

基于特征图谱及多成分定量的首乌藤饮片与标准汤剂量值传递规律研究

曹斯琼*, 陈康梅, 潘礼业, 周湘媛, 马懿飞

广东一方制药有限公司 广东省中药配方颗粒企业重点实验室, 佛山 528000

摘要: 本文建立首乌藤的含量测定方法和指纹图谱评价方法, 研究首乌藤饮片到标准汤剂的量值传递规律。收集全国主产地和道地产地具有代表性的20批首乌藤药材, 按《中国药典》2020年版规定制备成首乌藤饮片, 并按《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》制备成首乌藤标准汤剂; 采用HPLC建立适用测定含量及指纹图谱方法, 以转移率、出膏率及指纹图谱相似度为指标, 分析首乌藤饮片到标准汤剂的量值传递规律。结果显示, 20批首乌藤标准汤剂出膏率为10.4%~16.1%, 均值为12.9%, 均位于均值的 $\pm 30\%$ 范围内。除了四川产地的样品外, 其余产地首乌藤饮片及其标准汤剂HPLC对照指纹图谱相似度均良好(>0.9), 且二者具6个共有峰, 并通过对照品指认其中的4个峰分别2,3,5,4-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素、大黄素甲醚。四个已知成分的转移率分别为26.58%~53.07% (2,3,5,4-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷)、12.37%~42.84% (大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷)、3.83%~18.71% (大黄素)、0.35%~4.13% (大黄素甲醚)。本文建立了首乌藤饮片及其标准汤剂含量测定方法和指纹图谱方法, 阐明了二者之间的化学成分的量值传递规律, 为首乌藤水提物及其配方颗粒质量控制提供参考。

关键词: 首乌藤; 标准汤剂; 转移率; 指纹图谱; 量值传递

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)6-1022-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.6.013

Study on the quantity value transfer of *Polygoni Multiflori Caulis* decoction pieces to standard decoction based on fingerprint and multi-component quantification

CAO Si-qiong*, CHEN Kang-mei, PAN Li-ye, ZHOU Xiang-yuan, MA Yi-fei

Guangdong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formula Granule,
Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528000, China

Abstract: The content determination method and fingerprint evaluation method of *Polygoni Multiflori Caulis* were established. The quantity value transfer rule from *Polygoni Multiflori Caulis* (PMC) decoction pieces to PMC the standard decoction of Chinese materia medica was studied. Twenty batches of PMC from the main producing areas and authentic producing areas in China were collected. Prepared into decoction pieces of PMC in accordance with the provisions of the 2020 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, and the standard decoction of Shouwuteng was prepared according to "Technical Requirements for Quality Control and Standard Formulation of Chinese Medicine Formula Granules". HPLC was used to establish the content determination method and fingerprint method. The transfer rate, extraction rate and similarity of fingerprint were taken as indexes, the quantity value transfer rule from PMC decoction pieces to PMC standard decoction was analyzed. Results showed that the established HPLC method and fingerprint method were suitable for the determination of PMC decoction pieces and its standard decoction. The results showed that the paste rate of 20 batches of PMC standard decoction was 10.4%-16.1%, the mean value was 12.9%, all were within $\pm 30\%$ of the mean value. In addition to the samples of Sichuan origin, The HPLC fingerprint similarity of other origin of PMC decoction pieces and PMC standard decoction of Chinese materia medica were all good ($>$

0.9), And they have 6 peaks in common, Four of them were identified as 2,3,5,4-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside, emodin-8-O- β -D-glucoside, emodin, emodin-3-methyl ether. The transfer rates of the four known components were 26.58% - 53.07% (2,3,5,4-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside), 12.37% - 42.84% (emodin-8-O- β -D-glucoside), 3.83% - 18.71% (emodin) and 0.35% - 4.13% (emodin-3-methyl ether). Therefore, a method for the content and fingerprint of PMC and its standard decoction have been established, and the quantity value transfer law of chemical composition between them was expounded. The reference was provided for the quality control of water extract and formula granule of PMC.

Key words: Polygoni Multiflori Caulis; standard decoction; transfer rate; fingerprint; quantity value transfer

首乌藤为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥藤茎, 又名夜交藤, 具养血安神, 祛风通络功效^[1]。用于失眠多梦, 血虚身痛, 风湿痹痛, 皮肤瘙痒。现代研究^[2,3]表明首乌藤主要成分为蒽醌类、黄酮类、多糖类、二苯乙烯类等化合物, 具有抗慢性炎症、镇静催眠、抗氧化、免疫调节、抑制抗菌、调血脂等作用^[4,9], 临床上多用于改善易感疲劳、烦躁紧张、睡眠障碍及皮肤病等状况。

中药饮片标准汤剂是指以中医理论为指导, 临床应用为基础, 参考现代提取方法, 经标准化工艺制备而成的单味中药饮片水煎剂, 用于标化临床用药, 保障用药的准确性和剂量的一致性^[10], 以标准汤剂作为标准参照物的评价方法是中药整体质量控制的方法之一。本研究根据国家药典委员会颁布的《中药配方颗粒管理办法》的原则, 按照根茎类中药饮片标准汤剂制备工艺, 进行首乌藤饮片标准汤剂研究, 对首乌藤饮片及其标准汤剂进行多指标含量测定并建立了指纹图谱, 比较了二者主要化学成分的差异, 以期为首乌藤的水提物及其配方颗粒质量评价提供参考。

