

JSichuan Univ -Nat Sci (四川大学学报·自然科学版), 1991, 28(2): 265-267.

- [5] Chao C L. *Handbook of Preparations of Chinese Medicinal Plants* (中药制剂汇编) [M]. Beijing: People's Medical Pub-

lishing House, 1983.

- [6] Tang A L, Liu N, Cheng N Q. A study of pH influence on rutin extraction and technics of preparation of quercetin [J]. *J Guilin Med Coll* (桂林医学院学报), 1994, 7(3): 29-32.

炮制对虎杖中白藜芦醇苷和大黄素的影响

江海燕, 朱 华, 黄慧学, 黄 拓, 蒋利林*

(广西中医学院药学院, 广西 南宁 530001)

摘 要:目的 探讨炮制对虎杖及其炮制品中有效成分的影响。方法 采用薄层色谱法对炮制品中白藜芦醇苷和大黄素进行定性分析, 并采用薄层扫描法和 HPLC 法对大黄素进行定量分析。结果 酒炙品、醋炙品、盐炙品中大黄素含量与生品相比有不同程度的增加。结论 不同炮制方法、辅料对虎杖中大黄素含量有一定的影响。

关键词:虎杖; 白藜芦醇苷; 大黄素; 炮制; 薄层扫描; 高效液相色谱

中图分类号: R283. 1; R286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)05-0412-04

Effects of processing on piceid and emodin in *Polygonum cuspidatum*

JIANG Hai-yan, ZHU Hua, HUANG Huí-xue, HUANG Tuo, JIANG Li-lin

(School of Pharmacy, Guangxi College of TCM, Nanning 530001, China)

Abstract: **Object** To investigate the effects on the active components in *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. and its different processed products. **Methods** The qualitative analysis of piceid and emodin are taken by TLC, and content of emodin was determined by TLCS and HPLC. **Results** The contents of emodin significantly increased in samples fried with rice wine, vinegar and salt compared with the crude. **Conclusion** Different methods and ajuvants made a certain influence on the contents of emotion in *P. cuspidatum*.

Key words: *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.; piceid; emodin; processing; TLCS; HPLC

虎杖, 又名大叶蛇总管(《广东中草药》)、斑根紫金龙(《植物名实图考》)、苦杖(《本草拾遗》)、阴阳莲(《南宁市药物志》), 为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥块茎和根, 其性微寒, 味微苦。具有清热利湿、散瘀定痛、通便解毒、止咳化痰等功效。用于关节痹痛, 湿热黄疸, 经闭, 痼, 水火烫伤, 跌扑损伤, 痈肿疮毒, 咳嗽痰多^[1]。传统炮制方法首载于《千金翼方》:“去头脑, 洗去土, 燥切”。《雷公炮制论》记载有“虎杖, 采得后, 细研, 却用虎杖叶裹一夜, 出煞干用”。《重修政和经史类备用本草》记载:“虎杖取根, 以汤入器中, 渍五七日, 冷乃易, 日换三、四遍, 洗去涎, 暴干用之或再炮”。现代炮制以“洗净, 闷润至透, 切厚片”的润品为主。虎杖含蒽醌类和 类化合物, 其中蒽醌类成分大黄素具有抗菌、抗肿瘤、解痉、杀灭钩端螺旋体的作用; 类成分白藜芦醇苷为其调血脂有效成分, 具有对

心血管、微循环系统的影响, 并且对血小板聚集、呼吸系统有作用^[2]。近年来虎杖的研究多限于化学成分及药理研究, 其炮制工艺研究则较少。本实验对虎杖的生品、酒炙品、醋炙品和盐炙品进行了分析, 以期探讨虎杖不同炮制品有效成分变化的规律, 完善虎杖饮片质量标准提供实验参考依据。

1 材料和仪器

虎杖药材饮片购于广西南宁药材站, 经本院朱华博士鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥块茎和根; 白藜芦醇苷(批号 1535-200001)和大黄素(批号 0756-200009)对照品均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯, 其余均为分析纯。

