

DMSO): δ 45.118 (C-1), 37.583 (C-2), 206.645 (C-3), 136.495 (C-4), 174.407 (C-5), 40.848 (C-6), 37.118 (C-7), 31.321 (C-8), 36.085 (C-9), 34.778 (C-10), 146.751 (C-11), 167.868 (C-12), 122.851 (C-13), 7.722 (C-14), 11.944 (C-15)。以上数据与文献报道^[4]的一枝蒿酮酸的氢谱和碳谱测定结果一致。

3 讨论

3.1 在进行高效液相制备色谱制备前,先把提取的样品通过硅胶柱色谱预处理,可以去除样品中大量的杂质,使酮酸的量进一步提高,防止对色谱柱污染。

3.2 单纯的柱色谱分离得到的粗品含有多种微量杂质,纯度达不到对照品的要求。而通过其他方法纯化比较繁琐,通过高效液相制备色谱的多个紫外波长的检测,方法操作方便,可使一枝蒿酮酸峰和杂质峰分开,进而使得对照品质量分数达到98%以上。

3.3 选用乙腈-水系统,酮酸保留时间过短,而且拖尾;选用未加酸的甲醇-水系统,除了保留时间过短外,主峰与杂质峰重叠现象严重。选用甲醇-0.2%甲酸水溶液,甲酸沸点与水相近,易与水一起蒸出,不会引起产品纯度降低^[5]。甲醇-0.2%甲酸水溶液(67:33)使主峰与杂质峰达到了基线分离。

3.4 原料经柱色谱分离后,尽管一枝蒿酮酸量大幅提升,但溶液中仍含有一些杂质,在进行高效液相制备色谱纯化时,杂质也同步进入制备柱中,并且在制

备流动相条件下无法完全被洗脱。这既影响柱寿命也影响下一次的分离效果。因此,必须在每次分离纯化后梯度冲洗制备柱,然后再用甲酸水溶液平衡色谱柱,进行下一次的分离纯化^[6]。

3.5 因为酮酸为首批标化的定量用对照品,所以选定了245、254、238、230 nm 4个检测波长。选用了乙腈-水(70:30)和甲酸-0.2%甲酸水溶液(67:33)两种溶剂系统做归一化测定,以几种测定方法结果的平均值作为测定结果。

3.6 本实验建立的制备一枝蒿酮酸对照品的方法,操作方便,重现性好,制备的产品纯度高,可用作分析的对品。

References:

- [1] Xu G S, Chen X Y, Yu D Q. The structure of a new sesquiterpene in *Artemisia rupestris* L. — rupestonic acid [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1988, 23 (2): 122-125.
- [2] Chen X Y, Wang S H. Elementary studies on the effect of anti-hypersusceptibility of *Artemisia rupestris* L [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, 12 (4): 25-26.
- [3] Liu Y M, Yu D Q. Studies on the chemical components of *Artemisia rupestris* L [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1985, 20 (7): 514-518.
- [4] Lei L, Song H Z, Tu P F, et al. Separation of echinacoside by reversed-phase preparative high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2001, 19 (3): 200-202.
- [5] Xiao W T, Zhu X L, Chen B, et al. Preparation and purification of theanine reference substance by preparative HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (2): 148-150.

清蒸与黑豆汁蒸何首乌中有效成分的比较

解奉江, 赵荣华*, 赵声兰, 饶高雄

(云南中医学院 中药系, 云南 昆明 650200)

摘要:目的 为制定何首乌合理的炮制工艺提供依据。方法 采用HPLC和分光光度计对清蒸和黑豆汁蒸何首乌中有效成分进行比较分析。结果 清蒸和黑豆汁蒸何首乌中蒽醌和二苯乙烯苷无显著性差别。结论 为简化炮制工艺用清蒸代替黑豆汁蒸是可行的。

关键词:何首乌;清蒸;黑豆汁蒸;蒽醌;二苯乙烯苷

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)07-1004-03

Comparison of active components in two processed products of *Polygonum multiflorum*

XIE Feng-jiang, ZHAO Rong-hua, ZHAO Sheng-lan, RAO Gao-xiong

(Department of Chinese Materia Medica, Yunnan College of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200, China)

Abstract: Objective To provide basis for choosing a proper processed method of *Polygonum*

收稿日期:2004-09-07

基金项目:云南省中药现代化科技产业专项基金资助(2002ZY-11)

作者简介:解奉江(1979—),男,辽宁人,在读硕士,主要从事中药炮制方面的研究。

* 通讯作者 赵荣华 zharh@163.net Tel: (0871) 6212611

multiflorum. **Methods** To compare and analyze main active component changes in the processed products of *P. multiflorum* by being steamed without any adjuvants and with soya-bean milk of different concentrations. **Results** There was no marked difference for variously processed products in the main active components, anthraquinone and stilbene glucoside in *P. multiflorum*. **Conclusion** It is feasible to replace the steamed with soya-bean milk by the steamed without any adjuvants.

