

· 基础研究 ·

《中华人民共和国药典》2020年版收载何首乌和制何首乌质量标准【鉴别】项的商榷[△]

王雪婷^a, 杨建波^a, 程显隆, 汪祺, 高慧宇, 宋云飞, 王莹, 魏锋^{*}, 马双成^{*}

中国食品药品检定研究院, 北京 100050

[摘要] **目的:** 讨论完善《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》) 2020年版何首乌及制何首乌的薄层色谱鉴别项。**方法:** 考察超声及加热回流2种不同的样品制备方式, 以及用二氯甲烷-甲醇-甲酸、乙酸乙酯-石油醚-甲酸展开系统代替原标准中三氯甲烷-甲醇展开系统的可行性, 同时比较了不同显色条件。**结果:** 2种制备方式制得的样品在相同的展开条件下展开结果并没有明显差异, 超声提取操作更加简便; 以二氯甲烷-甲醇-甲酸(5:1:0.3)和石油醚-乙酸乙酯-甲酸(5.0:1.0:0.3)代替三氯甲烷-甲醇展开系统后, 喷10%硫酸乙醇显色剂并在紫外灯365 nm下检视, 薄层色谱板上斑点明显增多且分离效果好, 较《中国药典》2020年版何首乌和制何首乌薄层色谱鉴别条件更理想。**结论:** 改进后的方法毒性低、简便易行、可行性良好, 为进一步完善《中国药典》2020年版何首乌和制何首乌质量标准提供参考。

[关键词] 《中国药典》; 何首乌; 制何首乌; 提取方式; 薄层色谱

[中图分类号] R282.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2022)10-1877-09

doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20220125003

Discussion on Identification of *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* in *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition)

WANG Xue-ting, YANG Jian-bo^a, CHENG Xian-long, WANG Qi, GAO Hui-yu, SONG Yun-fei, WANG Ying,WEI Feng^{*}, MA Shuang-cheng^{*}

National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

[Abstract] **Objective:** To discuss and improve the identification of *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* by thin layer chromatography (TLC) in *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition). **Methods:** For sample extraction, ultrasonic extraction and heating reflux were compared. In addition, whether it was feasible to replace the trichloromethane-methanol solvent system in the standard with dichloromethane-methanol-formic acid system and ethyl acetate-petroleum ether-formic acid system was investigated. Besides, the condition of color reaction was also studied. **Results:** Under the same unfolding conditions, there is no significant difference in the unfolding results of the samples prepared by the two preparation methods, and the ultrasonic extraction operation is more convenient. When dichloromethane-methanol-formic acid (5:1:0.3) system and petroleum ether-ethyl acetate-formic acid (5:1:0.3) system were used instead of the dichloromethane-methanol system in *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition), the spots on TLC plate increased obviously with better separation effect after being sprayed with chromogenic agent. **Conclusion:** The improved method features low toxicity and ease of implementation, which is feasible. The findings in this study can serve as a reference for the further improving the standard of *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* in *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition).

[Keywords] *Chinese Pharmacopoeia*; *Polygoni Multiflori Radix*; *Polygoni Multiflori Radix Praeparata*; extraction method; thin layer chromatography (TLC)

[△] [基金项目] 国家重点研发计划项目(2019YFC1711500); 国家自然科学基金项目(81973476)

^{*} [通信作者] 马双成, 研究员, 研究方向: 中药民族药质量标准及安全性评价研究; Tel: 010-53852072, E-mail: masc@nifdc.org.cn

魏锋, 研究员, 研究方向: 中药质量标准及安全性评价研究; Tel: 010-53852020, E-mail: weifeng@nifdc.org.cn

^a 并列第一作者

何首乌为《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020年版收载品种,为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thumb. 的干燥块根,于秋、冬两季叶枯萎时采挖,削去两端,洗净,个大的切成块,干燥,具有解毒、消痈、截疟、润肠通便的功效^[1]。制首乌为何首乌的炮制加工品,具有补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨、化浊调脂的作用,临床可用于血虚萎黄、眩晕耳鸣、须发早白、腰膝酸软、肢体麻木、崩漏带下、高脂血症^[1]。何首乌中主要的活性成分为2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷、蒽醌(结合蒽醌和游离蒽醌)、黄酮、萜、酰胺等类成分,但是这些不同类型化合物极性差别较大^[2-5]。《中国药典》2020年版何首乌和制首乌项下【鉴别】项中的供试品溶液制备方式采用加热回流提取,操作复杂、费时费力;薄层鉴别方法采用三氯甲烷-甲醇为展开剂,毒性较大,展开后主斑点数较少,分离度相对较差,且需要二次展开,操作较为繁琐。为此,通过前期研究及文献报道^[6-12],本研究对何首乌和制何首乌的提取方式及薄层色谱鉴别方法进行改进,以超声提取代替加热回流制备样品,采用毒性较低的二氯甲烷-甲醇-甲酸系统代替三氯甲烷-甲醇系统,同时增加石油醚-乙酸乙酯-甲酸系统对极性较低的成分斑点进行鉴别,结果得到了优于《中国药典》2020年版何首乌【鉴别】项下方法的斑点和显色效果,有助于何首乌和制何首乌药品标准的进一步提高和优化。

