

· 化学与分析 ·

不同加工方法对何首乌饮片质量的影响

杨艳菁¹, 兰才武¹, 贺定翔¹, 张丽^{2*}

(1. 贵州昌昊中药发展有限公司, 贵州 凯里 556000;

2. 南京中医药大学江苏省方剂高技术研究重点实验室, 南京 210023)

[摘要] **目的:**研究不同加工方法对何首乌饮片中二苯乙烯苷和蒽醌类成分的影响,为何首乌饮片适宜加工方法的建立提供依据。**方法:**采用不同切片厚度、不同干燥方式和温度处理新鲜何首乌药材,采用薄层色谱法对不同加工方法的何首乌饮片进行定性分析;以二苯乙烯苷和蒽醌类成分为指标,通过含量测定分析不同加工方法对何首乌饮片质量的影响。**结果:**薄层色谱特征斑点明显。不同干燥温度和干燥方式对何首乌各有效成分的含量影响较大,综合分析以晒干样品的含量最高。不同切片厚度对何首乌有效成分的含量有一定影响,6 mm厚片含量略高于3 mm薄片。**结论:**不同加工方法对何首乌有效成分的含量影响较大,本文为提高何首乌饮片的质量控制方法提供了一定的依据,对于保证其质量和临床疗效具有重要意义。

[关键词] 何首乌; 加工方法; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)15-0031-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015150031

Effect of Different Processing Methods on Quality of Polygoni Multiflori Radix Decoction

YANG Yan-jing¹, LAN Cai-wu¹, HE Ding-xiang¹, ZHANG Li^{2*} (1. Guizhou Changhao Traditional Chinese Medicine (TCM) Development Co. Ltd., Kaili 556000, China; 2. Jiangsu Provincial Key Laboratory for High Technology Research of TCM Formulae, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of different processing methods on stilbene glycoside and anthraquinones in Polygoni Multiflori Radix (PMR) decoction, in order to provide the basis for establishing suitable processing methods for PMR decoction. **Method:** Different slice thicknesses, drying methods and temperatures were adopted to process PMR samples. TLC method was adopted to qualitatively analyze PMR. Stilbene glycoside and anthraquinones were determined by HPLC to define the effect of different processing methods on the quality of PMR decoction. **Result:** TLC showed obvious spot characteristics. Different drying temperatures and drying methods had a greater impact on the content of effective components in PMR. Samples dried in the sun had the highest content according to the comprehensive analysis. Different slice thicknesses had a certain effect on the content of effective components; 6 mm slices contained more than 3 mm slices. **Conclusion:** Different processing methods had a greater impact on the content of effective components in PMR. In this paper, the authors provided a certain basis to improve the quality control of PMR, which is significant to ensure PMR's quality and clinical efficiency.

[Key words] Polygoni Multiflori Radix; processing method; quality control; TLC; HPLC

何首乌^[1]具有解毒、消痈、截疟、润肠通便之功效,用于疮痈、瘰疬、风疹瘙痒、久疟体虚、肠燥便秘

[收稿日期] 20140919(005)

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI13B04);贵州省中药现代化专项(黔科合中药字[2013]5059号);中药资源产业化过程协同创新中心重点项目(ZDXM-1-3)

[第一作者] 杨艳菁, 硕士, 从事中药学研究, Tel:13862022750, E-mail:348545436@qq.com

[通讯作者] *张丽, 博士, 教授, 从事中药学研究, Tel:13851472740, E-mail:zhangliguanxiong@163.com

等^[1],可用于治疗高血压、高血脂、冠心病、脱发等病,并且被作为美容、美发和保健品进行开发研究。目前已有部分文献报道不同产地和不同采收期对何首乌的质量有一定影响,但关于不同加工方法对何首乌质量的影响尚缺乏研究。《中国药典》2010年版一部何首乌饮片【炮制】项下规定“除去杂质,洗净,稍浸,润透,切厚片或块,干燥”,但对于切片厚度、干燥方式及温度并无具体规定,因此,本文拟对不同加工方法所得何首乌进行薄层鉴别、水分检查、二苯乙烯苷和结合蒽醌含量测定,综合进行质量评价,以期为何首乌加工方法的优选提供依据。

1 仪器与试药

ATS-4型全自动点样仪,ADC2型全自动展开仪,WinCATS数码相机系统(Switzerland);FA1104N型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),DHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),DL-1-15型台式封闭电炉(天津市泰斯特仪器有限公司),KSW-40-11型电阻炉温度控制器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),2695型高效液相色谱仪(2998型检测器,Empower色谱工作站,美国Waters),BP211D型1/10万分析天平(Sartorius AG),TGL-16B型高速离心机(Anke)。乙腈(色谱纯,德国Merck公司),超纯水自制,其他试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

