

- 的建立及7种成分的含量测定[J]. 中国处方药, 2023, 21(7): 18-22.
- [19] 金辉辉, 钱正, 姚建标, 等. 基于多成分测定及特征图谱评价不同批次肠炎宁片质量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(12): 2174-2185.
- [20] 蒋鑫铨, 吴祥明, 刘紫璇, 等. 基于QbD理念优化抗骨增生片喷雾干燥工艺及其物理指纹图谱研究[J]. 中南药学, 2021, 19(6): 1062-1066.

- [21] 韩忠耀, 向军, 陈建宇, 等. 不同产地水冬瓜叶HPLC指纹图谱建立、化学模式识别分析及含量测定[J]. 中国药房, 2021, 32(10): 1224-1229.
- [22] 魏龙吟, 毛民, 沙皓淳, 等. 基于UPLC指纹图谱、含量测定及化学计量学的乳香质量评价[J]. 中南药学, 2021, 19(5): 947-953.

## HPLC法测定不同产地何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸的含量

许江红, 张若良, 黄礼福, 杨民荣  
(赣州市综合检验检测院, 江西赣州 341000)

**摘要:** 目的 建立HPLC法测定不同产地何首乌中大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸的含量。方法 分析采用Aglient 1290 Extend-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水(含0.1%磷酸), 梯度洗脱; 体积流量0.3 mL/min; 柱温30℃; 检测波长280 nm; 进样量5 μL。结果 7种成分在各自范围内线性关系良好( $r \geq 0.9997$ ), 平均加样回收率96.28%~99.44%, RSD 0.87%~2.91%。广西靖西地区产何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量最高, 广东德庆产者次之, 而重庆缙云山、江西井冈山、四川攀枝花、贵州施秉、河南济源产者含量较低。结论 该方法稳定可靠, 可用于何首乌质量控制。不同产地药材中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量存在较大差异,

**关键词:** 何首乌; 产地; 蒽醌类; 二苯乙烯苷; 没食子酸; 含量测定; HPLC

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)12-4102-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.032

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 是我国传统中药, 生品具有解毒散结、防治疟疾、润肠通便的功效<sup>[1-2]</sup>; 2020年版《中国药典》<sup>[3]</sup>规定, 制何首乌是将生品与黑豆煎煮或蒸制而成, 具有补肝、补肾、益血、强筋骨、乌发、解浊、调脂功效<sup>[4]</sup>。虽然两者成分种类变化不大, 但含量差异明显, 这也是其功效、适应症不同的主要原因<sup>[5-7]</sup>。

报道指出, 含何首乌的煎剂、制剂和膳食补充剂可能会导致肝损伤<sup>[8-9]</sup>, 可能与游离型、结合型蒽醌类化合物含量有关<sup>[10]</sup>, 而与生品相比, 炮制品中肝毒性成分含量明显降低<sup>[11-13]</sup>, 并且产地是影响其肝毒性的另一个重要因素<sup>[14]</sup>。近年来, HPLC法作为一种分离度高、分析速度快、选择性好、应用范围广泛的分析手段, 已被广泛应用于中药有效成分的含量测定<sup>[15]</sup>。因此, 本实验采用HPLC法测定不同产地何首乌中蒽醌类(大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚)、二苯乙烯苷、没食子酸的含量, 期为该药材质量评价提供参考依据。

### 1 材料

1.1 仪器 Aglient 1290 高效液相色谱仪(美国 Aglient 公司); BSM2204 电子分析天平(万分之一, 北京中慧天诚科技有限公司)。

1.2 试剂与药物 大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸对照品(纯度>98%, 成都普思生物科技股份有限公司)。甲醇(色谱纯, 德国默克公司); 其他试剂均为分析纯; 水为纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。何首乌共10批, 经北京中医药大学教授于立伟教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 信息见表1。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件 Aglient 1290 Extend-C<sub>18</sub>色谱柱, 4.6 mm×250 mm, 5 μm; 流动相甲醇(A)-水(含0.1%磷酸, B), 梯度洗脱, 程序见表2; 体积流量0.3 mL/min; 柱温30℃; 检测波长280 nm; 进样量5 μL。色谱图见图1。

