

# $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐照前后大黄饮片中5种成分的含量变化研究

李月梅<sup>1\*</sup>, 刘卫红<sup>2</sup>, 张娜娜<sup>3</sup>, 张振巍<sup>1</sup>(1.解放军第155中心医院, 河南 开封 475003; 2.河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 3.开封市中医院, 河南 开封 730030)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0254-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.22

**摘要** 目的:研究大黄饮片经 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐照前后5种主要有效成分的含量变化。方法:取经 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线常规剂量辐照前后的大黄饮片,采用高效液相色谱法测定其中5种主要有效成分(芦荟大黄素、大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚)的含量。色谱柱为SPHERIGEL ODS  $\text{C}_{18}$ (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相为甲醇-0.1%磷酸水(80:20,  $V/V$ ),检测波长为254 nm。结果:大黄饮片中大黄素的含量最高,其次是大黄素甲醚、大黄酸和大黄酚,含量最低的是芦荟大黄素。大黄饮片在经过辐照以后,各组分含量都较原药材含量有所下降,其中以大黄素甲醚损失最大,而芦荟大黄素损失较少。在放置6个月后,未辐照的大黄饮片中主要有效成分的含量均有不同程度下降;而经 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐照后的大黄饮片,其主要有效成分含量虽有所降低,但是其成分稳定性增加。结论:在对药材或制剂进行灭菌处理时应考虑到射线对化学成分的影响,灭菌后的制剂应重新对其检测指标进行定量分析,以确保指标含量在国家标准范围内。

**关键词** 大黄;  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐照; 有效成分; 含量变化; 高效液相色谱法

## Research of Content Change for 5 Components in Rhei Radix et Rhizoma Decoction Pieces before and after Irradiation by $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ Ray

LI Yue-mei<sup>1</sup>, LIU Wei-hong<sup>2</sup>, ZHANG Na-na<sup>3</sup>, ZHANG Zhen-wei<sup>1</sup>(1.No. 155 Center Hospital of PLA, Henan Kaifeng 475003, China; 2.The First Affiliated Hospital of Henan TCM College, Zhengzhou 450000, China; 3.Kaifeng Hospital of TCM, Henan Kaifeng 730030, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the content change for 5 active components in Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces before and after the irradiation by  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  ray. METHODS: Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces were collected after the irradiation by normal dose of  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  ray. The contents of 5 main active components were determined by HPLC method (aloe-emodin, emodin, rhein, chrysophanol, physcion). The determination was performed on SPHERIGEL ODS  $\text{C}_{18}$ (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) with mobile phase consisted of methanol-0.1% phosphoric acid (80:20,  $V/V$ ). The detection wavelength was set at 254 nm. RESULTS: The content of emodin in Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces was the highest; followed by physcion and chrysophanol; the contents of aloe-emodin was the lowest. After irradiation, the contents of each component were lower than before, especially physcion; while less that of aloe-emodin. After half year, the main active components of un-irradiated Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces decreased to different extents; the contents of main components in Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces decreased to some extents after irradiation by  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  ray, and stability of the components increased. CONCLUSION: The effects of ray on chemical components should be considered during medicinal material or preparation sterilization. The index of preparations should be re-detected and analyzed quantitatively after sterilization to guarantee the contents of active components within national standard.

**KEY WORDS** Rhei Radix et Rhizoma;  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  ray irradiation; Active component; Content change; HPLC

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根和根茎,功能泻热通便、凉血解毒、逐瘀通经,用于治疗实热便秘、积滞腹痛、泻痢不爽、湿热黄疸、血热吐衄、目赤、咽肿、肠痈腹痛、痈肿疔疮、瘀血经闭、跌打损伤,外治水火烫伤;并可治疗上消化道出血<sup>[1]</sup>。作为常用药材,大黄在中药制剂中使用较多,有些制剂甚至以大黄为检测指标进行定量分析。含有大黄的制剂在长时间贮藏时通常会采用 $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 射线辐照以灭菌,但其化学成分会发生变化,甚至影响药效,因此在实际应用时应予以注意。笔者在大黄药材受辐照以后对其主要化学成分(芦荟大黄素、大黄素、大黄酸、大黄酚、大

黄素甲醚)含量进行分析,并在其放置干燥阴凉库房6个月后再次测定其相关成分含量,对比辐照前后大黄中5种化学成分的含量变化,为实际大生产提出参考性建议。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

