

# 炆何首乌饮片中蒽醌糖苷类成分变化与减毒效应

丁平平<sup>1</sup>, 易斌<sup>2</sup>, 陈华师<sup>2</sup>, 陈明霞<sup>2,3</sup>, 吕尚<sup>1,4</sup>, 张青<sup>2</sup>, 陈西勇<sup>2</sup>, 饶毅<sup>1,4\*</sup> (1.江西中医药大学, 南昌 330004; 2.江西建昌帮药业有限公司, 江西 抚州 344000; 3.北京斯利安药业有限公司, 北京 100176; 4.中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330000)

**摘要:** 目的 揭示炆法炮制特点, 并从蒽醌糖苷类成分的变化探讨炆何首乌饮片的减毒效果。方法 采用 HPLC 进行何首乌药材、炆何首乌饮片、制何首乌饮片的指纹图谱及含量测定研究, 并通过 SPSS 19.0 软件对含量测定结果进行聚类分析; 同时采用 LC-MS 分析何首乌炆制前后化学成分的变化情况。结果 首次发现何首乌经过炆制会出现大黄素-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、决明酮-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-丙二酰-吡喃葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 4 个蒽醌糖苷类成分的显著性消失。结合制何首乌实验数据, 推测由于制何首乌炮制时间较短, 结合蒽醌只是部分水解成游离蒽醌, 但炆制时间过长, 使得蒽醌糖苷类成分糖苷键断裂, 因此结合蒽醌与总蒽醌的比值从 89.4%减少到 51.9%, 存在化学成分显著性变化。结论 何首乌经炆制, 使得结合蒽醌水解为游离蒽醌, 从而使毒性更低。

**关键词:** 何首乌; 炆何首乌; 制何首乌; 蒽醌糖苷类; 减毒作用

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)09-1180-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20220692

引用本文: 丁平平, 易斌, 陈华师, 等. 炆何首乌饮片中蒽醌糖苷类成分变化与减毒效应[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(9): 1180-1186.

## Changes of Anthraquinone Glycosides and Detoxification Effect in Decoction Pieces of Stewed Polygoni Multiflori Radix

DING Pingping<sup>1</sup>, YI Bin<sup>2</sup>, CHEN Huashi<sup>2</sup>, CHEN Mingxia<sup>2,3</sup>, LYU Shang<sup>1,4</sup>, ZHANG Qing<sup>2</sup>, CHEN Xiyong<sup>2</sup>, RAO Yi<sup>1,4\*</sup> (1.Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2.Jiangxi Jianchangbang Pharmaceutical Co., Ltd., Fuzhou 344000, China; 3.Beijing Scianen Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100176, China; 4.National Engineering Research Center of Solid Preparation Manufacturing Technology of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To reveal the processing characteristics of stewing method and to discuss the detoxification effect of decoction pieces of stewed Polygoni Multiflori Radix from the changes in anthraquinone glycosides. **METHODS** HPLC was used to study the fingerprint and content determination of Polygoni Multiflori Radix, stewed Polygoni Multiflori Radix slices, and Polygoni Multiflori Radix Praeparata slices, and SPSS 19.0 software was used to analyze the content determination results. At the same time, the LC-MS was used to analyze the changes of chemical composition of Polygoni Multiflori Radix before and after stewing. **RESULTS** It was found for the first time that four anthraquinone glycosides, emodin-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside, casio-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside, emodin-8-*O*-malonyl-glucopyranoside and physcion-8-*O*- $\beta$ -D-glucoside, disappeared significantly after stewing Polygoni Multiflori Radix. Combined with the experimental data of Polygoni Multiflori Radix Praeparata, it was speculated that due to the short processing time of Polygoni Multiflori Radix Praeparata, combined anthraquinones was only partially hydrolyzed into free anthraquinones, but the long time of stewing breaks the glycosidic bond of anthraquinone glycosides, so the ratio of combined anthraquinones to total anthraquinones decreased from 89.4% to 51.9%, indicating a significant change in chemical composition. **CONCLUSION** The stewing of Polygoni Multiflori Radix results in the hydrolysis of bound anthraquinone to free anthraquinone, resulting in lower toxicity.

