

不同煎煮方法对大承气汤蒽醌含量的影响^{*}

★ 魏惠珍^{1**} 胡景婷² 饶毅^{1***} 金浩鑫¹ 刘玲² 王跃生¹ (1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006; 2. 江西中医学院 南昌 330004)

摘要:目的:考察四种不同煎煮方法大承气汤中结合蒽醌、游离蒽醌的含量变化,为大承气汤的临床用药提供参考依据。方法:采用 HPLC 法,测定四种不同煎煮方法所得大承气汤在 40-80min 中结合蒽醌、游离蒽醌的含量。结果:大黄加入时间、煎煮时间对大承气汤中结合蒽醌、游离蒽醌的含量均有影响。结论:其他饮片煎煮 20min 后加入大黄的大承气汤中结合蒽醌的含量在四种方法中较高,为其致泻作用提供物质基础。

关键词:大承气汤;结合蒽醌;游离蒽醌;含量测定

中图分类号:R 283.1 **文献标识码:**A

高,所以制粒时,将上述已包合的法莫替丁包合物与氢氧化镁两者分别制粒,制粒处方见表 4:

表 4 法莫替丁钙镁咀嚼片制粒处方

I 部分	II 部分
已包合的法莫替丁:处方量	碳酸钙:处方量一半
碳酸钙:处方量一半	氢氧化镁:处方量
甘露醇:处方量一半	甘露醇:处方量一半

I 部分与 II 部分分别用 10% HPMC95% 乙醇溶液制粒,在 40-50℃ 干燥,将 I 部分颗粒与 II 部分颗粒外加 0.5% 硬脂酸镁总混,测定法莫替丁含量,压片,铝塑包装。

5.2 稳定性实验 加速试验:取制备工艺改进后制得的法莫替丁钙镁咀嚼片,在温度(40±2)℃、相对湿度(75±5)% 条件下放置半年。试验结果表明产品的外观质量良好,内在质量稳定(见表 5)。

表 5 法莫替丁钙镁咀嚼片加速试验数据

时间/月	含量	有关物质
0	101.8%	0.80%
1	101.4%	0.90%
2	100.8%	0.92%
3	100.4%	0.98%
6	99.6%	1.00%

长期试验:取制备工艺改进后制得的法莫替丁钙镁咀嚼片,在室温下放置 2 年。试验结果表明产

品的外观质量良好,内在质量稳定(见表 6)。

表 6 法莫替丁钙镁咀嚼片长期试验数据

时间/月	含量	有关物质
0	101.8%	0.80%
6	101.5%	0.91%
12	100.5%	0.99%
18	99.7%	1.08%
24	98.3%	1.15%

6 讨论

法莫替丁钙镁咀嚼片有关物质控制的关键技术是避免法莫替丁原料与氢氧化镁直接混合。试验结果表明,采用羟丙基 β-环糊精对法莫替丁进行包合,后与氢氧化镁分别制粒的制备方法能明显降低有关物质,有效地解决了本品有关物质超标的问题。同时,本品法莫替丁的含量保持稳定。说明该制备工艺稳定,可行,可操作性强,可以运用于法莫替丁钙镁咀嚼片的大生产。

参考文献

- [1] 国家食品药品监督管理局. 国家食品药品监督管理局标准[S]. YBH00602008.
- [2] 崔福德. 药剂学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2008.
- [3] 闫丽,周宇光. 法莫替丁片的处方及工艺研究[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(1): 78-79.

(收稿日期:2011-12-20)

* 基金项目:国家重点基础研究发展计划(2010CB530602)

** 作者简介:魏惠珍(1965-),女,江西南昌人,副教授、硕士研究生导师。主要从事中药复方质量控制研究工作。Tel: (0791) 7119651 E-mail: weihuiizhen101@126. om

*** 通讯作者:饶毅, Tel: (0791) 7119609 E-mail: raoyi99@126. com

Study on the influence that different decocting ways assays the anthraquinone in the dachengqi decoction

WEI Hui-zhen¹, HU Jing-ting², RAO Yi^{1*}, JIN Hao-xin¹, LIU Lin², WANG Yue-sheng¹

1. The National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China;

2. Jiangxi University of Chinese Traditional Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective: To study the combined anthraquinones and free anthraquinones change of four different decocting ways in dachengqi decoction, provide the reference for the dachengqi decoction. Methods: Determination with combined anthraquinones and free anthraquinones content of four different decocting ways in dachengqi decoction from 40 to 80min with HPLC. Results: The combined anthraquinones content and free anthraquinones content in dachengqi decoction well be affected by the join time and decoction time of rhubarb. Conclusion: The combined anthraquinones content is higher when the rhubarb under 20 min in dachengqi decoction from 40 to 80min, provide material base for purgative effect.