1 材料

1.1 仪器

QUINTIX313-1CN型万分之一电子天平(德国Sartorius公司);KQ-500DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,频率:40 kHz);AST 4型半自动薄层点样仪、ADC 2型全自动薄层色谱展开仪、Visualizer型薄层数码成像系统(瑞士卡玛公司);硅胶G₆₀薄层板(德国Merck公司)。

1.2 试药

对照品2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(批号:110844-201915,纯度:90.7%)、大黄素(批号:110756-201913,纯度:96.0%)、大黄素甲醚(批号:110758-201817,纯度:99.2%)、何首乌对照药材(批号:120934-201410)和制何首

乌对照药材(批号:121454-201806)均购于中国食品药品检定研究院;大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷(批号:23313-21-5,纯度:98%)、大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷(批号:23451-01-6,纯度:98%)均购于上海源叶生物科技有限公司;常规试剂为分析纯。

22批生何首乌样品和34批制何首乌样品均经中国食品药品检定研究院杨建波副研究员鉴定为何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根及其炮制品,样品信息见表1~2。

表1 何首乌样品信息

编号	来源	采收季节	生长年限/年	收集时间/年-月-日
S1	广东德庆	秋季	1	2021-11-29
S2	广东德庆	秋季	2	2021-11-29
S3	广东德庆	秋季	3	2021-11-29
S4	广东德庆	秋季	4	2021-11-29
S5	广东德庆	秋季	5	2021-11-29
S6	广东德庆	春季	5	2021-04-19
S7	广东德庆	夏季	5	2021-08-18
S8	广东高州	秋季	—	2020-08-03
S9	云南曲靖	秋季	—	2020-08-12
S10	云南文山	秋季	—	2020-08-12
S11	云南红河	秋季	—	2020-08-04
S12	云南红河	秋季	—	2020-11-13
S13	安徽亳州	秋季	—	2020-08-07
S14	安徽亳州	秋季	—	2020-08-07
S15	安徽阜阳	秋季	—	2020-08-07
S16	四川宜宾	秋季	—	2020-08-20
S17	四川达州	秋季	—	2020-12-29
S18	四川达州	秋季	—	2020-12-29
S19	贵州安顺	秋季	—	2020-11-17
S20	贵州铜仁	秋季	—	2020-11-17
S21	贵州毕节	秋季	—	2020-11-17
S22	贵州凯里	秋季	—	2020-11-17

注:—表示样品为市场收集,生长年限不明。

制何首乌样品Z1~Z18、Z34为实验室自制:Z1~Z18采用《中国药典》2020年版通则(0213)^[13]蒸法炮制加工,取何首乌片(批号:S8、S22)约1 kg,分别加入超纯水、黑豆汁670 mL,拌匀,静置过夜使汁吸尽,置木质蒸屉隔水加热,在2、4、8、12、18、24、30、36、48 h分别取出一定量样品,晒干,分别得到清蒸(Z1~Z9)、拌入黑豆汁蒸(Z10~Z18)制何首乌样品。黑豆汁制法:取黑豆1 kg,加水适量,煮约4 h,熬汁约1.5 kg,豆渣再加水煮约3 h,熬汁约1 kg,合并得黑豆汁约2.5 kg。Z34为炖制何首乌,参照《中国药典》2020年版通则(0213)炖

表 2 制何首乌样品信息

编号	批号	产地/来源	炮制方式	炮制时间/h	收集时间/年-月-日
Z1		广东高州	黑豆蒸	2	2020-12-20
Z2		广东高州	黑豆蒸	4	2020-12-20
Z3		广东高州	黑豆蒸	8	2020-12-20
Z4		广东高州	黑豆蒸	12	2020-12-20
Z5		广东高州	黑豆蒸	18	2020-12-20
Z6		广东高州	黑豆蒸	24	2020-12-20
Z7		广东高州	黑豆蒸	30	2020-12-20
Z8		广东高州	黑豆蒸	36	2020-12-20
Z9		广东高州	黑豆蒸	48	2020-12-20
Z10		贵州凯里	清蒸	2	2020-12-20
Z11		贵州凯里	清蒸	4	2020-12-20
Z12		贵州凯里	清蒸	8	2020-12-20
Z13		贵州凯里	清蒸	12	2020-12-20
Z14		贵州凯里	清蒸	18	2020-12-20
Z15		贵州凯里	清蒸	24	2020-12-20
Z16		贵州凯里	清蒸	30	2020-12-20
Z17		贵州凯里	清蒸	36	2020-12-20
Z18		贵州凯里	清蒸	48	2020-12-20
Z19	20211122-GSJN-Z02	甘肃静宁国草药用有限公司	炖制	4	2021-11-22
Z20	20211122-GSJN-Z03	甘肃静宁国草药用有限公司	炖制	8	2021-11-22
Z21	210901-ZHSW-02	九州通黄冈金贵饮片厂	黑豆蒸	4	2021-11-25
Z22	210901-ZHSW-03	九州通黄冈金贵饮片厂	黑豆蒸	8	2021-11-25
Z23	20211125-GSLM-Z01	甘肃陇脉药材有限公司	黑豆蒸	5	2021-11-25
Z24	20211125-GSLM-Z02	甘肃陇脉药材有限公司	黑豆蒸	10	2021-11-25
Z25	20211125-NXMD-Z03	宁夏明德饮片厂	黑豆蒸	8	2021-11-25
Z26	20211125-NXMD-Z04	宁夏明德饮片厂	黑豆蒸	16	2021-11-25
Z27	20211129-JXJSTQT-Z02	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	黑豆蒸	4	2021-11-29
Z28	20211129-JXJSTQT-Z03	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	黑豆蒸	8	2021-11-29
Z29	20211203-AGYPZ01	安国市中药饮片有限公司	黑豆高压	16	2021-12-03
Z30	20211203-BZLDZ01	亳州灵丹中药饮片有限公司	黑豆蒸	4~6	2021-12-03
Z31	20211203-BZLDZ01	亳州灵丹中药饮片有限公司	黑豆蒸	2	2021-12-22
Z32	20211222-AHWSZ04	安徽万生中药饮片有限公司	黑豆蒸	3	2021-12-22
Z33	20211222-AHWSZ05	安徽万生中药饮片有限公司	黑豆蒸	4	2021-12-22
Z34		广东高州	炖制	8	2020-12-20