**KEYWORDS:** Polygoni Multiflori Radix; stewed Polygoni Multiflori Radix; Polygoni Multiflori Radix Praeparata; anthraquinone glycosides; detoxification effect

中药何首乌始载于《开宝本草》, 为蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)的干燥块根<sup>[1-2]</sup>, 主要含有蒽醌类、二苯乙烯苷类等活性成分, 具有抗衰老、增强免疫功能等多方面的药

理作用<sup>[3-4]</sup>。据文献报道<sup>[5]</sup>, 何首乌生品含有的结合型蒽醌糖苷类成分含量较高, 会刺激大肠黏膜致泻, 同时还会阻碍有毒物质排出, 使有毒物质聚集在肝脏中, 而产生肝脏毒性。因此, 需要将

基金项目: 江西省中医药管理局科技计划项目(2020B0385)

作者简介: 丁平平, 女, 硕士生 E-mail: 2637057883@qq.com

\*通信作者: 饶毅, 男, 博士, 教授 E-mail: raoyi99@126.com

何首乌进行炮制,来达到减毒的目的。自古以来何首乌的炮制方法就比较多,而现在临床上使用较多的是黑豆汁进行蒸、煮<sup>[1]</sup>。本研究旨在研究江西建昌帮药业有限公司炮制滋补药材的特殊方法—炆法。“炆法”是将净药材加水浸透后,放入炆药罐内,加入清水,移至围灶内,罐周围堆满干糠,点火炆 2~3 d,炆至糠尽灰冷,药熟汁干时,取出,干燥。且经考证,该炮制工艺最早来源于明朝缪希雍的《炮炙大法》,而后由东晋葛洪进行初步改进,现流传至今的炮制工艺是以陶罐为容器,加水慢煮而成<sup>[6-7]</sup>。

近年来,随着中药指纹图谱技术已广泛应用于药材及饮片的质量评价<sup>[8-10]</sup>。本研究选择何首乌生品及不同炮制品各 10 批为研究对象,首先采用 HPLC 测定其指纹图谱,直观地反映化学成分的变化;其次采用 LC-MS 对消失的化学成分进行研究;最后对药材及饮片中游离蒽醌及总蒽醌的含量进行测定,并通过 SPSS 19.0 软件对含量结果进行聚类分析,来对炆何首乌的化学成分变化进行研究,并推测炆何首乌的减毒效果,以期对炆制法进行科学评价。

### 1 仪器与试剂

SHIMADZU LC-20AT 高效液相色谱系统(日本岛津公司);AUW-2200 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器);Triple TOF 5600 高分辨质谱仪、Analyst TF 1.6 和 Peakview 1.2 数据处理系统(美国 Sciex 公司)。

甲醇(分析纯,上海振兴化工一厂有限公司);盐酸、三氯甲烷(分析纯,国药集团);乙腈(色谱纯,美国 TEDIA 公司);磷酸、甲酸(分析纯,阿拉丁试剂公司);水为超纯水;对照品:二苯乙烯苷(批号:20011503;纯度:98.0%)、大黄素(批号:110756-201913;纯度:96.0%)、芦荟大黄素(批号:110795-201710;纯度:99.2%)、大黄酸(批号:110757-201607;纯度:99.3%)、大黄酚(批号:110796-201922;纯度:99.2%)、大黄素甲醚(批号:110758-201817;纯度:99.0%)均由中国食品药品检定研究院提供。

何首乌样品由江西建昌帮药业有限公司提供,经江西中医药大学附小梅教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根,样品信息见表 1。

表 1 何首乌生品及不同炮制品的样品信息

Tab. 1 Sample information of Polygoni Multiflori Radix raw products and different processed products

| 产地   | 何首乌药材编号 | 批号          | 炆何首乌编号 | 批号         | 制何首乌编号 | 批号      |
|------|---------|-------------|--------|------------|--------|---------|
| 广东肇庆 | S1      | Y025-200801 | W1     | 2008001    | Z1     | 2012001 |
|      | S2      | Y025-200802 | W2     | 2008002-03 | Z2     | 2012002 |
|      | S3      | Y025-200803 | W3     | 2008003    | Z3     | 2012003 |
|      | S4      | Y025-200804 | W4     | 2008004    | Z4     | 2012004 |
| 云南曲靖 | S5      | Y025-200805 | W5     | 2008005    | Z5     | 2012005 |
|      | S6      | Y025-200806 | W6     | 2009001    | Z6     | 2012006 |
|      | S7      | Y025-200807 | W7     | 2009002-03 | Z7     | 2012007 |
| 贵州都匀 | S8      | Y025-200808 | W8     | 2009003-03 | Z8     | 2012008 |
|      | S9      | Y025-200809 | W9     | 2009004    | Z9     | 2012009 |
|      | S10     | Y025-200801 | W10    | 2008001    | Z10    | 2012010 |

### 2 方法

#### 2.1 生品及各种炮制品的制备

生何首乌:取何首乌生品,洗净,60℃烘箱鼓风干燥。粉碎,过 60 目筛,备用。

炆何首乌:取净何首乌片,浸透,加黑豆,放入炆药罐内,加入温水,上盖,炆 1~2 d,取出,干燥,筛去黑豆渣;再用黄酒拌匀,待吸尽后,蒸 4~6 h,停火密闭一夜,取出,干燥(每 100 kg 何首乌,用黑豆 10 kg,黄酒 20 kg)<sup>[7]</sup>。