二苯乙烯苷、大黄素、大黄素甲醚对照品购自成都瑞芬思生物科技有限公司(批号分别为F-022-130512, D-029-130401, D-004-130315)。何首乌样品由贵州昌昊中药发展有限公司公司提供,加工方法见表1。药材经南京中医药大学段金廛教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* 的干燥块根。粉碎,过筛,备用。

表1 何首乌药材产地及加工方法

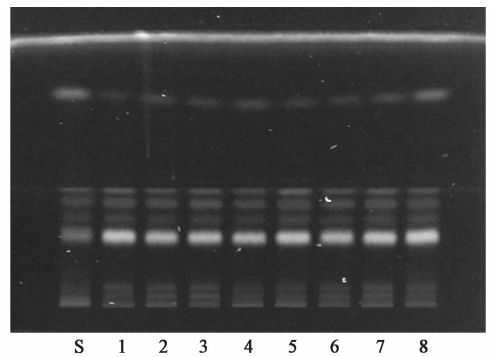
Table 1 Origin and processing method of *Polygoni Multiflori Radix*

No.	加工方法	饮片外观
1	3 mm 薄片,晒干	深棕色,片型平整
2	3 mm 薄片,40 °C 烘干	浅棕色,有少量翘片
3	3 mm 薄片,50 °C 烘干	浅棕色,有少量翘片
4	3 mm 薄片,60 °C 烘干	浅棕色,有少量翘片
5	6 mm 厚片,晒干	深棕色,片型平整
6	6 mm 厚片,40 °C 烘干	深棕色,片型平整
7	6 mm 厚片,50 °C 烘干	浅棕色,片型平整
8	6 mm 厚片,60 °C 烘干	浅棕色,片型平整

注:产地均为贵州省施秉县。

2 定性鉴别

取样品粉末 0.25 g,加乙醇 50 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液浓缩至 3 mL,作为供试品溶液。另取何首乌对照药材 0.25 g,同法制成对照药材溶液。吸取上述 2 种溶液各 2 μL,分别点于同一硅胶 H 薄层板上使成条状,一次展开以三氯甲烷-甲醇(7:3)为展开剂,展至约 3.5 cm,取出,晾干,二次展开以三氯甲烷-甲醇(20:1)为展开剂,展至约 7 cm,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,见图 1。



S. 何首乌对照药材;1~8. 不同加工方法何首乌样品

图1 对照药材与不同加工方法何首乌样品 TLC(365 nm)

Fig.1 TLC chromatogram of *Polygoni Multiflori Radix* PMR at UV 365 nm

3 水分、灰分检查

水分测定法根据现行 2010 年版《中国药典》要求,采用附录 IX H 第一法(烘干法)进行测定。总灰分测定参照 2010 年版《中国药典》(一部)附录 IX K 总灰分测定法进行,不同加工方法何首乌样品水分、总灰分测定结果见表 2。

表2 不同加工方法何首乌样品水分及总灰分测定

Table 2 Contents of bioactive constituents in *Polygoni Multiflori Radix* samples processed with different methods

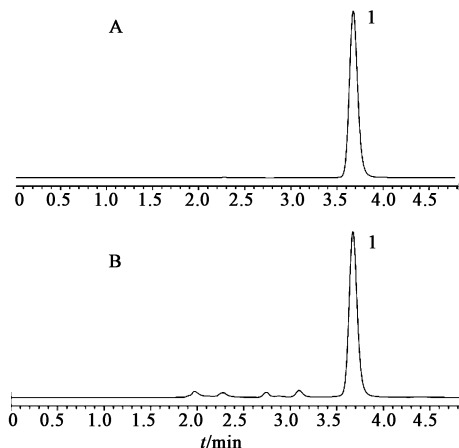
No.	水分	总灰分
1	9.53	1.89
2	8.85	1.67
3	8.24	1.70
4	7.72	1.78
5	9.82	1.79
6	9.17	1.64
7	8.63	1.77
8	8.34	1.74

4 含量测定

4.1 二苯乙烯苷含量测定

4.1.1 对照品溶液的制备 取 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品适量,精密称定,加稀乙醇制成 0.186 g·L⁻¹ 的溶液,即得。

4.1.2 样品测定 取不同加工方法的何首乌样品粉末,按《中国药典》2010 年版一部何首乌^[1]项下方法测定,每个样品平行 2 份。按干燥品计算各样品中二苯乙烯苷的含量,结果见图 1,表 2。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 二苯乙烯苷

