

**Chemical study of water extract from *Polygonum
multiflorum* Thunb in China**

By

Han Dongqi



Master of Science

2011



**Institute of Chinese Medical Sciences
University of Macau**

Chemical study of water extract from *Polygonum multiflorum* Thunb in China

by

Han Dongqi

A thesis submitted in partial fulfillment of the
requirements for the degree of

Master of Science

Institute of Chinese Medical Sciences
University of Macau



Approved by _____

Supervisor

Date _____

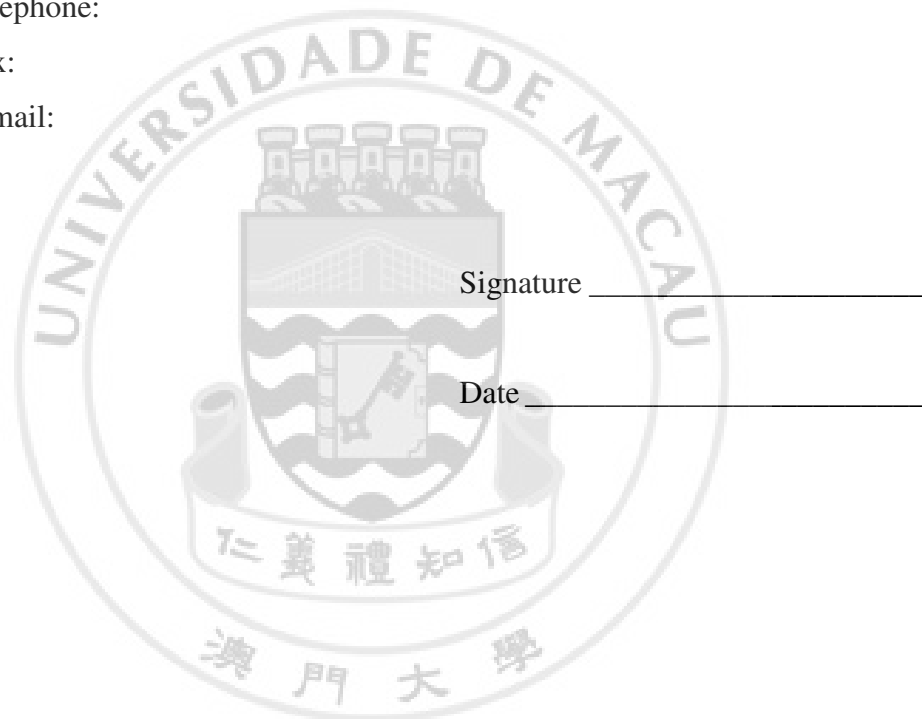
In presenting this thesis in partial fulfillment of the requirements for a Master's degree at the University of Macau, I agree that the Library and the Institute of Chinese Medical Sciences shall make its copies freely available for inspection. However, reproduction of this thesis for any purposes or by any means shall not be allowed without my written permission. Authorization is sought by contacting the author at

Address:

Telephone:

Fax:

E-mail:



碩士學位論文

不同產地何首烏水提物的化學成分研究

研究生姓名：

韓東岐

導師：

李紹平 教授

專業：

中藥學

日期：

2011年06月



澳門大學中華醫藥研究院

摘要

何首烏，蓼科植物何首烏 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的乾燥塊根。近幾年國內外多次出現何首烏的毒副作用報導，有藥理學研究表明有機溶劑提取的何首烏毒性大於水提取首烏的毒性，另有研究水提取何首烏不僅沒有毒性反而對肝臟有保護作用，而大量的研究統計表明目前為止建立的何首烏的分析方法以及質控標準均針對有機溶劑提取液，沒有文章針對水提取何首烏進行分析。所以本課題將結合化學分離以及品質分析兩種手段，對水提取的何首烏主要化學成分進行植化分離並且對主成分含量進行測定。本實驗通過運用多種色譜分離和純化手段對何首烏水提取物進行化學分離並且鑒定得到了 13 個化合物，包括二苯乙烯苷類，蒽醌類和酚酸類三大類化合物。根據化合物的理化性質和波譜資料，化合物為：大黃素甲醚 (Physcion, 1)，大黃素 (Emodin, 2)，6-OH-大黃素 (6-OH-emodin, 3)，大黃素甲醚-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (Physcion-8-O-β-D-glucopyranoside, 4)，大黃素-8-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (Emodin-8-O-β-D-glucopyranoside, 5)，對羥基苯甲酸 (4-Hydroxybenzoic acid, 6)，2,3,5,4'-四羥基二苯乙烯-2-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucopyranoside, 7)，沒食子酸 (Gallic acid, 8)，兒茶素 (Catechine, 9)，表兒茶素 (Epicatechine, 10)，下箴刺桐碱 (Hypaphorine, 11)，原花青素 B1 (Proanthocyanidin B1, 12)，原花青素 B2 (Proanthocyanidin B2, 13) 其中下箴刺桐碱，對羥基苯甲酸以及原花青素 B1, B2 均為首次分離與鑒定。與此同時本實驗建立了快速檢測何首烏水提取物中大極性並且具有藥理活性的 8 個主要化合物的分析方法，發現水提取物中主要化學成分以有生發活性的酚酸和強烈抗氧化活性的二苯乙烯苷類為主，同時運用建立的 HPLC 方法對全國多產地多來源何首烏藥材進行含量測定，對不同部位的何首烏的品質進行研究，並且採用主成分分析，聚類分析，因數分析，判別分析等多種分析手段對結果進行分析總結，對水提取中藥材何首烏的品質評價具有重要意義。

關鍵字：何首烏；水提取；植化分離；含量測定；主成分分析；聚類分析；因數分析；判別分析

Abstract

Radix *Polygonum multiflorum* is one of most commonly used Chinese medicines. Pharmacology research statistics showed that toxicity of ethonalic extract of *He-Shou-Wu* has stronger hepatotoxic activity than its water extract, same result was also found hot water extract of *He-Shou-Wu* did not induce any hepatotoxicity, but had beneficial effects on liver in mice The statistics of research article on analysis showed that the quality control standard of *Polygonum multiflorum* are all according to the extract of organic solvent .In order to search for active compound in the water extracts ,we committed systematic chemical study on Heshouwu. Thirteen compounds were isolated and identified from *Polygonum multiflorum*. Their structures were elucidated as Physcion (1), Emodin (2), 6-OH-emodin (3), Physcion-8-O- β -D-glucopyranoside (4), Emodin-8-O- β -D-glucopyranoside (5), 4-Hydroxybenzoic acid (6), 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene -2-O- β -D-glucopyranoside (7), Gallic acid (8), Catechine (9), Epicatechine (10), Hypaphorine (11), Proanthocyanidin B1 (12), Proanthocyanidin B2 (13). 4-Hydroxybenzoic acid, Hypaphorine, Proanthocyanidin B1 and B2 were first separated and identified from *Polygonum multiflorum*. In this study, an effective high-performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for simultaneous determination of major hydrophilic compounds in the water extracts,too.The validated method was applied to quantitatively analyze 8 major hydrophilic compounds in different parts of Radix *Polygonum multiflorum*, its processed products and some commercial products. Hierarchical clustering analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) factor analysis (FC), Discriminant analysis (DA) were also used for data analysis. It is helpful for pharmacological evaluation and quality control of Radix *Polygonum multiflorum*.

Keywords: *Polygonum multiflorum* Thunb; Water extracts; Chemical study; Quality control; Hierarchical clustering analysis; Principle component analysis; Factor analysis; Discriminant analysis.

目錄

致謝.....	ii
符號說明.....	iii
List of Figures.....	iv
List of Tables.....	v
第一章 概述.....	1
第一節：何首烏水提物主要成分分離.....	17
1. 實驗材料.....	17
2. 提取與分離.....	18
3. 結構鑒定（核磁及質譜圖見附錄）.....	19
第二節：水提取何首烏藥材的主要化學成分 LC-MS 分析.....	24
1. 實驗材料.....	24
2. 實驗方法.....	24
3. 實驗結果.....	25
第三節：不同產地何首烏水提取物中主要成分含量測定.....	28
1. 實驗材料.....	29
2. 實驗方法.....	31
3. 方法學評價.....	33
4. 結果與討論.....	34
第四節：何首烏炮製品水提取物中主要成分含量变化.....	61
1. 炮制背景.....	61
2. 實驗材料.....	63
3. 實驗方法.....	64
4. 結果與討論.....	65
附錄.....	83
1. 十一種化合物物質的核磁譜（氫譜、碳譜）.....	83
2. 十三個化合物的質譜圖.....	95
個人簡介.....	99

