

- [5] Takayuki S, Toshifumi H. Biotransformation of exogenous substrates by plant cell cultures [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29: 2393.
- [6] 刘长军, 侯嵩生. 抗癌活性物质鬼臼类木脂素的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(3): 81-89.
- [7] Kondo K, Ogura M, Midorikawa Y, et al. Conversion of deoxypodophyllotoxin to podophyllotoxin related compounds by microbes [J]. *Agric Biol Chem*, 1989, 53: 777.
- [8] Kondo K, Ogura M, Midorikawa Y, et al. The conversion of deoxypodophyllotoxin to epipodophyllotoxin by *Penicillium* F-0543 [J]. *Agric Biol Chem*, 1990, 52: 2673.
- [9] Uden W van, Bouma A S, Bracht Waker J F, et al. The production of podophyllotoxin and its 5-methoxy derivative through bio-conversion of cyclodextrin-complexed deoxy-podophyllotoxin by plant cell cultures [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1995, 42: 73.
- [10] Koulman A, Beekman A C, Pras N, et al. The bioconversion process of deoxypodophyllotoxin with *Linum flavum* cell cultures [J]. *Planta Med*, 2003, 69(8): 739.
- [11] Brewer C F, Loike J D, Horwitz S B, et al. Conformational analysis of podophyllotoxin and its congeners. Structure-activity relationship in microtubule assembly [J]. *J Med Chem*, 1979, 22(3): 215.
- [12] Ayres D C, Harris J A. Lignans and related phenols, part XI, application of nuclear magnetic double resonance to aryltetrahydronaphthalene [J]. *J Chem Soc Perkin*, 1972, 1: 1343.
- [13] 杨世海, 刘晓峰, 果德安, 等. 9种活性物质在掌叶大黄组织培养系统中的生物转化 [J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(4): 408-412.

何首乌和夜交藤药材指纹图谱研究与评价

苏建¹, 袁志芳¹, 吴一兵², 张兰桐^{1*}, 王春英¹

(1. 河北医科大学药学院 药物分析教研室, 河北 石家庄 050017; 2. 河北医科大学药学院 新药开发教研室, 河北 石家庄 050017)

摘要:目的 建立何首乌、夜交藤药材指纹图谱分析方法, 并依据指纹图谱对两种药材进行比较, 为科学评价与有效控制何首乌、夜交藤药材质量提供新方法。方法 何首乌和夜交藤分别用甲醇和醋酸乙酯超声处理, 提取液用HPLC进行测定。HPLC法采用C₁₈色谱柱, 乙腈-0.1%磷酸梯度洗脱, 检测波长分别为265和290 nm, 体积流量1 mL/min, 柱温30℃。结果 建立了何首乌、夜交藤药材HPLC指纹图谱, 并对不同产地何首乌、夜交藤药材进行了相似度比较。测定结果显示不同产地药材存在较大差异, 化学成分组成及质量分数存在一定差异。结论 所建立的方法简便、可靠, 可用于不同产地何首乌、夜交藤药材的指纹图谱测定和质量评价, 为全面有效控制何首乌药材的内在质量提供了依据。

关键词:何首乌; 夜交藤; 高效液相色谱法; 指纹图谱

中图分类号: R282.7 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)05-0766-04

Fingerprints for *Radix Polygoni Multiflori* and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori*

SU Jian¹, YUAN Zhi-fang¹, WU Yi-bing², ZHANG Lan-tong¹, WANG Chun-ying¹

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Department of Research and Development of New Drug, School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract: Objective To establish HPLC fingerprints for *Radix Polygoni Multiflori* and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori*, to compare the fingerprints of the above two crude drugs collected from different habitats, and to provide a new method for scientific evaluation and quality control of them. **Methods** *Radix Polygoni Multiflori* and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori* were extracted by supersonic wave with methanol and ethyl acetate. The chromatographic procedure for fingerprints was carried out using C₁₈ as an analytic column, gradient eluted with a mixture consisting of acetonitrile and 0.1% H₃PO₄. **Results** This experiment established a specific method for the quality control of *Radix Polygoni Multiflori* and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori*, and compared the similarity of *Radix Polygoni Multiflori* with *Caulis Polygoni Multiflori* from different habitats. **Conclusion** This method is very simple, reliable, and can be used for the fingerprint assay and quality control of *Radix Polygoni*

