

不同炮制时间对何首乌成分及含量的影响

周忆梦, 赵梦杰, 龚小红, 党 珏, 袁 岸, 李 燕, 李芸霞*

成都中医药大学药学院 教育部中药材标准化重点实验室 中药资源系统
研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137

摘要: 研究何首乌最佳炮制时间及其成分的含量变化特征。采用 HPLC 法测定 6 个不同炮制时间的何首乌对比市售制首乌中各成分的含量, 并采用指纹图谱相似性分析、聚类分析以及 PLS 回归分析对测定结果进行特征分析。结果表明相似度均在 0.9~1.0 之间, 各个样本之间有较好的相关性。聚类分析方法将 6 个不同炮制时间的何首乌按成分变化特征聚为 4 类。PLS 回归分析法得到二苯乙烯苷和白藜芦醇为不同炮制时间的成分含量变化的主要差异成分。4 h 为何首乌最佳炮制时间, 为何首乌的质量控制以及深入研究提供参考依据。

关键词: 何首乌; 炮制时间; 相似性分析; 聚类分析; PLS 回归分析

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.10.021

The Influence of Different Processing Time on Composition and Content of Polygoni Multiflori

ZHOU Yi-meng, ZHAO Meng-jie, GONG Xiao-hong, DANG Jue, YUAN An, LI Yan, LI Yun-xia*

Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; The Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine; State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources Co-founded by Sichuan Province and MOST, Chengdu 611137, China

Abstract: To study the content variation of chemical composition and best processing time for Polygoni Multiflori Radix. The content of Polygoni Multiflori Radix component with 6 different processing times were determined by HPLC and contrasted with market sale system. Fingerprint similarity analysis, cluster analysis and partial least squares regression analysis were adopted to analyze experimental data. The results demonstrated that the similarity was between 0.9 and 1.0, and there was a good correlation between the samples. Based on the composition of basic characteristics, six Polygoni Multiflori Radix samples were divided into 4 classifications by cluster analysis. PLS regression analysis showed that the content of stilbene glucoside and resveratrol had major differences at different processing times. 4h was the best processing time. This study provided reference for quality control and further study of Polygoni Multiflori.

Key words: Polygon multiflora; processing time; similarity analysis; cluster analysis; partial least squares analysis

何首乌为蓼科植物何首乌 (*Polygonum Multiflorum* Thunb.) 的干燥块根, 制首乌为何首乌炮制品, 性微温, 味甘、涩, 归肝、肾经, 具有补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨、化浊降脂等功效, 临床常用于治疗肝肾不足、精血亏虚、须发早白等^[1]。中药炮生为熟引起的药性改变与其内在物质基础的变化有关, 《中华人民共和国药典》(2015 年版) 中规定何首乌

二苯乙烯苷类和蒽醌类成分含量为其质量标准, 然而, 未能够全面反映制首乌质量标准。为建立和完善制何首乌质量评价标准及其炮制时间, 本文联合何首乌药理毒理作用考察了不同炮制时间的何首乌中鞣质类、二苯乙烯苷类、游离蒽醌、结合蒽醌、以及其他主要成分的含量及其变化规律。

1 材料与仪器

1.1 试药与试剂

没食子酸(批号:150226)、原花青素 B1(批号:140628)、儿茶素(批号:141224)、没食子酸酯(批号:140730)、芦荟大黄素-8- β -O 葡萄糖苷(批号:141225)、虎杖苷(批号:141228)、2,3,5,4-二苯乙烯

收稿日期:2017-03-02

接受日期:2017-05-09

基金项目:中国科技部和澳门科学技术发展基金(007/2014/AM J); 开放基金的中药质量研究国家重点实验室(009); 中国国家自然科学基金(81373943, 81373583); 四川青年科学技术基金会(2013JQ0018); 四川省科技厅青年科技创新研究团队项目(2015TD0028, 2016TD0006, 2017TD0001)