制何首乌:取何首乌片或块,置非铁质的适宜容器内,加黑豆汁和黄酒拌匀,闷润 4~8 h,装入蒸罐内,加水适量,密封,蒸至 18~24 h,中间倒罐 1 次,至汁液被吸尽,内外均呈棕褐色至黑褐色时,取出,干燥[每 100 kg 何首乌片(块),用黑豆 10 kg,黄酒 25 kg]<sup>[1]</sup>。

#### 2.2 指纹图谱及含量测定色谱条件

色谱柱:SHIMADZU Inert Sustain C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm, 5 μm);以乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~35 min, 90%→60%B; 35~55 min, 60%→0%B);流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:30℃;检测波长:270 nm;进样量:10 μL。

#### 2.3 指纹图谱及含量测定对照品溶液制备

精密称取二苯乙烯苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 二苯乙烯苷的溶液,即得。

另精密称取大黄素对照品、大黄素甲醚对照品适量,加甲醇分别制成每 1 mL 含大黄素 80 μL,大黄素甲醚 40 μL 的溶液。分别精密量取上述对照品溶液各 2 mL,混匀,即得(每 1 mL 中含大黄素 16 μL,大黄素甲醚 8 μL)。

## 2.4 指纹图谱供试品溶液制备

取本品粉末(过4号筛)约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定质量,加热回流提取1 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足损失的质量,摇匀,滤过,即得。

## 2.5 蒽醌类含量测定供试品溶液制备<sup>[1]</sup>

按中国药典2020年版一部中何首乌“含量测定”项下方法制备供试品溶液。

## 2.6 指纹图谱方法学考察

**2.6.1 仪器精密度试验** 按“2.4”项下的方法,选择何首乌药材(批号:Y025-200802)、炆何首乌饮片(批号:2008002-03)及制何首乌饮片(批号:2012002)制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续进样6次测定,以二苯乙烯苷为参照峰,计算何首乌药材、炆何首乌饮片及制何首乌饮片共有峰的相对峰面积RSD分别为1.30%,1.08%,1.11%。结果表明,仪器精密度良好。

**2.6.2 稳定性试验** 按“2.4”项下的方法,选择何首乌药材(批号:Y025-200802)、炆何首乌饮片(批号:2008002-03)及制何首乌饮片(批号:2012002)制备供试品溶液,分别在0,2,4,8,12,24 h按“2.2”项下色谱条件进行测定,以二苯乙烯苷为参照峰,计算何首乌药材、炆何首乌饮片及制何首乌饮片共有峰的相对峰面积RSD均<3.00%。结果表明,该供试品溶液在24 h内成分稳定。

**2.6.3 重复性试验** 按“2.4”项下的方法,选择何首乌药材(批号:Y025-200802)、炆何首乌饮片(批号:2008002-03)及制何首乌饮片(批号:2012002)平行制备供试品溶液6份,按“2.2”项下色谱条件进行测定,以二苯乙烯苷为参照峰,计算何首乌药材、炆何首乌饮片及制何首乌饮片共有峰的相对峰面积RSD分别为2.39%,2.86%,2.44%。结果表明,该方法重复性良好。

**2.6.4 耐用性试验** 按“2.4”项下方法,选择何首乌药材(批号:Y025-200802)、炆何首乌饮片(批号:2008002-03)及制何首乌饮片(批号:2012002)进行制备样品溶液,按“2.2”项下色谱条件检测指纹图谱,分别使用不同品牌的色谱仪(SHIMADZU-LC-20AD、WATERS-2695-2996)和色谱柱[SHIMADZU Inert Sustain C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm,5 μm)色谱柱、依利特 Hypersil ODS2(4.6 mm×150 mm,5 μm)色谱柱]之间的耐用性。

计算2种仪器和2根柱子的相似度结果,均>0.95。结果表明,该方法耐用性良好。

## 2.7 UHPLC-Q/TOF MS 研究

**2.7.1 液质分析色谱条件** 色谱柱:Welch Ultimate UHPLC XB-C<sub>18</sub> 反相色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm);以乙腈(A)-0.1%甲酸溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~12.16 min,90%→60%B;12.16~19.10 min,60%→0%B);流速:0.4 mL·min<sup>-1</sup>;进样量:2 μL;柱温:30℃。

