

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.14.016

超高效液相色谱串联质谱法同时测定大黄中 9种蒽醌类成分含量*

王启斌^{1,2}, 叶方^{1,2}, 黄良永^{1,2}, 杜士明^{1,2}, 卢伟^{1,2}

(1. 湖北省十堰市太和医院·湖北医药学院附属医院, 湖北 十堰 442000; 2. 武当特色中药研究湖北省重点实验室·湖北医药学院, 湖北 十堰 442000)

摘要:目的 建立同时测定大黄中9种蒽醌类成分含量的超高效液相色谱串联质谱法。方法 色谱柱为 Waters Acquity UPLC® BEH C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 流动相为 2 mmol/L 甲酸铵溶液-乙腈(梯度洗脱), 流速为 0.2 mL/min, 柱温为 40℃; 采用电喷雾离子源(ESI), 多反应监测(MRM)模式, 负离子检测。结果 大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷的质量浓度分别在 40.75~815 ng/mL、55.00~1 100 ng/mL、57.00~1 140 ng/mL、60.00~1 200 ng/mL、59.00~1 180 ng/mL、53.20~1 064 ng/mL、54.20~1 084 ng/mL、53.85~1 077 ng/mL、51.00~1 020 ng/mL 范围内与峰面积线性关系良好(r 均大于 0.999); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 5.0% ($n=6$); 平均加样回收率分别为 91.04%, 94.72%, 92.92%, 93.72%, 92.56%, 94.97%, 87.87%, 93.28%, 94.75%, RSD 分别为 3.55%, 6.39%, 4.02%, 4.04%, 7.63%, 7.57%, 7.85%, 8.33%, 5.76% ($n=6$)。结论 所建立的方法简单、快速、灵敏, 重复性好, 可用于测定大黄药材中9种蒽醌类成分的含量。

关键词: 大黄; 蒽醌类; 化学成分; 超高效液相色谱串联质谱法; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)14-0058-05

Simultaneous Determination of Nine Anthraquinones in *Rhei Radix et Rhizoma* by UPLC-MS/MS

WANG Qibin^{1,2}, YE Fang^{1,2}, HUANG Liangyong^{1,2}, DU Shiming^{1,2}, LU Wei^{1,2}

(1. Shiyuan Taihe Hospital · Hubei University of Medicine Affiliated Hospital, Shiyan, Hubei, China 442000; 2. Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research · Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, China 442000)

Abstract: Objective To establish a ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(UPLC-MS/MS) method for simultaneous determination of nine anthraquinones in *Rhei Radix et Rhizoma*. **Methods** The chromatographic column was Waters Acquity UPLC® BEH C₁₈ column(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), the mobile phase was 2 mmol/L ammonium formate-acetonitrile(gradient elution), the flow rate was 0.2 mL/min, and the column temperature was 40℃. Negative ion detection was adopted with electrospray ion source(ESI) and multiple reaction monitoring(MRM) mode. **Results** The linear ranges of emodin, rhein, chrysophanol, physcion, aloe emodin, emodin-8-O-β-D-glucoside, physcion-8-O-β-D-monoglucoside, chrysophanol-8-O-β-D-glucoside and rhein-8-O-β-D-glucopyranoside were 40.75-815 ng/mL, 55.00-1 100 ng/mL, 57.00-1 140 ng/mL, 60.00-1 200 ng/mL, 59.00-1 180 ng/mL, 53.20-1 064 ng/mL, 54.20-1 084 ng/mL, 53.85-1 077 ng/mL, 51.00-1 020 ng/mL($r > 0.999$), respectively. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 5.0% ($n=6$), the average recoveries were 91.04%, 94.72%, 92.92%, 93.72%, 92.56%, 94.97%, 87.87%, 93.28%, 94.75% with RSDs of 3.55%, 6.39%, 4.02%, 4.04%, 7.63%, 7.57%, 7.85%, 8.33%, 5.76% ($n=6$), respectively. **Conclusion** The established method is simple, rapid, sensitive and repeatable, which can be used to determine the content of nine anthraquinones in *Rhei Radix et Rhizoma*.