1 材料

1.1 仪器

3L 陶瓷煎药壶(深圳市一枚王电子商务有限公司); Waters H-Class 高效液相色谱仪(沃特斯公

司); Waters Xselect HSS T3 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱; 万分之一天平、XP26 型百万分之一天平(Mettler toledo 公司); 数控超声波清洗器(KQ-500DE 型, 昆山市超声仪器有限公司); 超纯水系统(Milli-Q Direct, Merck 公司); 恒温水浴锅(HWS28, 上海一恒科技有限公司)。

1.2 试剂与试药

甲醇(默克股份有限公司)、甲酸(天津市科密欧化学试剂有限公司)为色谱纯; 甲醇、乙醇(西陇科学股份有限公司)为分析纯; 水为超纯水(实验室自制)。

2,3,5,4-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(批号: 110844-201713, 纯度: 90.7%) (简称何首乌苷)、大黄素(批号: 110756-201913, 纯度: 96.0%)、大黄素甲醚(批号: 110758-201817, 纯度: 99.20%) (中国食品药品检定研究院); 大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷(批号: 1902903, 纯度: 98.0%) (简称大黄苷)(成都普菲德生物技术有限公司)。

本次实验所用分别收集了 6 个产地共 20 批首乌藤样品, 经广东一方制药有限公司质量中心鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥藤茎。并按 2020 年版《中国药典》首乌藤炮制项下制备成首乌藤饮片; 根据《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》制备首乌藤标准汤剂, 样品信息见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

编号 No.	产地信息 Information of origin	饮片编号 Number of decoction pieces	标准汤剂编号 Number of standard decoction
S1	四川省凉山州宁南县	YP01	BT01
S2	四川省凉山州宁南县	YP02	BT02
S3	云南省红河州蒙自县	YP03	BT03
S4	云南省红河州蒙自县	YP04	BT04
S5	云南省红河州蒙自县	YP05	BT05
S6	湖北省荆门市东宝区	YP06	BT06
S7	湖北省荆门市东宝区	YP07	BT07
S8	湖北省宜昌市夷陵区	YP08	BT08

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	产地信息 Information of origin	饮片编号 Number of decoction pieces	标准汤剂编号 Number of standard decoction
S9	湖南省怀化市通道县	YP09	BT09
S10	湖南省怀化市中方县	YP10	BT10
S11	贵州省黔西南州晴隆县	YP11	BT11
S12	贵州省黔西南州兴仁县	YP12	BT12
S13	贵州省黔西南州兴义市	YP13	BT13
S14	广东省肇庆市德庆县	YP14	BT14
S15	广东省肇庆市德庆县	YP15	BT15
S16	湖北省宜昌市	YP16	BT16
S17	湖北省宜昌市	YP17	BT17
S18	贵州省贵阳市	YP18	BT18
S19	贵州省毕节市	YP19	BT19
S20	四川省西昌市	YP20	BT20

2 方法与结果

2.1 标准汤剂的制备

取首乌藤饮片 100 g, 至 3 L 陶瓷煎药壶中, 加水煎煮二次, 第一次加 10 倍量水, 浸泡 30 min, 武火煮沸后改文火再煎煮 30 min, 用 350 目筛趁热过滤, 滤液迅速冷水冷却; 第二次加 8 倍量水, 武火煮沸后改文火再煎煮 25 min, 用 350 目筛趁热过滤, 滤液迅速冷水冷却; 合并两次滤液, 减压浓缩至 100 mL, 真空冷冻干燥, 即得首乌藤标准汤剂(制备方法参考《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》)。

2.2 指纹图谱及指标成分含量测定方法的建立

2.2.1 色谱条件

Waters Xselect HSS T3 C₁₈ 为色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇(A)-0.1% 甲酸(B), 梯度洗脱(0~40 min, 35%→68% A; 40~50 min, 68%→95% A; 50~60 min, 95% A); 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 30 ℃; 检测波长为 290 nm; 进样量为 10 μL。

2.2.2 供试品溶液制备(避光操作)

饮片供试品溶液制备 取首乌藤饮片粉末(过四号筛)约 0.5 g, 精密称定, 置具塞棕色锥形瓶中, 精密加入 25 mL 75% 乙醇, 称定重量, 置超声波清洗器(功率 250 W, 频率 40 kHz)中超声提取 30 min, 放冷, 再称定重量, 用提取溶剂补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得(避光操作)。

标准汤剂供试品制备 取首乌藤标准汤剂适量, 研细, 取约 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz)30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 上清液滤过, 取续滤液, 即得(避光操作)。

2.2.3 对照品溶液的制备

分别称取各对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含二苯乙炔苷 852.134 μg/L, 大黄苷 270.750 μg/L, 大黄素 97.728 μg/L, 大黄素甲醚 40.966 μg/L 的混合对照品储备溶液(避光操作)。

2.3 指纹图谱及指标成分含量测定方法学

2.3.1 指纹图谱方法学

2.3.1.1 精密度试验

取同一份首乌藤饮片(YP01)及其标准汤剂(BT01)供试品溶液, 连续进样 6 次测定, 以 1 号峰何首乌苷为参照峰, 分别计算 6 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 并计算相对保留时间和相对峰面积的 RSD, 均小于 2.0%。表明仪器精密度良好。

2.3.1.2 重复性试验

取同一份首乌藤饮片(YP01)及其标准汤剂(BT01), 平行制备六份供试品溶液, 分别进样测定, 以二苯乙炔苷为参照峰, 分别计算 6 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 并计算相对保留时间和相对峰面积的 RSD, 均小于 1.0%。表明该方法重复性良好。

