

中药研究

铁包金按摩膏中铁包金超微粉与饮片质量对比研究

蔡萍^{1,2} 李跃辉^{1,2} 肖娟^{1,2} 万丹^{1,2} 戎宽¹ 匡建军³

(1 湖南省中医药研究院中药研究所,长沙,410013; 2 杨永华全国名老中医药专家传承工作室,长沙,410013; 3 湖南省中医药研究院附属医院,长沙,410006)

摘要 目的:采用 HPLC 建立铁包金按摩膏中铁包金中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量测定方法,比较铁包金超微粉与饮片中上述 3 种成分的含量。方法:Hypersil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.2% 甲酸水溶液,梯度洗脱;流速:1.0 mL/min;检测波长:290 nm;柱温:25 ℃。结果:大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的线性范围分别为 1.13~51 μg/mL($r^2=0.999\ 9$)、1.27~57 μg/mL($r^2=0.999\ 5$)和 2.22~40 μg/mL($r^2=0.999\ 8$),加样回收率分别为 99.58%、99.47%和 99.27%,RSD 值分别为 1.18%、1.49%和 1.52%。结论:该方法灵敏度高,精密性好,对比超微粉末与饮片中 3 种成分含量发现,在相同提取方法中,超微粉中 3 种成分含量明显高于饮片,超微粉技术可提高铁包金中 3 种化学成分提取率。

关键词 铁包金;超微粉;HPLC 法;大黄素;大黄酚;大黄素甲醚

Quality Comparison between Submicron Powder and Slices in Berchemia Lineata Massage CreamCai Ping^{1,2}, Li Yaohui^{1,2}, Xiao Juan^{1,2}, Wan Dan^{1,2}, Rong Kuang¹, Kuang Jianjun³

(1 Institute of Chinese Materia Medica, Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine (TCM), Hunan Changsha 410013, China; 2 Inheritance Studio of Yang Yong-hua, Hunan Changsha, 410013, China; 3 The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China)

Abstract Objective: Using HPLC to determine the contents of emodin, chrysophanol, and physcion in Berchemia Lineata, which was used to produce berchemia lineata massage cream, and to compare the extraction rates of these three components in the berchemia lineata submicron powder and slices. **Methods:** Using C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), reverse HPLC, mobile phase: water with 0.2% formic acid, ethanol. Gradient elution system were made in this method. Flow velocity: 1.0 mL/min. Column temperature: 25 ℃. Determine wavelength: 290 nm. **Results:** The linear range of Emodin, chrysophanol, and physcion in berchemia lineata are 1.13~51 μg/ml ($r^2=0.999\ 9$), 1.27~57 μg/ml ($r^2=0.999\ 5$) and 2.22~40 μg/ml ($r^2=0.999\ 8$) respectively. The standard recovery of emodin, chrysophanol, and physcion are 100.67% with RSD 1.59%, 99.72% with RSD 1.20% and 100.29% with RSD 1.09% respectively. **Conclusion:** This method has high accuracy and sensitivity. Also, under the same extraction method, the contents of three components in submicron powder are obviously higher than those in the slices, meaning that ultra structure-powder technique could improve the extraction efficiency of these three components.

Key Words Berchemia Lineata; Submicron powder; HPLC; Emodin; Chrysophanol; Physcion

中图分类号:R284.2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.11.036

超微粉^[1-3]是指平均粒径在 1~75 μm 之间的颗粒,它兴起于 80 年代,是一门跨学科、跨行业的高新技术。该技术被引入中草药加工领域,使药材细胞破壁率达 90% 以上,形成微米、纳米级中草药。由于粒径的比表面积增加,能大大提高中草药中有效成分的溶出率^[4-5],提高中草药利用率,减少中草药资源的浪费^[6-7]。铁包金按摩膏主要由铁包金、大