Key words: *Rhei Radix et Rhizoma*; anthraquinones; chemical constituents; UPLC-MS/MS; content determination

*基金项目: 武当特色中药研究湖北省重点实验室开放课题[WDCM2018003]。

第一作者: 王启斌, 男, 硕士, 主任药师, 研究方向为药物分析与临床药学, (电子信箱) taihe321@163.com。

- [10] 于萍, 邱琴, 崔兆杰, 等. 荆芥穗挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2006, 29(2): 140-142.
- [11] 马丽端, 于密密, 傅欣彤, 等. 感冒清热颗粒挥发油特征图谱及薄荷酮和胡薄荷酮的含量测定[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(8): 1374-1393.
- [12] 何风艳, 何轶, 王菲菲, 等. GC-MS/MS 法检测含薄荷中成药品中的留兰香[J]. 中成药, 2020, 42(2): 527-531.
- [13] 桑旭峰. GC 法测定感冒清热颗粒中薄荷脑和胡薄荷酮的含量[J]. 中国中医药科技, 2013, 20(7): 376-377.
- [14] 殷世宁, 张春辉, 王海英. 板蓝根特征图谱及 3 种成分含量测定研究[J]. 中国药业, 2018, 27(24): 15-18.
- [15] 李月婷, 任易, 彭治添, 等. 连翘药材的高效液相色谱特征图谱研究[J]. 中国医院用药评价与分析, 2016, 16(10): 1297-1299.
- [16] 赵立子, 金钺, 韩晓敏, 等. 北京、河北地区荆芥挥发油的 GC 特征图谱[J]. 中成药, 2015, 37(8): 1762-1766.

(收稿日期: 2021-02-18)

大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *Rheum tanguticum* Maxim, ex Balf. 或药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根和根茎^[1],性寒,味苦,归脾、胃、大肠、肝、心包经,具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经、利湿退黄功效^[2]。研究显示,大黄中含有蒽醌类衍生物、二苯乙烯苷、鞣质、有机酸等100多种化合物^[3]。体内外试验研究表明,大黄具有泻下^[4]、抗菌^[5]、抗炎、调脂、保肝、利胆、利尿、抗凝血、抗氧化、抗肿瘤、预防慢性肾衰竭、治疗肥胖性疾病等多种药理作用^[6-7]。2020年版《中国药典(一部)》将芦荟大黄素、大黄素、大黄酸、大黄酚和大黄素甲醚的总含量作为评价药材质量的指标。目前对大黄的研究主要集中在上述5种化合物,这些游离蒽醌结合型化合物在大黄中也有较高含量,且具有多种药理活性^[8-16]。本试验中采用超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)法同时测定大黄中9种蒽醌类成分的含量,为大黄中蒽醌类化合物的研究提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters Acquity 型超高效液相色谱仪, XEVO TQ 型串联质谱仪, 均购自沃特世科技(上海)有限公司; GWAUN1 型纯水仪(北京普析通用仪器有限责任公司); AUW120D 型分析天平(岛津<上海>实验器材有限公司); VORTEX-6 型涡旋混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司); 5427R 型冷冻高速离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.2 试剂

大黄素对照品(批号为 110756-201711, 含量为 99.5%), 大黄酸对照品(批号为 110757-201607, 含量为 99.3%), 大黄酚对照品(批号为 110796-201616, 含量为 99.6%), 大黄素甲醚对照品(批号为 110758-201616, 含量为 99.0%), 芦荟大黄素对照品(批号为 110795-201710, 含量为 98.3%), 均购自中国食品药品检定研究院; 大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷对照品(批号为 18080601, 含量≥98%), 大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷对照品(批号为 19102401, 含量≥98%), 大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷对照品(批号为 17111303, 含量≥98%), 大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷对照品(批号为 17101705, 含量≥98%), 均购自成都普菲德生物技术有限公司; 乙腈、甲醇均为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。大黄药材(批号分别为 201809, 201810, 201811)购自湖北神农本草药业有限公司, 经湖北医药学院药学院叶方副教授鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件: 色谱柱为 Waters Acquity UPLC® BEH C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为 2 mmol/L 甲酸铵溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~0.5 min 时 10% B, 0.5~1.5 min 时 10%→30% B, 1.5~6.0 min 时 30%→70% B, 6.0~7.0 min 时 70%→90% B, 7.0~8.5 min 时 90% B, 8.5~9.0 min 时 90%→10% B, 9.0~10.0 min 时 10% B); 流速为 0.2 mL/min; 柱温为 40℃; 进样量为 5 μL。