2.3.1.3 稳定性试验

取同一份首乌藤饮片(YP01)及其标准汤剂(BT01)供试品溶液, 分别室温放置 0、2、4、8、12、24 h 进行测定, 以 1 号峰何首乌苷为参照峰, 分别计算 6 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 并计算相对保留时间和相对峰面积的 RSD, 均小于 2.0%, 表明样品在室温放置 24 h 稳定。

2.3.2 含量测定方法学

2.3.2.1 线性关系

分别精密吸取混合对照品储备溶液(浓度为二

苯乙烯苷 852.134 $\mu\text{g/L}$, 大黄苷 270.750 $\mu\text{g/L}$, 大黄素 97.728 $\mu\text{g/L}$, 大黄素甲醚 40.966 $\mu\text{g/L}$ 。0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度(避光操作), 摇匀, 得制备一系列对照

品溶液, 连同混合对照品储备溶液, 进样分析, 以待测成分浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标(X), 以峰面积为纵坐标(Y), 拟合标准曲线, 4 个待测成分的线性关系结果见表 2。

表 2 回归方程及线性范围

Table 2 Regression equation and linear range

序号 No.	成分 Component	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range($\mu\text{g/mL}$)	r
1	何首乌苷 2,3,5,4-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside	$y = 28\ 671x + 1\ 963.4$	8.521 ~ 852.134	0.999 7
2	大黄苷 Emodin-8-O- β -D-glucoside	$y = 23\ 849x + 4\ 049$	2.708 ~ 270.750	0.999 9
3	大黄素 Emodin	$y = 46\ 896x - 8\ 636.8$	0.977 ~ 97.728	0.999 3
4	大黄素甲醚 Emodin methyl ether	$y = 27\ 856x + 3\ 372.3$	0.410 ~ 40.966	0.999 7

2.3.2.2 精密度试验

取同一对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算得何首乌苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚的峰面积 RSD 分别为 0.90%、0.076%、0.12%、0.25%, 表明仪器精密度良好。

2.3.2.3 重复性试验

取同一份首乌藤饮片(YP01)及其标准汤剂(BT01), 平行制备 6 份供试品溶液, 进样分析, 结果首乌藤饮片中何首乌苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚含量的 RSD 分别为 0.15%、0.14%、0.28%、2.6%; 标准汤剂中何首乌苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚含量的 RSD 分别为 0.67%、1.0%、0.30%、2.0%, 表明该方法重复性良好。

2.3.2.4 稳定性试验

取首乌藤饮片(YP01)及其标准汤剂(BT01), 制备供试品溶液, 于室温放置 0、2、4、8、12、24 h 进行测定, 结果首乌藤饮片中何首乌苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚含量的 RSD 分别为 1.0%、0.78%、1.4%、2.0%; 标准汤剂中何首乌苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚含量的 RSD 分别为 1.2%、0.37%、1.5%、0.86%, 表明供试品溶液室温放置 24 h 稳定。

2.3.2.5 加样回收试验

精密称取已知含量的首乌藤标准汤剂 0.05 g (BT01), 共称取 6 份, 分别加入一定量对照品溶液, 制备供试品溶液, 进样分析, 记录峰面积, 计算回收率, 结果何首乌苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚的平均加样回收率分别为 98.35%、99.17%、98.60%、95.22%。RSD 分别为 2.3%、2.0%、

2.0%、2.8%。表明方法准确性良好。精密称取已知含量的首乌藤饮片 0.25g (YP01), 共称取 6 份, 分别加入一定量对照品溶液, 制备供试品溶液, 进样分析, 计算回收率, 结果二苯乙烯苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚的平均加样回收率分别为 96.88%、98.46%、96.17%、97.61%。RSD 分别为 2.3%、2.0%、1.2%、1.3%。表明方法准确性良好。

2.4 相关表征参数的测定

2.4.1 出膏率

分别取 20 批首乌藤标准汤剂浓缩液各 5 g, 置干燥至恒重的蒸发皿中, 蒸发皿于 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上挥干溶剂, 将蒸发皿置烘箱中, 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重, 计

算出膏率, 计算公式为: 出膏率 = $\frac{M_1}{M} \times \frac{M_3}{M_2}$ (M_1 表示烘干后样品质量, M_2 表示用于干燥的浓缩液重量, M_3 表示 100 g 饮片所得的标准汤剂浓缩液的总重, M 表示饮片取样量)。

2.4.2 指纹图谱测定及对照指纹图谱的建立

取 20 批首乌藤饮片及标准汤剂样品溶液, 进样测定, 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”进行数据处理, 建立指纹图谱。

2.4.3 指标成分的含量测定及转移率的计算

根据各批次首乌藤饮片及其标准汤剂中各成分的含量, 根据公式计算首乌藤饮片中各成分转移率: 转移率 = $\frac{C_1 \times C_2}{W_1 \times W_2} \times 100\%$ (C_1 表示首乌藤标准汤剂含量, W_1 表示标准汤剂剂量, C_2 表示首乌藤饮片含