法炮制, 取何首乌(批号: S8) 约 1 kg, 用黑豆汁拌匀, 置非铁质的适宜容器内, 炖至汁液吸尽, 得到制何首乌样品^[5]。

Z19~Z20 参照《中国药典》2020 年版通则(0213) 方法, 拌入黑豆汁炖制。

Z21~Z22 样品制法: 辅料为黑豆汁(10% 黑豆, 首次煮 4 h, 再次煮 3 h, 合并 2 次黑豆汁即得); 黑豆汁与何首乌块拌匀, 润 12 h; 蒸箱蒸 8 h, 焖过夜(约 14 h); 干燥 7.5 h(敞开式烘箱, 70 ℃); 蒸 4 h

(没有焖), 晒干。

Z23~Z24 样品制法: 将净何首乌 200 kg 放到不锈钢盘, 取黑豆 20 kg, 加水适量, 煮约 4 h, 熬汁约 20 kg, 合并得黑豆汁约 45 kg, 然后倒入黑豆汁和何首乌搅拌均匀, 焖润 12 h 即可。将完全润透的何首乌放入蒸药机, 蒸制时间 10 h, 温度 100 ℃, 蒸制 5 h 后取样观察色泽情况(由红褐色部分变成黑褐色或棕褐色, 取样检测指标成分含量变化), 待蒸制 10 h 后, 表面由红褐色全部变成黑褐色或棕褐色,

取样检测指标成分含量变化。

Z25~Z26样品制法：照《中国药典》2020年版通则(0213)^[13]蒸法，黑豆3 kg，加水80 L煎煮8 h(煎煮2次，第1次煎煮后浸泡过夜)。煎煮液加何首乌18 kg，浸润22 h，蒸16 h，中间品蒸制8 h。干燥即得。

Z27~Z28样品制法：依据《中国药典》2020年版(一部)，取何首乌块100 kg、黑豆汁25 kg，拌匀上锅蒸4 h，倒出翻蒸，上锅再蒸3 h，取出、合并汁液，干燥。

Z29样品制法：高压蒸制。

Z30样品制法：原料净制，洗药机洗至无泥沙，浸泡2 h，焖润2~3 h；切至厚度为8~12 mm；温度100℃，蒸4~6 h，至呈棕褐色，焖2 h；干燥温度50~60℃，时间2~3 h，至水分不超过12%。

Z31~Z33样品制法：按照《中国药典》2020年版的工艺要求，用清蒸法，没有加任何辅料。

2 方法与结果

2.1 《中国药典》2020年版何首乌【鉴别】(2)项下提取方式的优化

2.1.1 对照品溶液的配制 取大黄素、大黄素甲醚、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、大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷对照品，加甲醇制成质量浓度为0.5 mg·mL⁻¹的溶液。

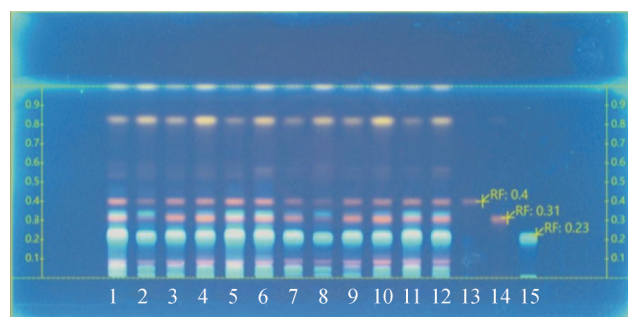
2.1.2 供试品溶液的配制

2.1.2.1 《中国药典》2020年版制备方法 分别取何首乌药材(S5、S8、S15、S16和S19)和何首乌对照药材，按《中国药典》2020年版何首乌【鉴别】(2)项下供试品溶液制备方法，分别得到供试品溶液(HS5、HS8、HS15、HS16和HS19)和对照药材溶液(DZYC-H1)。

2.1.2.2 改进方法 分别取何首乌药材(S5、S8、S15、S16和S19)粉末0.25 g，分别置具塞锥形瓶中，加乙醇50 mL，超声20 min(功率：300 W，频率：40 kHz)，滤过，滤液浓缩至3 mL作为供试品溶液(CS5、CS8、CS15、CS16和CS19)。另取何首乌对照药材0.25 g，同法制成对照药材溶液(DZYC-C1)。

