

# 高效液相色谱法测定不同产地首乌藤中大黄素的含量

## HPLC in determination of Emodin contents in *Caulis Polygoni Multiflori* produced in different regions

叶光明<sup>1</sup>, 陈云红<sup>1</sup>, 姜云云<sup>1</sup>, 刘桂永<sup>2</sup>

(1. 解放军第 101 医院药剂科, 无锡 214044; 2. 解放军全军精神卫生中心, 常州 213003)

**[摘要]** **目的:** 建立高效液相色谱法, 测定不同产地首乌藤中大黄素含量的方法。**方法:** 以 YMC-Pack ODS-A(150 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 流动相为甲醇-0.2 mol/L 磷酸二氢钠溶液(80:20, pH=3.0), 检测波长 256 nm, 流速 1.0 ml/min; 柱温 30℃, 以外标法测定不同产地首乌藤中大黄素含量。**结果:** 大黄素在 1.52~7.58 μg/ml 范围内与峰面积呈良好线性关系,  $r=0.9997$ , 大黄素平均加样回收率为 100.97%, RSD 为 1.48% ( $n=6$ )。不同产地药材中大黄素含量分别为江苏 0.500 mg/g、贵州 1.137 mg/g、湖南 0.333 mg/g、河南 0.121 mg/g 和湖北 0.363 mg/g。**结论:** 本法可用于首乌藤中大黄素的含量测定; 5 个产地的首乌藤中大黄素含量有显著差异, 贵州产首乌藤中大黄素的含量最高。

**[关键词]** 大黄素; 高效液相色谱法; 首乌藤

**[中图分类号]** R 284

**[文献标识码]** B

**[文章编号]** 0258-879X(2007)01-0114-02

首乌藤, 也叫夜交藤为蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.) 的干燥藤茎。主要分布于我国河南、贵州、湖南、湖北、江苏等地, 是民间常用中药。该药具有养血安神, 祛风通络等功效, 用于失眠多梦、血虚身痛、风湿痹痛, 外治皮肤瘙痒<sup>[1]</sup>。首乌藤主要有效成分为大黄素<sup>[2]</sup>, 由于不同产地的首乌藤药材主成分含量差异较大, 为了控制药材质量, 本研究在文献<sup>[3-4]</sup>的基础上, 优化并建立了以首乌藤有效部位为基础的高效液相色谱定量分析方法, 为快速、简便地鉴定不同来源的首乌藤药材质量提供了参考标准, 并为扩大首乌藤资源的应用提供可靠的科学依据。

### 1 仪器和试剂

Waters 系列高效液相色谱仪, 486 紫外可见波长检测器, Waters2010 数据处理系统(美国 Waters 公司), FA1004 电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司·天平仪器厂), AE240S 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司), 0.45 μm 偏氟膜(上海亚东核级树脂有限公司)。大黄素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110756-200110); 首乌藤样品为市售, 来源于河南、贵州、湖南、湖北、江苏等地, 并经第二军医大学长海医院药学部王忠壮主任药师鉴定为蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.) 的干燥藤茎; 甲醇(色谱纯), 水为蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法和结果

**2.1 色谱分析条件** 色谱柱为 YMC-Pack ODS-A (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.2 mol/L 磷酸二氢钠溶液(80:20, 磷酸调节 pH=3.0), 流速 1.0 ml/min; 检测波长 256 nm, 柱温 30℃, 灵敏度 1.0 AUFS, 进样量 20 μl。外标法定量。

**2.2 系统适应性实验** 在 2.1 项下色谱条件, 主色谱峰与相邻色谱峰的分离度大于 1.5, 理论塔板数以大黄素计算应不低于 5 000, 色谱图见图 1。

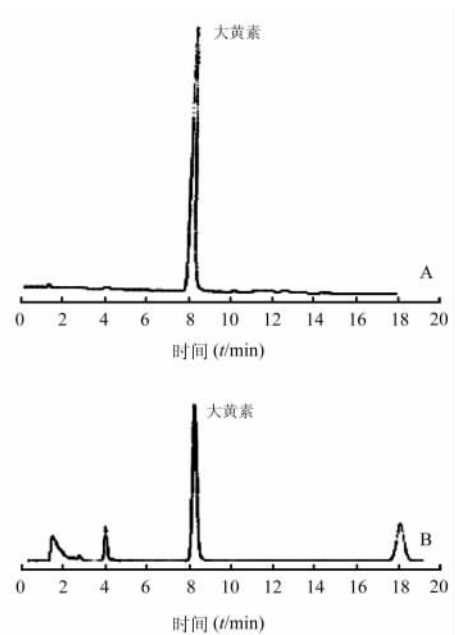


图 1 对照品(A)和样品(B)色谱图

**2.3 供试品溶液和对照品溶液的制备** 取不同产地首乌藤生药研磨后的粉末约 2 g, 精密称定, 置 100 ml 梨形瓶中, 混匀, 加 2.5 mol/L 硫酸溶液 20 ml 使其全部溶散, 加热回流 1 h(水浴温度 100℃), 放冷, 加氯仿 30 ml, 加热回流 1 h(水浴温度 80℃), 放冷, 吸出氯仿液, 酸水层再用氯仿提取 3 次, 每次 30 ml, 加热回流 40 min(水浴温度 80℃)。合并氯仿提取液, 滤过, 残渣用少量氯仿洗涤, 合并滤液与洗液, 用蒸馏水洗涤 3 次, 每次 80 ml, 弃去水液。将氯仿液减压蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 置 10 ml 量瓶中, 并加甲醇至刻度, 摇匀, 先用滤纸过滤, 再用偏氟膜(0.45 μm)过滤, 弃去初滤液, 取续滤液备用。