* 通信作者 Tel:86-28-61800231; E-mail:lyxcdutcm@126.com

苷(批号:141121)、土大黄苷(批号:141209)、白藜芦醇(批号:150122)、大黄素-8- β -O-葡萄糖苷(批号:141209)、大黄素甲醚-8- β -O-葡萄糖苷(批号:150120)、大黄酚(批号:140325)均购置于成都克洛玛生物有限公司;芦荟大黄素(批号:MUST-10112301)、大黄酸(批号:MUST-11032801)、大黄素(批号:MUST-12022715)、大黄素甲醚(批号:MUST-12022005)均购置于曼斯特生物科技有限公司。纯度:HPLC >98%。无水乙醇(批号:20140928)购置于成都科龙化工有限公司。甲酸、乙腈、水均为色谱级,购于Fisher公司。其他试剂均为分析纯。

1.2 药材

生何首乌药材及黑豆均购置四川省巴中市药材市场,生何首乌药材经成都中医药大学药学研究室裴瑾教授鉴定为蓼科植物 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。

1.3 实验仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪(泵 G1312B, DEACB07224;进样器 G1329B, DEAC25245;柱温箱 G1316A, DEACN27098;紫外检测器 G4212BDEA A307363);KQ-500DB 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);11D 型电子分析天平(Sartorius 公司,德国);BP-2Vortex-Genie 2 涡旋振荡器(Scientific Industries,美国);TG16-WS 型台式高速离心机(湘仪离心机有限公司,中国);隔膜真空泵(天津市津腾实验设备有限公司,中国)。

2 实验方法

2.1 供试品溶液的制备

按照 2015 年版《中国药典》规定,黑豆 1.0 kg, 10 倍量水浸泡 30 h 后,加水煮约 4 h,第二次加 8 倍量水煎煮 3 h,合并煎液浓缩成汁约 1.5 kg,豆渣再加水煮约 3 h,熬汁约 1.0 kg,两次共熬汁约 2.5 kg。

取大小相近的何首乌块,以何首乌:黑豆汁 = 4 : 1 的比例先用黑豆汁拌匀,隔水加热蒸制,分别于 1、2、3、4、5、6 h 取出适量何首乌块,晾晒至干。将炮制前、各时间点炮制品以及同仁堂售制首乌分别打成粗粉备用。

精密称取各粗粉 0.25 g,置具塞三角瓶中,加 20 倍量 50% 乙醇水溶液,浸泡 30 min 后,40 °C 下超声提取 60 min,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液进样。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取对照品没食子酸、原花青素 B₁、儿茶素、没食子酸酯、芦荟大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、虎杖苷、二苯乙烯苷、土大黄苷、白藜芦醇、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素、大黄素甲醚于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,配置成浓度分别为 131、98、185、142、78、125、5400、142、94、750、86、71、81、500、25、88 μ g/mL 的对照品储备液,4 °C 低温保存。

2.3 色谱条件

色谱柱 ZORBAX C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), 预柱 ZORBAX C₁₈ (4.6 mm \times 12.5 mm, 5 μ m);流速 1.0 mL/min,柱温 30 °C,进样量 5 μ L,梯度洗脱 A 为 0.1% 甲酸水,B 为乙腈,0 ~ 5 min,B 为 5 ~ 10%,5 ~ 30 min,B 为 10 ~ 22%,30 ~ 38 min,B 为 22 ~ 25%,38 ~ 48 min,B 为 25 ~ 32%,48 ~ 55 min,B 为 32 ~ 45%,55 ~ 65 min,B 为 40 ~ 85%,65 ~ 70 min,B 为 85 ~ 95%,70 ~ 72 min,B 为 95%。运行时间 72 min。检测波长 λ = 275 nm。

2.4 数据分析

采用国家药典委员会推荐的中药指纹图谱计算机辅助相似度评价软件 A 版进行各个炮制时间样品的相似度分析;用 SPSS21.0 统计软件进行各个炮制时间样品的系统聚类分析;采用 SIMCA-P13.0 进行各个炮制时间样品的主成分分析和偏最小二乘法分析。PCA 是揭示多变量数据或样本之间内在关系的一种方法,旨在利用降维的思想,把多指标转化为几个综合指标,降低观测空间的维数,以获得最主要的信息,通常可以通过少数几个主成分即可最大限度地描述数据特点。PLS-DA 分析是基于偏最小二乘法回归的一种判别方式,在构造因素时考虑到了辅助矩阵以代码的形式提供内成员信息分析为一种非监督类分析,反映数据的原始情况,有利于了解数据的整体情况并对数据从整体上把握,可有效发现并剔除异常样本,当组间差异较大时则难以得出正确结论。PLS-DA 为有监督分析,人为加入分组变量,可以弥补 PCA 方法的不足,强化组间差异^[2]。