2.1.3 薄层色谱测定 按照《中国药典》2020年版薄层色谱法(通则0502)，吸取2.1.2项下2种供

试品溶液制备方法制得的溶液各2 μL，大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液2 μL，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-葡萄糖苷对照品各0.5 μL，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上使成条状，以三氯甲烷-甲醇(7:3)为展开剂，展开至约3.5 cm，取出，晾干，再以三氯甲烷-甲醇(20:1)为展开剂，展开至约7 cm，取出，晾干，置紫外光灯(365 nm)下检视。薄层色谱图见图1。结果发现，通过2种制备方式制得的样品在相同的展开条件下展开结果并没有明显差异，因此可以用操作更加简单方便的超声提取代替加热回流作为样品制备方式。



注：1~6. HS5、HS8、HS15、HS16、HS19、DZYC-H1；7~12. CS5、CS8、CS15、CS16、CS19、DZYC-C1；13~15. 大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液。

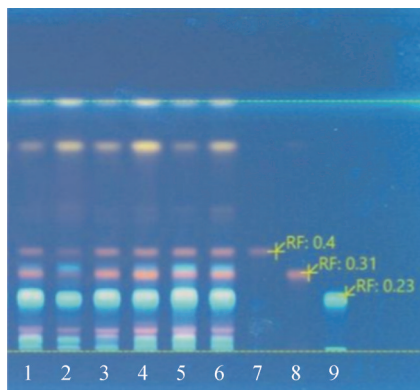
图1 不同制备方法何首乌供试品薄层色谱考察

2.2 《中国药典》2020年版何首乌【鉴别】(2)项下展开系统的优化

2.2.1 对照品及供试品溶液制备 分别按照2.1.1、2.1.2.2项下方法制备对照品及供试品溶液。点样量分别为供试品和大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷各2 μL，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、大黄素甲醚各0.5 μL，大黄素1 μL。

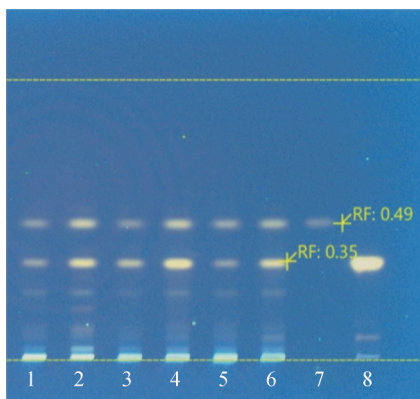
2.2.2 薄层色谱测定 采用3种不同薄层色谱展开系统：1)按《中国药典》2020年版方法，以三氯甲烷-甲醇(7:3)为展开剂，展开至约3.5 cm，取出，晾干，再以三氯甲烷-甲醇(20:1)为展开剂，展开至约7 cm，取出，晾干。2)以石油醚-乙酸乙酯-甲酸(5:1:0.3)为展开剂展开，取出，晾干。3)以二氯甲烷-甲醇-甲酸(5:1:0.3)为展开剂展开，取出，晾干，其余条件按照2.1.3项下方法。

结果见图2~4。展开后发现,以石油醚-乙酸乙酯-甲酸(5:1:0.3)和二氯甲烷-甲醇-甲酸(5:1:0.3)为展开剂,对于何首乌中的不同极性的化合物都有较好的展开效果,相较于三氯甲烷-甲醇系统,展开后斑点明显增多。



注: 1~5. 样品CS5、CS8、CS15、CS16、CS19; 6. 何首乌对照药材; 7~9. 大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品溶液; 图4同。