Key words: *Polygonum multiflorum* Thunb.; steamed without any adjuvants; steamed with soya-bean milk; anthraquinone; stilbene glucoside

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。何首乌主要含有二苯乙烯苷类、蒽醌类、磷脂类成分,具有降血脂、抗动脉硬化、促智、抗衰老,保肝,增强免疫功能等作用^[1,2]。何首乌蒸制方法有清蒸和10%(黑豆与何首乌质量之比)黑豆汁蒸。本实验对何首乌清蒸与黑豆汁蒸样品中蒽醌和二苯乙烯苷变化进行探讨,为何首乌炮制工艺研究提供参考和依据。

1 仪器与药品

7520型可见-紫外分光光度计(上海分析仪器厂);Waters液相色谱仪,600泵,2487双波长紫外检测器。大黄素对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号0756-200110,含量测定用)。所用试剂均为分析纯,水用纯净水。二苯乙烯苷对照品(批号0844-200003,含量测定用)由中国药品生物制品检定所提供。何首乌药材来自云南省绿劝县,经云南中医学院中药鉴定教研室廖心荣教授鉴定为蓼科植物何首乌 *P. multiflorum* Thunb. 的块根。样品全部切成粒度大小为0.8~1 cm(长宽高在0.8~1 cm)的颗粒,至鼓风干燥箱中80℃干燥至含水量为10%,备用。黑豆(市售)。

2 方法与结果

2.1 清蒸:取何首乌5份,每份200 g,每份用200 mL水浸润,润透后,放入高压锅中的竹皿中,120℃蒸制6 h,取出放入鼓风干燥箱中80℃干燥至含水量为10%,备用。

2.2 黑豆的提取:参照文献报道^[3]取500 g黑豆加水煮4 h,得黑豆汁750 mL。再加适量水煮3 h,得黑豆汁500 mL,合并黑豆汁,即得。

2.3 黑豆汁蒸制:取生首乌15份,每份200 g,随机取其中5份,每份用黑豆汁25 mL(加水配成200 mL)浸润,即为5%黑豆汁浸润的样品。再随机取5份,每份用黑豆汁50 mL(加水配成200 mL)浸润,即为10%黑豆汁浸润的样品。剩余5份,每份用黑豆汁100 mL(加水配成200 mL)浸润,即为20%黑豆汁浸润的样品。全部润透后放入高压锅中的竹皿

中,120℃蒸制6 h,取出放入鼓风干燥箱中80℃干燥至含水量为10%,备用。

2.4 蒽醌的测定

2.4.1 对照品溶液的制备:准确称取大黄素对照品10.40 mg,用甲醇溶解并定容于10 mL量瓶中,即得1.04 mg/mL的储备液。取3.00 mL储备液,以甲醇定容于100 mL量瓶中,即为31.2 µg/mL对照品溶液。

2.4.2 标准曲线的制备:分别准确吸取大黄素对照品溶液0.5、1.0、3.0、5.0、6.0 mL置于10 mL量瓶中,各加2.5 mL醋酸镁显色剂^[3],再用甲醇定容并混匀,显色后15 min。以显色液为空白,于512 nm处分别测定其吸光度(A)。数据回归处理,结果大黄素在15.6~187.2 µg呈现良好线性关系,回归方程 $A=41.1C+0.009052$, $r=0.9992$ 。

2.4.3 供试品溶液的制备:精确称取样品约1 g,置索氏提取器中,加入100 mL氯仿,在沸水浴上回流2 h,经检查游离蒽醌提尽后,氯仿液回收溶剂,残留物用甲醇溶解,转移至10 mL量瓶中,加用甲醇至刻度,作为游离蒽醌的供试品溶液。索氏提取器中经氯仿提取后的药渣,以100 mL甲醇继续于沸水浴上回流提取结合型蒽醌,约2 h经检查结合蒽醌提尽后,甲醇液回收溶剂,然后加入15%硫酸溶液40 mL,氯仿30 mL,于沸水浴上回流水解约4 h,经检查水解完毕后,水解液置分液漏斗分取氯仿层,上层水相用45 mL氯仿分3次萃取。合并氯仿液,适量纯净水返洗至pH 6左右,回收氯仿,残留物用甲醇溶解,转移至10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,作为结合蒽醌的供试品溶液。