3 实验结果

3.1 方法学考察

3.1.1 精密度

按照“2.3”项下色谱条件进行分析。考察日内

精密度的连续3d的日间精密度的测定峰面积并计算各成分的RSD值,见表1。

表1 何首乌各成分的日内以及日间精密度的测定

Table 1 Intra-and inter-day RSD of components in Polygoni Multiflori Radix

成分 Ingredients	浓度 Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	精密度的 Precision (RSD%)		成分 Ingredients	浓度 Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	精密度的 Precision (RSD%)	
		日内 Inter-day RSD	日间 Intra-day RSD			日内 Inter-day RSD	日间 Intra-day RSD
没食子酸 Gallic acid	4.10	1.95	2.31	白藜芦醇 Resveratrol	1.47	2.47	3.02
	18.42	2.13	2.05		24.24	2.32	2.59
	32.75	1.67	1.36		47	2.84	1.77
原花青素 B1 Procyanidins B1	2.41	2.58	4.63	大黄素苷 Emodin-glycosides	7.81	1.89	4.54
	20.45	4.38	3.36		191.40	1.55	2.89
	38.50	1.25	2.56		375	1.87	1.35
儿茶素 Catechin	3.31	2.25	1.25	大黄素甲醚苷 Physcion-glycosides	0.67	4.11	3.22
	47.90	3.65	3.35		21.84	2.33	2.49
	92.50	0.35	1.28		43	1.93	2.68
没食子酸酯 Gallate esters	2.54	3.51	3.89	芦荟大黄素 Aloe-emodin	0.28	4.55	3.56
	19.02	1.35	3.41		4.58	2.44	3.09
	35.5	0.86	2.11		8.88	2.07	2.22
芦荟大黄素苷 Aloe-emodin-glycosides	1.22	5.55	3.48	大黄酸 Rhein	0.20	3.55	4.73
	5.48	3.22	2.94		7.41	4.65	3.76
	9.75	3.39	1.88		14.62	2.44	2.49
虎杖苷 Polidatin	1.95	3.55	2.87	大黄素 Emodin	15.62	1.03	2.56
	16.60	2.36	1.90		132.81	2.31	2.97
	31.25	2.46	1.55		250	1.83	1.85
二苯乙烯苷 Stilbeneglucoside	248	4.33	4.78	大黄酚 Chrysophanol	0.22	4.33	3.56
	2152	1.36	3.89		2.64	3.55	4.03
	4056	2.58	2.45		5.06	2.46	2.06
土大黄苷 Rhaponticin	0.41	4.56	3.56	大黄素甲醚 Physcion	2.75	1.22	2.44
	17.95	3.21	3.01		23.36	2.01	2.68
	35.50	1.67	1.23		44	0.27	1.39

由表1可知,各成分的日内以及日间精密度的RSD%均小于5.00%,方法精密度的良好。

3.1.2 重复性

取同一批生何首乌药材,按照“2.1”项下供试品溶液制备方法制备进样,计算其RSD%,见表2。

3.1.3 稳定性

取同一批生何首乌药材,按照“2.1”项下供试品溶液制备方法制备进样,分别在0、3、6、9、12、24 h进样,计算峰面积RSD%,见表2。

3.1.4 回收率

取已知含量的样品,加入已知浓度的对照品适量,采用 $A\% = \frac{A_{\text{样+标}} - A_{\text{样}}}{A_{\text{标}}} \times 100\%$ 计算公式计算各成分的回收率%,见表2。

由表2可知,何首乌各成分,RSD%值均小于5%,回收率值均在90%~120%之间,表明在该分析方法条件下各成分的重复性高,稳定性好,同时具有较好的回收率。

表2 何首乌各成分的重复性、稳定性以及回收率

Table 2 The repeatability, stability and recovery rate of the main components in Polygoni Multiflori Radix