收稿日期: 2007-09-15

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目; 何首乌降血脂作用的药效物质基础研究(C2006000791)

作者简介: 苏建(1980—), 男, 河北秦皇岛人, 河北医科大学2004级硕士研究生。

* 通讯作者 张兰桐 Tel: (0311)86266419 Fax: (0311)86052053 E-mail: zhanglantong@263.net

Multiflori and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori*. It provides a new method as a comprehensive quality control item for *Radix Polygoni Multiflori* and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori*.

Key words: *Radix Polygoni Multiflori*; *Caulis et Folium Polygoni Multiflori*; HPLC; fingerprint

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。性微温,味苦、甘、涩,具有补肝肾、益精血、乌须发、延年益寿等功效。何首乌主要含3大类有效成分:二苯乙烯类化合物、蒽醌类化合物及聚合原花青素,此外还含有卵磷脂和多种微量元素。二苯乙烯苷类化合物是一类具有显著药理活性的水溶性成分,其代表成分二苯乙烯苷(2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷)具有显著的降脂作用,《中国药典》2005年版将二苯乙烯苷作为何首乌质量的评价指标^[1]。夜交藤又名首乌藤,为蓼科植物何首乌的干燥藤茎或带叶藤茎,味甘、微苦,性平,有养心、安神、通络、祛风止痛等功效^[2],用于治疗失眠、劳伤、多汗、血虚身痛。何首乌与夜交藤虽为同一植物的不同部位,但功效却不尽相同。同时由于受地理因素和生长环境的影响,不同产区何首乌、夜交藤的化学成分及其质量也有一定的差异^[3],仅凭单一化学成分的量难以全面评价药材质量的优劣。近年来,指纹图谱技术被用于中药的质量控制,其优点在于可全面反映中药复杂体系中的化学成分及其相对比例,在大多数中药有效成分尚未阐明的情况下仍可有效地表征中药材质量^[4]。本实验对来自不同产地的何首乌、夜交藤样品进行了HPLC指纹图谱分析,建立何首乌、夜交藤药材的指纹图谱,并对不同来源的药材进行比较研究,为何首乌、夜交藤的质量控制提供有效方法。

1 仪器与试药

1.1 药品与试剂:Waters 高效液相色谱仪,Waters Empower 色谱工作站,Waters 2996 二极管阵列检测器(DAD),Diamonsil™C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。甲醇、乙腈为色谱纯(美国迪马公司),其他试剂均为分析纯,水为自制重蒸水。

1.2 对照品与供试药材:大黄素(批号0756-9908)、大黄素甲醚(批号758-9803)、二苯乙烯苷(批号0844-200003)对照品和何首乌(批号120934-200507)对照药材均购于中国药品生物制品检定所,不同产地何首乌、夜交藤药材样品来源见表1,经河北医科大学聂凤褪教授鉴定均为正品。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液:取二苯乙烯苷、大黄素和大黄

表1 样品来源

Table 1 Origins of samples

样品号	样品来源		备注
	何首乌	夜交藤	
1	广西	广东	商品(切片)
2	云南	陕西	商品(切片)
3	河南	河南	商品(切片)
4	广西龙州	安徽	商品(切片)
5	陕西	广东	商品(切片)
6	河北乐仁堂	河南	商品(切片)
7	石家庄饮片厂	北京	商品(切片)
8	河北安国	广西龙州	商品(切片)
9	北京	广西玉林	商品(切片)
10	河南	广东	商品(切片)
11	安徽	河南	商品(切片)
12	河南	河南	商品(切片)
13	广西龙州	广东	商品(切片)
14	陕西	河北乐仁堂	商品(切片)
15	广西玉林	石家庄饮片厂	商品(切片)
16	湖北	北京	商品(切片)
17	广西	河北安国	商品(切片)
18	河北安国	湖北	商品(切片)
19	北京	云南	商品(切片)
20	中国药品生物制品检定所	北京	对照药材