黄、生川乌、生草乌、木瓜、白芷、木鳖子、三棱、莪术等 23 味中药精制而成。具有活血化瘀、通络止痛的功效,铁包金^[8]作为君药主要含有黄酮类^[9]、苯酚类^[10]、蒽醌类^[11]、萜类^[12]、木脂素类等成分。其中蒽醌类成分主要包含大黄素、大黄酚和大黄素甲醚^[13],徐煜纯^[14]等首次采用 HPLC 测定了壮药铁包金中大黄酚和大黄素质量分数,发现细叶勾儿茶根、

基金项目:湖南省中药管理局项目(编号:2013133)

作者简介:蔡萍(1975.7—),女,硕士研究生,副研究员,研究方向:中药制剂及质量标准研究,E-mail:330343348@qq.com

通信作者:匡建军(1973.4—),男,博士研究生,研究员,副院长,研究方向:中西医结合对脊柱骨关节病的防治与研究,E-mail:973541411@qq.com

茎中蒽醌类成分的质量分数差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。研究表明^[11]大黄素和大黄酚对 D2 半乳糖胺诱导的 WB—F344 大鼠肝表皮细胞毒性有一定保护作用,且二者具有清除氧自由基的作用,是铁包金能够起到抗肿瘤、肺结核咯血和黄疸型肝炎等治疗作用的有效成分之一。大黄素甲醚具有很强的抗炎作用。Lee^[15]等研究发现大黄素甲醚能够抑制核因子激活内毒素细胞和促分裂原激活蛋白激酶,从而发挥其抗炎的作用。

本文采用高效液相色谱法测定铁包金按摩膏中铁包金药材中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量,对比铁包金超微粉与饮片在上述 3 种成分的提取率,探索提高其有效成分的入药比率,为更好地开发铁包金按摩膏的药用价值提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);AL-204 电子分析天平(Mettler Toledo);KQ5200DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料 大黄酚(批号:110796-201118)、大黄素(批号:110758-200110) 大黄素甲醚(110758-201013)对照品均购自中国食品药品检定研究院。HPLC 级甲醇、超纯水;其余试剂均为分析纯。铁包金药材由湖南省中医药研究院中药研究所鉴定为多花勾儿茶茎。

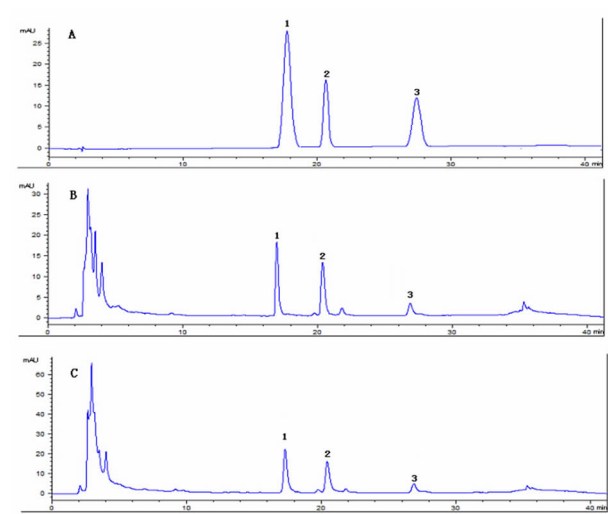


图 1 1. 大黄素;2. 大黄酚;3. 大黄素甲醚

注:对照品溶液(A)、铁包金饮片供试品(B)和铁包金超微粉供试品(C)的 HPLC 色谱图

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:A 为甲醇,B 为 0.2% 甲酸水溶液,梯度洗脱(0 ~ 30 min, 65% ~ 85% A; 32 ~

40 min, 85% ~ 100% A);流速为 1.0 mL/min;柱温为 25 ℃;检测波长 290 nm;进样量:10 μL;分析时间为 40 min。色谱图见图 1。