成分 Ingredients	重复性 Repeatability (RSD%)	稳定性 Stability (RSD%)	回收率 Recovery rate (%)
没食子酸 Gallic acid	3.30	0.99	101.24
原花青素 B ₁ Procyanidins B ₁	3.53	2.36	104.53
儿茶素 Catechin	0.74	2.36	111.65
没食子酸酯 Gallate esters	2.67	2.57	100.87
芦荟大黄素苷 Aloe-emodin-glycosides	4.09	2.39	101.83
虎杖苷 Polidatin	3.43	1.14	100.35
二苯乙烯苷 Stilbeneglucoside	2.79	1.12	107.69
土大黄苷 Rhaponticin	4.20	1.04	106.66
白藜芦醇 Resveratrol	1.97	1.09	101.71
大黄素苷 Emodin -glycosides	0.67	1.66	94.21
大黄素甲醚苷 Physcion-glycosides	2.29	0.66	93.99
芦荟大黄素 Aloe-emodin	3.07	2.01	105.21
大黄酸 Rhein	3.48	1.80	112.83
大黄素 Emodin	0.69	1.66	91.20
大黄酚 Chrysophanol	4.32	1.07	116.25
大黄素甲醚 Physcion	2.70	1.37	105.85

3.1.5 何首乌各成分标准曲线制备 度的标准溶液,按“2.3”项下的液相条件对各成分
将对照品储备液进行梯度稀释,得到一系列浓 度的峰面积进行测定,得到各成分的标准曲线见表3。

表3 何首乌各成分的标准曲线及线性范围

Table 3 The standard curve and linear range of compositions in Polygoni Multiflori Radix

成分 Ingredients	回归方程 Regression equation	R ² Correlation coefficient	线性范围 Linear range (μg/mL)
没食子酸 Gallic acid	$y = 92.84x + 0.05$	0.9998	4.10 ~ 32.75
原花青素 B ₁ Procyanidins B ₁	$y = 12.091x + 4.09$	0.9995	2.41 ~ 38.50
儿茶素 Catechin	$y = 18.74x + 11.36$	0.9997	3.31 ~ 92.50
没食子酸酯 Gallate esters	$y = 79.69x + 34.41$	0.9992	2.54 ~ 35.50
芦荟大黄素苷 Aloe-emodin-glycosides	$y = 31.66x + 4.31$	0.9981	1.22 ~ 9.75
虎杖苷 Polidatin	$y = 43.21x + 21.93$	0.9983	1.95 ~ 31.25
二苯乙烯苷 Stilbeneglucoside	$y = 22.77x + 2462.60$	0.9994	248.00 ~ 4056.00
土大黄苷 Rhaponticin	$y = 34.65x + 9.42$	0.9999	0.41 ~ 35.50
白藜芦醇 Resveratrol	$y = 83.18x + 17.87$	0.9999	1.47 ~ 47.00
大黄素苷 Emodin -glycosides	$y = 79.13x + 2.52$	0.9999	7.81 ~ 375.00
大黄素甲醚苷 Physcion-glycosides	$y = 108.70x - 44.55$	0.9998	0.67 ~ 43.00
芦荟大黄素 Aloe-emodin	$y = 46.95x + 6.67$	0.9999	0.28 ~ 8.88
大黄酸 Rhein	$y = 55.14x + 11.70$	0.9976	0.20 ~ 14.62
大黄素 Emodin	$y = 127.60x - 399.90$	0.9991	15.62 ~ 250.00
大黄酚 Chrysophanol	$y = 66.50x + 18.01$	0.9995	0.22 ~ 5.06
大黄素甲醚 Physcion	$y = 80.50x + 326.30$	0.9995	2.75 ~ 44.00

3.2 何首乌炮制前后成分的变化

取“2.1”项下的生何首乌以及各时间的制首乌样品进行含量测定。每个样品重复测定3次,峰面

积代入标准曲线方程进行计算,得到16种成分的含量,结果见表4。

表4 炮制前以及不同炮制时间何首乌中各成分含量

Table 4 The content of each component in Polygوني Multiflori Radix before processing and with different processing time