**2.7.2 质谱条件** 电喷雾离子源(ESI):质量扫描范围为 $m/z$  50~1 250 Da;TOF MS参数:雾化气温度均为(TEM) 550℃;气帘气(CUR) 35 psi;雾化气(GS1)和辅助气(GS2) 55 psi;数据采集时间20 min;负离子模式:喷雾电压(ISVF) -4 500 V;碰撞能量(CE) -35 eV;碰撞能量叠加(CES) 35±15;去簇电压(DP) 100 V。采用母离子触发的子离子(TOF-MS-IDA-MS/MS)扫描方式,动态背景扣除(DBS)为触发二级的条件。

## 3 结果与分析

### 3.1 指纹图谱结果

采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”对所记录图谱的AIA文件进行分析。药材及饮片分别以S1为参照图谱,对色谱峰进行多点校正和全峰匹配。何首乌药材及制何首乌共得到13个共有峰,炆何首乌饮片共得到9个共有峰。以分离度较好且含量较高的二苯乙烯苷为参照峰,分别来计算何首乌生品及饮片的相似度,相似度结果均>0.99,说明不同批次何首乌生品之间及不同批次的炆何首乌饮片之间化学成分差异不大,色谱图见图1。

从色谱图中可看出,何首乌经过炮制,二苯乙烯苷的峰面积在减小,大黄素及大黄素甲醚的峰面积在增大;同时本研究首次发现,炆何首乌较生何首乌和制何首乌的色谱峰个数显著减少。因此,为探究所消失的化学成分,笔者采用LC-MS技术进行化学分析研究,进一步比较炆何首乌与生何首乌和制何首乌之间的差异。

### 3.2 质谱裂解结果分析

采用UPLC-Q/TOF MS按“2.7.1”项下液质分析色谱条件和“2.7.2”项下质谱条件对何首乌药材中消失的8,9,10,11号色谱峰进行分析辨别,在负离子模式下的碎片离子图及成分分析表,见图2~5及表2。

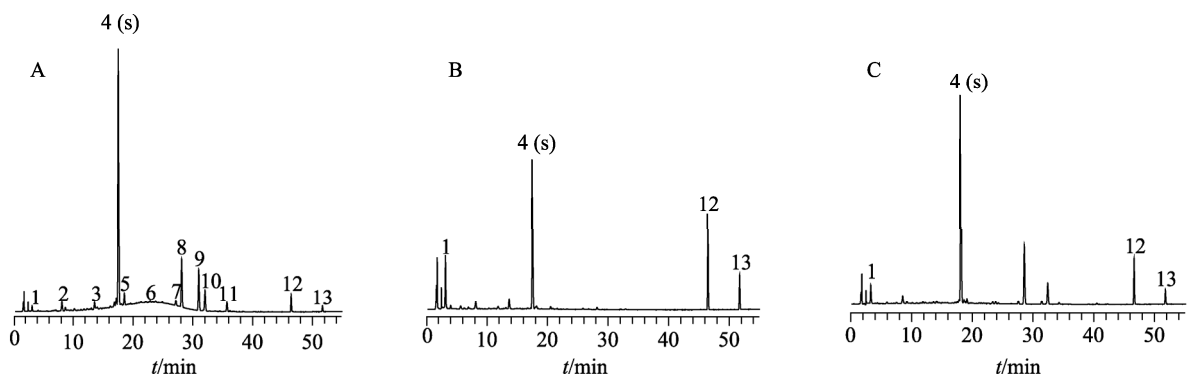


图1 生何首乌及饮片色谱图  
A-何首乌生品; B-炆何首乌; C-制何首乌; 峰1-没食子酸; 峰4-二苯乙烯苷(s); 峰12-大黄素; 峰13-大黄素甲醚。

Fig. 1 Chromatogram of raw and slices of Polygoni Multiflori Radix  
A-raw products of Polygoni Multiflori Radix; B-stewed Polygoni Multiflori Radix; C-Polygoni Multiflori Radix Praeparata; peak 1-gallic acid; peak 4-tetrahydroxy stilbene glycoside(s); peak 12-emodin; peak 13-phycion.

表2 UHPLC-Q/TOF MS 化学成分分析  
Tab. 2 UHPLC-Q/TOF MS chemical composition analysis

| 峰号 | t/min | 名称                 | 分子式                                             | 测量值       | 偏差  | 选择离子               | 主要二级质谱碎片信息                                 |
|----|-------|--------------------|-------------------------------------------------|-----------|-----|--------------------|--------------------------------------------|
| 8  | 9.02  | 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷   | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub> | 431.098 4 | 0.8 | [M-H] <sup>-</sup> | 431.098 4, 269.045 0, 225.055 2            |
| 9  | 9.23  | 决明酮-8-O-β-D-葡萄糖苷   | C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>  | 407.134 8 | 0.9 | [M-H] <sup>-</sup> | 407.134 8, 245.081 8, 230.058 4, 215.034 8 |
| 10 | 10.31 | 大黄素-8-O-丙二酰-吡喃葡萄糖苷 | C <sub>24</sub> H <sub>22</sub> O <sub>13</sub> | 517.098 8 | 4.1 | [M-H] <sup>-</sup> | 517.098 8, 473.110 5, 269.044 7            |
| 11 | 10.81 | 大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷 | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub> | 445.114 0 | 1.5 | [M-H] <sup>-</sup> | 445.114 0, 283.061 9, 240.042 3            |