LG-8A 高效液相色谱仪(日本岛津), CS-9000 薄层扫描仪(日本岛津), LG16-W 高速离心机(北京医用离心机厂), SB3200-T 超声器(上海 Branson),

* 收稿日期: 2002-06-24

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(0135028)

作者简介: 江海燕(1958—), 女, 副教授, 主持或承担省部级课题 9 项, 已发表专业论文 20 余篇, 出版教材与专著 5 部, 主要研究方向为药品质量控制与中药炮制质量研究。Tel: (0771) 3137585 Fax: (0771) 3140360 E-mail: jhyw@sina.com

紫外分析仪(上海第三分析仪器厂),电子分析天平(上海分析仪器厂),定量毛细管(USA)。

2 样品的制备

生虎杖:取虎杖饮片约 100 g,除去杂质,粉碎,过 65 目筛,为淡黄色^[1]。

酒炙品:取净虎杖饮片 100 g,加米酒 10 mL(加水稀释 1 倍),拌匀,闷润至酒被吸尽后,置热锅中用文火炒干,有轻微的酒气时取出放凉,置于烘箱中 60 ℃烘 30 min,取出趁热粉碎过 65 目筛,称重,为黄褐色,得率为 91.61%^[3]。

醋炙品:取净虎杖饮片 100 g,加 20 mL 米醋拌匀,闷润至醋被吸尽后,置热锅中用文火炒干,具醋香味,取出放凉。置于烘箱中 60 ℃烘 30 min,取出趁热粉碎过 65 目筛,称重,为黄褐色,得率 93.58%^[3]。

盐炙品:取净虎杖饮片 100 g,加盐水 18 mL(盐 2 g,稀释 9 倍),拌匀,闷润至盐水被吸尽后,置热锅中用中火炒干,取出放凉。置于烘箱中 60 ℃烘 30 min,取出趁热粉碎过 65 目筛,称重,为黄褐色,得率 97.05%^[3]。

3 薄层鉴别

3.1 薄层板的制备:硅胶 G 20 g,加 0.7% CMG-Na 溶液 60 mL,用 HJQ-A 型混浆器搅拌均匀,在 10 cm×20 cm 的玻璃板上用薄层制板仪铺成一定厚度的薄层板,晾干,在 105 ℃活化 1 h。

3.2 白藜芦醇苷鉴别^[4]

3.2.1 供试液的制备:称取虎杖细粉约 0.5 g,置索氏提取器中,加入甲醇 100 mL,加热回流提取 6 h,提取液回收甲醇至小体积,然后定量转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至稀释刻度即为样品溶液。

3.2.2 白藜芦醇苷对照品溶液制备:精密称定 4.9 mg 白藜芦醇苷对照品,置 50 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

3.2.3 薄层鉴别:精密吸取供试品溶液及对照品溶液分别点于同一薄层板上,以氯仿-丙酮-甲酸水(4:4:0.5:0.2)为展开剂,上行展开 12 cm,在 254 nm 紫外灯下检视,可见供试品色谱中白藜芦醇苷的蓝紫色荧光斑点(图 1)。

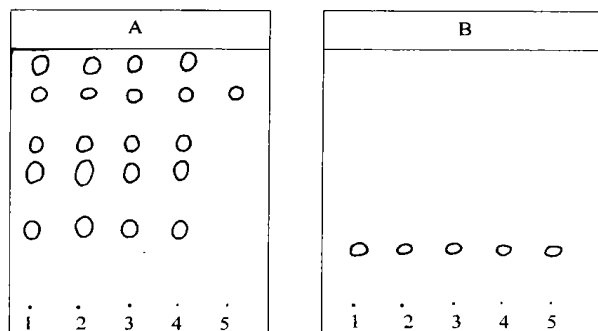
3.3 大黄素鉴别^[1]

3.3.1 供试液制备:取本品粉末约 0.5 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇约 90 mL,超声处理(功率 120 W,频率 50 kHz) 30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过。精密量取滤液 10 mL,置 150 mL 圆底烧瓶中,挥去甲醇,加 2.5 mol/L 硫酸溶液 20 mL,加热回流 1 h,稍冷,加氯仿 60 mL,回流 2 h,冷却,移置分液漏斗中,用少量氯仿洗涤容器,洗液并