量, W_2 表示饮片量)。

2.5 结果

2.5.1 指纹图谱评价

2.5.1.1 共有峰标定

将 YP01 ~ YP20 的图谱以 AIA 格式依次导入国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012 版)》^[11], 分别以 YP01 和 BT01 样品指纹图谱为参照图谱, 对 20 批首乌藤饮片和标准汤剂指纹图谱进行多点校正和峰匹配, 并生成首乌藤饮片对照指纹图谱(R1)和首乌藤标准汤剂对照指纹图谱(R2)(见图 1、图 2)。经对照品对照, 分别 1 号峰为何首乌苷, 2 号峰为大黄苷峰, 5 号峰为大黄素峰, 6 号峰为大黄素甲醚峰, 见图 3。在首乌藤饮片及其标准汤剂的指纹图谱中, 大黄苷峰的分度良好, 故确定以大黄苷(2 号峰)为参照峰标定其他共有峰。结果显示, 20 批首乌藤饮片和标准汤剂均标识出 6 个共有峰, 表明各指纹峰所代表的化学成分均能进行有效的转移从首乌藤饮片到标准汤剂。

2.5.1.2 指纹图谱的相似度评价

采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2012 版)》分别对首乌藤饮片和标准汤剂指纹图谱进行相似度计算, 结果饮片 YP01 ~ YP20 的相似度分别为 0.717、0.845、0.973、0.984、0.941、0.988、0.987、0.986、0.975、0.976、0.995、0.997、0.998、0.966、0.977、0.986、0.986、0.908、0.926、0.817, 标准汤剂 BT01 ~ BT20 的相似度分别为 0.714、0.879、0.996、0.988、0.991、0.991、0.992、0.990、0.986、0.987、0.999、0.999、1.000、0.987、0.988、0.996、0.998、0.910、0.923、0.858。除了 YP01、YP02、YP020 号外, 其余样品与对照图谱的相似度均 >0.900 , 说明首乌藤饮片样品与对照图谱间的相似度较好。YP01、YP02、YP020 号同为四川产的首乌藤饮片与其他产地样品间存在一定差异, 这种差异可能与药材产区的土壤类型、气候类型、光照等生态因子有关^[12], 对应标准汤剂有一样的结果, 饮片质量较好地传递到了标准汤剂, 提示标准汤剂的制备工艺稳定、可行。

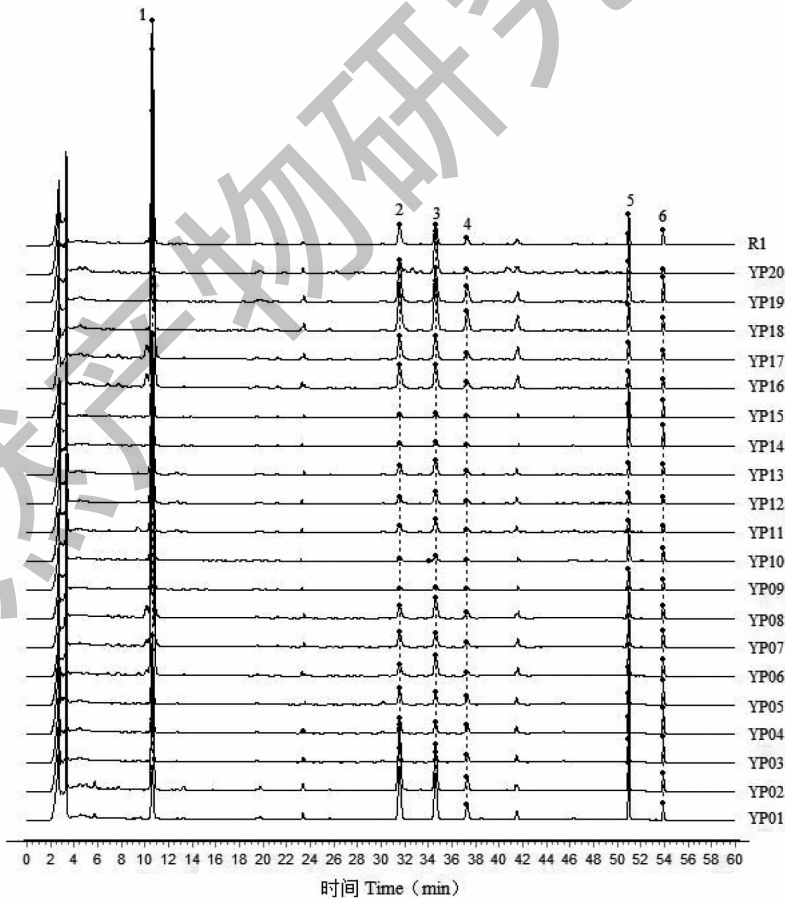


图 1 20 批首乌藤饮片指纹图谱共有峰

Fig. 1 Common peaks of 20 batches of Polygoni Multiflori Caulis in UPLC characteristic chromatogram