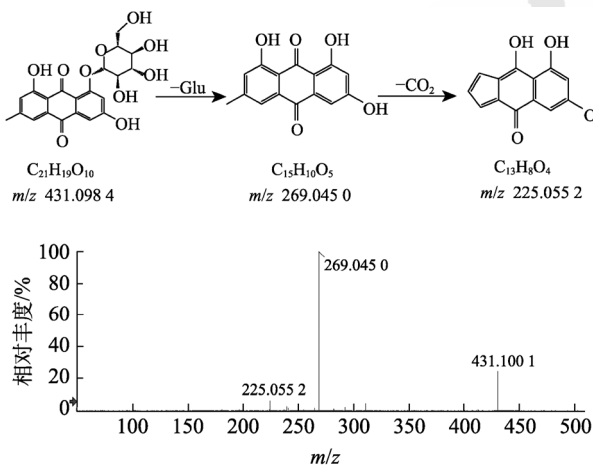


图2 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷的ESI MS/MS图谱及裂解行为  
Fig. 2 ESI MS/MS chromatogram and fragmentation behavior of emodin-8-O-β-D-glucoside

通过软件分析推测, 峰8的准分子离子峰[M-H]<sup>-</sup>为m/z 431.098 37, 主要特征碎片为m/z 269及m/z 225, 是由分子离子峰丢失1分子葡萄糖, 随后再丢失1分子CO<sub>2</sub>产生的特征碎片, 预测其分子式为C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>; 峰9的准分子离子峰[M-H]<sup>-</sup>为m/z 407.134 76, 主要特征碎片为m/z 245、m/z 230以及m/z 215, 是由分子离子峰丢失1分子葡萄糖, 随后分2次各丢失1分子CH<sub>3</sub>产生的特征碎片,

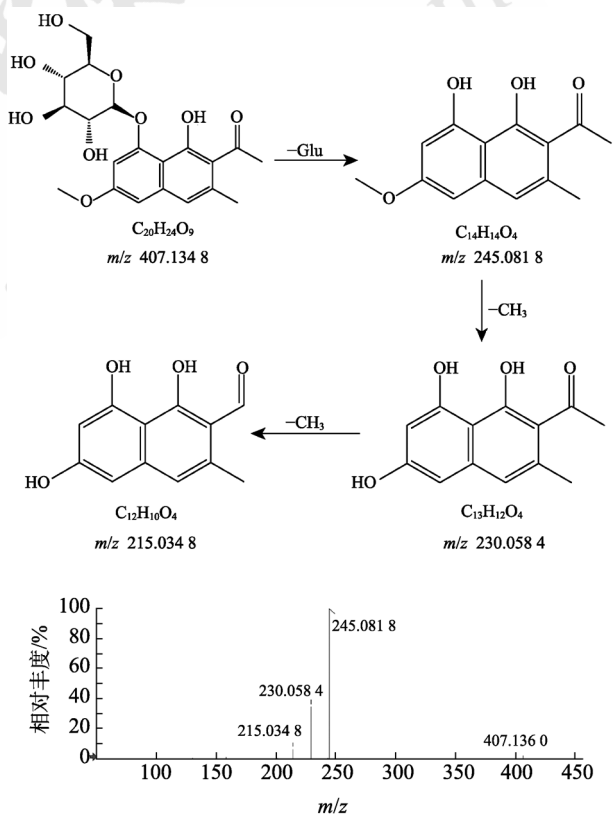


图3 决明酮-8-O-β-D-葡萄糖苷的ESI MS/MS图谱及裂解行为  
Fig. 3 ESI MS/MS chromatogram and fragmentation behavior of casino-8-O-β-D-glucoside