图 2 何首乌样品中二苯乙烯苷 HPLC

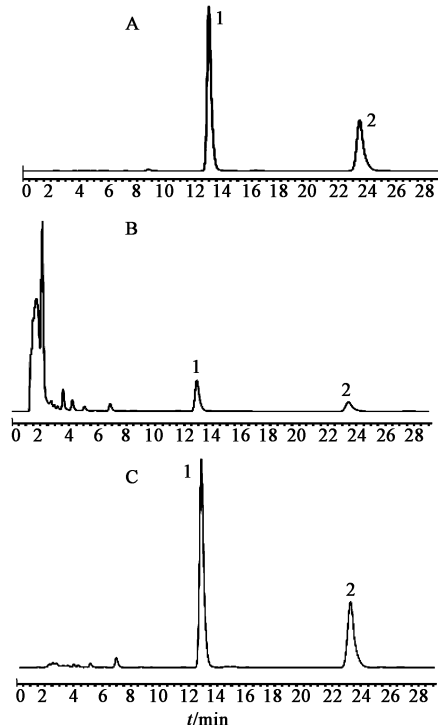
Fig. 2 HPLC chromatograms of Polygoni Multiflori Radix

4.2 结合蒽醌含量测定

4.2.1 对照品溶液的制备 取大黄素、大黄素甲醚对照品适量,精密称定,加甲醇制成分别为 54.2,

18.8 mg·L⁻¹ 的溶液,即得。

4.2.2 样品测定 取不同加工方法的何首乌样品粉末,按《中国药典》2010 年版一部何首乌项下方法^[1]测定结合蒽醌含量,每份测定 2 次。按干燥品计算各样品中结合蒽醌的含量(结合蒽醌含量 = 总蒽醌 - 游离蒽醌),结果见图 3,表 3。



A. 对照品; B. 游离蒽醌; C. 结合蒽醌; 1. 大黄素; 2. 大黄素甲醚

图 3 何首乌样品中游离蒽醌、结合蒽醌 HPLC

Fig. 3 HPLC chromatograms of Polygoni Multiflori Radix free and total anthraquinone

表 3 不同加工方法何首乌样品中活性成分的含量

Table 3 Contents of bioactive constituents in Polygoni Multiflori Radix samples processed with different methods

No.	二苯乙烯苷	游离蒽醌			结合蒽醌		
		大黄素	大黄素甲醚	总量	大黄素	大黄素甲醚	总量
1	3.118	0.027 8	0.008 8	0.036 6	0.189 9	0.059 9	0.249 8
2	2.911	0.052 4	0.020 1	0.072 6	0.100 4	0.039 6	0.140 1
3	2.711	0.037 4	0.011 2	0.048 6	0.143 6	0.045 0	0.188 6
4	2.992	0.074 5	0.023 2	0.097 8	0.108 1	0.034 4	0.142 5
5	3.244	0.029 3	0.007 6	0.036 9	0.199 4	0.056 2	0.255 6
6	2.429	0.030 2	0.007 7	0.037 9	0.105 5	0.042 7	0.148 2
7	2.869	0.047 3	0.014 0	0.061 3	0.160 6	0.037 8	0.198 4
8	3.187	0.110 4	0.033 5	0.143 9	0.111 2	0.032 6	0.143 8

5 结果与讨论

随着何首乌在临床上的使用越来越广泛,其有效活性成分二苯乙烯苷和结合蒽醌类成分也愈发受到关注和研究,它们是目前何首乌质量控制的主要

成分,在 2010 年版《中国药典》中均有含量测定要求。研究表明,二苯乙烯苷具有保护神经^[2]、改善记忆^[3]、保肝、抗氧化^[4]等作用,在动脉粥样硬化^[5-6]、阿兹海默症^[7-8]等疾病的预防和治疗方面也

显现出喜人前景。蒽醌类成分(主要包括大黄素、大黄素甲醚等)多具有抗菌、消炎、泻下、抗氧化^[9]等生物活性,目前认为是何首乌解毒、消痈、润肠通便的主要物质基础,且结合蒽醌泻下作用强于游离蒽醌^[10]。