入分液漏斗。分取氯仿层置 50 mL 量瓶中,酸液用少量氯仿提取,氯仿液并入 50 mL 量瓶中,加氯仿至刻度,摇匀即得。

3.3.2 大黄素对照品液制备:取大黄素对照品 10.5 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

3.3.3 薄层鉴别:吸取供试品及对照品液分别点于同一薄层板上,选用石油醚(30 ℃~60 ℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层液为展开剂,上行展开 9 cm,紫外光灯(254 nm)下检视可见大黄素的荧光斑点,置氨蒸气中熏后,日光下检视,斑点变为红色(图 1)。



1-酒炙品 2-醋炙品 3-盐炙品 4-生品 5-对照品
1-sample fried with rice wine 2-sample fried with vinegar
3-sample fried with salt 4-crude drug 5-reference substance

图 1 不同虎杖炮制品中白藜芦醇(A)和大黄素(B)的 TLC 图谱

Fig. 1 TLC chromatograms of piceid (A) and emodin (B) in different processed products of *P. cuspidatum*

4 TLCS 法测定大黄素含量^[5]

4.1 薄层条件选择:同 3.3.3 项。

4.2 对照品溶液的制备:同 3.3.2 项。

4.3 线性关系考察:分别精密吸取大黄素对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μ L, 点于同一薄层板上,展开,晾干。单波长扫描测定($\lambda_s = 440$ nm),以点样量为横坐标(X),吸收峰面积积分值为纵坐标(Y)作图,经回归处理,回归方程为 $Y = 89\ 005X + 11\ 667.4$, $r = 0.9963$ 。结果表明:大黄素点样量在 0.21~1.05 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

4.4 精密度考察:取同一对照品液 4 μ L 在同一块板上点样 5 次,测定。大黄素斑点峰面积 $RSD = 0.84\%$ ($n = 5$)。另取同一对照品液 4 μ L 分别点样于不同薄层板上,测定大黄素斑点的峰面积, $RSD = 0.96\%$ ($n = 5$)。

4.5 稳定性考察:精密吸取同一对照品溶液 4 μ L,在同一块薄层板上点样 9 次,展开,晾干。间隔 15,

15, 30, 60, 60, 60 min 测定斑点吸收峰面积, 结果表明样品斑点在 4 h 内稳定, 其 $RSD=1.35\%$ 。

4.6 加样回收测定:精密称取已测得含量的醋炙品 0.25 g,添加大黄素对照品适量,测定,计算回收率,结果回收率为 103.5%, $RSD=1.76\%$ ($n=5$)。

4.7 样品测定: 取对照品溶液 2 μL 和 4 μL , 样品溶液 6 μL , 以外标两点法测定其大黄素的含量, 结果见表 1。

表 1 4 种不同样品分析结果($n=5$)

Table 1 Analysis results in four different samples ($n = 5$)

样 品	大黄素含量/ %	<i>RSD</i> / %
酒炙品	1.209	2.32
醋炙品	1.070	1.69
盐炙品	0.959	3.51
生 品	0.929	0.997

5 HPLC法测定大黄素含量^[6]

5.1 色谱条件: Alltima C₁₈柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸(80: 20); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 254 nm; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL。

5.2 线性关系:精密称取大黄素对照品 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,密塞。精密吸取此溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀,密塞,作为对照品稀释液。分别精密吸取对照品稀释液 20 μ L 测定,以峰面积为横坐标,溶液浓度为纵坐标,绘制标准曲线,线性回归方程为 $Y = 1.2836$

$\times 10^{-5} X - 0.949 5, r = 0.999 1$, 结果表明: 大黄素在 $5 \sim 50 \mu\text{g/mL}$ 具有良好的线性关系。