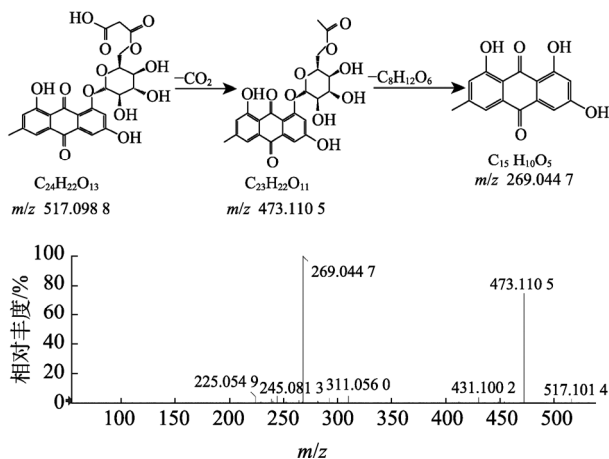


图4 大黄素-8-*O*-丙二酰-吡喃葡萄糖苷的 ESI MS/MS 图谱及裂解行为  
Fig. 4 ESI MS/MS chromatogram and fragmentation behavior of emodin-8-*O*-malonoyl-glucopyranoside

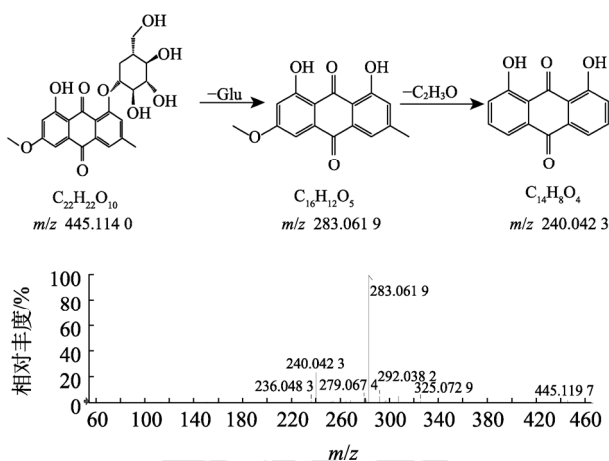


图5 大黄素甲醚-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷的 ESI MS/MS 图谱及裂解行为  
Fig. 5 ESI MS/MS chromatogram and fragmentation behavior of physcion-8-*O*-β-*D*-glucoside

预测其分子式为  $C_{20}H_{24}O_9$ ; 峰 10 的准分子离子峰  $[M-H]^-$  为  $m/z$  517.098 76, 主要特征碎片为  $m/z$  473 及  $m/z$  269, 是由分子离子峰丢失 1 分子  $CO_2$ , 随后再丢失 1 分子葡萄糖和 1 分子  $CH_2CO$  产生的特征碎片, 预测其分子式为  $C_{24}H_{22}O_{13}$ ; 峰 11 的准分子离子峰  $[M-H]^-$  为  $m/z$  445.114 02, 主要特征碎片为  $m/z$  283 及  $m/z$  240, 是由分子离子峰丢失 1 分子葡萄糖, 随后再丢失 1 分子  $C_2H_3O$  产生的特征碎片, 预测其分子式为  $C_{22}H_{22}O_{10}$ 。

结果表明, 本研究发现何首乌经过炮制所减少的 4 个色谱峰分别为大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、决明酮-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-丙二酰-吡喃葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷, 为蒽醌糖苷类成分, 属于结合蒽醌。结合制何首

乌指纹图谱研究, 推测由于制何首乌炮制时间较短, 而结合蒽醌只是部分水解成游离蒽醌, 但炮制时间过长, 使得蒽醌糖苷类成分糖苷键断裂较完全。中国药典 2020 年版一部中何首乌的游离蒽醌以大黄素及大黄素甲醚的总量计, 但因为结合蒽醌水解之后会分解为游离蒽醌、蒽酮、二蒽酮等成分, 导致测定结果并不准确, 需要先测定总蒽醌及游离蒽醌的量, 通过二者的差值计算结合蒽醌的量。因此, 选择同一批次的何首乌药材, 经炮制得到炮何首乌和制何首乌, 对它们的游离蒽醌及总蒽醌的含量测定研究。

### 3.3 何首乌药材及饮片蒽醌类含量测定结果

测定结果显示, 何首乌饮片较何首乌药材总蒽醌含量稍有升高, 主要是何首乌药材在煎煮炮制过程中如多糖等水溶性物质会溶出, 致使炮制后的何首乌质量减轻, 从而按干品计总蒽醌的含量会相对增加。通过对比何首乌药材、炮何首乌、制何首乌中结合蒽醌与总蒽醌的比值表明, 结合蒽醌相对含量大小为何首乌药材>制何首乌>炮何首乌。推测可能是由于炮法炮制时间较制何首乌长, 使得蒽醌糖苷类成分的糖苷键断裂较完全, 从而使结合蒽醌与总蒽醌的比值从 89.4%降低为 51.9%, 结合前期 LC-MS 测定结果表明, 炮何首乌存在 4 个蒽醌糖苷类(结合蒽醌)成分显著消失。文献表明<sup>[3-5]</sup>, 何首乌中主要致肝脏毒性的成分为结合蒽醌, 由此说明炮何首乌较制何首乌可更大程度地降低肝脏毒性。结果见表 3。