素甲醚对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成1 mL中分别含0.1 mg的溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液:取何首乌药材细粉(过40目筛)1 g,精密称定,加甲醇25 mL,称定质量,超声处理30 min,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,蒸干,加甲醇5 mL使溶解,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

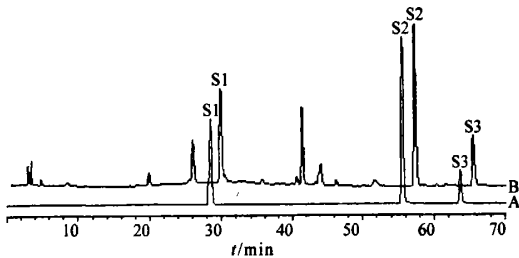
取夜交藤药材细粉(过40目筛)4 g,精密称定,加醋酸乙酯50 mL,称定质量,超声处理30 min,放冷,称定质量,用醋酸乙酯补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,蒸干,加甲醇5 mL使溶解,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.2 指纹图谱的建立

2.2.1 色谱条件及系统适用性试验:色谱柱为Diamonsil™C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);乙腈(A)-0.1%磷酸(B)为流动相进行梯度洗脱,何首乌梯度洗脱时间为70 min,0~5 min:A-B(5:95),5~10 min从5:95变化到15:85;10~30 min从15:85变化到30:70;30~50 min从30:70变化到70:30;50~65 min从70:30变化到100:0;65~70 min从100:0变化到5:95;夜交藤梯度洗脱时间为110 min,0 min:A-B(5:95),0~5 min从

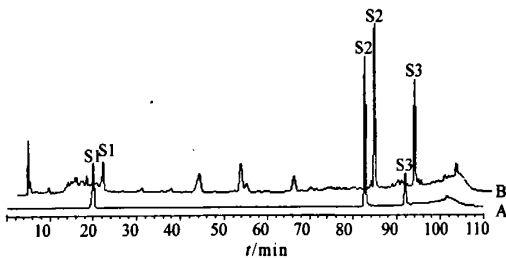
5 : 95变化到 20 : 80, 5~60 min 从 20 : 80 变化到 35 : 65, 60~95 min 从 35 : 65 变化到 100 : 0, 95~110 min 从 100 : 0 变化到 5 : 95, 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样量 20 μL, 理论板数按大 黄素峰计算不低于 2 500。

2.2.2 对照及空白试验: 分别精密吸取空白溶液、对照品溶液及供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 考察溶剂干扰情况及确认对照峰, 色谱图见图 1、2。



S1-二苯乙烯苷 S2-大黄素 S3-大黄素甲醚
S1-stilbene glycoside S2-emodin S3-physcion

图1 对照品溶液(A)与何首乌典型样品(B)HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatogram of reference substances (A) and *Radix Polygoni Multiflori* (B)



S1-二苯乙烯苷 S2-大黄素 S3-大黄素甲醚
S1-stilbene glycoside S2-emodin S3-physcion

图2 对照品溶液(A)与夜交藤典型样品(B)HPLC 色谱图
Fig. 2 HPLC Chromatogram of reference substances (A) and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori* (B)

2.2.3 精密度试验: 分别取同一何首乌与夜交藤药材粉末, 按 2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件, 重复进样 6 次, 记录指纹图谱, 将其导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A), 计算何首乌与夜交藤 6 次进样所得指纹图谱相似度, 指纹图谱的相似度均大于 0.90, 符合指纹图谱研究技术的要求。

2.2.4 重现性试验: 分别取同一批何首乌与夜交藤药材粉末 6 份, 精密称定, 按 2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件, 分别进样, 记录指纹图谱, 将其导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A), 计算 6 份样品所得指纹图谱相似度, 指