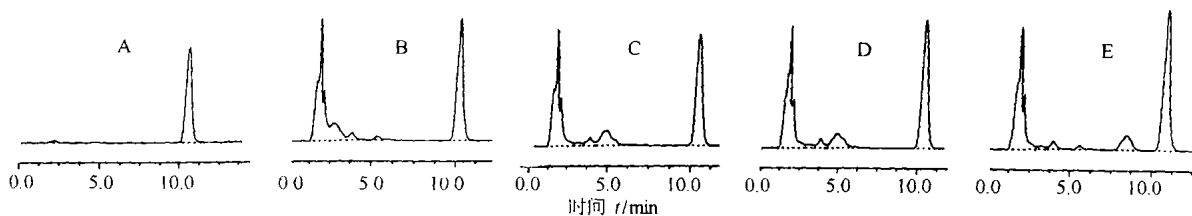
5.3 稳定性试验: 分别吸取虎杖生品样品液 20 μL 于 0, 4, 8, 12, 24 h 测定, 结果表明大黄素含量 24 h 内基本稳定, $RSD = 1.61\%$ 。

5.4 精密度试验:精密吸取大黄素对照品溶液 20 μL , 重复进样 5 次, 测定峰面积, 其 $RSD = 0.44\%$ 。

5.5 重现性试验:取生品依法处理,得5份供试品液,进样测定,结果大黄素含量的 $RSD = 1.70\%$ 。

5.6 回收率试验:精密称取虎杖生品细粉约0.1 g, 分别定量加入0.1 mg/mL的大黄素对照品乙醇溶液,按样品测定方法操作,测定平均回收率为97.72%, $RSD=2.99\%$ ($n=5$)。

5.7 样品测定: 取虎杖生品及各炮制品细粉, 精密称定约 0.1 g。分置于 10 mL 具塞离心管中, 加入 2.5 mol/L 硫酸 5 mL, 于超声器上混匀, 置沸水浴中放置 30 min, 取出, 加水 4.0 mL, 振荡使均匀, 离心 10 min (2 500 r/min), 上清液经滤纸滤过, 滤液弃去, 滤膜连离心沉淀反复加乙醇用超声波振荡提取, 共 8 次, 每次加乙醇 5 mL, 超声波振荡 5 min, 离心 3 min (2 000 r/min), 收集上清液置于 50 mL 容量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 取适量离心 10 min (12 000 r/min) 后, 取上清液 20 μ L 进样, 用外标二点法计算, 结果表明: 酒炙品> 醋炙品> 盐炙品> 生品, 炮制后大黄素的含量与生品相比均有不同程度的增加。酒炙品达 24.3%。见图 2 及表 2。



A-大黄素 B-虎杖原药 C-盐炙品 D-醋炙品 E-酒炙品

A-emodin B-*P. cuspidatum* C-sample fried with salt D-sample fried with vinegar E-sample fried with rice wine

图2 大黄素(A)和虎杖及其不同炮制品(B~E)的HPLC图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of emodin (A), *P. cuspidatum* (B) and its processed products (C–E)

表 2 4 种不同样品 HPLC 分析结果($n=3$)

Table 2 Results in four samples by HPLC ($n= 3$)

样 品	大黄素 / %	<i>RSD</i> / %
生 品	1.406	0.60
酒炙品	1.735	1.50
醋炙品	1.670	1.66
盐炙品	1.549	1.64

6 讨论

6.1 虎杖中的大黄素,除游离部分外,尚有部分以

大黄素-6-甲醚-8-*D*-葡萄糖苷、大黄素-8-*D*-葡萄糖苷等苷类结构形式存在, 并且还有部分以大黄素为母核的非苷类结构存在, 因此在 HPLC 测定中采用酸水解, 并对水解液直接离心, 离心沉淀反复加乙醇用超声波振荡提取, 以保证总大黄素提取完全。