收稿日期: 2024-09-25

基金项目: 江西省药品监督管理局科研项目(2022JS18)

作者简介: 许江红(1975—), 副主任医师, 研究方向为食品、药品检验检测与质量安全控制。Tel: 13576686219, E-mail: xujh2024@163.com

表1 何首乌信息

编号	产地	批号	品种
S1	湖北恩施	20201025	野生
S2	广东德庆	20201106	栽培
S3	云南昆明	20201114	野生
S4	广西靖西	20210407	栽培
S5	河南济源	20210511	野生
S6	重庆缙云山	20210516	野生
S7	江西井冈山	20210619	野生
S8	广东新兴	20210901	栽培
S9	四川攀枝花	20210924	野生
S10	贵州施秉	20211018	栽培

表2 梯度洗脱程序

时间/min	A 甲醇/%	B 水(含0.1%磷酸)/%
0~10	5~25	95~75
10~15	25~50	75~50
15~20	50~70	50~30
20~25	70~90	30~10
25~45	90	10

2.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量，置于锥形瓶中，甲醇充分溶解，制成分别含 0.17 mg/mL 大黄素、0.46 mg/mL 大黄素葡萄糖苷、0.36 mg/mL 大黄素甲醚、0.14 mg/mL 大黄酸、0.19 mg/mL 大黄酚、0.88 mg/mL 二苯乙烯苷、0.19 mg/mL 没食子酸的溶液，即得。