2695 高效液相色谱(HPLC)仪,含四元泵、在线脱气系统、自动进样系统、2996 二极管阵列检测器、Empower Pro 工作站(美国 Waters 公司);KQ2200DB 超声波清洗器(上海新苗医疗器械制造有限公司,频率:40 kHz,功率:800 W);BS201 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

#### 1.2 药材

3批(批号:090826、090914、091008)大黄饮片均购自河南中医学院第一附属医院药行(产地:甘肃),经该药行鉴定为蓼

\* 副主任药师。研究方向:药事管理和中药制剂。电话:0378-3932729。E-mail:cdrliyumei@163.com

科植物掌叶大黄 *R. palmatum* L. 的干燥根。每批饮片分两部分处理：一部分经河南省辐照中心按中药制剂常规剂量辐照得到辐照大黄；另一部分放置于库房阴凉干燥处。两部分同时留样，放置6个月。

### 1.3 试剂

甲醇为色谱纯，水为双蒸水，其余试剂均为分析纯；芦荟大黄素、大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚对照品（中国食品药品检定研究院，批号分别为110795-200806、0758-200006、0757-200206、110756-200110、110796-200309）。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[2]</sup>

色谱柱：SPHERIGEL ODS C<sub>18</sub>（150 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：甲醇-0.1%磷酸水（80：20，V/V）<sup>[3]</sup>；流速：1.0 ml/min；检测波长：254 nm；柱温：30 ℃。色谱见图1。

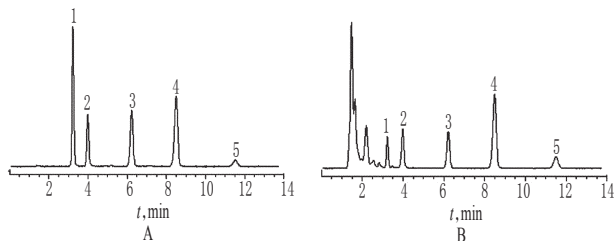


图1 高效液相色谱图

A. 混合对照品；B. 供试品；1. 芦荟大黄素；2. 大黄酸；3. 大黄素；4. 大黄酚；5. 大黄素甲醚

Fig 1 HPLC chromatograms

A. mixed control; B. test samples; 1. aloe-emodin; 2. rhein; 3. emodin; 4. chrysophanol; 5. physcion

### 2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取“1.3”项下5种对照品各适量，置于25 ml量瓶中，以甲醇定容，制成每1 ml含有芦荟大黄素12.20 μg、大黄酸35.54 μg、大黄素31.64 μg、大黄酚44.83 μg、大黄素甲醚33.59 μg的混合对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

参照《中国药典》方法<sup>[1]</sup>制备辐照前后大黄供试品溶液。取大黄粉末（过四号筛）约0.15 g，精密称定，置具塞量瓶中，精密加入甲醇25 ml，称定质量，超声处理30 min，放冷，再次称质量，用甲醇补足损失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

### 2.4 方法学考察

2.4.1 标准曲线的制备 分别取混合对照品溶液2、4、6、8、10、12 μl，注入HPLC仪，照上述色谱条件测定峰面积。以峰面积积分值(Y)为纵坐标，进样量(X)为横坐标，绘制标准曲线，结果见表1。

表1 5种对照品的标准曲线方程(n=6)

Tab 1 Standard curve equations of 5 compounds(n=6)

对照品	标准曲线方程	r	线性范围, μg
芦荟大黄素	$Y=4.88 \times 10^4 X - 2.76 \times 10^4$	0.999 9	0.762 8~12.200 0
大黄酸	$Y=3.18 \times 10^4 X - 2.99 \times 10^4$	0.999 6	2.221 0~35.540 0
大黄素	$Y=3.71 \times 10^4 X - 1.63 \times 10^4$	0.999 3	1.977 5~31.640 0
大黄酚	$Y=6.33 \times 10^4 X - 3.09 \times 10^4$	0.999 9	2.801 9~44.830 0
大黄素甲醚	$Y=1.60 \times 10^4 X + 6.18 \times 10^3$	0.999 6	2.099 4~33.590 0