表 3 何首乌炮制前后化学成分含量比较

Tab. 3 Comparison of chemical constituents content of Polygoni Multiflori Radix before and after processing %

| 名称    | 批号          | 总蒽醌含量 | 游离蒽醌含量  | 结合蒽醌含量  | 结合蒽醌/总蒽醌 |
|-------|-------------|-------|---------|---------|----------|
| 何首乌药材 | Y025-200807 | 0.427 | 0.045 3 | 0.381 3 | 89.4     |
| 制何首乌  | 2012007     | 0.440 | 0.115 3 | 0.324 7 | 73.8     |
| 炮何首乌  | 2009002-03  | 0.483 | 0.232 4 | 0.250 6 | 51.9     |

注: 总蒽醌含量=结合蒽醌含量+游离蒽醌含量(含量均以大黄素及大黄素甲醚总量计)。

Note: Total anthraquinone content=combined anthraquinone content+free anthraquinone content(calculated based on the total amount of emodin and emodin methyl ether).

### 3.4 何首乌炮制前后统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行系统聚类分析, 以何首乌生品及饮片中游离蒽醌、结合蒽醌及总蒽醌的含量为研究对象。将原始数据经标准化变换后,

采用平方 Euclidean 距离法计算样品间的相似性, 选用组间距离法进行聚类分析, 结果见图 6。可以看出, 何首乌生品 A1-A3 聚为一大类(I 类), 炮制品 W1-Z3 聚为一大类(II 类), 而 II 类中炆法炮制的 W1-W3 可聚为一小类(III 类), 黑豆汁制法炮制的 Z1-Z3 可聚为一小类(IV 类), 说明炆制后何首乌中的蒽醌类成分确实发生了变化, 可进一步说明炆制何首乌的减毒作用。

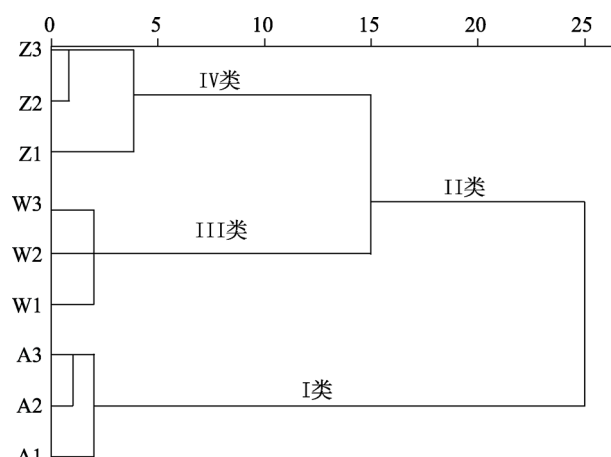


图 6 何首乌生品及饮片蒽醌类含量聚类分析树状图  
A1~A3—何首乌生药材; W1~W3—炆何首乌; Z1~Z3—制何首乌。

Fig. 6 Cluster analysis tree chart of anthraquinones content in raw and slices of Polygoni Multiflori Radix

A1-A3—Raw medicinal herbs of Polygoni Multiflori Radix; W1-W3—stewed Polygoni Multiflori Radix; Z1-Z3—Polygoni Multiflori Radix Praeparata.

#### 4 讨论

近年来, 对何首乌肝毒性的报道越来越多, 其中致泻及肝毒性的成分主要为结合蒽醌。有研究证实, 何首乌中主要的化合物大黄素、大黄素甲醚能显著抑制 L02 细胞中尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(CYP2E1)的 mRNA 的表达, 而且当 CYP2E1 抑制剂与何首乌联合作用于大鼠后, 何首乌产生了明显肝毒性, 说明何首乌肝毒性的发生与 CYP2E1 活性降低有关<sup>[11-12]</sup>; 且大黄素-8-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、大黄素等蒽醌糖苷类成分对 UGT1A1 介导的胆红素代谢产生较强的竞争性抑制作用, 导致胆红素无法转化为水溶性胆红素葡萄糖酸结合物排出体外, 产生了代谢障碍, 从而蓄积于肝脏血液, 就会出现黄疸, 严重者会出现肝毒性反应, 说明此类成分为何首乌中潜在致肝毒性成分<sup>[12-13]</sup>。王焱等<sup>[14]</sup>对何首乌生品及制何首乌的蒽醌类成分进行了含量测定研究, 结果发现炮制后大黄素和大黄素甲醚的含量均升高了, 说明在生