2.4.4 测定:按照上述方法,制备供试品溶液,测定其吸光度,依回归方程计算其游离蒽醌、结合蒽醌,结果见表1。

2.5 二苯乙烯苷的测定^[3]

2.5.1 HPLC色谱条件:Exsil ODS C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 µm);柱温:30℃;以乙腈-水(25:75)为流动相;体积流量为1 mL/min;检测波长为320 nm;进样量为10 µL。

表 1 不同制法对有效成分影响的比较 ($n=5$)Table 1 Comparison on effective components in different processed products ($n=5$)

制 法	游离蒽醌 /(mg · g ⁻¹)	结合蒽醌 /(mg · g ⁻¹)	二苯乙烯 苷/%
清蒸	2.056	2.512	2.928
5%黑豆汁蒸	2.184	2.597	3.219
10%黑豆汁蒸	2.204	2.515	3.146
20%黑豆汁蒸	2.132	2.624	3.062

2.5.2 对照品溶液的制备:准确称取二苯乙烯苷 10.80 mg,以 50%乙醇配成 1.08 mg/mL 的储备液。取 2.00 mL 储备液以 50%乙醇定容至 10 mL,即为 0.216 mg/mL 对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备:取样品约 0.20 g,精密称定,精确加入 50%乙醇 25 mL,称定质量,浸泡 1 h,回流 0.5 h,放冷,用 50%乙醇补足减失的质量,摇匀,上清液用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.5.4 系统适用性试验:分别取对照品溶液、供试品溶液注入色谱仪,结果二苯乙烯苷保留时间为 4.690 min,理论塔板数 2 000 以上,且无相邻吸收峰。

2.5.5 线性关系考察:分别吸取对照品溶液 2、4、6、8、12、20 μ L 进样,记录色谱图。以峰面积对进样量回归处理,结果二苯乙烯苷在 0.432~4.32 μ g 呈现良好线性关系,回归方程为 $Y=326.117 X+23.492$, $r=0.999 2$ 。

2.5.6 测定:按上述方法制备何首乌供试品溶液,测定,结果见表 1, HPLC 色谱图见图 1。

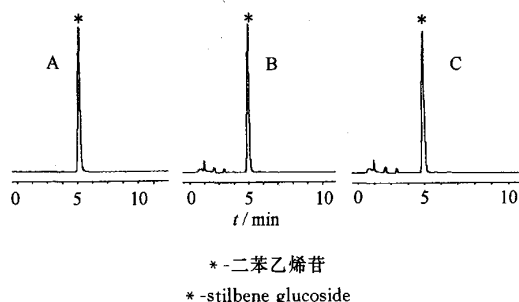


图 1 二苯乙烯苷对照品(A)和清蒸(B)、5%黑豆汁蒸(C)何首乌炮制产品的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of stilbene glucoside (A), sample steamed without any adjuvants (B), steamed with 5% soya bean milk (C)

3 讨论

结果分析可见,清蒸、5%黑豆汁蒸、10%黑豆汁和 20%黑豆汁蒸的制何首乌有效成分游离蒽醌、结合蒽醌、二苯乙烯苷变化不大,细微差别可能是由样品的不均一性引起的。

传统的黑豆汁制法费时费力(仅煮黑豆要用 7 h),所以有必要对传统工艺进行改革,简化炮制工艺,以节约能源,本实验为简化何首乌炮制工艺提供了参考和依据,有一定实用价值。

References:

- [1] Su W, Guo Q. General situation on study of modern pharmacology of *Polygonum multiflorum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (2): 119-120.
- [2] Chen W S, Xue J P. Studies on nootropic activity and mechanism of emodin-8-O- β -D-glucopyranoside [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (1): 39-41.
- [3] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.

香丹注射液的指纹图谱研究

匡荣仁,王 复,冯学伟,李桂贞

(华东理工大学 分析测试中心,上海 200237)

摘 要:目的 建立香丹注射液指纹图谱。方法 利用气相色谱、高效液相色谱、气质联用仪和液质联用仪对香丹注射液分析。结果 建立了香丹注射液指纹图谱的分析方法和确定了气相色谱和液相色谱指纹图谱中部分主峰的结构。结论 该分析方法能有效地控制香丹注射液的质量。

关键词:香丹注射液;指纹图谱;气相色谱;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(2005)07-1006-03

Research on fingerprint of Xiangdan Injection

KUANG Rong-ren, WANG Fu, FENG Xue-wei, LI Gui-zhen

(Analysis and Research Center, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Key words: Xiangdan Injection; fingerprint; GC; HPLC