图2 何首乌样品按展开系统(1)展开结果



注: 1~5. CS5、CS8、CS15、CS16、CS19; 6. 何首乌对照药材; 7、8. 大黄素甲醚和大黄素对照品溶液。

图3 何首乌样品按展开系统(2)展开结果

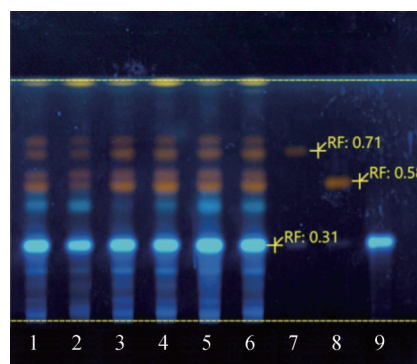


图4 何首乌样品按展开系统(3)展开结果

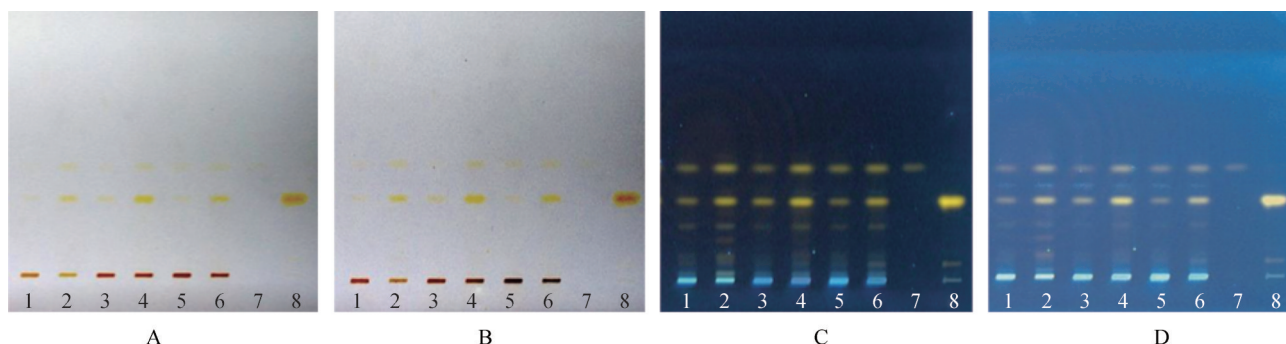
2.3 检视条件考察

2.3.1 对照品及供试品溶液制备 分别按照2.1.1、2.1.2.2项下方法制备对照品及供试品溶液。

2.3.2 薄层色谱测定 采用改进后的2种展开系统(2)和(3),以硅胶G板展开晾干后,分别考察喷与不喷10%硫酸乙醇显色剂时,在日光灯和紫外灯(365 nm)下的斑点情况,结果见图5~6。由石油醚-乙酸乙酯-甲酸(5:1:0.3)和二氯甲烷-甲醇-甲酸(5:1:0.3)展开系统展开后喷以10%硫酸乙醇显色剂并在紫外灯365 nm下检视,斑点更为丰富和清晰。

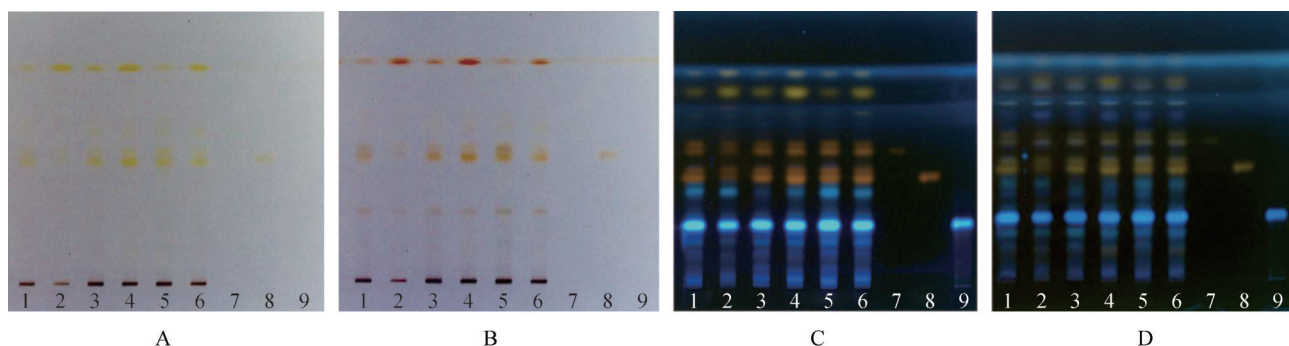
2.4 薄层色谱鉴别方法的确定

基于供试品制备方式、展开体系和检视条件的考察,确定改进后的薄层鉴别方法: 1) 取何首乌粉末0.25 g,按2.1.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下方法制备大黄素和大黄素甲醚对照品溶液,照薄层色谱法(通则0502),吸取供试品溶液和对照药材溶液各2 μL,大黄素甲醚对照品溶液0.5 μL,大黄素对照品溶液0.1 μL,分别点于同一以羧甲基纤维钠为黏合剂的硅胶G薄层板上使成条



注: A. 不喷10%硫酸乙醇情况下在日光灯下检视; B. 喷10%硫酸乙醇在日光灯下检视; C. 不喷10%硫酸乙醇情况下在紫外灯(365 nm)下检视; D. 喷10%硫酸乙醇在紫外灯(365 nm)下检视; 1~5. CS5、CS8、CS15、CS16、CS19; 6. 何首乌对照药材; 7、8. 大黄素甲醚和大黄素对照品溶液。

图5 何首乌样品展开系统(2)在日光灯和紫外光灯下检视结果



注：A. 不喷10%硫酸乙醇情况下在日光灯下检视；B. 喷10%硫酸乙醇在日光灯下检视；C. 不喷10%硫酸乙醇情况下在紫外灯（365 nm）下检视；D. 喷10%硫酸乙醇在紫外灯（365 nm）下检视；1~5. CS5、CS8、CS15、CS16、CS19；6. 何首乌对照药材；7~9. 大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液。

图6 何首乌样品展开系统(3)在日光灯和紫外光灯下检视结果

状。以石油醚-乙酸乙酯-甲酸（5：1：0.3）为展开剂展开，取出，晾干，喷以10%硫酸乙醇显色剂后，置紫外光灯（365 nm）下检视。2）取何首乌粉末0.25 g，按2.1.2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1.1项下方法制备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、大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液。照薄层色谱法（通则0502）试验，吸取供试品溶液和对照药材溶液各2 μ L，大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液2 μ L，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-葡萄糖苷各0.5 μ L，分别点于同一以羧甲基纤维钠为黏合剂的硅胶G薄层板上使成条状。以二氯甲烷-甲醇-甲酸（5：1：0.3）为展开剂，取出，晾干，喷以10%硫酸乙醇显色剂，置紫外光灯（365 nm）下检视。