2.4.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液10 μl，连续进样6次，测定峰面积。结果，芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的RSD分别为0.65%、0.82%、0.11%、0.17%、0.12% (n均为6)，表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取未辐照大黄粉末适量，照“2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液，按上述色谱条件进样10 μl测定，计算样品含量。结果，每1 g样品中平均分别含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚18.39、48.51、62.38、44.81、48.93 μg，RSD分别为1.17%、0.93%、1.20%、1.02%、1.76% (n均为6)，表明本方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取同一批未辐照大黄制备的供试品溶液适量，照上述方法分别于0、2、4、8、16、24、36、48、72 h测定样品中5种成分的含量。结果，芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的RSD分别为1.04%、0.73%、0.80%、1.28%、1.62% (n均为9)，表明供试品溶液在72 h内稳定性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取已知含量的未辐照大黄粗粉6份，每份各0.15 g，精密称定，分别加入适量的混合对照品溶液，按“2.3”项下方法制备供试品溶液。精密吸取各加样回收供试品溶液10 μl，照上述色谱条件分别平行进样3次，测定样品含量，计算加样回收率。结果，芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的平均加样回收率分别为97.24%、96.33%、98.59%、98.76%、97.95%，RSD分别为1.31%、1.13%、1.70%、1.22%、1.91% (n均为6)。

### 2.5 大黄饮片辐照前后各组分含量变化

分别取各留样大黄饮片（批号：090826、090914、091008）适量，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，照上述色谱条件进样测定，计算供试品溶液中5种主要有效成分的含量。各样品平行测定3次，取平均值，结果见表2；各留样大黄饮片中5种主要有效成分保留程度趋势见图2。

表2 各留样大黄饮片中5种主要有效成分的含量测定结果(μg/g, n=3)

Tab 2 Results of content determination of 5 main effective components in Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces samples(μg/g, n=3)

饮片类别	芦荟大黄素	大黄酸	大黄酚	大黄素	大黄素甲醚
原药材	18.22	49.08	44.31	61.90	49.37
辐照后药材	17.50	45.39	41.39	59.44	41.78
放置6个月后的辐照药材	15.11	41.72	21.11	42.67	23.83
放置6个月后的未辐照药材	13.28	31.78	19.22	40.50	24.11

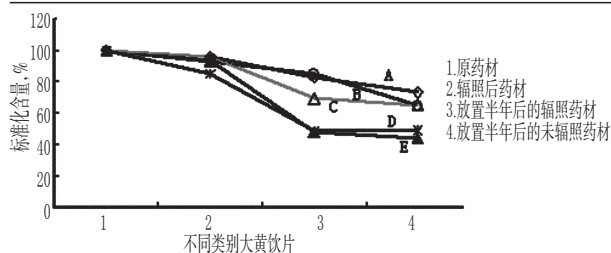


图2 各留样大黄饮片中5种主要有效成分保留程度趋势

A. 芦荟大黄素；B. 大黄酸；C. 大黄素；D. 大黄素甲醚；E. 大黄酚

Fig 2 Tendency chart of 5 main effective components in Rhei Radix et Rhizoma decoction pieces samples

A. aloe-emodin; B. rhein; C. emodin; D. chrysophanol; E. physcion

由表2可以看出，大黄饮片中大黄素的含量最高，其次是 大黄素甲醚、大黄酸和大黄酚，含量最低的是芦荟大黄素；大黄饮片在经过辐照以后，各组分含量均较原药材有所下降，其中以大黄素甲醚损失最大，而芦荟大黄素在辐照后损失较少；每一种成分在经过不同处理时其均值的差异值逐渐增大，即药材中相应成分的含量差异性在增大，并且呈逐渐减少的趋势，这与图2所反映的变化趋势相一致。

# 萝芙木化学成分的分离与鉴定

李文静<sup>1\*</sup>, 洪博<sup>1</sup>, 赵春杰<sup>2#</sup> (1. 齐齐哈尔医学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 沈阳药科大学, 沈阳 110016)

中图分类号 R284.1; R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0256-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.23

**摘要** 目的: 对萝芙木的化学成分进行分离与鉴定。方法: 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和重结晶等多种分离方法对萝芙木的氯仿层提取物进行分离, 并依据理化性质和波谱数据鉴定其化学结构。结果: 从萝芙木的氯仿层提取物中分离得到8个化合物, 分别鉴定为邪蒿素(1)、花椒树皮素甲(2)、丁香脂素(3)、胡萝卜苷(4)、利血平(5)、育亨宾(6)、阿马里新(7)、哈尔满(8)。其中, 化合物1、2、4为首次从该属植物中分离得到。结论: 本试验结果可为萝芙木的进一步研究提供依据。

