

# 炮制前后何首乌蒽醌类含量的比较研究

张挺<sup>1</sup> 吕圭源<sup>2</sup> 陈素红<sup>1</sup> 余新建<sup>2</sup>

1. 温州医学院 温州 325035 2. 浙江中医药大学药物研究所

**摘要:** [目的] 比较用相同方法炮制的不同产地何首乌中蒽醌类含量的差异。 [方法] 采用紫外分光光度法, 以 0.5% 醋酸镁-甲醇溶液显色测定蒽醌含量, 采用 HPLC 方法测定大黄素的含量。 [结果] 炮制后, 何首乌中结合蒽醌类成分明显降低, 总蒽醌类含量有所升高, 但结合蒽醌占总蒽醌的比例明显降低; 结合大黄素含量明显降低, 总大黄素含量有所升高, 但结合大黄素占总大黄素的比比例明显降低。 [结论] 炮制对何首乌中蒽醌类成分的含量有影响。相比生首乌, 制首乌中结合蒽醌含量明显降低, 而总蒽醌含量有所上升; 临床发现生首乌具有一定毒性而制首乌毒性较小, 这可能与炮制后结合蒽醌含量降低有关系。

**关键词:** 何首乌; 大黄素; 结合蒽醌; 总蒽醌; 毒性

**中图分类号:** R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-5509(2009)06-0872-02

何首乌 (*Polygonum multiflorum* Thunb.) 为常用中药, 药用历史悠久。生、制首乌性味相同, 功效主治不同。有研究表明生首乌和制首乌相比, 生首乌结合蒽醌含量高, 游离蒽醌含量低; 生首乌的泻下作用主要是由结合蒽醌引起的, 经炮制后, 结合蒽醌水解成为游离蒽醌, 故其泻下作用明显降低, 临床功效也发生了变化<sup>[1]</sup>。本实验采用相同的炮制方法对不同产地的何首乌进行处理, 比较炮制前后不同产地的何首乌中蒽醌类成分含量的变化情况, 为临床生制首乌的不同应用提供实验依据。

## 1 仪器和材料

**仪器:** 中药粉碎机 (DJ-041, 上海); 紫外分光光度计 (Lambda 12 型, 德国); **药材:** 何首乌药材分别购自: ① 浙江中医药大学中药饮片厂 (批号: 20080815; 产地: 浙江); ② 北京同仁堂 (批号: 20080716; 产地: 四川); ③ 胡庆余堂 (批号: 20081015; 产地: 贵州); ④ 方回春堂 (批号: 20080621; 产地: 广东)。对照品: 1,8-二羟基蒽醌对照品 (含量测定用, 批号: 0829-9702, 中国药品生物制品检定所); 大黄素 (含量测定用, 批号: 110756-200110, 中国药品生物制品检定所)。

## 2 实验方法

### 2.1 UV-VIS 法测定总蒽醌和游离蒽醌的含量

(1) 制首乌的制备: 取四个产地的何首乌各 250g, 参照中药材炮制规范, 采用蒸法炮制所得<sup>[2]</sup>。(2) 对照品的配制: 精密称取置五氧化二磷干燥器 12 小时的 1,8-二羟基蒽醌对照品 3.62mg, 以甲醇溶解制成 0.1448mg/ml 的对照品溶液。(3) 供试品溶液的配制: 取以上炮制好的制首乌和生何首乌各 0.3g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 50ml, 称定重量, 水浴加热 1h, 取出, 放冷, 擦干再称定重量, 用甲醇补足