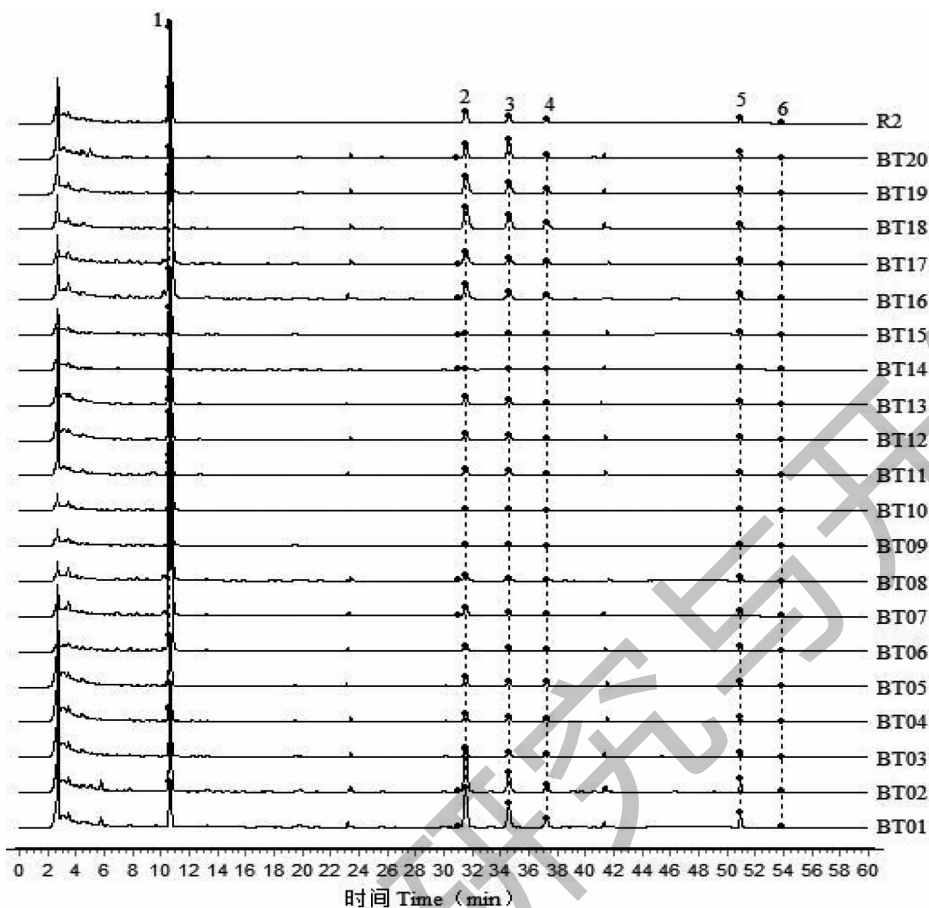


图2 20批首乌藤标准汤剂指纹图谱共有峰

Fig. 2 Common peaks of 20 batches of Standard decoction in UPLC characteristic chromatgram

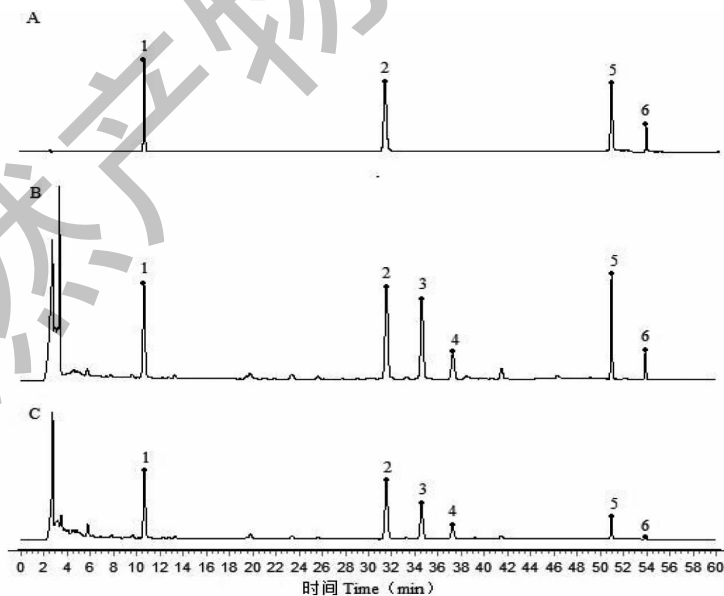


图3 混合对照品、首乌藤饮片对照图谱及首乌藤标准汤剂对照图谱比较

Fig. 3 Comparison of mixed references, Polygoni Multiflori Caulis and standard decoction

注:A:混合对照品;B:饮片对照图谱;C:标准汤剂对照图谱。1:何首乌苷;2:大黄苷;5:大黄素;6:大黄素甲醚。Note:A:Mixed references;B:

Contrast characteristic chromatgram of Polygoni Multiflori Caulis;C:Reference characteristic chromatgram of standard decoction. 1;2,3,5,

4-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside;2;Emodin-8-O- β -D-glucoside;5;Emodin;6;Emodin methylether.

2.5.1.3 首乌藤饮片、标准汤剂相关性分析

首乌藤饮片、标准汤剂对照指纹图谱比较结果见图4,并采用国家药典委员会颁布的《中药色谱指纹图谱相似度评价软件系统2012年A版》,分别将首乌藤饮片、标准汤剂生成的对照指纹图谱导入,计

算首乌藤饮片、标准汤剂的相似度,结果见图4,表3。由图谱可知首乌藤饮片、标准汤剂相应位置上均呈现6共有峰。由表4可以看出相似度在0.95以上,说明首乌藤标准汤剂与饮片主要化学成分基本一致,指纹图谱相关性良好。

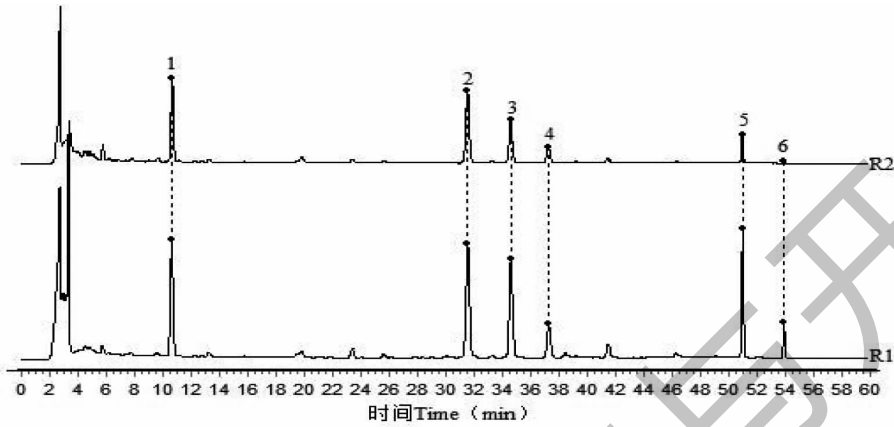


图4 首乌藤饮片、标准汤剂指纹谱比较

Fig. 4 Comparison of fingerprint chromatograms between decoctions of Polygoni Multiflori Caulis and standard decoction