Key words: Dachengqi decoction; combined anthraquinones; free anthraquinones; Content determination

大承气汤,源于汉代张仲景所著的中医经典古籍《伤寒论》和《金匱要略》^[1],由大黄、厚朴、枳实、芒硝四味药材组成,为泻法的代表方剂之一,广泛应用于治疗肠梗阻,胃排空障碍等疾病^[2]中。

大黄作为君药,泻热通便,荡涤肠胃^[3],其药效物质主要为蒽醌类成分(包括芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素),分为结合型蒽醌和游离型蒽醌^[4],且其中结合蒽醌对大承气汤的泻下作用至为重要。大承气汤常用煎煮方法为“水煎服,大黄后下,芒硝溶服”,煎煮过程一般主张大黄后下^[5],本文在此基础上考察大黄加入时间不同的大承气汤在 40-80min 时中蒽醌类成分的变化情况,为大承气汤的临床用药提供参考依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪(Waters2695 分离单元, Waters2996 二极管阵列检测器, Empower 色谱工作站); Millipore-Q 纯水器(美国 MILLIPORE 公司); KDM 型 2000ml 调温电热套(山东鄄城华鲁电热仪器有限公司), HH-4 型数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司)。

1.2 材料

对照品:芦荟大黄素,大黄酸,大黄酚,大黄素,大黄素甲醚,均由中国药品生物制品检定所提供;

大黄、厚朴、枳实、芒硝饮片购于北京市双桥燕京饮片厂,经江西中医学院付晓梅教授鉴定为真品;

甲醇为色谱纯,氯仿、硫酸、磷酸为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 大承气汤的制备方法

本文考察四种煎煮方案(分别于其他饮片煎煮 0、10、20、30 min 时加入大黄)的大承气汤中蒽醌类成分的含量变化情况。

具体煎煮方案:称取同一批次厚朴 27 g、枳实 27 g、芒硝 13.5 g 四份,加入 8 倍量水,浸泡 30 min,加热至沸腾,开始计时为 0 min 并改用小火煎煮,分别于 0、10、20、30 min 加入浸泡好的大黄 36 g,煎煮至 40、50、60、70、80 min 时取样,共采集 20 份样品。

2.2 供试品溶液的制备方法

取上述采集的 20 份样品,按照供试品溶液的制备方法,分别制备游离蒽醌供试品溶液和总蒽醌供试品溶液,具体方法如下:

游离蒽醌供试品溶液的制备:精密量取样品溶液 2 ml,加入氯仿 10 ml,加热回流 1 h,冷却,移至分液漏斗中分取氯仿层,水层用氯仿提取 2 次,每次约 10 ml,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至 10 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,即得。

总蒽醌供试品溶液的制备:精密量取样品溶液 2 ml,加入 2.5 mol/l 的硫酸溶液 10 ml、氯仿 10 ml,加热回流 1 h,冷却,移至分液漏斗中分取氯仿层,酸水层用氯仿提取 2 次,每次约 10 ml,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至 10 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,即得总蒽醌的含量。

蒽醌类成分以游离形式及与糖结合成苷两种形式存在于植物体内^[6],大承气汤中蒽醌类成分为结合蒽醌与游离蒽醌之和。通过高效液相色谱仪,计

算 2.2 项下供试品中总蒽醌及游离蒽醌的含量,总蒽醌与游离蒽醌的差值即为结合蒽醌的量。

2.3 色谱条件

色谱柱:Diamondsil C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温:25℃;流速:1 mL/min;检测波长:294 nm;流动相:A:甲醇,B:0.1% 磷酸水溶液,梯度洗脱,洗脱程序见表 1;进样体积:20 μL;分析时间:55 min。所得色谱图如图 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

时间	A(甲醇)	B(0.1% 的磷酸)
0	64	36
18	64	36
23	75	25
33	75	25
47	90	10
55	90	10

大承气汤色谱图如下:

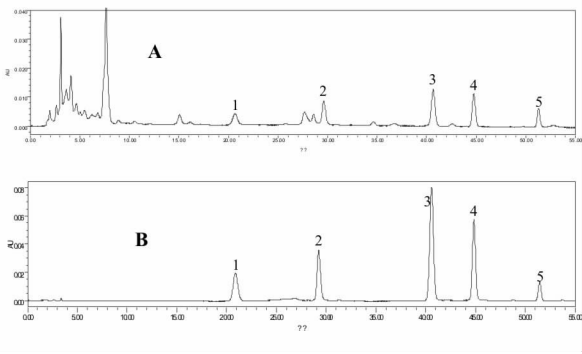


图 1 大承气汤含量测定色谱图

A:大承气汤色谱图 B:大黄对照品色谱图

1-芦荟大黄素 2-大黄酸 3-大黄素 4-大黄酚 5-大黄素甲醚

2.4 对照品溶液的配制

精密称取芦荟大黄素对照品,大黄酸对照品,大黄素对照品,大黄酚对照品,大黄素甲醚对照品,加甲醇分别制成每 1 ml 含芦荟大黄素 0.044 mg,大黄酸 0.0868 mg,大黄素 0.1036 mg,大黄酚 0.1408 mg,大黄素甲醚 0.0242 mg。分别精密吸取上述对照品溶液各 2 ml,置 10 ml 容量瓶中,摇匀即得大黄蒽醌类成分的混合对照品溶液(芦荟大黄素 0.00880 mg/ml,大黄酸 0.01736 mg/ml,大黄素 0.02072 mg/ml,大黄酚 0.02816 mg/ml,大黄素甲醚 0.00484 mg/ml)。

2.5 线性关系考察

精密吸取上述对照品溶液,于上述色谱条件下分别进样 1,3,5,10,15,20 μL,以峰面积(A)对对照品量(mg)进行线性回归处理,结果如下:

表 2 线性关系及回归方程

对照品	回归方程	r	线性范围/mg
芦荟大黄素	$Y = 106311X - 40236$	0.9999	0.009 - 0.17
大黄酸	$Y = 54462X - 22994$	0.9999	0.018 - 0.34
大黄素	$Y = 299376X - 90735$	0.9999	0.020 - 0.41
大黄酚	$Y = 187976X - 38175$	0.9999	0.028 - 0.56
大黄素甲醚	$Y = 84181X - 29495$	0.9999	0.005 - 0.09

2.6 样品溶液的测定

取 2.2 项下供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪中,总蒽醌、结合蒽醌和游离蒽醌的含量结果见表 3。

表 3 大承气汤中蒽醌类成分的含量

大黄加入时间/min	煎煮时间/min	总蒽醌 /mg·ml ⁻¹	游离蒽醌 /mg·ml ⁻¹	结合蒽醌 /mg·ml ⁻¹
0	40	0.1555	0.0743	0.0813
	50	0.1598	0.0762	0.0836
	60	0.1610	0.0780	0.0830
	70	0.1685	0.0853	0.0832
	80	0.1841	0.0969	0.0872
10	40	0.1093	0.0541	0.0551
	50	0.1155	0.0584	0.0571
	60	0.1250	0.0637	0.0613
	70	0.1302	0.0707	0.0595
	80	0.1371	0.0721	0.0651
20	40	0.0821	0.0230	0.0850
	50	0.0886	0.0374	0.0861
	60	0.1164	0.0471	0.1084
	70	0.1407	0.0481	0.1136
	80	0.1406	0.0497	0.0909
30	40	0.0520	0.0325	0.0195
	50	0.1186	0.0465	0.0722
	60	0.1287	0.0627	0.0660
	70	0.1573	0.0690	0.0883
	80	0.1571	0.0798	0.0773

注:结合蒽醌的含量=总蒽醌的含量-游离蒽醌的含量。

2.7 不同方案煎煮所得大承气汤中蒽醌类成分随时间的变化趋势

考察四种不同煎煮方案所得大承气汤在 40 - 80 min 时游离蒽醌、结合蒽醌含量的变化趋势如下:

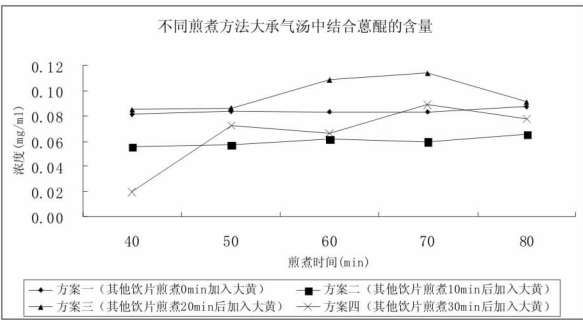


图 2 不同煎煮方法大承气汤中结合蒽醌的含量变化

从上图看出,不同方案煎煮所得大承气汤在相同煎煮时间内结合蒽醌的含量相差较大;同一方案

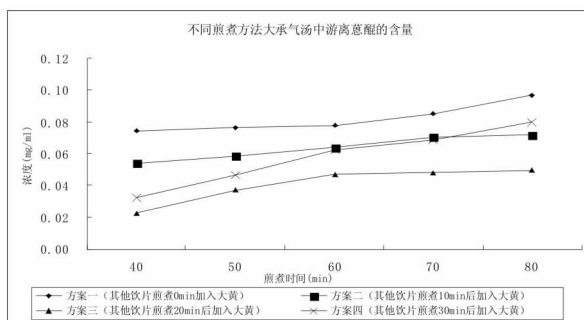


图3 不同煎煮方法大承气汤中游离蒽醌的含量变化

的大承气汤随煎煮时间不同,其结合蒽醌的含量也呈逐渐变化的趋势。其他饮片煎煮0、10 min 加大黄所得大承气汤中结合蒽醌的含量在40-80 min 的时间范围内呈上升趋势;其他饮片煎煮20、30min 加大黄所得大承气汤中结合蒽醌的含量则先上升至平缓,然后下降。由于大承气汤的致泻作用与大黄的结合蒽醌含量有关,其他饮片煎煮20min 后加大黄煎煮大承气汤的结合蒽醌的含量较高,此时的致泻作用较强^[7]。

不同方案煎煮所得大承气汤在相同煎煮时间内游离蒽醌的含量相差很大;同一方案的大承气汤随煎煮时间不同,在40-80 min 的时间范围内其游离蒽醌的含量也呈逐渐升高的趋势。

大承气汤随煎煮时间不同,其总蒽醌、游离蒽醌及结合蒽醌的含量变化显著。因此,大承气汤的临床煎煮过程中应控制好煎煮时间。

2.8 大黄煎煮时间相同时蒽醌类成分的变化情况

考察四种不同煎煮方法在大黄煎煮时间相同(即大黄煎煮时间为40、50 min)时游离蒽醌、结合蒽醌含量的变化趋势如下:

表4 大黄煎煮时间相同的大承气汤中蒽醌类成分的含量(mg/ml)

大黄加入时间 /min	大黄煎煮时间 /min	总蒽醌 /mg · ml ⁻¹	游离蒽醌 /mg · ml ⁻¹	结合蒽醌 /mg · ml ⁻¹
0	40	0.1555	0.0743	0.0813
	50	0.1598	0.0762	0.0836
10	40	0.1155	0.0584	0.0571
	50	0.1250	0.0637	0.0613
20	40	0.1555	0.0471	0.1084
	50	0.1617	0.0481	0.1136
30	40	0.1573	0.0690	0.0883
	50	0.1571	0.0798	0.0773

表4可以看出,大黄煎煮时间相同时(即煎煮40、50 min),0、20、30 min 下大黄煎煮所得大承气汤总蒽醌的含量相差较小(在0.15-0.16 mg/ml 范围内),而10 min 下大黄煎煮所得大承气汤总蒽醌的含量则较另三种方案偏低(约0.12 mg/ml)。

大黄煎煮时间相同时,0、10、30 min 下大黄煎煮所得大承气汤中游离蒽醌与结合蒽醌的含量基本持平,而20 min 下大黄煎煮所得大承气汤中结合蒽醌的含量约为游离蒽醌含量的2倍。

大黄加入时间不同,煎煮时间相同不仅对大承气汤中总蒽醌的含量有影响,对游离蒽醌及结合蒽醌类成分的含量之比同样影响较大,因此,大承气汤的临床煎煮过程中应控制大黄的加入时间。

3 讨论

本实验以临床常用的煎煮条件为基础,由于大承气汤临床煎煮时间至少为40 min,因此以40 min 为起始考察时间,分别考察了其他饮片煎煮0、10、20、30 min 后加入大黄的大承气汤中蒽醌类成分在40-80 min 随煎煮时间的变化情况。其他饮片煎煮20min 后加入大黄所得大承气汤结合蒽醌含量较高,由于结合蒽醌的泻下效应较强,则此法所得大承气汤疗效较好,为大承气汤的临床使用提供参考依据。

参考文献

- [1]解培勋. 大承气汤与燥屎宿食关系初探[J]. 中国中医急症, 2001,10(3):152,155
- [2]王继弟,李滨,张素君. 大承气汤研究进展[J]. 山东中医杂志, 2004,23(9):571-573
- [3]曾玲. 浅析大承气汤[J]. 光明中医,2009,24(11):2199
- [4]李秀才. 大黄的研究进展[J]. 中国药学杂志,1988,33(10):581
- [5]薛芳,许占民. 中国药物大全(中药卷)[M]. 北京:人民卫生出版社,1988:95.
- [6]吴立军. 天然药物化学[M]. 北京:人民卫生出版社,2007:147
- [7]林永秀,宋淑华. 大黄煎煮时间对药理作用的影响[J]. 药学服务与研究,2004,4(4):341,344,351.

(收稿日期:2012-01-09)