减失的重量, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得供试品溶液。

(4) 游离蒽醌供试品的配制: 取上述供试品溶液 10ml, 用氯仿萃取至无色, 每次 20ml, 合并氯仿层, 回收溶剂, 备用。(5) 总蒽醌供试品配制: 取上述供试品溶液 10ml, 置 100ml 的圆底烧瓶中, 挥干甲醇, 加 8% 盐酸溶液 10ml, 超声 2min, 加氯仿 20ml 回流 2h, 放冷, 用氯仿萃取 3 次, 每次 20ml, 合并氯仿层, 回收溶剂, 备用。(6) 最大吸收波长的选择: 取对照品溶液 2ml 和样品溶液 1ml, 置 10ml 容量瓶中, 挥干甲醇液, 加 0.5% 醋酸镁-甲醇溶液, 定容至刻度, 显色 20min, 于 400-700nm 扫描, 样品和对照品的最大吸收波长在 506-511nm, 且峰形平缓, 综合考虑, 选择 509nm 作为测定波长。(7) 线性范围: 精密移取对照品溶液 0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 ml, 置 10ml 容量瓶中, 挥干甲醇, 加 0.5% 醋酸镁-甲醇溶液, 定容至刻度, 显色 20min, 在 509nm 波长下测定吸光度。以浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) 为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程为:  $y=0.0505x-0.026$ ,  $R^2=0.9975$ 。见图 1。(8) 含量测定 参照蒽醌类成分的醋酸镁比色法, 考察确定以 0.5% 醋酸镁-甲醇溶液为显色剂, 显色 20min, 在 509nm 波长下测得蒽醌含量, 结果见表 2。

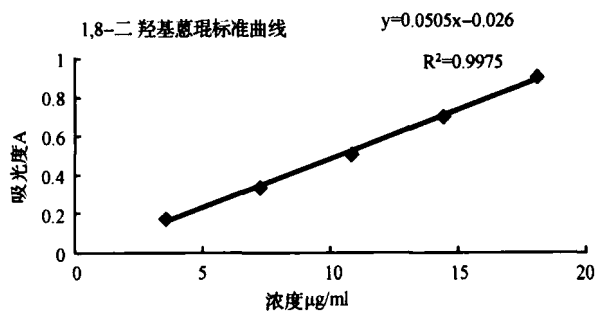


图 1 1,8-二羟基蒽醌标准曲线图

表 2 不同产地何首乌炮制前后蒽醌含量(%)

| 产地 | 生首乌    |        |        |              | 制首乌    |        |        |              |
|----|--------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------|--------------|
|    | 游离蒽醌   | 结合蒽醌   | 总蒽醌    | 结合蒽醌/<br>总蒽醌 | 游离蒽醌   | 结合蒽醌   | 总蒽醌    | 结合蒽醌/<br>总蒽醌 |
| 广东 | 0.0667 | 0.0821 | 0.1487 | 55.21        | 0.1155 | 0.0367 | 0.1522 | 24.11        |
| 浙江 | 0.1941 | 0.1970 | 0.3911 | 50.37        | 0.3451 | 0.0696 | 0.4147 | 16.78        |
| 四川 | 0.0939 | 0.1930 | 0.2869 | 67.27        | 0.2760 | 0.0324 | 0.3084 | 10.51        |
| 贵州 | 0.0752 | 0.1581 | 0.2334 | 67.74        | 0.2264 | 0.0291 | 0.2556 | 11.38        |

**2.2 HPLC 法测定大黄素含量** (1) 色谱条件: 色谱柱: Ultimate XB-C<sub>18</sub> (4.6mm×150mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水-磷酸(80:20:0.05); 检测波长: 254nm; 柱温: 25℃; 流速: 1.0ml/min。此条件下大黄素、大黄素甲醚和其他成分可达到基线分离, 理论塔板数按大黄素峰计不低于 4000。(2) 供试品溶液的制备: 取炮制好的制首乌和生何首乌, 打粉, 各取 0.3g, 称定重量, 置圆底烧瓶中, 精密加入 50ml 甲醇, 称定重量, 水浴回流 1h。取出, 放冷, 擦干, 称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 得供试品溶液。游离大黄素样品的制备: 取供试品溶液过 0.22μm 滤膜, 即得游离大黄素的样品溶液。总大黄素的样品制备: 取供试品溶液, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10ml, 置 100ml 的圆底烧瓶中, 挥干甲醇, 加 8% 盐酸溶液 10ml, 超声 2min, 加氯仿 20ml 回流 2h, 放冷, 用氯仿萃取至无色, 每次 20ml, 合并氯仿层, 挥干, 加甲醇定容至 10ml。(3) 对照品溶液的制备: 精密称取大黄素对照品 3mg, 加甲醇定容至 50ml, 得浓度为 0.059mg/ml 对照品溶液。(4) 大黄素标准曲线的制备: 精密量取大黄素对照品溶液 1, 3, 5, 7, 9, 11μl 按上述色谱条件测定峰面积。以大黄素进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程:  $y = 2929.3x + 0.1532$ ,  $R^2 = 1$ , 表明大黄素在 0.06~0.64μg 范围内线性关系良好。结果见图 2。(5) 实验结果 采用 2.2.1 项下的色谱条件测得生首乌和制首乌的大黄素含量见表 3。