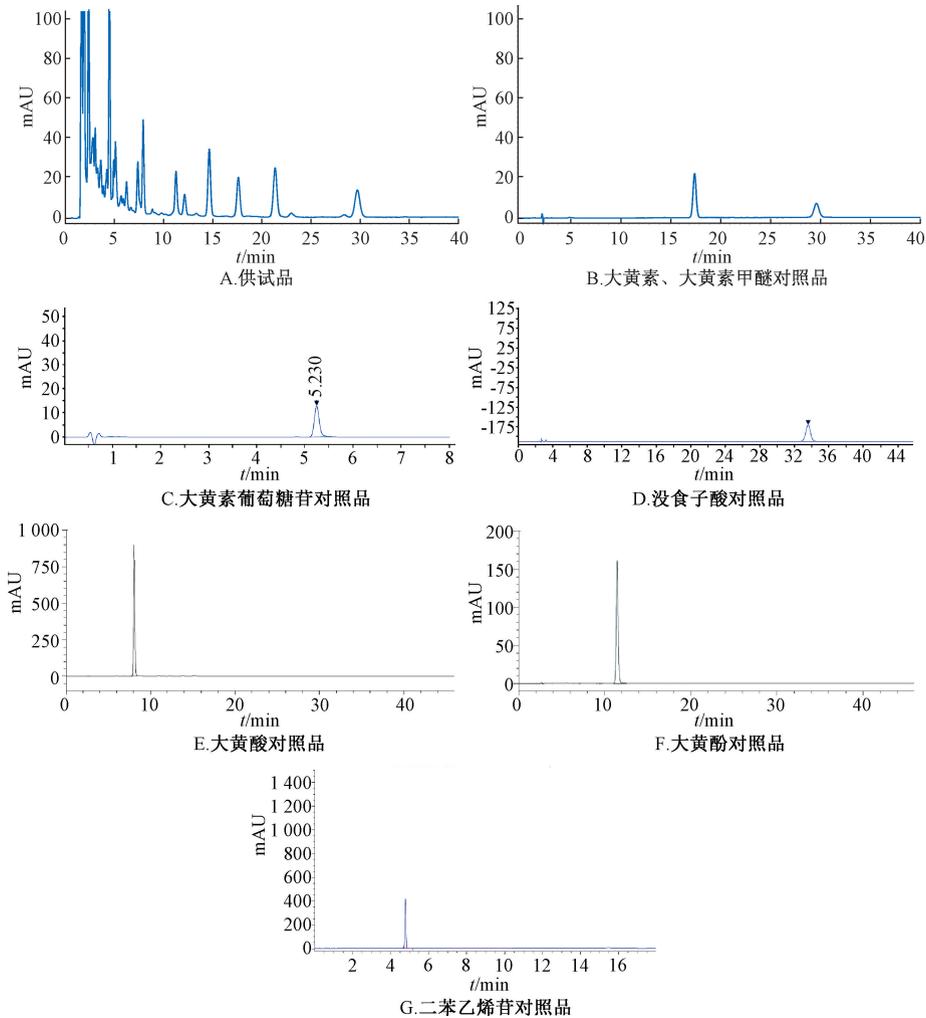


图1 各成分 HPLC 色谱图

2.3 供试品溶液制备 精密称取药材粉末(过四号筛) 1 g, 置于圆底烧瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 称定质量, 加热回流提取 1 h, 冷却至室温, 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过滤, 即得。

2.4 线性关系考察 取“2.2”项下对照品溶液适量, 倍数稀释法进行逐级稀释, 获得系列质量浓度, 在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标(X),

峰面积为纵坐标(Y)进行回归, 结果见表3, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 取“2.3”项下供试品溶液适量, 在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸峰面积 RSD 分别为 0.49%、0.26%、0.33%、1.29%、1.11%、0.71%、0.55%, 表明仪器精密度良好。

表3 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
大黄素	$Y=53\ 199X+17.1$	0.999 9	0.2~189.41
大黄素葡萄糖苷	$Y=17\ 403X+78.4$	0.999 7	5.0~485.16
大黄素甲醚	$Y=7\ 684X+4.9$	0.999 7	2.0~410.22
大黄酸	$Y=4\ 911X+6.6$	0.999 9	0.28~171.46
大黄酚	$Y=1\ 124X+3.5$	0.999 8	0.20~188.69
二苯乙烯苷	$Y=18\ 403X+25.7$	0.999 8	6.0~887.94
没食子酸	$Y=46\ 221X+21.3$	0.999 8	2.5~238.64

2.6 重复性试验 精密称取同一批药材粉末6份,每份1g,按“2.3”下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,测得大黄素甲醚、大黄素葡萄糖苷、大黄素、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸峰面积RSD分别为0.33%、0.72%、1.06%、0.58%、0.60%、0.53%、0.57%,表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取“2.3”项下供试品溶液适量,于0、2、4、8、12、18、24h在“2.1”项色谱条件下进样测定,

测得大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸峰面积RSD分别为0.92%、0.58%、0.75%、0.66%、0.71%、1.13%、5.64%,表明溶液24h稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取各成分含量已知的药材0.25g,分为6等份。按100%水平精密称取各对照品适量,甲醇溶解并定容至10mL量瓶中,摇匀,各取1mL至药材中,精密加入23mL甲醇,混匀,称定质量,加热回流提取60min,冷却,过滤,取续滤液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,计算回收率。结果,大黄素、大黄素葡萄糖苷、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚、二苯乙烯苷、没食子酸的平均加样回收率(RSD)分别为98.15%(0.87%)、97.48%(1.05%)、96.28%(2.91%)、99.12%(1.75%)、99.44%(1.06%)、98.06%(1.39%)、99.07%(1.52%)。

2.9 样品含量测定 取不同产地药材粉末,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,外标法计算含量,结果见表4。

表4 各成分含量测定结果(mg/g, n=3)