纹图谱的相似度均大于 0.90, 符合指纹图谱研究技术的要求。

2.2.5 稳定性试验: 取一批何首乌与夜交藤药材粉末, 精密称定, 按 2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24、36、48 h 检测指纹图谱, 导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A), 计算 48 h 内进样所得指纹图谱相似度, 指纹图谱的相似度均大于 0.90。由此说明何首乌与夜交藤的供试液在 48 h 内基本稳定。

2.2.6 不同产地何首乌与夜交藤药材指纹图谱的建立: 取不同产地的何首乌、夜交藤药材, 按 2.1 项下方法制备供试品溶液, 各取 20 μL 分别进样, 按优选的色谱条件进行 HPLC 分析, 建立指纹图谱。共有模式图谱见图 3、4, 不同产地指纹图谱见图 5、6, 相似度结果见表 2。

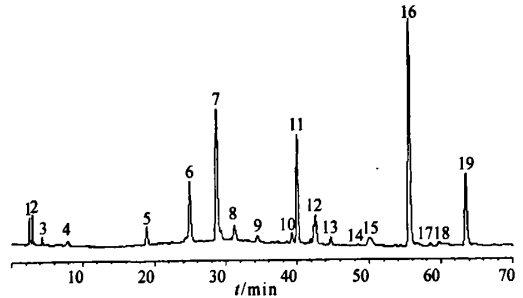


图3 何首乌共有模式图谱

Fig. 3 Mutual mode of *Radix Polygoni Multiflori*

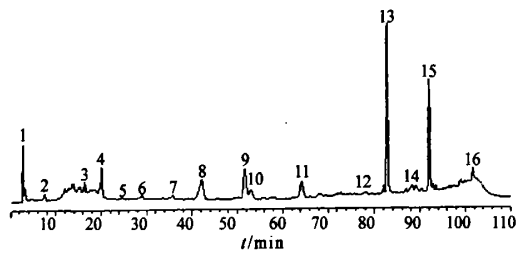
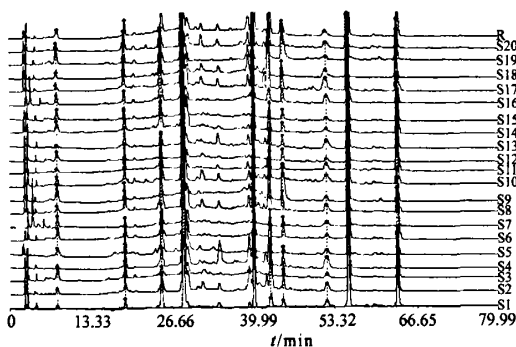


图4 夜交藤共有模式图谱

Fig. 4 Mutual mode of *Caulis et Folium Polygoni Multiflori*

3 指纹图谱分析

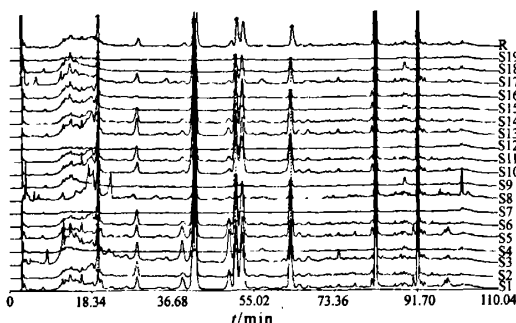
中药化学成分的复杂与多样性是其发挥疗效的物质基础, 在其有效成分尚未被阐明的情况下, 只采用单一或少数几个成分作为指标进行质量评价, 往往不能全面反映其质量情况。本实验使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A)软件, 对何首乌、夜交藤药材进行了指纹图谱分析与评价。根据以上 20 批不同来源何首乌与 19 批夜交藤药材的分析结果看出, 不同何首乌药材指纹图谱相似度较高, 绝大