成分 Ingredients	炮制 1 h Processed 1 h	炮制 2 h Processed 2 h	炮制 3 h Processed 3 h	炮制 4 h Processed 4 h	炮制 5 h Processed 5 h	炮制 6 h Processed 6 h	生首乌 Polygوني Multiflori Radix
没食子酸 Gallic acid	6.37 ± 1.05	7.27 ± 1.25	9.17 ± 1.78	10.89 ± 0.71	8.03 ± 1.18	6.51 ± 2.12	5.62 ± 1.04
原花青素 B ₁ Procyanidins B ₁	12.31 ± 3.11	11.66 ± 3.30	16.24 ± 5.01	28.24 ± 0.17	13.20 ± 0.69	6.86 ± 0.79	20.04 ± 3.04
儿茶素 Catechin	25.34 ± 0.91	37.59 ± 6.33	56.59 ± 13.43	32.84 ± 5.50	25.84 ± 5.13	24.31 ± 3.53	31.54 ± 4.40
没食子酸酯 Gallate esters	4.78 ± 0.22	6.32 ± 1.71	10.22 ± 2.36	5.69 ± 1.03	5.31 ± 0.84	4.83 ± 1.31	6.48 ± 0.57
芦荟大黄素苷 Aloe-emodin-glycosides	5.34 ± 0.78	4.91 ± 0.05	4.38 ± 0.04	4.25 ± 1.67	3.83 ± 0.88	2.08 ± 0.12	6.48 ± 0.85
虎杖苷 Polidatin	10.55 ± 1.57	13.46 ± 2.50	11.50 ± 3.44	7.50 ± 0.86	7.07 ± 0.54	6.54 ± 0.96	17.37 ± 0.66
二苯乙烯苷 Stilbeneglycoside	2166.15 ± 79.91	2019.04 ± 130.56	2545.33 ± 228.03	2489.29 ± 316.67	2101.59 ± 185.90	2205.22 ± 286.04	2190.43 ± 45.27
土大黄苷 Rhaponticin	4.64 ± 1.45	6.90 ± 0.60	12.37 ± 2.23	5.45 ± 0.22	4.70 ± 1.25	5.09 ± 1.37	4.70 ± 0.15
白藜芦醇 Resveratrol	6.45 ± 2.05	8.57 ± 4.26	22.53 ± 2.40	25.01 ± 4.46	15.30 ± 1.94	8.51 ± 1.11	21.37 ± 6.75
大黄素苷 Emodin-glycosides	146.27 ± 28.13	266.03 ± 42.73	245.24 ± 28.08	169.99 ± 120.91	171.30 ± 25.49	177.99 ± 23.46	151.55 ± 40.80
大黄素甲醚苷 Physcion-glycosides	31.46 ± 5.69	43.98 ± 6.86	48.02 ± 2.28	68.37 ± 12.08	44.11 ± 6.71	43.43 ± 9.74	7.47 ± 0.00
芦荟大黄素 Aloe-emodin	0.73 ± 0.05	0.87 ± 0.36	1.18 ± 0.64	0.60 ± 0.34	0.55 ± 0.08	0.36 ± 0.26	0.87 ± 0.10
大黄酸 Rhein	0.79 ± 0.25	1.19 ± 0.65	1.59 ± 0.73	0.39 ± 0.24	0.14 ± 0.24	0.20 ± 0.19	0.48 ± 0.32
大黄素 Emodin	81.85 ± 15.01	99.98 ± 3.58	160.58 ± 5.49	101.67 ± 9.23	69.01 ± 14.67	57.22 ± 6.95	38.61 ± 0.75
大黄酚 Chrysophanol	0.38 ± 0.06	0.27 ± 0.10	0.26 ± 0.10	0.32 ± 0.01	0.27 ± 0.08	0.28 ± 0.05	0.49 ± 0.04
大黄素甲醚 Physcion	10.10 ± 2.52	29.63 ± 15.50	33.54 ± 0.34	30.99 ± 9.42	46.74 ± 31.36	20.20 ± 5.77	19.94 ± 11.65