2.2 对照品制备及标准曲线绘制 精密称取大黄素、大黄酚和大黄素甲醚适量,置于容量瓶中,加甲醇溶解并稀释到刻度,摇匀。大黄素、大黄酚和大黄素甲醚浓度分别为 102 μg/mL、114 μg/mL、40 μg/mL。标准曲线的制备及线性关系考察:精密吸取上述 3 种对照品溶液适量,配置成混合对照品溶液,过 0.45 μm 微孔滤膜。注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。结果见表 1。

表 1 3 种对照品线性方程及相关系数			
对照品	线性范围(μg/mL)	线性方程	相关系数(r^2)
大黄素	1.14 ~ 51	$y = 30.651x - 18.825$	0.9999
大黄酚	1.27 ~ 57	$y = 43.368x - 43.71$	0.9995
大黄素甲醚	2.22 ~ 40	$y = 23.214x - 29.515$	0.9999

2.3 样品的制备

2.3.1 超微粉体的制备 铁包金药材经粉碎成粗粉,在 60 ℃干燥至水分约为 6%,振幅为 100 HZ,振动粉碎时间为 10 min,粉碎温度为 0 ~ 10 ℃,经测定:粒度 < 75 μm 的占 96.59%。

2.3.2 供试品溶液的制备 精密称取铁包金超微粉末与饮片各约 4 g,置锥形瓶中,加入甲醇 25 mL,称重,置水浴中加热回流 1 h,取出,放冷,再称重。用甲醇补足减失量,摇匀、过滤置于具塞锥形瓶中,水浴蒸干至少量,精密加入 8% (体积分数,下同) HCl 溶液 25 mL,超声 5 min,再加入二氯甲烷 25 mL,置水浴中加热回流 30 min,取出,冷却。置于分液漏斗中,用少量二氯甲烷洗涤锥形瓶,洗液合并。取二氯甲烷层,蒸干,残渣加甲醇溶解。移至 5 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀即得。铁包金超微粉及饮片样品图见图 1。

2.4 精密度试验 分别精密吸取大黄素 102 μg/mL、大黄酚 114 μg/mL 和大黄素甲醚 40 μg/mL 对照品溶液 2.5 mL、2.5 mL 和 5 mL 至 20 mL 容量瓶中,加甲醇定容,配置制成混合对照品溶液(大黄素 12.75 μg/mL、大黄酚 14.25 μg/mL 和大黄素甲醚 10 μg/mL),按上述色谱条件连续进样 6 次,大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰面积 RSD 分别为 3.73%、3.64% 和 3.43% (n = 6),结果表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 取 1 号铁包金超微粉,按“2.4.2”项下方法制备得到供试品溶液,分别在 0、

2、4、6、8、12、24、48 h 进样。计算大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量,其 *RSD* 值分别为 0.83%、0.81% 和 1.11%,表明在 48 h 内供试液稳定性良好。

2.6 加样回收率试验 称取 2 号铁包金超微粉末样品 4.5206 g,按照 2.4.2 供试品处理方法对样品进行处理。从供试液中吸取供试品 600 μL ,依次加入大黄素对照品 100 μL (102 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、大黄酚对照品 100 μL (114 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和大黄素甲醚对照品 200 μL (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$)混匀,微孔滤膜滤过,得加样回收液,重复做 6 份,进样 10 μL ,测定峰面积。大黄素、大黄酚及大黄素甲醚的平均回收率分别为 99.58%、99.47% 和 99.27%,其 *RSD* 值分别为 1.18%、1.49% 和 1.52%,

2.7 样品测定 本实验测定了湖南产地 3 个批次的样品。样品处理方法见“2.4.2”供试品溶液的制备,得供试品,按上述色谱条件测定,记录峰面积,按外标法计算含量。含量测定结果见表 2。

表 2 铁包金超微粉与饮片中 3 种化学成分含量测定结果

样品批号	大黄素($\mu\text{g}/\text{g}$)	大黄酚($\mu\text{g}/\text{g}$)	大黄素甲醚($\mu\text{g}/\text{g}$)
饮片 1	12.97	12.07	9.36
超微 1	18.46	18.10	13.55
饮片 2	12.74	12.93	13.65
超微 2	17.38	16.49	17.75
饮片 3	13.42	16.21	10.55
超微 3	16.39	20.56	15.82