3 何首乌和制何首乌样品鉴别

3.1 何首乌样品鉴别

取何首乌样品（S1~S22），按2.4项下薄层色

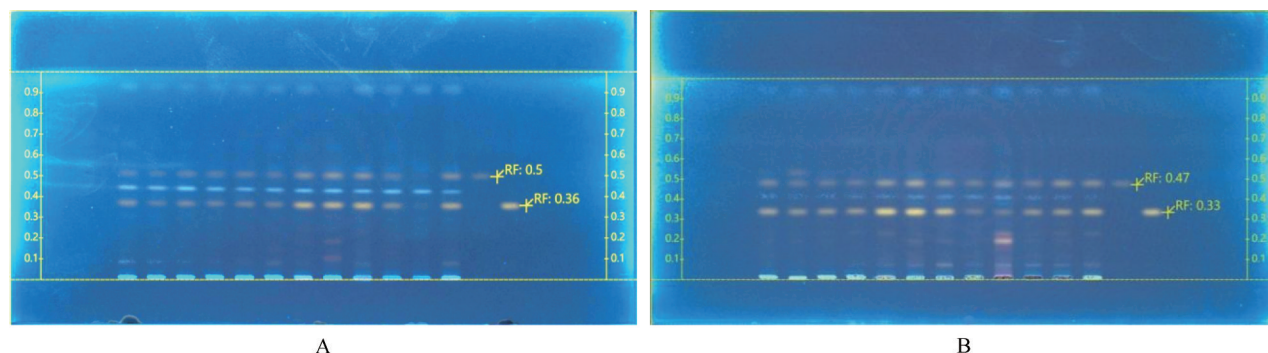
谱鉴别方法，分别使用（1）和（2）条件进行薄层色谱鉴定，结果见图7~8。

3.2 制何首乌样品鉴别

取制何首乌样品（Z1~Z34），按2.4项下薄层色谱鉴别方法，分别使用（1）和（2）条件进行薄层色谱鉴定，结果见图9~10。

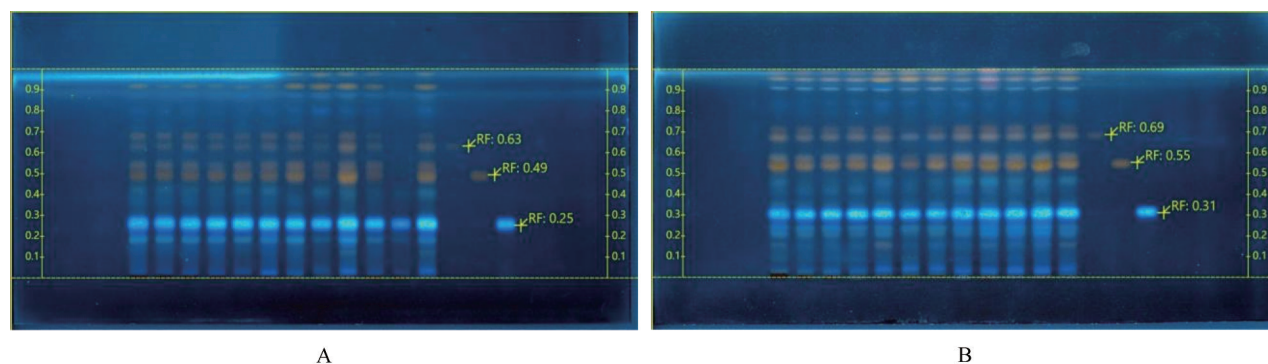
4 讨论

本研究共收集56份样品，其中生何首乌22批，制首乌34批。不同批次生何首乌药材薄层检视结果显示，除贵州铜仁产何首乌外，其他所有产地何首乌药材与对照药材相比，主要成分斑点并无明显差异，说明何首乌样品的一致性较好。根据文献报道，何首乌中以大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷为主的结合蒽醌具有潜在的肝毒性^[14-16]。不同炮制工艺及不同炮制时间制首乌样品薄层检视结果显示，随炮制时间延长，制首乌中结合蒽醌含量显著下降，可能达到炮制减毒的效果，与本课题组前期对制何首乌中蒽醌



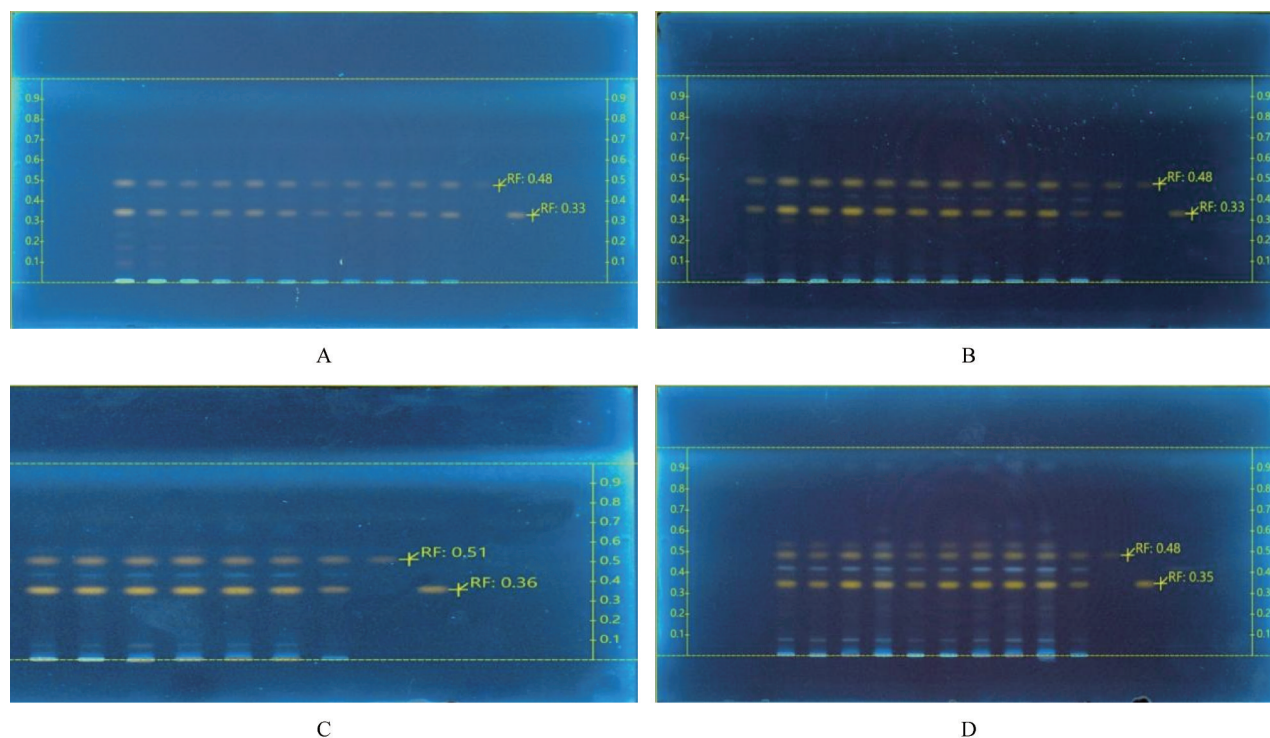
注：A. 从左到右依次为S1~S11、何首乌对照药材、大黄素甲醚和大黄素对照品溶液；B. 从左到右依次为S12~S22、何首乌对照药材、大黄素甲醚和大黄素对照品溶液。