质谱条件: 电喷雾离子源(ESI), 脱溶剂温度为 400℃, 脱溶剂流速为 800 L/h, 毛细管电压为 3.0 kV, 多反应监测(MRM)模式下负离子扫描。化学成分质谱检测参数见表 1, 质谱图见图 1。

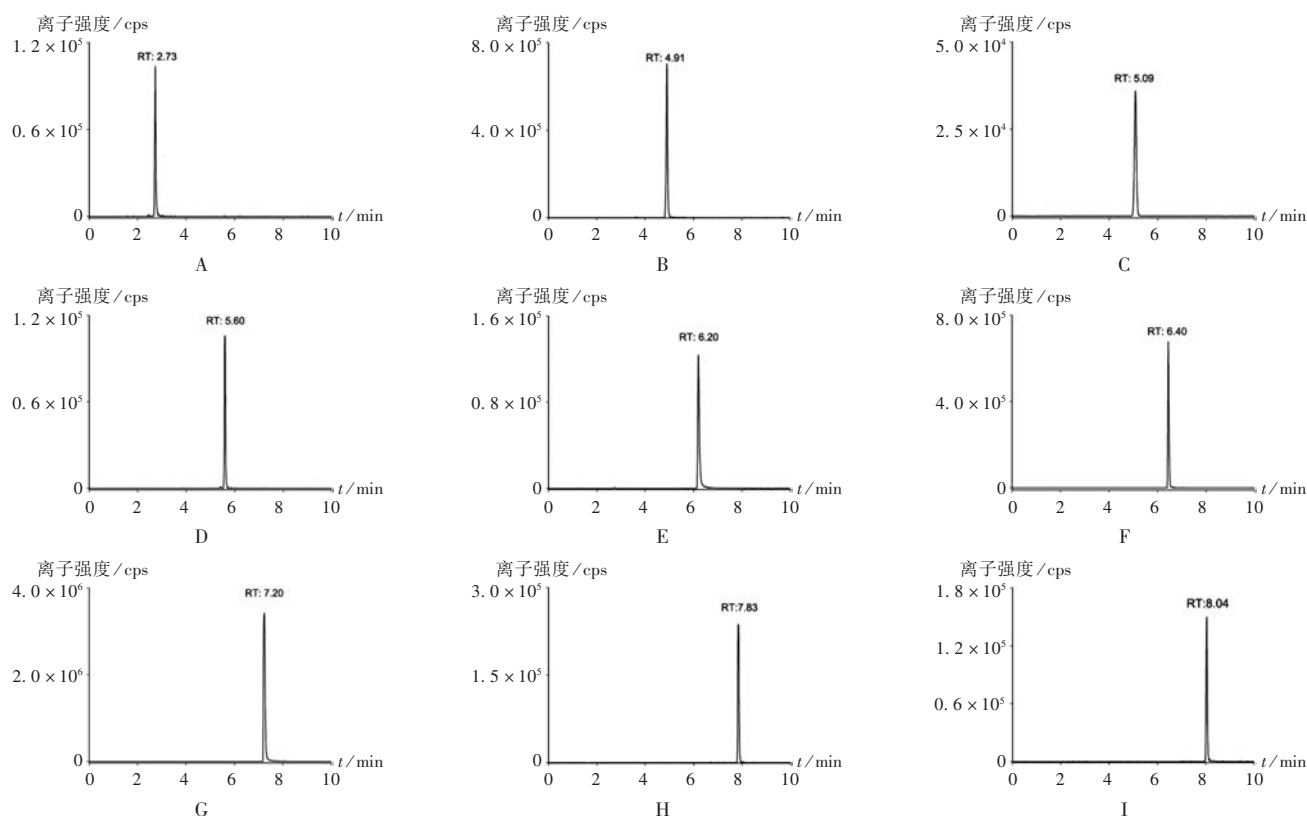
表 1 9 种化学成分的质谱检测参数

Tab. 1 Mass spectrometry parameters of nine chemical constituents

化学成分	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	扫描时间 (s)	锥孔电压 (V)	碰撞电压 (V)
大黄素	269.1	225.1	0.1	42	26
大黄酸	283.1	239.0	0.1	20	14
大黄酚	253.2	225.0	0.1	50	28
大黄素甲醚	283.2	240.0	0.1	50	26
芦荟大黄素	269.1	240.1	0.1	40	22
大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷	431.2	269.0	0.1	44	26
大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷	445.2	283.1	0.1	20	10
大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷	415.2	253.1	0.1	22	16
大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷	445.1	239.0	0.1	22	34

2.2 溶液制备

混合对照品溶液: 精密称取 9 种化学成分对照品各适量, 分别加入甲醇-二甲基亚砜溶液(50:50, V/V), 制成大黄素(81.5 μg/mL)、大黄酸(110.5 μg/mL)、大黄酚(114.0 μg/mL)、大黄素甲醚(120.4 μg/mL)、芦荟大黄素(118.6 μg/mL)、大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷(106.4 μg/mL)、大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷(108.40 μg/mL)、大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷(107.7 μg/mL)、大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷(102.0 μg/mL)的单一对照品溶液。各取适量, 加入甲醇, 制成大黄素(4.075 μg/mL)、大黄酸(5.525 μg/mL)、大黄酚(5.70 μg/mL)、大黄素甲醚(6.02 μg/mL)、芦荟大黄素(5.93 μg/mL)、大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷(5.32 μg/mL)、大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷(5.42 μg/mL)、大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷(5.385 μg/mL)、大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷(5.10 μg/mL)的混合对照品溶液。



A. 大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷 B. 大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷 C. 大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷
D. 大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷 E. 大黄酸 F. 芦荟大黄素 G. 大黄素 H. 大黄酚 I. 大黄素甲醚

图1 质谱图

A. Emodin-8-O-β-D-glucoside B. Physcion-8-O-β-D-monoglucoside C. Chrysophal 8-O-β-D-glucoside
D. Rhein-8-O-β-D-glucopyranoside E. Emodin F. Aloe emodin G. Rhein H. Chrysophanol I. Physcion

Fig.1 Mass spectrogram

供试品溶液:取药材样品粉末(过4号筛)约0.5g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25mL,称定质量,加热回流1h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液1mL,用甲醇稀释至100mL,即得。

2.3 方法学考察

线性关系考察:分别精密量取2.2项下混合对照品溶液,加入甲醇倍比稀释,得系列混合对照品溶液。精密量取5 μL,按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积。以待测化学成分质量浓度(X, ng/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表2。

定量限(LOQ)考察:分别精密量取2.2项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按2.1项下试验条件进样测定,以信噪比(S/N)为10:1时分别计算LOQ。结果见表2。

精密度试验:取2.2项下混合对照品适量,进行20倍稀释,按2.1项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄素8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素甲

表2 回归方程线性范围及定量限

Tab.2 Linear ranges of regression equation and limit of quantitation

化学成分	回归方程	线性范围 (ng/mL)	r	LOQ (ng/mL)
大黄素	$Y_1 = 202.1 X_1 + 650.2$	40.75 ~ 815	0.999 1	0.815
大黄酸	$Y_2 = 123.9 X_2 + 3678$	55.00 ~ 1 100	0.999 6	1.10
大黄酚	$Y_3 = 19.85 X_3 + 564.2$	57.00 ~ 1 140	0.999 9	1.14
大黄素甲醚	$Y_4 = 28.36 X_4 + 797.8$	60.00 ~ 1 200	0.999 7	1.20
芦荟大黄素	$Y_5 = 35.18 X_5 - 516.1$	59.00 ~ 1 180	0.999 5	1.18
大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷	$Y_6 = 388.6 X_6 + 1279$	53.20 ~ 1 064	0.999 6	0.532
大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷	$Y_7 = 19.84 X_7 + 586.8$	54.20 ~ 1 084	0.999 7	1.08
大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷	$Y_8 = 20.90 X_8 + 289.2$	53.85 ~ 1 077	0.999 7	1.08
大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷	$Y_9 = 27.68 X_9 + 445.7$	51.00 ~ 1 020	0.999 6	1.02