**[作者简介]** 叶光明, 主管药师. E-mail: janet-jyy@tom.com

精密称取在 105℃ 干燥至恒重的大黄素对照品 4.74 mg, 置 50 ml 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 8 ml, 置 100 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得(每 1 ml 含大黄素 7.58 μg) 对照品溶液。

#### 2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系 精密量取对照品溶液 2、3、4、5、6、7、8、9 ml, 分别置 10 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 稀释液以及对照品溶液依次进样。以峰面积为纵坐标, 进样量(μg) 为横坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为  $A=55\ 558.54c-5\ 453.94$  ( $r=0.999\ 7$ ), 结果表明大黄素在 1.52~7.58 μg/ml 范围内呈良好线性关系。

2.4.2 精密度 以 7.58 μg/ml 大黄素对照品溶液考察精密度。测得日内、日间峰面积 RSD 分别为 1.52% 及 2.83% ( $n=6$ ), 表明方法精密度良好。

2.4.3 稳定性 取大黄素对照品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10 h 依次进样 20 μl, 测定大黄素含量。6 次所测大黄素峰面积 RSD 为 0.88%, 表明大黄素在流动相溶液中 10 h 内稳定。

2.4.4 重复性 取产地江苏的首乌藤样品 6 份, 按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件测定含量, 测得大黄素的 RSD 为 2.11% ( $n=6$ ), 表明此法重复性良好。

2.4.5 加样回收率 精密称取 6 份已知产地为湖北的首乌藤样品 1 g, 分别准确加入大黄素对照品 400、350、300 μg, 按 2.3 项下样品液制法及 2.5 项下样品测定法测定大黄素含量, 计算加样回收率。测得的平均加样回收率为 100.97%, RSD 为 1.48% ( $n=6$ ), 结果见表 1。

表 1 回收率实验结果

编号	大黄素含量(m/μg)		回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
	样品中含量	加入量			
1	363	400	782	102.54	100.97
2	363	400	778	101.96	
3	363	350	723	101.38	
4	363	350	725	101.72	
5	363	300	659	99.38	
6	363	300	655	98.84	

2.5 样品中大黄素含量测定 按 2.3 项下供试品溶液配制方法, 分别精密吸取对照品与各供试品溶液 20 μl, 注入高效液相色谱仪, 依 2.1 项下色谱条件, 用外标法计算含量, 测得样品中大黄素的含量。结果是江苏、贵州、湖南、河南和湖北的首乌藤中大黄素的含量分别为(0.500±0.007)、(1.137±0.022)、(0.333±0.008)、(0.121±0.003) 和 (0.363±0.005) mg/g。

### 3 讨论

首乌藤中主要活性成分为蒽醌类化合物, 故选择大黄素作为含量测定的活性指标。根据苷类化合物易在酸性条件下水解的性质, 本研究将药材直接以 2.5 mol/L 硫酸溶液加热水解, 将其水解产物大黄素以高效液相色谱法测定含量。实验表明水解 1 h 即可将结合型蒽醌完全水解, 用氯仿在酸水中回流萃取 3 次, 可保证提取完全, 并可除去水溶性杂质。

本研究在文献<sup>[4]</sup>的基础上采用 256 nm 为检测波长, 流动相选择以 0.2 mol/L 磷酸二氢钠溶液代替 0.1 mol/L 磷酸溶液, 并通过调节溶液 pH 值, 使得大黄素的保留时间提前到 8 min 左右, 基线平直且峰形对称, 无杂质干扰, 分离度好。

江苏、贵州、河南、湖南和湖北 5 个产地中, 贵州产首乌藤中大黄素含量最高, 其质量百分含量约为 0.113 7%。

不同产地首乌藤中的大黄素含量存在显著性差异, 提示在以首乌藤为主药组方时要特别注意其含量的差异性。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 187.
- [2] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量的测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 327.
- [3] 范宋玲, 孙冬梅, 王洛临, 等. 首乌藤药材质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12: 7-9.
- [4] 杨林, 徐铤, 唐尧. RP-HPLC 测定首乌藤中大黄素的含量[J]. 华西药理学杂志, 2005, 20: 554-555.

[收稿日期] 2006-08-24

[修回日期] 2006-11-06

[本文编辑] 尹茶