图7 何首乌样品按【鉴别】条件(1)检测结果



注：A. 从左到右依次为S1~S11，何首乌对照药材，大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液；B. 从左到右依次为S12~S22，何首乌对照药材，大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液。

图8 何首乌样品按【鉴别】条件(2)检测结果



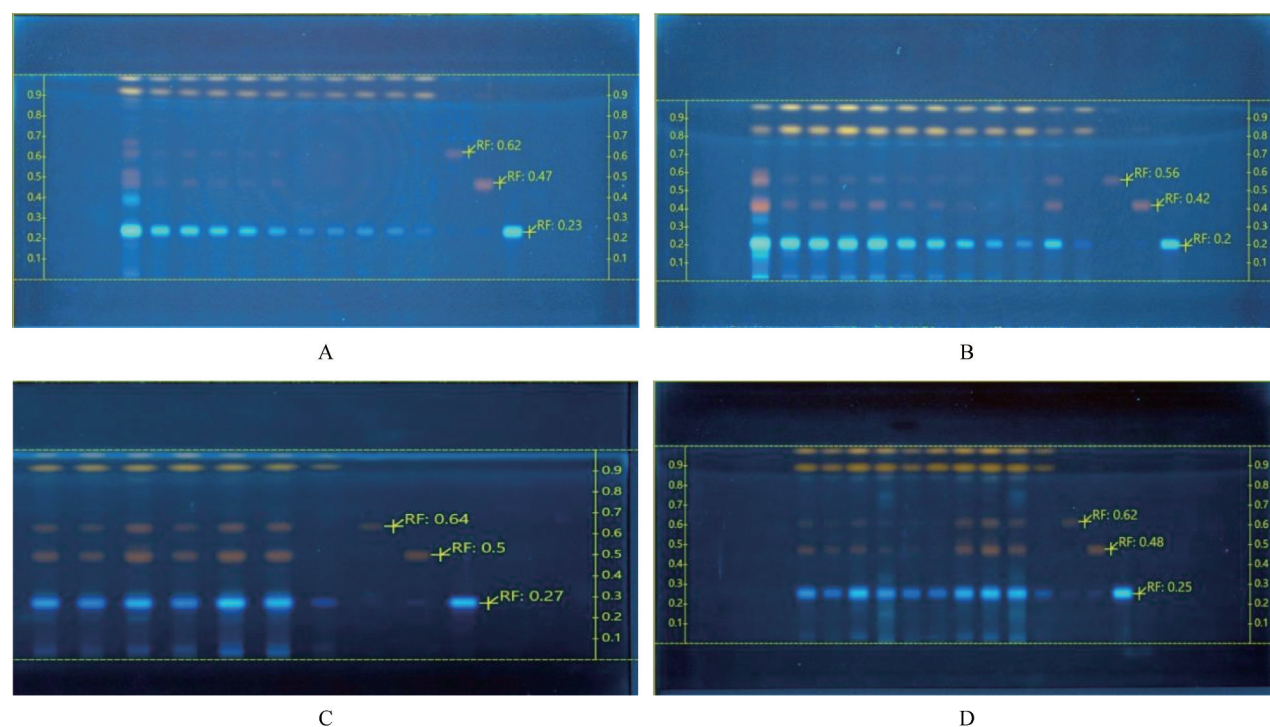
注：A. 从左到右依次为S8、Z1~Z9、制何首乌对照药材、大黄素甲醚和大黄素对照品溶液；B. 从左到右依次为S22、Z10~Z18、Z34、制何首乌对照药材、大黄素甲醚和大黄素对照品溶液；C. 从左到右依次为Z19~Z24、制何首乌对照药材、对大黄素甲醚和大黄素对照品溶液；D. 从左到右依次为Z25~Z33、制何首乌对照药材、大黄素甲醚、大黄素对照品溶液。