表3 相似度结果

Table 3 Results of the similarity

序号 No.	R1	R2	对照图谱 Reference fingerprint
R1	1.000	0.968	0.990
R2	0.968	1.000	0.989
对照图谱 Reference fingerprint	0.990	0.989	1.000

注:R1和R2拟合生成的对照图谱。

Note: R1 and R2 were fitted to generate the reference fingerprint.

2.5.2 指标成分的含量测定及转移率的计算

20批首乌藤饮片及其标准汤剂中出膏率计算结果见表4。20批首乌藤标准汤剂出膏率在10.4%~16.1%,均值为12.9%,均位于均值的±30%范围内,表明该标准汤剂的制备工艺稳定。

含量测定结果显示,首乌藤饮片中何首乌苷(成分1)质量分数处于0.666%~6.080%,平均值2.337%,大黄苷(成分2)质量分数处于0.039%~1.660%,平均值0.533%,大黄素(成分3)质量分数处于0.075%~0.526%,平均值0.233%,大黄素甲醚(成分4)质量分数处于0.064%~0.300%,平均值0.171%,且含量波动范围远大于均值的±30%范围内,见表4。本实验研究用样品分别来自广东、贵州、四川、湖南、湖北、云南等6个产地,均符合《中国药典》2020年版首乌藤项下的含量要求,但是批间含量差异显著,反映其物质基础差异大。市场

调查时发现商品首乌藤来源于野生和家种,野生品居多。家种品生长年限在3年以上,野生品为多年生,在一些何首乌主产区首乌藤为何首乌的副产品,一般在采收何首乌时顺带采收何首乌。广东德庆何首乌药材生长周期短,一般栽培2~3年,而其他产地一般需栽培4~5年,而首乌藤的化学成分随采收季节和生长年限的变化明显,首乌藤嫩、中、老枝、中何首乌苷、大黄素、大黄素甲醚含量均有差异^[13]。上述诸多因素可能是造成药材质量差异的原因。

20批样品均符合中国药典首乌藤项下的规定,其中湖北产地的5批样品(6号、7号、8号、16号、17号)二苯乙烯苷的含量是药典限度的10倍,均高于其他5个产地,而云南产区的首乌藤(3号、4号、5号)二苯乙烯苷含量则整体均低于其他5个产地。多指标成分的测定结果表明,二苯乙烯苷、大黄苷、大黄素和大黄素甲醚4个成分含量差异均较大。四川产区的首乌藤药材大黄苷含量最高,比含量最低的湖南产区和广东产区高20倍以上,贵州产区的首乌藤药材2个蒽醌类成分大黄素及大黄素甲醚含量整体较低,总的来说,贵州、云南产区的首乌藤药材整体各成分含量均较低,表明采集的首乌藤中指标成分含量受产地影响波动较大。

首乌藤标准汤剂中,二苯乙烯苷质量分数处于2.310%~18.085%,平均值7.089%,大黄苷质量分数处于0.055%~4.424%,平均值1.313%,大黄

素质量分数处于 0.074% ~ 0.386%, 平均值 0.163%, 大黄素甲醚质量分数处于 0.004% ~ 0.045%, 平均值 0.019%, 见表 4。首乌藤标准汤剂含量结果与首乌藤饮片结果一致, 说明首乌藤饮片质量好坏传递到首乌藤基准样品。首乌藤标准汤剂二苯乙烯苷转移率 26.58% ~ 53.07%, 平均值 40.14%, 大黄苷转移率 12.37% ~ 42.84%, 平均值 29.60%, 大黄素转移率 3.83% ~ 18.71%, 平均值 10.22%, 大黄素甲醚转移率 0.35% ~ 4.13%, 平均值 1.59% (见表 4、图 5)。

20 批不同产区首乌藤饮片 4 个成分含量差异较大, 说明不同产区首乌藤饮片的化学成分存在较大差异。20 批首乌藤标准汤剂中二苯乙烯苷、大黄苷、大黄素、大黄素甲醚含量和转移率之间存在差异, 可能与饮片产地、采收时间和产地加工方式不同

有关; 另外化学性质也会影响二苯乙烯苷、大黄苷、大黄素、大黄素甲醚在标准汤剂中的含量和转移, 可能是导致其含量和转移率波动较大的原因。

20 批首乌藤标准汤剂的出膏率较为稳定, 虽然首乌藤藤茎粗细不一, 按首乌藤药材 2020 年版《中国药典》首乌藤饮片项下切成段, 制成首乌藤饮片, 并按《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》中“标准汤剂制备”项的指导原则, 制备得到的首乌藤标准汤剂是进行批与批之间质量一致性的合理评价基准。本实验采用药材的基本覆盖首乌藤的道地产地或主产区, 饮片含量存在较大的波动, 为了确保标准汤剂的质量稳定, 应综合考虑各道地产地或主产地药材质量及资源可持续性供应等, 固定首乌藤的产地。