编号	产地	大黄素	大黄素葡萄糖苷	大黄素甲醚	大黄酸	大黄酚	二苯乙烯苷	没食子酸
S1	湖北恩施	150.16	419.36	86.36	—	0.15	2 577.49	537.96
S2	广东德庆	168.92	622.58	106.81	—	0.18	3 410.74	842.33
S3	云南昆明	102.04	385.51	—	—	—	1 998.06	561.72
S4	广西靖西	198.13	791.03	90.18	—	0.22	4 226.91	860.43
S5	河南济源	91.64	110.58	50.04	—	0.39	940.88	300.17
S6	重庆缙云山	45.09	186.45	38.99	—	0.07	1 273.54	486.02
S7	江西井冈山	47.91	183.26	28.40	0.10	0.24	1 380.61	459.33
S8	广东新兴	141.75	286.91	79.69	—	—	1 816.35	520.68
S9	四川攀枝花	63.79	190.44	69.77	—	0.05	1 472.36	564.92
S10	贵州施秉	39.58	159.27	35.11	0.06	0.78	1 001.48	511.14

注:—表示未检出。

### 3 讨论

蒽醌类化合物是何首乌主要活性成分之一,以游离型、结合型形式存在,具有抗菌、抗病毒、抗氧化等作用<sup>[15]</sup>,两者均与肝脏毒性有关,其肝细胞的损伤程度随浓度或时间增加而升高<sup>[16]</sup>。既往研究认为,结合型蒽醌具有泻下作用及肝脏毒性,通常通过炮制达到减轻肝脏毒性的目的<sup>[17-19]</sup>,但中药安全性受多种因素的影响,包括产地、采收时间、加工方法、储存条件等<sup>[20-21]</sup>。

本实验采用HPLC法对不同产地何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量进行测定,发现存在显著的地域差异,其中广西靖西产者中三者含量最高,其次为广东德庆产者,而重庆缙云山、江西井冈山、四川攀枝花、贵州施秉、河南济源产者较低,可能与种质、气候、光照和栽培条件等因素密切相关。广西靖西地处我国南部,德庆地处广东中西部,阳光充足、紫外线辐射强,气候湿润,有利于何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷等物质的积累;重庆缙云山气候多云雾,光照相对较弱;江西井冈山位于江南丘陵地带,气候湿润但季节性变化明显,光照时间和强度可能不及广东德庆;四川攀枝花降水相对较少;贵州施秉位

于云贵高原东部斜坡,具有山地气候特点,光照、温度和降水可能均不如广东德庆均衡;河南济源纬度较高,气候较冷。

然而,本实验仍存在一些不足之处。(1)样本量较小,未能覆盖所有相关地区的变化和种质差异;(2)未对何首乌种质特性进行深入分析,缺乏对种质与蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量之间关系的全面理解;(3)存储条件、加工方法等因素可能对蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量的测定结果产生影响。今后,可扩大样本量,增加产地覆盖范围,同时结合种质分析和环境因素来全面探讨何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸含量的影响因素。

### 4 结论

本实验采用HPLC法测定不同产地何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸的含量,发现其具有显著地域差异,这不仅有助于增强对该药材成分多样性的认识,还可指导其质量评价。

### 参考文献:

[1] Wang S Y, Sun X Z, An S, et al. High-throughput identification of organic compounds from *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*