6.2 HPLC 测定中曾采用文献^[7]报道的甲醇-0.1%磷酸溶液(85:15)为流动相,对精密度和重现性有一定的影响;甲醇-1%磷酸溶液(75:25)为流动

相出峰时间较长,浪费试剂。采用甲醇-0.2%磷酸溶液(80:20)为流动相,节约时间,精密度和重现性较好。

6.3 中医传统理论认为,酒性大热,有活血通络、行药效之功。虎杖以酒炙,酒力有助于增大其有效成分在血脉中运行的速度和力量,以增强虎杖散瘀定痛的功效。实验中酒炙品中大黄素含量增加较多,可能是虎杖吸入酒有助于大黄素的溶出。醋有活血化瘀,引药归经等功效,可协同药物发挥药效。实验中醋炙品中大黄素含量有增加,可能是由于醋的主要成分为醋酸,结合态的大黄素在稀酸的作用下易水解成为游离大黄素,利于大黄素的提取。但实验结果与传统的炮制可改变药效达“增效”理论是否相吻合还有待进一步研究。

6.4 本实验结果表明,虎杖经酒炙、醋炙、盐炙后并不影响白藜芦醇及大黄素含量,且有利于有效成分的溶出。初步建立了薄层扫描法和高效液相色谱法

测定虎杖不同炮制品中大黄素含量测定方法,操作较为简单,重现性好,为制定虎杖现代炮制标准提供了实验参考依据。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
- [2] Zhang X Y. The chemical constituents and isolation of alkaloids from *Rhizoma Polygoni Cuspidati* [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 1999, 11(3): 13.
- [3] Jiang H Y, Cai S F, Pan Y. Experimental study on *Rhizoma Polygoni Cuspidati* of different processed products [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中医药学刊), 2002, 20(8): 426.
- [4] Xiong Y, Shao Y D, Hu G X, et al. Comparison of emodin in *Rhizoma Polygoni Cuspidati* of different processed products [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 2000, 12(4): 79.
- [5] Zhong S C, Guo H Q, Sun P C, et al. Determination of emodin of Yigan Qingre Jiedu Capsule by TLC scanning [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1999, 14(5): 198.
- [6] Tang X B, Wu J E, Zhao X Y, et al. Determination of emodin in *Rhizoma Polygoni Cuspidati* by HPLC [J]. *Primary J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2000, 14(4): 17-18.
- [7] Chen F K. *Determination of Active Composition in Common Traditional Chinese Medicine* (常用中草药有效成分含量测定) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.

HPLC法测定火麻仁油中大麻二酚的含量

张 岗,郭江宁,毕开顺*
(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立HPLC法测定火麻仁油中大麻二酚含量的方法。方法 固定相为Irregular-H-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 10 μm),流动相为甲醇-乙腈-水-冰醋酸(25:50:25:0.4),流速为0.8 mL/min,检测波长为220 nm,柱温为室温。结果 大麻二酚在1.2~9.6 μg/mL呈良好的线性关系($r=0.9994$),平均回收率为94.6%, $RSD=1.9\%$ ($n=9$)。结论 本方法简便、准确、重现性好。

关键词:火麻仁油;大麻二酚;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2003)05-0415-03

Determination of cannabidiol in hemp seed oil by HPLC

ZHANG Gang, GUO Jiang-ning, BI Kai-shun

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Object** To develop the analysis method to determine the content of cannabidiol in the hemp seed oil by HPLC. **Methods** The chromatographic condition was Irregular-H-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 10 μm). A mixture of methanol-acetonitrile-water-acetic acid (25:50:25:0.4) was used as the mobile phase with a flow rate of 0.8 mL/min and the detection wavelength was 220 nm at room temperature. **Results** The calibration curve for cannabidiol showed good linear correlation within the concentration range of 1.2—9.6 μg/mL ($r=0.9994$). The average recovery and RSD was 94.6% and 1.9% ($n=9$) respectively. **Conclusion** The method is convenient, reliable and with good reappearance.

Key words: hemp seed oil; cannabidiol; HPLC

火麻仁为桑科植物大麻 *Cannabis sativa* L. 的干燥成熟果实,有润燥滑肠通便之功效^[1]。其中油

* 收稿日期:2002-08-09

作者简介:张 岗(1965—),男,辽宁沈阳人,硕士研究生,研究方向为中药质量控制。E-mail: gangzhang99@sohu.com