S1~S20-样品 R-对照指纹图谱
S1-S20-samples 1-20 R-reference fingerprint

图5 不同产地何首乌指纹图谱

Fig. 5 Fingerprints of *Radix Polygoni Multiflori* from different habitats



S1~S19-样品 1~19 R-对照指纹图谱
S1-S19-samples 1-19 R-reference fingerprint

图6 不同产地夜交藤指纹图谱

Fig. 6 Fingerprints of *Caulis et Folium Polygoni Multiflori* from different habitats

表2 不同产地何首乌、夜交藤药材指纹图谱与共有模式比较的相似度

Table 2 Resemblance among *Radix Polygoni Multiflori* and *Caulis et Folium Polygoni Multiflori* from different sources compared with mutual mode

批号	相似度		批号	相似度	
	何首乌	夜交藤		何首乌	夜交藤
1	0.874	0.949	11	0.875	0.985
2	0.964	0.986	12	0.981	0.876
3	0.989	0.977	13	0.937	0.965
4	0.901	0.673	14	0.992	0.983
5	0.987	0.949	15	0.989	0.770
6	0.990	0.985	16	0.958	0.805
7	0.988	0.845	17	0.985	0.903
8	0.926	0.757	18	0.920	0.743
9	0.970	0.790	19	0.962	0.837
10	0.977	0.793	20	0.958	

多数大于0.9,说明不同产地何首乌药材的化学组成一致性较好,质量稳定;对于19批夜交藤药材指纹

图谱相似度,有10批相似度在0.876~0.986,有9批相似度在0.673~0.845,不同商品夜交藤中,安徽产的商品相似度较差。结果提示,虽然从整体上何首乌、夜交藤药材质量稳定,但仍然有一定比例的何首乌、夜交藤药材偏离整体水平较远,在选择药材产地时应予以注意,缩小药材的产地范围,无疑对保证何首乌、夜交藤的质量一致性具有重要作用。

4 讨论

4.1 本实验采用HPLC法,对不同产地的何首乌、夜交藤样品进行了指纹图谱分析,实验结果反映了何首乌、夜交藤药材的化学组成及其相对比例,既可用于定性鉴别,也可用于定量分析,并且对于何首乌的栽培、生产加工、贮藏运输、临床使用等各个环节的全面质量监控提供了可靠的依据,为中药何首乌深入研究奠定了基础。

4.2 本实验曾考虑用相同的实验条件对两种药材进行指纹图谱分析,但实验中发现两种药材虽然为同一植物的不同部位,但是其所含成分存在很大差异,不可能在同一提取和色谱条件下得到较好的指纹图谱,所以最后对两种药材分别采用不同的提取溶剂和应用不同的色谱条件进行指纹图谱分析。从两种药材最后所得的指纹图谱看出,虽然两种药材中均含有二苯乙烯苷、大黄素和大黄素甲醚,但是在量上存在较大差异,并且所含的化学成分也不尽相同,这可能是何首乌与夜交藤虽为同一植物的不同部位,但功效却不尽相同的原因。

4.3 本实验比较了不同提取溶剂(95%乙醇、70%乙醇、45%乙醇、50%甲醇、甲醇)的水浴回流、索氏提取,超声提取等不同提取方法的提取效果,同时还考察了不同提取时间的提取效率。结果表明,以甲醇为提取溶剂,当超声提取30min时,各色谱峰的响应值不再增加,且方法稳定,重现性好。本实验采用HPLC-DAD检测器分析对何首乌、夜交藤进行了200~400nm的全波长扫描,得到三维全波长紫外扫描图,为同时突出二苯乙烯苷、大黄素和大黄素甲醚的特征峰,最后确定何首乌在265nm、夜交藤在290nm能得到峰形较好、峰数较多的色谱图。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 2005.
[2] 宋毅,唐尧,张志勇,等. 夜交藤抗炎抑菌作用的实验研究[J]. 华西药学杂志, 2003, 18(2): 114-116.
[3] 苏建,袁志芳,张兰桐,等. RP-HPLC法测定何首乌、夜交藤中二苯乙烯苷及蒽醌类成分的含量[J]. 中草药, 2007, 38(2): 278-281.
[4] 赵明波,邓秀兰,王亚玲,等. 红花RP-HPLC指纹图谱的建立及其质量研究[J]. 药科学报, 2004, 39(3): 212-216.