3.3 构建对照指纹图谱

取生首乌及各个炮制时间点的何首乌样本进行含量测定后,得到的 HPLC 指纹图谱,经“中药指纹图谱计算机辅助相似度评价软件(2004 A 版)”处理,获得制首乌对照指纹图谱,见图 1,计算机辅助相似度评价报告结果见表 5。

通过中药指纹图谱的评价系统建立起来的对照指纹图谱与样品指纹图谱整体性(保留时间和峰面积)进行相似性比较,从而对中药质量进行评价和控制,从而得出一致性和差异性。如表 5,相似度一

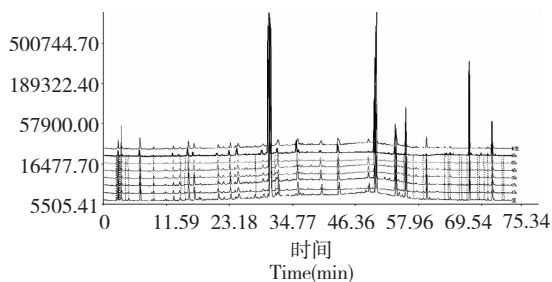


图 1 不同炮制时间的制首乌对照指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of Polygوني Multiflori Radix with different processing times

表5 不同炮制时间的制首乌相似度结果

Table 5 Similarity of Polygoni Multiflori Radix with different processing times

编号 No.	炮制时间 Processed time(h)	相似度 Similarity	编号 No.	炮制时间 Processed time(h)	相似度 Similarity
1	1	0.974	5	5	0.999
2	2	0.984	6	6	0.989
3	3	0.978	7	0	0.996
4	4	0.988			

一般在0.9~1之间认为符合要求。从图1可以大致看出各成分在一定的保留时间误差范围内(0.2 min)的都能与生成的对照指纹图谱有较好的重叠,各炮制时间的何首乌有较好的相似度。

3.4 聚类分析

聚类分析作为一种无管理模式的识别方法,所得结果很大程度上取决于方法所采用的距离、类间距等参数。将各成分以平方欧氏距离为度量准则、以中心质位数(Median clustering)为组群合并准则,用SPSS 21.0统计软件进行系统聚类分析,见图2。

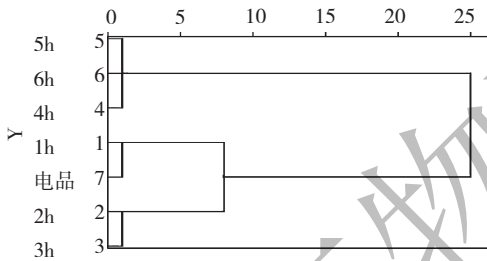


图2 炮制不同时间的何首乌以及生首乌的聚类图

Fig.2 Clustering plot of Polygoni multiflori and Polygoni Multiflori Radix with different processing times

从图2看出,炮制时间为4、5及6h的何首乌可以很好地聚为一类,炮制1h的何首乌和生何首乌可以很好地聚为一类,炮制2h的何首乌和炮制3h的何首乌以很好地聚为一类。这说明,通过何首乌16种成分的聚类分析,可以基本反映不同炮制时间的何首乌成分变化特征。表4结合图2表明,生何首乌随着炮制时间的变化呈先增加后降低的变化趋势,炮制4h后何首乌各成分的含量无明显变化。表示在实验设计的炮制时间6h内,何首乌在炮制4h后成分的变化趋于稳定。