表 3 大黄素含量(%)测定结果

| 来源    | 游离大黄素  | 结合大黄素  | 总大黄素   | 结合大黄素/<br>总大黄素 |
|-------|--------|--------|--------|----------------|
| 广东生首乌 | 0.0514 | 0.0858 | 0.1372 | 62.54          |
| 广东制首乌 | 0.0997 | 0.0839 | 0.1836 | 45.70          |
| 四川生首乌 | 0.0592 | 0.1937 | 0.2529 | 76.59          |
| 四川制首乌 | 0.2458 | 0.1788 | 0.4246 | 42.11          |
| 贵州生首乌 | 0.0322 | 0.2044 | 0.2366 | 86.40          |
| 贵州制首乌 | 0.2099 | 0.1471 | 0.3570 | 41.21          |
| 浙江生首乌 | 0.1219 | 0.1970 | 0.3189 | 61.77          |
| 浙江制首乌 | 0.2660 | 0.1243 | 0.3903 | 31.84          |

### 3 讨论

本实验采用显色后紫外分光光度法比较何首乌炮制前后总蒽醌、游离蒽醌和结合蒽醌<sup>[3]</sup>的含量, 发现炮制后何首乌中结合蒽醌含量占总蒽醌含量百分比明显降低; 采用 HPLC 法比较蒽醌中大黄素含量变化的情况, 结果表明, 炮制后何首乌中结合大黄素含量占总大黄素含量百分比明显降低; 总蒽醌的含量在炮制后升高。分析其原因可能有以下几点: ① 本实验为蒸法炮制, 炮制过程中结合苷类成分由于高温水解从而变成了游离苷元, 所以炮制后何首乌的游离蒽醌含量明显升高。② 在炮制的过程中发现有很多的粘性沉淀物质, 分析其可能为多糖类物质, 故使炮制后的制首乌质量减轻, 从而使总蒽醌相对含量增加。临床应用生首乌解毒、消痈, 润肠通便; 制首乌补肝肾, 益精血, 乌须发, 强筋骨。研究表明其功效的不同可能是由于何首乌炮制后蒽醌类含量的变化引起的, 本实验所得出的上述结论对此推断提供了进一步的佐证。

#### 参考文献:

- [1] 武新安, 王惠霞, 魏玉辉, 等. 大黄粉末煎煮过程中游离蒽醌和结合蒽醌含量变化的考察[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(10): 1387-1390.
- [2] 王孝涛, 曹晖, 刘玉萍. 中药采制与炮制技术[M]. 北京: 华夏出版社, 2000: 23.
- [3] 朱元民. 蒽醌类泻药与大肠黑变病[J]. 中华消化杂志, 2004, 24(5): 314-315.

(收稿日期 2009-11-05)

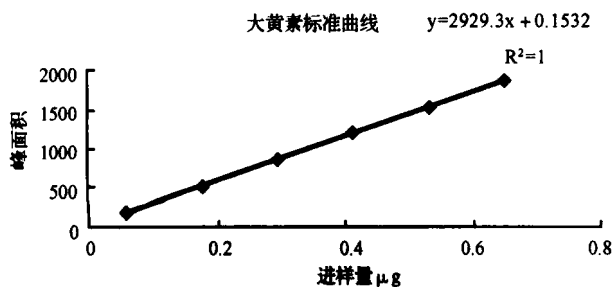


图 2 大黄素标准曲线图