何首乌和夜交藤药材指纹图谱研究与评价

作者: [苏建](#), [袁志芳](#), [吴一兵](#), [张兰桐](#), [王春英](#), [SU Jian](#), [YUAN Zhi-fang](#), [WU Yi-bing](#), [ZHANG Lan-tong](#), [WANG Chun-ying](#)

作者单位: [苏建,袁志芳,张兰桐,王春英,SU Jian,YUAN Zhi-fang,ZHANG Lan-tong,WANG Chun-ying\(河北医科大学药学院药物分析教研室,河北石家庄,050017\)](#), [吴一兵,WU Yi-bing\(河北医科大学药学院\)](#)

刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年,卷(期): 2008,39(5)

被引用次数: 5次

参考文献(4条)

1. [中华人民共和国药典](#) 2005
2. [宋毅,唐尧,张志勇](#) [夜交藤抗炎抑菌作用的实验研究](#)[期刊论文]-[华西药学杂志](#) 2003(02)
3. [苏建,袁志芳,张兰桐](#) [RP-HPLC法测定何首乌、夜交藤中二苯乙烯苷及蒽醌类成分的含量](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2007(02)
4. [赵明波,邓秀兰,王亚玲](#) [红花RP-HPLC指纹图谱的建立及其质量研究](#)[期刊论文]-[药学学报](#) 2004(03)

本文读者也读过(10条)

1. [高农,韩学俭](#) [夜交藤采收与加工技术](#)[期刊论文]-[农村经济与科技](#)2003,14(9)
2. [高农,韩学俭](#) [夜交藤采收与加工技术](#)[期刊论文]-[农村实用科技信息](#)2007(6)
3. [王付荣,周洪雷](#) [夜交藤的化学成分研究](#)[期刊论文]-[中医药学报](#)2008,36(2)
4. [王争平,丁青龙,李莹](#) [HPLC法测定不同产地夜交藤\(首乌藤\)中大黄素的含量](#)[期刊论文]-[中国现代药物应用](#) 2010,4(4)
5. [闫浩,张红霞](#) [夜交藤、珍珠母在顽固性肝硬化腹水中的应用](#)[期刊论文]-[实用中西医结合临床](#)2005,5(3)
6. [闵范忠](#) [提神安眠方](#)[期刊论文]-[广西中医药](#)2006,29(4)
7. [黄青松](#) [益气养血安神汤治疗严重神经衰弱200例临床观察](#)[期刊论文]-[四川中医](#)2003,21(3)
8. [哈小博](#) [漫谈天麻钩藤饮](#)[期刊论文]-[开卷有益\(求医问药\)](#) 2003(2)
9. [张世权,张华东](#) [何首乌的采集与加工](#)[期刊论文]-[河北农业科技](#)2002(12)
10. [李洪斌](#) [何首乌的栽培与管理](#)[期刊论文]-[脱贫与致富](#)2001,1(1)

引证文献(5条)

1. [逢楠楠,毕开顺,闫宝庆,陈晓辉](#) [芫花高效液相色谱指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(5)
2. [刘成旭,孟宪超](#) [清蒸与黑豆汁蒸对何首乌质量的影响](#)[期刊论文]-[黑龙江科技信息](#) 2013(16)
3. [陈蓉,沈蓓,吴启南](#) [基于主成分分析和聚类判别模式对不同产地芡实HPLC指纹图谱研究](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2012(5)
4. [陈庆堂,卓丽红,徐文,黄志海,丘小惠](#) [何首乌炮制过程中5种化学成分的含量变化](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2012(5)
5. [李燕,王慧娟,林冰,赵致,周英](#) [指纹图谱条件下何首乌中二苯乙烯苷的含量测定](#)[期刊论文]-[山地农业生物学报](#) 2012(3)