致 謝

首先感謝我的導師李紹平教授二年來對我的關心和指導，李紹平教授以他豐富的人生閱歷和寶貴的科研經驗，指導我在研究生的學習和生活中中開拓思路，積極創新，李老師以他紮實的專業知識和嚴謹的治學態度指引我走向科研之路，在整個課題研究中他追求完美，精益求精的科研態度令我銘記在心。

感謝王一濤教授、張慶文博士以及鄭穎博士對我課題以及研究生學習中的無私的關心和幫助，感謝實驗室技術員Leon哥、Sandy姐、阿Wing以及阿喬對我實驗的支持和幫助，感謝質控組實驗組全體老師師兄師姐們對我的鼓勵和協助，感謝我的同學這兩年的陪伴，感謝中華醫藥研究院所有關心我人們！

感謝澳門大學研究生獎學金對我的資助！

最後，感謝我的家人對我默默的支援！



符號說明

縮寫	英文全稱	中文全稱
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色譜
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	核磁共振
TLC	Thin Layer Chromatography	薄層色譜法
MS	Mass spectrometry	質譜
Pre-HPLC	Preparative High Performance Liquid Chromatography	製備高效液相色譜



List of Figures

圖 1	何首烏水提取物分離得到 11 個化合物的結構圖	23
圖 2	化合物 12 (A) 與化合物 13 (B) 的質譜離子圖	25
圖 3	安徽潛山塊根樣品提取液(A)和標準加入法的 HPLC 圖	26
圖 4	化合物 12 和化合物 13 的結構圖	27
圖 5	何首烏水提取中 8 種主要化合物的結構	29
圖 6	樣品混合對照品 (A,B) 和安徽潛山藥材塊根 (C,D), 根莖 (E,F), 藤莖 (G,H) 的 ASE 提取液在 210nm (A, C, E, G) 和 280nm (B, D, F, H) 的 HPLC 圖	33
圖 7	ASE 提取條件優化	36
圖 8	色譜條件優化對比圖	38
圖 9	同來源塊根樣品與根莖樣品主要成分累計棒狀圖	40
圖 10	何首烏樣品特徵峰對應峰 (A) 8 点矫正块根数据 (B) 22 個特徵峰對應編號 (C) 局部放大圖	46
圖 11	公共因數碎石圖	48
圖 12	主成分分析散點圖	50
圖 13	聚類分析結果 (A) 全部特徵峰數據聚類結果 (B) 14 個代表峰數據聚類結果	57
圖 14	聚類分組結果的對照譜圖	58
圖 15	判別分析圖	59
圖 16	何首烏炮製品及市售商品色譜圖	66
圖 17	何首烏 8 個主要峰與炮製時間變化趨勢圖	67
圖 18	公共因數碎石圖	72
圖 19	何首烏栽培生品和炮製樣品主成分分析散點圖	73
圖 20	何首烏栽培生品指標峰對應峰	74
圖 21	聚類分析結果 (A) 全部特徵峰數據聚類結果 (B) 12 個代表峰數據聚類結果	79

List of Tables

表 1 2006-2010 年色譜法檢驗何首烏及其炮製品有效成分的文章	7
表 2 全國不同產地採集何首烏樣品表	30
表 3 8 種化合物混標的標準曲線表	34
表 4 何首烏水提取 8 個主要化合物的加樣回收率表	35
表 5 何首烏水提取物主要化合物含量測定結果 (mg/g)	39
表 6 何首烏樣品 HPLC 色譜圖特徵峰峰面積	42
表 7 特徵值表	47
表 8 主成分因數得分表	48
表 9 公共因數載荷矩陣表	50
表 10 標準化何首烏樣品 HPLC 色譜圖特徵峰峰面積	52
表 11 判別符合率表	61
表 12 何首烏炮製品以及市售商品表	65
表 13 何首烏炮製品及市售商品 8 個主要化合物含量測定結果 (mg/g)	67
表 14 何首烏栽培生品及炮製樣品 HPLC 色譜圖特徵峰峰面積	69
表 15 特徵值表	71
表 16 主成分因數得分表	72
表 17 公共因數載荷矩陣表	73
表 18 標準化何首烏栽培生品及炮製樣品 HPLC 色譜圖特徵峰峰面積	76
表 19 判別符合率表	80