醚 8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷峰面积的RSD分别为2.68%, 2.91%, 2.24%, 2.04%, 1.05%, 4.05%, 3.85%, 1.95%, 3.48% (n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0, 2, 4, 8, 12, 24 h时按2.1项下试验条件

表 3 加样回收试验结果 ($n=6$)
Tab. 3 Results of the recovery test ($n=6$)

化学成分	取样量 (g)	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)	化学成分	取样量 (g)	样品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
大黄素	0.101 0	175.3	163.0	320.4	89.02	91.04	3.55	大黄素 8-O- β -D-葡萄糖苷	0.100 9	10.09	11.9	20.69	89.08	94.97	7.57
	0.100 6	174.6	163.0	325.8	92.76				0.101 2	10.12	11.9	22.31	102.44		
	0.100 4	174.2	163.0	319.3	89.02				0.100 8	10.08	11.9	21.71	97.73		
	0.100 9	175.1	163.0	325.1	92.02				0.101 0	85.42	79.8	171.6	108.00		
	0.101 2	175.6	163.0	317.9	87.30				0.100 6	85.08	79.8	162.3	96.77		
	0.100 8	174.9	163.0	331.6	96.14				0.100 4	84.91	79.8	156.1	89.21		
大黄酸	0.101 0	192.9	165.8	348.3	93.73	94.72	6.39	大黄素甲醚 8-O- β -D-葡萄糖苷	0.100 9	85.33	79.8	158.9	92.19	87.87	7.85
	0.100 6	192.2	165.8	367.2	105.55				0.101 2	85.59	79.8	161.7	95.38		
	0.100 4	191.8	165.8	340.8	89.87				0.100 8	85.25	79.8	155.7	88.28		
	0.100 9	192.7	165.8	339.9	88.78				0.101 0	126.8	108.4	227.4	92.80		
	0.101 2	193.3	165.8	354.2	97.04				0.100 6	126.3	108.4	217.9	84.50		
	0.100 8	192.6	165.8	347.4	93.37				0.100 4	126.0	108.4	221.7	88.28		
大黄酚	0.101 0	318.8	342.0	659.7	99.68	92.92	4.02	大黄酚 8-O- β -D-葡萄糖苷	0.100 9	126.7	108.4	211.9	78.60	93.28	8.33
	0.100 6	317.6	342.0	632.5	92.08				0.101 2	127.1	108.4	233.6	98.25		
	0.100 4	316.9	342.0	627.1	90.70				0.100 8	126.5	108.4	218.4	84.78		
	0.100 9	318.5	342.0	640.8	94.24				0.101 0	117.1	107.7	230.2	105.01		
	0.101 2	319.5	342.0	633.6	91.84				0.100 6	116.6	107.7	216.8	93.04		
	0.100 8	318.2	342.0	622.5	88.98				0.100 4	116.4	107.7	203.7	81.06		
大黄素甲醚	0.101 0	104.4	120.4	214.8	91.69	93.72	4.04	大黄酸 8-O- β -D-葡萄糖苷	0.100 9	117.0	107.7	214.9	90.90	94.75	5.76
	0.100 6	104.0	120.4	217.8	94.52				0.101 2	117.3	107.7	218.2	93.69		
	0.100 4	103.8	120.4	210.9	88.95				0.100 8	116.9	107.7	220.3	96.01		
	0.100 9	104.3	120.4	225.1	100.33				0.101 0	165.4	153.0	302.1	89.35		
	0.101 2	104.6	120.4	216.2	92.69				0.100 6	164.8	153.0	308.9	94.18		
	0.100 8	104.2	120.4	217.5	94.10				0.100 4	164.5	153.0	311.8	96.27		
芦荟大黄素	0.101 0	10.10	11.9	19.97	82.94	92.56	7.63		0.100 9	165.3	153.0	325.7	104.84		
	0.100 6	10.06	11.9	20.57	88.32				0.101 2	165.8	153.0	306.9	92.22		
	0.100 4	10.04	11.9	21.33	94.87				0.100 8	165.1	153.0	305.3	91.63		