表 4 首乌藤饮片及其标准汤剂中指标成分的含量及转移率

Table 4 Content and transfer rates of index components in decoction slices and standard decoction of *Polygoni Multiflori Caulis*

编号 No.	出膏率 Paste rate (%)	饮片中的含量 Content in decoction piece (%)				标准汤剂中的含量 Content in standard decoction (%)				转移率 Transfer rate (%)			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
S1	12.6	0.850	1.264	0.366	0.158	2.743	3.911	0.386	0.045	40.68	38.99	13.27	3.57
S2	13.3	2.558	1.660	0.330	0.174	5.112	4.424	0.348	0.041	26.58	35.45	14.02	3.14
S3	11.7	0.677	0.337	0.287	0.255	2.842	0.730	0.116	0.016	49.14	25.30	4.75	0.73
S4	12.5	0.708	0.355	0.257	0.251	3.005	0.926	0.116	0.020	53.07	32.62	5.63	1.01
S5	13.1	0.875	0.373	0.238	0.239	2.310	0.747	0.113	0.018	34.59	26.26	6.24	1.00
S6	13.0	4.820	0.365	0.233	0.203	13.700	0.652	0.159	0.014	36.95	23.21	8.88	0.90
S7	12.7	4.736	0.425	0.239	0.196	16.328	1.022	0.175	0.023	43.79	30.57	9.30	1.51
S8	10.4	5.217	0.370	0.234	0.159	16.219	0.658	0.168	0.015	32.33	18.48	7.50	0.99
S9	12.8	1.925	0.039	0.158	0.113	6.236	0.084	0.204	0.004	41.47	27.82	16.50	0.41
S10	16.1	2.860	0.062	0.233	0.161	7.880	0.123	0.079	0.005	44.36	32.15	5.43	0.51
S11	14.3	1.791	0.224	0.086	0.077	5.490	0.658	0.100	0.010	43.83	41.92	16.52	1.93
S12	13.3	1.406	0.223	0.075	0.064	5.007	0.718	0.106	0.012	47.38	42.84	18.71	2.45
S13	13.2	1.464	0.310	0.089	0.113	5.059	0.938	0.117	0.014	45.62	39.98	17.33	1.60
S14	14.0	1.388	0.062	0.269	0.211	3.806	0.055	0.074	0.005	38.38	12.37	3.83	0.35
S15	14.5	1.377	0.072	0.205	0.165	4.058	0.075	0.078	0.007	42.73	15.06	5.54	0.60
S16	12.4	6.080	0.732	0.143	0.120	18.085	2.050	0.198	0.040	36.88	34.73	17.17	4.13
S17	11.3	4.242	0.682	0.292	0.221	13.510	1.636	0.164	0.020	35.99	27.11	6.35	1.02
S18	11.2	1.794	1.402	0.207	0.150	4.361	3.027	0.195	0.023	27.23	24.18	10.55	1.72
S19	12.0	1.306	1.216	0.526	0.300	3.666	2.404	0.196	0.021	33.68	23.72	4.47	0.84
S20	13.6	0.666	0.493	0.185	0.080	2.356	1.423	0.170	0.020	48.11	39.26	12.50	3.40
均值 Mean	12.9	2.337	0.533	0.233	0.171	7.089	1.313	0.163	0.019	40.14	29.60	10.22	1.59
RSD (%)	10	73	90	45	38	74	95	50	63	18	30	50	72

注: 1: 何首乌苷; 2: 大黄苷; 3: 大黄素; 4: 大黄素甲醚。

Note: 1: 2, 3, 5, 4-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside; 2: Emodin-8-O-β-D-glucoside; 3: Emodin; 4: Emodin methylether.

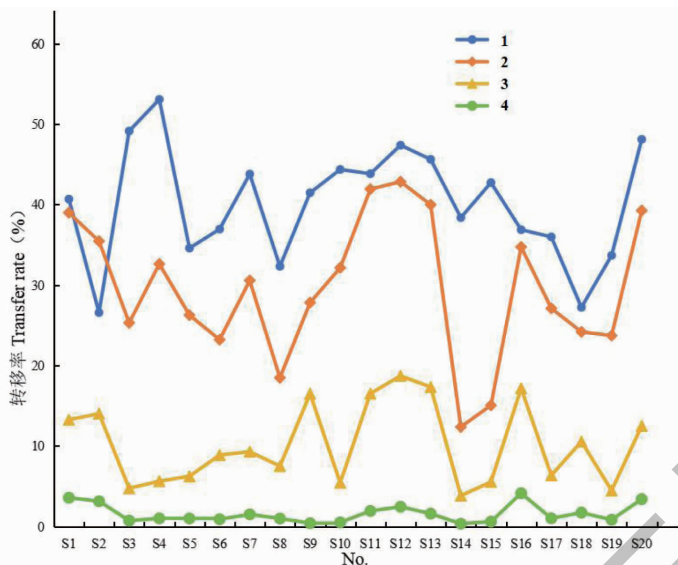


图5 首乌藤饮片与标准汤剂4个成分转移率折线图

Fig. 5 Line chart of transfer rates of four components from Polygoni Multiflori Caulis decoction pieces to standard decoction
 注:1:何首乌苷;2:大黄苷;3:大黄素;4:大黄素甲醚。Note:1:2,3,5,4-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside;2:Emodin-8-O-β-D-glucoside;3:Emodin;4:Emodin methylether.