本文选取同一产地、同一采收期的何首乌药材,采用 8 种不同的方法对其进行加工,通过薄层色谱法进行定性鉴别,对其水分、灰分进行检查,并用 HPLC 测定二苯乙烯苷和结合蒽醌的含量。各样品的薄层色谱斑点清晰,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,各样品与对照药材无明显差异,说明不同加工方法所得样品的成分种类无差异。不同加工方法所得何首乌样品的含水量为 7.72% ~ 9.82%,总灰分含量为 1.64% ~ 1.89%,均符合药典规定。从含量测定结果可以看出,由于加工方法不同,各样品之间的含量差异较大,二苯乙烯苷含量为 2.429% ~ 3.244%,其中以 60 °C 烘干的厚片最高,结合蒽醌含量为 0.140 1% ~ 0.255 6%,其中以晒干的厚片最高。

同一温度下,厚片中二苯乙烯苷和结合蒽醌的含量均高于薄片,提示切片厚度对何首乌药材有效成分的含量有一定的影响,样品越厚,含量越高,该结果与《中国药典》2010 年版何首乌饮片项下的炮制要求具有一致性。推测是由于厚片比表面积较小,活性成分损失较少,二苯乙烯苷和结合蒽醌类成分得到了较好的保留,故而含量相对薄片更高。

同样片型,晒干的样品二苯乙烯苷和结合蒽醌的含量明显高于烘干的样品,二苯乙烯苷在烘干温度 60 °C 时含量高于 40 °C 和 50 °C,结合蒽醌在烘干温度 50 °C 时含量高于 40 °C 和 60 °C,提示干燥方式和干燥温度对何首乌饮片有效成分的含量具有较大的影响。晒干的样品中二苯乙烯苷含量最高,推测是因为在适宜的温度及光照条件下,何首乌饮片中可促使二苯乙烯苷合成的相关酶系活化,酶促效应使二苯乙烯苷的含量有所增加。不同温度烘干时,推测 60 °C 时相关酶系的活性最高,因此 60 °C 烘干的样品中二苯乙烯苷的含量高于 40 °C 和 50 °C 的。有文献报道,结合蒽醌可经酶水解转化为游离蒽醌^[11],推测,相比自然晒干,烘干时的温度和湿度更有利于酶水解反应,促使结合蒽醌转化为游离蒽醌,因而烘干样品的结合蒽醌含量低于晒干样品。目前认为结合蒽醌的润肠通便作用强于游离蒽醌,综合

二苯乙烯苷的含量分析,4 种不同干燥方式以晒干最优,50 °C 和 60 °C 烘干次之,40 °C 烘干较差。

何首乌药材中的各种成分在不同加工方法中的变化不尽相同,因此需要全面综合的质量评价以确定适宜的加工方法,从而保证何首乌饮片的质量和临床疗效。本文采用多种干燥方式、干燥温度、切片厚度对何首乌药材进行加工处理,综合分析活性成分二苯乙烯苷和结合蒽醌的含量,结果表明切 6 mm 厚片、晒干是较为适宜的加工方法,为何首乌饮片的质量控制提供了依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:164-165.
- [2] 韩文文, 张玉莲, 周震, 等. 二苯乙烯苷对 $A\beta_{25-35}$ 致神经干细胞损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11):160-163.
- [3] 张兰, 邢颖, 赵玲, 等. 不同时程 APP 转基因小鼠学习记忆改变及参乌胶囊、二苯乙烯苷的干预作用[J]. 中国行为医学科学, 2006, 15(30):193-196.
- [4] 龙石银, 杨滢, 高细强, 等. 二苯乙烯苷联合 PDT 抗 H_2O_2 诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8):213-217.
- [5] 刘庆, 彭鹏, 熊国祚. 二苯乙烯苷抑制血管平滑细胞增殖和迁移的研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2014, 7(3):178-180.
- [6] 姚文娟, 范文俊, 顾承静, 等. 二苯乙烯苷对动脉粥样硬化大鼠主动脉波形蛋白表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(9):1260-1264.
- [7] 张玉莲, 周震, 韩文文, 等. 何首乌有效成分二苯乙烯苷对 $A\beta_{25-31}$ 诱导神经干细胞定向分化的影响[J]. 中医杂志, 2014, 55(4):323-327.
- [8] 王蓉, 蔡彦宁, 赵志炜, 等. 参乌胶囊及其有效成分二苯乙烯苷对老年大鼠海马区神经生长因子及其受体表达的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(6):16-23.
- [9] 贾振宝. 决明子中蒽醌化合物组成和功能的研究[D]. 江苏:江南大学, 2006.
- [10] 罗瑞芝, 贾伟, 赵利斌, 等. 何首乌研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(7):1097-1100.
- [11] 段金殿, 宿树兰, 严辉, 等. 药材初加工“发汗”过程及其酶促反应与化学转化机制探讨[J]. 中草药, 2013, 44(10):1219-1225.

[责任编辑 顾雪竹]