进样测定,记录峰面积。结果大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄素 8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚 8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄酚 8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄酸 8-O- β -D-葡萄糖苷峰面积的 RSD 分别为 2.86%, 2.64%, 1.36%, 1.28%, 1.39%, 3.31%, 2.90%, 1.81%, 2.06% ($n=6$),表明供试品溶液在室温放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验:取药材样品(批号为 201809)粉末适量,按 2.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,再按 2.1 项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄素 8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚 8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄酚 8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄酸 8-O- β -D-葡萄糖苷峰面积的 RSD 分别为 3.39%, 3.03%, 2.64%, 4.65%, 2.68%, 2.81%, 3.81%, 4.25%, 2.24% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的药材样品(批号为 201809)适量,共 6 份,分别加入一定质量浓度的单一对照品溶液,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.1 项下试验条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表 3。

2.4 样品含量测定

取 3 批药材样品各适量,分别按 2.2 项下方法制备供试品溶液,再按 2.1 项下试验条件进样测定,平行测定 3 次,记录峰面积,并计算含量。结果见表 4。

3 讨论

蒽醌类化合物是蓼科植物大黄、虎杖和何首乌等药材的主要化学成分和药理活性成分,2020 年版《中国药典(一部)》中

本栏目由
国药控股云南有限公司
协办

表4 大黄药材样品中9种化学成分含量测定结果(%, n=3)

Tab. 4 Content determination of nine chemical constituents in *Rheiradix et Rhizoma* (% , n = 3)

化学成分	批号			$\bar{X} \pm s$
	201809	201810	201811	
大黄素	0.173 5	0.174 5	0.167 8	0.171 9±0.003 6
大黄酸	0.191 0	0.189 9	0.190 4	0.190 5±0.000 6
大黄酚	0.315 7	0.309 9	0.318 8	0.314 8±0.004 5
大黄素甲醚	0.103 4	0.103 9	0.102 6	0.103 3±0.000 7
芦荟大黄素	0.010 0	0.009 8	0.009 8	0.009 9±0.000 1
大黄素 8-O-β-D-葡萄糖苷	0.084 6	0.084 4	0.082 9	0.084 0±0.000 9
大黄素甲醚 8-O-β-D-葡萄糖苷	0.125 5	0.126 5	0.127 1	0.126 4±0.000 8
大黄酚 8-O-β-D-葡萄糖苷	0.115 9	0.118 3	0.113 1	0.115 8±0.002 6
大黄酸 8-O-β-D-葡萄糖苷	0.163 8	0.160 2	0.158 9	0.161 0±0.002 5

将5种游离蒽醌总含量作为大黄的质控指标。目前,关于大黄化学成分的研究也主要集中于该5种游离型蒽醌,但结合型蒽醌和蒽酮类化合物在大黄中含量也较高。结合型蒽醌类化学成分的药理活性研究较少,其化学成分含量测定方法研究较少是原因之一。大黄药效物质基础研究尚未完全明确,多成分含量测定更有利于大黄质量和药效作用机制的研究。

大黄中游离蒽醌类化学成分具备很好的紫外吸收,在药材质量控制中可采用高效液相色谱法进行研究。预试验中,游离蒽醌和结合型蒽醌在同一提取条件下含量差异很大,且游离蒽醌和结合型蒽醌结构相似,采用高效液相色谱法各成分间的相互干扰明显,需要较长的分离时间^[2],较难得到理想的色谱图。前期研究显示,蒽醌类化合物进入人体内的含量很低,且蒽醌类化合物间在人体内存在相互转换的现象^[17],很大程度上影响了该类化合物在人体内处置过程的研究,需要更高效的分析方法。

