作用的主要有效成分, 说明蜜酒同制大黄的泻下作用弱于大黄。儿茶素、表儿茶素受热易破坏, 因此炮制受热后含量显著降低。没食子酸具有抗高血压、抗糖尿病、抗肿瘤、抗菌等药理作用^[1]; 炮制后, 大黄中相应的结合蒽醌类和鞣质类成分受热分解并转化成没食子酸, 使没食子酸含量升高, 蜜酒同制大黄中抗高血压等药理作用是否强于大黄, 仍需后期进行验证。

总之, 大黄炮制前后蒽醌类及鞣质类的物质基础含量变化, 表明大黄与蜜酒同制大黄间药理作用的差异, 为蜜酒同制大黄的临床作用提供科学理论基础, 同时也为制订其质量标准提供参考。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Gao L L, Guo T, Xu X D, *et al.* Rapid identification and simultaneous analysis of multiple constituents from *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. by UPLC/Q-TOF-MS [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(13): 1529-1535.
- [3] Rokaya M B, Munzbergova Z, Timsina B, *et al.* *Rheum australe* D. Don: A review of its botany, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(3): 761-774.
- [4] Yan Y, Zhang Q, Feng F. HPLC-TOF-MS and HPLC-MS/MS combined with multivariate analysis for the characterization and discrimination of phenolic profiles in nonfumigated and sulfur-fumigated rhubarb [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(14): 2667-2677.
- [5] Yang D Z, Sun G, Zhang A, *et al.* Screening and analyzing the potential bioactive components from rhubarb, using a multivariate data processing approach and ultra-high performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *Anal Methods*, 2015, 7(2): 650-661.

- [6] Zhu T, Liu X, Wang X, *et al.* Profiling and analysis of multiple compounds in rhubarb decoction after processing by wine steaming using UHPLC-Q-TOF-MS coupled with multiple statistical strategies [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(15): 3081-3090.
- [7] 谭 鹏, 张海珠, 李 洋, 等. 基于活血生物效价检测大黄中 10 个蒽醌类成分抗血小板聚集作用初步研究 [J]. 中草药, 2018, 49(4): 859-865.
- [8] 于 飞, 李苏宁. 大黄蒽醌在大鼠体内的药动学研究 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(12): 2313-2320.
- [9] 窦志华, 曹 瑞, 卞 理, 等. 正交试验法优选大黄中蒽醌类成分提取工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3279-3286.
- [10] 李 燕, 隋 峰, 刘亮亮, 等. 大黄各炮制品提取物泻下作用的比较研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 151-154.
- [11] 魏江存, 陈 勇, 谢 臻, 等. 中药大黄炮制品的化学成分及药效研究进展 [J]. 中国药房, 2017, 28(25): 3569-3574.
- [12] 刘亮亮, 隋 峰. 大黄炮制品各组分分解热作用比较研究 [J]. 山西中医学院学报, 2017, 18(5): 29-31.
- [13] 卢红星. 大黄的不同炮制品及药理作用 [J]. 中医临床研究, 2012, 4(4): 36.
- [14] 刘亮亮, 隋 峰, 闫美娟, 等. 大黄炮制品各组分泻下作用的比较研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 161-165.
- [15] 孙 慧, 朱 超, 章弘扬, 等. 大黄及其炮制品的液质联用分析及物质基础比较 [J]. 中成药, 2009, 31(3): 420-424.
- [16] 祝婷婷, 刘 晓, 汪小莉, 等. 大黄不同方法炮制后药理作用及化学成分变化研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(8): 883-887.
- [17] Wang M, Fu J, Guo H, *et al.* Discrimination of crude and processed rhubarb products using a chemometric approach based on ultra fast liquid chromatography with ion trap/time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(3): 395-401.
- [18] 何建萍. 彝药炮制特色 [J]. 中国处方药, 2017, 15(15): 21.
- [19] 郑雪花, 杨 君, 杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 94-98.
- [20] 田华咏, 瞿显友, 熊朋辉. 中国民族药炮制集成 [M]. 北京: 北京中医古籍出版社, 2000.
- [21] 王 玥, 吕露阳, 李 莹, 等. Box-Behnken 响应面法优化彝药蜜酒同制大黄工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 844-851.