3 结果

从表中可以看出超微粉中大黄酚、大黄素和大黄素甲醚的含量均高于饮片。铁包金属于根茎类药材,常以饮片入药,其有效成分很难充分溶解出来,铁包金超微粉 3 种成分含量高于饮片,可能由于细胞破壁率提高,促进了细胞内的有效成分在短时间内大量溶出,提高了提取效率。

4 讨论

本文旨在建立高效液相色谱法测定铁包金按摩膏中铁包金超微粉与饮片中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量测定。主要研究铁包金超微粉与饮片中上述 3 种成分对比研究实验。文章考察了流动相组成甲醇和水,以及甲醇和 0.2% 甲酸水。实验表明,在水相中加入 0.2% 的甲酸有利于改善各个化

合物的峰性。同时采用梯度洗脱,3 种化合物得到快速分离。本文测定了湖南产地 3 批次铁包金超微粉与饮片中大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的含量,从实验结果来看,超微粉中 3 种成分的含量均高于同批次饮片。在同一提取方法下超微粉体技术很好地提高铁包金药材中这 3 种成分的提取率,增加入药比率,采用超微粉碎技术可节省中药材资源,促进中药产业长足发展。

参考文献

[1]李雅,杨永华,蔡光先.超微粉碎技术对黄芪药材主要化学成分提取率的影响[J].中成药,2008,30(2):229-231.

[2]蔡光先,杨永华,张水寒.微粉化对人参类药材有效成分的影响[J].中华中医药杂志,2001,16(6):26-28.

[3]马伟,白天松,白长林,等.冬虫夏草超微粉的物性及溶出特性研究[J].食品科技,2015,40(4):127-131.

[4]金传山,李素亮,吴德玲,等.白芍饮片趁鲜切制产业化生产工艺研究[J].中国中药杂志,2011,36(24):3444.

[5]唐哲,刘莉,谢伟沃.肉桂超微粉体外溶出度及主要药效学量效关系研究[J].时珍国医国药,2012,23(2):285-287.

[6]张琴,刘莉.川芎超微粉的粉体学性质研究[J].中草药,2010,41(11):1797-1799.

[7]邹冰姿.门诊中药饮片处方 3600 张分析[J].中国医刊,2013,48(8):86.

[8]滕红丽,陈科力,陈士林.壮药铁包金及其药材商品的物种基础[J].中药材,2010,33(5):674-677.

[9]郭力城,滕红丽,梅之南.铁包金药材中槲皮素的薄层鉴别与含量测定研究[J].时珍国医国药,2012,23(12):2983-2985.

[10]Shen Yu-xia,Teng Hong-li,Xiong Hu,et al. A new chromone derivative from Berchemia lineatal[J]. Acta Pharmaceutica Sinica,2010,45(9):1139-1143.

[11]Wei Xin,Jiang Jian-Shuang,Feng Zi-Ming,et al. Anthraquinone-benzisochromanquinone dimers from the roots of Berchemia floribunda[J]. Chemical & pharmaceutical bulletin,2008,56(9):1248-1252.

[12]杨娟,段文峰,彭英,等.光枝勾儿茶化学成分研究(1)[J].中草药,2006,36(6):836-837.

[13]张国利,滕红丽,陈科力.壮药铁包金的化学成分及药理作用研究进展[J].中国医药导报,2011,8(6):5-8.

[14]徐煜纯,谢明容,刘少烽,等. HPLC 法测定壮药铁包金中大黄素、大黄酚的含量[J].广东药学院学报,2014,30(2):169-172.

[15]Lee G,Choi TW,Kim C,et al. Antiinflammatory activities of Reynoutria elliptica through suppression of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappaB activation pathway[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol,2012,34(3):454-464.

(2015-02-06 收稿 责任编辑:张文婷)