**关键词** 萝芙木; 化学成分; 分离; 结构鉴定

## Isolation and Identification of Chemical Constituents from *Rauvolfia verticillata*

LI Wen-jing<sup>1</sup>, HONG Bo<sup>1</sup>, ZHAO Chun-jie<sup>2</sup> (1. Qiqihar Medical University, Heilongjiang Qiqihar 161006, China; 2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To isolate and identify chemical constituents of *Rauvolfia verticillata*. METHODS: The extracts of chloroform layer were isolated by chromatography on silica gel column, gel column and recrystallizing methods. The structures of these compounds were identified by the physicochemical property and NMR spectroscopic data. RESULTS: 8 compounds were isolated from chloroform extracts of *R. verticillata*, such as seselin (1), xanthyletin (2), syringaresinol (3), daucosterol (4), reserpine (5), yohimbine (6), ajmalicine (7) and harman (8). Compounds 1, 2, 4 were isolated from a plant of this genus for the first time. CONCLUSION: The trial can provide reference for further study of *R. verticillata*.

**KEY WORDS** *Rauvolfia verticillata*; Chemical constituent; Isolation; Structural identification

由图2可以看出, 大黄饮片在正常贮藏条件下放置6个月, 其主要化学成分含量均有不同程度的下降, 其中以大黄素甲醚损失最大(损失51.17%), 损失最小的为芦荟大黄素(损失27.11%); 大黄饮片在辐照以后各主要成分含量均有所下降, 其中以大黄素甲醚损失较大(损失15.37%), 其他几种化学成分含量变化较小。在饮片放置6个月后其主要化学成分含量较之前均有所下降, 其中辐照后贮藏的饮片含量下降程度除大黄素甲醚外均小于未辐照的饮片, 说明辐照后大黄饮片的化学成分较辐照前稳定; 而大黄素甲醚在辐照前后放置一段时间含量没有太大变化, 说明大黄素甲醚本身稳定性较差, 在贮藏的同时就会有部分损失, 射线对其影响较大。

### 3 讨论

<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照是将物品置于放射性同位素<sup>60</sup>Co放射的 $\gamma$ 射线中进行电离辐射而达到杀灭微生物的方法, 可杀灭微生物和芽孢, 不升高产品温度, 穿透力强, 灭菌效率高, 在热敏性物料和制剂灭菌中广泛适用。但其设备费用较高, 对操作人员存在潜在的危险性, 用于辐照灭菌时应注意安全防护措施<sup>[4-5]</sup>。

在2010年版《中国药典》中大黄含量测定项下规定以5种蒽醌化合物作为大黄总蒽醌含量的评价指标, 故本试验从该5种化合物的含量变化来研究<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线对大黄饮片的影响, 放

大了每个成分的变化细节, 更有助于分析射线对化学成分的影响。研究中发现, 大黄饮片在经过<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照以后, 其主要化学成分含量均有不同程度的降低, 因此在含有大黄为检测指标的制剂中应特别注意射线对其成分的影响。

研究中还发现, 经<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照后的饮片和未经辐照的饮片同时放置一段时间后, 其主要成分的含量虽都呈现下降趋势, 但以未辐照饮片中化学成分含量下降较为明显, 这可能是由于饮片中含有的分解酶类成分经高能射线辐照以后变性失活, 延长了饮片的贮藏时间。中药中的化合物是一个复杂的群体, 在应用高能射线灭菌时, 性质各异的化合物的稳定性将受到不同程度的影响, 故对灭菌后的制剂应重新对其检测指标进行定量分析, 确保指标含量在国家标准范围内。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 22.
- [2] 许世霞. RP-HPLC法测定神曲胃痛胶囊中大黄素、大黄酚的含量[J]. 中国药房, 2008, 19(18): 1411.
- [3] 钱木水, 韩鹏, 叶兴发. HPLC法测定妇炎洁洗液中 大黄素与 大黄酚的含量[J]. 西北药学杂志, 2009, 24(4): 264.
- [4] 彭晓霞, 张振巍. 二次正交旋转组合设计法优化赤芍醇提工艺[J]. 中药材, 2010, 33(6): 991.
- [5] 彭晓霞, 张振巍. 赤芍药材辐照前后芍药苷含量变化研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(3): 522.

(收稿日期: 2012-09-19 修回日期: 2012-11-16)

\* 助教, 硕士。研究方向: 中药化学成分及质量标准。E-mail: bohong200630174@163.com

# 通信作者: 教授, 博士研究生导师。研究方向: 中西药质量及药动学。E-mail: zcjilj@sina.com