何首乌中以结合形式存在的蒽醌因为炮制时间较长而转化完全为游离蒽醌, 使得饮片蒽醌类含量显著性升高。

根据何首乌生品及饮片的指纹图谱, 本研究首次发现何首乌经过炆制后存在色谱峰的消失。结合 LC-MS 结果发现, 消失的 4 个色谱峰为 4 个蒽醌糖苷类成分, 属于结合蒽醌。而全云云等<sup>[13]</sup>用斑马鱼模型的药理实验证实, 大黄素、大黄素甲醚-8-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷以及大黄素甲醚是何首乌中直接致肝毒性的物质。此外, 针对蒽醌类含量测定结果可得, 结合蒽醌的含量显著性降低, 且炆制品比黑豆汁制品降低得多, 所以炆何首乌对胆红素代谢及有关酶的抑制作用会减弱, 使得有毒物质能从体内排出, 而不会聚集于肝脏内, 从而达到减毒的目的。

从炮制工艺上来看, 由于将何首乌炆制前后所需 1~2 d, 耗时较长, 而黑豆汁制品只需蒸煮几小时, 结合本实验研究, 分析是由于炆制时间较长, 而使得结合蒽醌水解得更完全, 游离蒽醌增加得更多, 导致炆制品中存在蒽醌糖苷类成分显著性减少; 还可能是由于炆制法是将黑豆与生药材共同加入炆药罐中进行炮制, 而黑豆汁制何首乌则是将黑豆汁与生药材拌匀, 再进行蒸制, 这就可能导致何首乌吸收黑豆成分的程度会有差异<sup>[15-16]</sup>, 而产生了蒽醌糖苷类成分的变化。结合上述减毒机制可推测, 何首乌经过炆制会导致结合蒽醌类成分的含量降低, 使得其炆制后的毒性明显降低。

#### REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2020: 175-176.
- [2] HUANG Q W, YI Z, ZHAO W L. Textual research on the legal medicinal plants from Proteaceae to Polygonaceae[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(1): 69-76.
- [3] WANG T, GONG Q F. Progress in study on chemical constituents and pharmacological action of Polygoni Multiflori Radix after being processed[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(2): 220-226.
- [4] ZHANG T, WANG W T, CHEN L. Simultaneous determination of 5 components in Xin'anling capsules by UHPLC-ESI-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(14): 1730-1733.
- [5] 谢咚, 武超, 陆璐, 等. 何首乌肝毒性及其炮制减毒的探讨[J]. 中药材, 2021, 44(3): 736-740.
- [6] LIU J F, WANG H B, ZHANG H, et al. The characteristics of derfferent gangs with traditional Chinese medicine processing[J]. Shaanxi J Tradit Chin Med(陕西中医), 2019,

- 40(7): 964-967.
- [7] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药饮片炮制规范[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008.
- [8] CHEN L, TANG Z S, LIU Y R, et al. Quality control research of *Angelica dahurica* base on UPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31(10): 1697-1703, 1763.
- [9] WANG S S, QU Y, XUE D Q, et al. Study on quality standard improvement of *Pheretima*[J]. China Pharm(中国药房), 2019, 30(17): 2379-2383.
- [10] LIANG X K, LEI J W, GONG H Y, et al. Analysis on fingerprint of *Achyranthis Bidentatae Radix*[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2019, 25(19): 109-116.
- [11] HU Y H, WANG Z J, LI D K, et al. Enhanced hepatotoxicity of extract of *Polygoni Multiflori Radix* after inhibition of CYP2E1 and screening of toxic constituents[J]. Chin J Pharmacovigil(中国药物警戒), 2021, 18(3): 206-212.
- [12] WANG Q, WANG Y D, YANG J B, et al. Study on hepatotoxicity of physcion based on liver metabolism *in vitro*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(11): 2367-2372.
- [13] QUAN Y Y, ZHOU Y M, LIU M C, et al. Hepatotoxic material basis of *Polygoni Multiflori Radix* with Zebrafish model[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae(中国实验方剂学杂志), 2019, 25(6): 52-57.
- [14] 王焱, 侯连莉. 不同产地何首乌及制何首乌药材活性成分含量与性状分析[J]. 卫生职业教育, 2017, 35(17): 101-103.
- [15] WANG F. Study on processing technology and quality evaluation of the pieces of *Polygoni Multiflori Radix*[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2018.
- [16] WANG Y S, ZHU G H, WANG B, et al. Influences of ancient processing method steaming with black bean and drying and pharmacopoeia processing method continuous steaming with black bean decoction on 12 components of *Polygoni Multiflori Radix*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51(19): 4972-4982.
- 收稿日期: 2022-03-02  
(本文责编: 沈倩)