本研究中对不同流动相体系(水-乙腈、0.1%甲酸水溶液-乙腈、0.1%甲酸水溶液-甲醇、2 mmol/L 醋酸铵溶液-乙腈、2 mmol/L 甲酸铵溶液-乙腈)进行了考察优化,通过观察峰面积,最终选择2 mmol/L 甲酸铵溶液-乙腈作为流动相。本研究中所建立的UPLC-MS/MS法在10 min内能同时测定大黄中5种游离型蒽醌化学成分和4种结合型蒽醌类化学成分,且灵敏、准确,可为大黄蒽醌类化学成分研究提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 23.
- [2] 刘月红, 黄政海, 董玲, 等. 高效液相色谱法同时测定大黄中14种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(23): 4514-4519.
- [3] ZHANG L, LIU H, QIN L, et al. Global chemical profiling based quality evaluation approach of rhubarb using ultra performance

liquid chromatography with tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J Sep Sci, 2015, 38(3): 511-522.

- [4] 缪红, 徐丹洋, 苏健. 大黄泻火散质量标准改进研究[J]. 中国药业, 2018, 27(23): 19-23.
- [5] 苟奎斌, 孙丽华, 姜卫宁, 等. 大黄中4种蒽醌类化合物抑菌门螺杆菌效果比较[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(5): 24-26.
- [6] 王亦君, 冯舒涵, 程锦堂, 等. 大黄蒽醌类化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 227-234.
- [7] 王玉, 杨雪, 夏鹏飞, 等. 大黄化学成分、药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药, 2019, 50(19): 4821-4837.
- [8] 刘素华. 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷对人卵巢癌细胞系SKOV3细胞凋亡及Bcl-2表达的影响[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(43): 3541-3544.
- [9] DAS A, SURESH K, DUTTA S. Interaction of aloe active compounds with calf thymus DNA[J]. J Mol Recognit, 2019, 32(10): e2786.
- [10] HWANGBO K, ZHENG M, KIM Y, et al. Inhibition of DNA topoisomerases I and II of compounds from *Reynoutria japonica* [J]. Arch Pharm Res, 2012, 35(9): 1583-1589.
- [11] MATSUDA H, SHIMODA H, MORIKAWA T, et al. Phytoestrogens from the roots of *Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae): structure-requirement of hydroxy-anthraquinones for estrogenic activity[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11(14): 1839-1842.
- [12] SEO E, NGOC T, LEE S. Chrysophanol-8-O-glucoside, an anthraquinone derivative in rhubarb, has antiplatelet and anticoagulant activities[J]. J Pharmacol Sci, 2012, 118(2): 245-254.
- [13] LIU M, GONG X, QUAN Y, et al. A Cell-Based Metabonomics Approach to Investigate the Varied Influences of Chrysophanol-8-O-β-D-Glucoside With Different Concentrations on L-02 Cells[J]. Front Pharmacol, 2019, 9: 1530-1540.
- [14] CHEN Y, ZHU J. Anti-HBV effect of individual traditional Chinese herbal medicine *in vitro* and *in vivo*: an analytic review[J]. J Viral Hepat, 2013, 20(7): 445-452.
- [15] TAKAYAMA K, TSUTSUMI H, ISHIZU T, et al. The influence of rhein 8-O-β-D-glucopyranoside on the purgative action of sennoside A from rhubarb in mice[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(12): 2204-2208.
- [16] TAKAYAMA K, TABUCHI N, FUKUNAGA M, et al. Rhein 8-O-β-D-Glucopyranoside Elicited the Purgative Action of Daiokanzoto (Da-Huang-Gan-Cao-Tang), Despite Dysbiosis by Ampicillin[J]. Biol Pharm Bull, 2016, 39(3): 378-383.
- [17] XU Y, WANG Q, GAO X. On-line incubation and real-time detection by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for rapidly analyzing metabolites of anthraquinones in rat liver microsomes[J]. Journal of Chromatography A, 2018, 1571: 94-106.

(收稿日期: 2020-09-08; 修回日期: 2020-11-27)