图9 制何首乌样品按【鉴别】条件(1)检测结果

类成分含量测定结果基本一致^[5]。通过对黑豆蒸与清蒸工艺的考察，发现何首乌经过36 h的炮制后，结合蒽醌的含量大幅下降，且在薄层色谱鉴别中，基本观察不到明显的大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷等结合蒽醌的主斑点，同制何首乌对照药材溶液的薄层色谱图基本一致。然而，本研究所收集的16批制首乌样品薄层检视结果显示，大部分样品都有明显的大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷等结合蒽醌斑点，推测其炮

制时间不足，与实验结果基本一致。

对于《中国药典》2020年版何首乌和制何首乌【鉴别】(2)收载的供试品提取方式，本研究尝试以超声提取替代原来的加热回流提取，结果发现两者薄层展开结果没有明显区别，因此选用更加简便的超声提取作为供试品制备方式。与此同时，对于【鉴别】(2)收载的展开系统，用低毒、易得的石油醚-乙酸乙酯-甲酸及二氯甲烷-甲醇-甲酸代替三氯甲



注: A. 从左到右依次为S8, Z1~Z9, 制何首乌对照药材, 大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液; B. 从左到右依次为S22, Z10~Z18, Z34, 制何首乌对照药材, 大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液; C. 从左到右依次为Z19~Z24, 制何首乌对照药材, 大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液; D. 从左到右依次为Z25~Z33, 制何首乌对照药材, 大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷和2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷对照品溶液。

图10 制何首乌样品按【鉴别】条件(2)检测结果

烷-甲醇系统, 所获得的薄层色谱图较《中国药典》2020年版何首乌和制何首乌项下薄层色谱条件更理想。因此, 《中国药典》2020年版生和制何首乌【鉴别】(2)可采用超声提取来替代加热回流提取; 采用石油醚-乙酸乙酯-甲酸(5:1:0.3)为展开系统来鉴别生和制何首乌中大黄素和大黄素甲醚等游离蒽醌, 以二氯甲烷-甲醇-甲酸(5:1:0.3)为展开系统来鉴别生和制何首乌中大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷等结合蒽醌及2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷。改进后的2种薄层色谱鉴别方法对何首乌中主要成分2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-*O*- β -D-葡萄糖苷和蒽醌类成分(游离蒽醌及结合蒽醌)均具有较好的展开效果, 斑点清晰, 且分离度较好, 可有效用于生(制)何首乌药材和饮片的鉴别。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:183-184.
- [2] TEKA T, WANG L M, GAO J, et al. *Polygonum*

multiflorum: Recent updates on newly isolated compounds, potential hepatotoxic compounds and their mechanisms[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271: 113864.

- [3] 杨建波, 高慧宇, 王雪婷, 等. 何首乌中1个新的木脂素酰胺类化合物[J]. 中草药, 2021, 52(18): 5475-5482.
- [4] YANG J B, SUN H, MA J, et al. New phenolic constituents obtained from *Polygonum multiflorum*[J]. Chin Herb Med, 2020, 12(3): 342-346.
- [5] 高慧宇, 杨建波, 孙华, 等. HPLC测定不同产区生何首乌和不同炮制工艺制何首乌中蒽醌类成分含量[J]. 中国药物警戒, 2022, 19(5): 522-526.
- [6] 周峰, 江勋, 彭婷婷. 安神补脑胶囊中制何首乌和淫羊藿的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业, 2021, 30(15): 59-61.
- [7] 方清影, 李慧, 王国华, 等. 对《中华人民共和国药典》2010年版一部何首乌及其饮片质量标准的修订建议[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(12): 849-851.
- [8] 张语凡, 王蕾, 王鑫, 等. 何首乌不同炮制时间与方式的薄层特征图谱鉴别[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(11): 5182-5185.
- [9] 高晓霞, 严寒静, 梁从庆, 等. 何首乌药材的薄层色谱指纹图谱质量评价初步研究[J]. 中药材, 2007, 30(4):

- 407-409.
- [10] 刘美廷,李倩,屈敏红,等. 何首乌与制何首乌的高效薄层色谱指纹图谱研究[J]. 华西药学杂志,2018,33(2):193-196.
- [11] 高晓霞,严寒静,梁从庆. 不同采集地制何首乌薄层色谱指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(5):4-7.
- [12] 何荣和,邹国华,陈丽卿,等. 金凤丸中何首乌薄层鉴别的改进[J]. 海峡药学,2010,22(8):95-96.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:31-32.
- [14] YANG J B, LI W F, LIU Y, et al. Acute toxicity screening of different extractions, components and constituents of *Polygonum multiflorum* Thunb. on zebrafish (*Danio rerio*) embryos *in vivo* [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99: 205-213.
- [15] LI H Y, YANG J B, LI W F, et al. *In vivo* hepatotoxicity screening of different extracts, components, and constituents of *Polygoni multiflori* Thunb. in zebrafish (*Danio rerio*) larvae [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 131:110524.
- [16] WANG Q, WANG Y D, LI Y, et al. Identification and characterization of the structure-activity relationships involved in UGT1A1 inhibition by anthraquinone and dianthrone constituents of *Polygonum multiflorum* [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):17952.

(收稿日期: 2022-01-25 编辑: 田苗)