3 讨论与结论

实验通过对流动相、洗脱程序、检测波长的选择,确定了最佳的色谱条件,通过对首乌藤饮片和首乌藤标准汤剂供试品溶液的制备方法进行考察,首乌藤饮片及其标准汤剂最佳的样品制备方法,该方法既最大限度保留首乌藤饮片及其标准汤剂的化学成分,又能实现良好的色谱分离,为首乌藤饮片及其标准汤剂质量评价研究奠定基础。

首乌藤饮片和标准汤剂有相同的共有峰,且首乌藤饮片与其标准汤剂相似度在0.95以上,表明首乌藤主要成分均传递到标准汤剂,但是各个成分的转移率不一致。首乌藤饮片中能检测到并且含量较高的成分有2大类4个成分(1个二苯乙烯苷类及3个蒽醌类),这些成分基本均能传递到标准汤剂,且饮片中的4个成分的含量较高的批次对应的标准汤剂含量也相对较高;但是各成分的转移率不尽一致,二苯乙烯苷及大黄苷两个成分的转移率较高,基本在20%以上,而两个蒽醌类成分大黄素及大黄素甲醚的转移率较低,基本低于20%,这与二苯乙烯苷有一定的水溶性、而其余成分大多为脂溶性成分有关。另外大黄素除游离存在外,尚以还原状态,如蒽酚、蒽酮的衍生物。大黄素蒽酚或大黄素蒽酮为大黄素的还原产物,不稳定,易被氧化再转变成蒽醌,导致大黄苷的转移率升高。首乌藤标准汤剂是经中

药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求制备而成的水煎液,二苯乙烯苷和大黄苷极性较大的成分容易从饮片部分传递到标准汤剂中,而大黄素、大黄素甲醚等极性较小的成分不易传递到标准汤剂当中。因此,二苯乙烯苷和大黄苷可以作为反映其制备工艺的指标成分,用于首乌藤配方颗粒及其他制剂的质量控制指标。2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷有降血脂、降胆固醇及调节机体免疫功能的作用^[14];蒽醌类成分(大黄素、大黄素甲醚及其苷类等)能够改善脑缺血导致的神经损伤^[15,16]。因此,含首乌藤的制剂中可根据功能主治的侧重点不同,选择合适提取溶剂。

本研究建立的方法,可较好控制首乌藤饮片、标准汤剂及配方颗粒的质量,并为其他品种研究提供可参考的方法。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020:277-278.
- 2 Sun WL. Study on the constituents of Polygoni Multiflori Caulis [D]. Kunming: Yunnan University of Chinese Medicine(云南中医学院),2018.
- 3 Luo YY, Cai ZQ, Liu XH, et al. Analysis of chemical constit-

- uents in *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Caulis* from the same origin based on UPLC-Triple TOF-MS/MS[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2017,29:2068-2074.
- 4 Wang FR, Hong L. Advances in the study of chemical constituents and pharmacological effects of *Polygoni Multiflori Radix* and *Caulis Polygoni Multiflori*[J]. *J Jiangxi Univ Chin Med*(江西中医学院学报),2007,19:98-100.
- 5 Zheng YJ, Zhang P, Lin JR, et al. Clinical application and dosage of tuber fleece flower stem[J]. *J Changchun Univ Chin Med*(长春中医药大学学报),2020,36:225-227.
- 6 Liu QL, Yi JT, Li YS, et al. The experimental study of the effect of *Caulis Polygoni Multiflori* extract on the central nervous system of mice[J]. *J Clin Exp Med*(临床和实验医学杂志),2014,13:1404-1406.
- 7 Yan LD, Guo LQ, Liu Y, et al. Effects of *Caulis Polygoni Multiflori*. on sleeping state of free-moving rats[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*(辽宁中医杂志),2008,35:466-467.
- 8 Li ZX, Yang ZP, Shi BX, et al. Study on slumber improving with *Caulis Polygoni Multiflori* in mice[J]. *Food Sci*(食品科学),2007,28:327-331.
- 9 Yang Y. Treatment of 58 cases of insomnia with the addition of *Caulis Polygoni Multiflori*[J]. *Guangming J Chin Med*(光明中医),2011,26:2236-2237.
- 10 Chen SL, Liu A, Li Q, et al. Research strategies in standard decoction of medicinal slices[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志),2016,41:1367-1375.
- 11 Li GW, Qiu YJ, Suo cx, et al. Research on the UPLC fingerprint and content determination of traditional Chinese medicine decoction pieces in Rutaceae based on standard decoction[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2021,33:1649-1667.
- 12 Liao BS, Song JY, Xie CX, et al. Study on origin tracing of authentic medicinal materials[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志),2014,39:3881-3888.
- 13 Liao L, Huang Q, Chen SL, et al. Study of effective components in different parts of *Caulis Polygoni Multiflori*[J]. *J Mount Agric Biol*(山地农业生物学报),2016,35:81-86.
- 14 Ling X, Gu J, Jing Y, et al. The detection of stilbene glucoside in *Yishentongluo* compound[J]. *J Hunan Norm Univ: Med Sci*(湖南师范大学学报:医学版),2015,12:142-144.
- 15 Hou WW, Shi YH, Song Y, et al. Simultaneous determination of four anthraquinones in *Polygonum multiflorum* by QAMS[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志),2020,45:133-141.
- 16 Cai YD, He QS, Fan ZY, et al. Protective mechanism of free anthraquinones with antioxidation activity from *Rheum L.* against cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *J Guizhou Univ Tradit Chin Med*(贵阳中医学院学报),2019,41:5-10.