- ( Zhiheshouwu ) by UHPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS [ J ]. *Molecules*, 2021, 26(13): 3977.
- [ 2 ] 王 卓, 钟凌云, 解 杨, 等. 基于“生熟异用”何首乌的研究进展及其质量标志物 ( Q-Marker ) 的预测分析 [ J ]. *中草药*, 2022, 53(3): 882-897.
- [ 3 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部 [ S ]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 183-184.
- [ 4 ] Huang C Y D, Zhang Y Q, Xu Y J, *et al.* Prepared *Radix Polygoni Multiflori* and emodin alleviate lipid droplet accumulation in nonalcoholic fatty liver disease through MAPK signaling pathway inhibition [ J ]. *Aging (Albany NY)*, 2024, 16(3): 2362-2384.
- [ 5 ] 林 艳, 夏伯候, 李 春, 等. 中红外光谱结合模式识别快速鉴别生/制首乌 [ J ]. *光谱学与光谱分析*, 2021, 41(12): 3708-3711.
- [ 6 ] Wu F Y, Li Y L, Liu W Y, *et al.* Comparative investigation of raw and processed *Radix Polygoni Multiflori* on the treatment of vascular dementia by liquid chromatograph-mass spectrometry based metabolomic approach [ J ]. *Metabolites*, 2022, 12(12): 1297.
- [ 7 ] 宋晨鸽, 马彦江, 姚 超, 等. 九蒸九制何首乌色泽与二苯乙烯苷、蒽醌类成分的相关性分析 [ J ]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41(8): 783-789.
- [ 8 ] 韩继丽, 胡倩倩, 崔 霞, 等. 中药中蒽醌类的肝毒性及其分离分析技术研究进展 [ J ]. *西北药学杂志*, 2021, 36(1): 153-159.
- [ 9 ] Rao T, Liu Y T, Zeng X C, *et al.* The hepatotoxicity of *Polygonum multiflorum*: The emerging role of the immune-mediated liver injury [ J ]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(1): 27-35.
- [ 10 ] Zhou G, Feng Y M, Li Z C, *et al.* Fingerprinting and determination of hepatotoxic constituents in *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* of different producing places by HPLC [ J ]. *J Chromatogr Sci*, 2022, 60(5): 440-449.
- [ 11 ] Fan X Y, Zhou L, Xing Y C, *et al.* A comprehensive investigation on the chemical changes of traditional Chinese medicine with classic processing technology: *Polygonum multiflorum* under nine cycles of steaming and sunning as a case study [ J ]. *Anal Bioanal Chem*, 2024, 416(7): 1733-1744.
- [ 12 ] Li D, Yang M B, Zuo Z. Overview of pharmacokinetics and liver toxicities of *Radix Polygoni Multiflori* [ J ]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(11): 729-749.
- [ 13 ] Yang J B, Gao H Y, Song Y F, *et al.* Advances in understanding the metabolites and metabolomics of *Polygonum multiflorum* Thunb: A mini-review [ J ]. *Curr Drug Metab*, 2021, 22(3): 165-172.
- [ 14 ] 李妍怡, 张玉杰, 汪 祺, 等. 基于产地和炮制工艺探讨何首乌化学成分变化 [ J ]. *中国药物警戒*, 2022, 19(7): 799-802.
- [ 15 ] 周 灿, 姚 森, 司海倩, 等. 十堰地区何首乌不同生长期主要活性成分的分布及含量变化 [ J ]. *华中农业大学学报*, 2021, 40(6): 35-42.
- [ 16 ] Du X L, Xu L L, Zhang Z, *et al.* Analyze the effect of steaming on the chemical constituents, defecation and liver injury of *Polygonum Multiflorum Radix* ( Heshouwu ) by multiple analysis techniques combined with multivariate statistics [ J ]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6284-6304.
- [ 17 ] 张亚莉, 刘 颖, 谢诗婷, 等. 生发片中蒽醌类成分分析及其在不同生产工艺中的传递性 [ J ]. *中成药*, 2022, 44(1): 215-218.
- [ 18 ] 丁平平, 易 斌, 杨华杰, 等. 爇制对何首乌中蒽醌糖苷类成分的影响及其减毒效应 [ J ]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(10): 1400-1406.
- [ 19 ] 汪明金, 陈雯清, 袁伟博, 等. 何首乌化学成分, 药理作用及肝毒性的研究进展 [ J ]. *上海中医药杂志*, 2024, 58(3): 86-91.
- [ 20 ] 沈建梅, 陈敬然, 杜微波, 等. 基于性状与质量相关性对何首乌商品规格等级划分研究 [ J ]. *中医学报*, 2023, 51(9): 51-55.
- [ 21 ] 余甘树, 李 娟. 基于多成分含量测定的制何首乌煮散饮片与原饮片煎煮质量比较研究 [ J ]. *广州中医药大学学报*, 2024, 41(7): 1873-1879.