3.5 PLS-DA分析

由图3可知,3、4、6h的样本点可以完全区分,而1、2、5h的样本点难以区分,结合炮制时间的各成分的含量可知,炮制3h和4h时,成分含量升高,

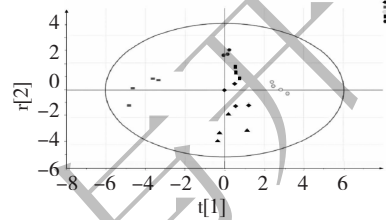


图3 不同炮制时间样品 PLS-DA 得分图

Fig.3 PLS-DA plot of samples with different processing times

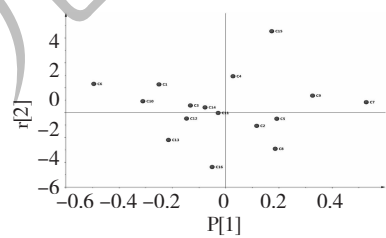


图4 PCA分析成分载荷图

Fig.4 PCA analysis component load diagram

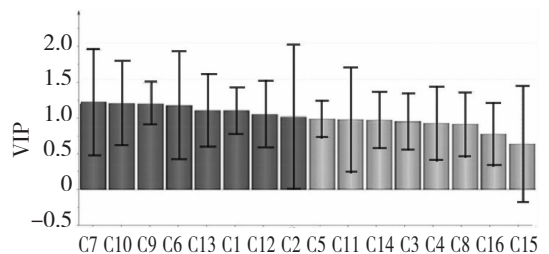


图5 PLS-DA分析模型VIP值图

Fig.5 PLS-DA VIP value analysis plot

注:C1 没食子酸,C2 原花青素 B₁,C3 儿茶素,C4 没食子酸酯,C5 芦荟大黄素苷,C6 虎杖苷,C7 二苯乙烯苷,C8 土大黄苷,C9 白藜芦醇,C10 大黄素苷,C11 大黄素甲醚苷,C12 芦荟大黄素,C13 大黄酸,C14 大黄素,C15 大黄酚,C16 大黄素甲醚

Note:C1 gallic acid,C2 procyanidin B₁,C3 catechin,C4 epigallocatechin gallate,C5 aloin,C6 polydatin,C7 stilbene glycoside,C8 rhapontin,C9 resveratrol,C10 emodin glycoside,C11 Emodin-3-methyl ether,C12 Aloe-emodin,C13 Rhein,C14 emodin,C15 rheic acid,C16 rheochrysidin

随后降低。

PCA 载荷图(图 4)表明理化成分的分布情况,如图 4 所示,C16 大黄素甲醚的含量与炮制呈负相关,而 C7 二苯乙烯苷、C9 白藜芦醇与炮制呈正相关。

由图 4、5 可知,VIP 值可以量化 PLS-DA 的每个变量对分类的贡献,VIP 值越大,变量在何首乌不同炮制时间的差异越显著。由 PLS-DA 分析计算出 VIP 值,发现有 8 个理化成分的 VIP 值 > 1。包括 C7 二苯乙烯苷、C10 大黄素苷、C9 白藜芦醇、C6 虎杖苷、C13 大黄酸、C1 没食子酸、C12 芦荟大黄素、C2 原花青素 B₁ 是对分类作用最重要的 8 个变量。结合 PCA 分析和 PLS-DA 分析得到,C7 二苯乙烯苷和 C9 白藜芦醇对分类作用最重要的 2 个变量成分。

4 结论与讨论

聚类分析结果表明生何首乌随着炮制时间的变化呈先增加后降低的变化趋势,炮制时间 6 h 内,何首乌在炮制 4 h 后成分的变化趋于稳定。结合 PCA 结果 3、4 以及 6 h 的样本点可以完全区分,而 1、2 h 以及 5 h 的样本点难以区分,结合炮制时间的各成分的含量可知,炮制 3 h 和 4 h 时,成分含量升高,随后降低,与聚类分析结果一致。PLS-DA 分析模型 VIP 值图结果表明二苯乙烯苷和白藜芦醇对分类作用最重要的 2 个变量成分。

聚类分析得出的结果可以为制首乌安全性^[3,4]以及炮制何首乌最佳时间提供一定的参考。二苯乙烯苷和白藜芦醇为不同炮制时间的成分含量变化的主要差异成分,其二者作为指标性成分,从而为何首乌的炮制时间的控制、质量控制以及深入研究提供参考依据。

本实验采用《中华人民共和国药典》(2015 年版)中黑豆汁炮制何首乌,其安全性与实用性比高压蒸制^[5]和发酵炮制^[6]要高,可控性更强,使受众更加认可。本实验将相似度分析、主成分分析聚类分析以及 PCA 差异分析相结合,最后得到的拟合数据更加有说服力,为中药的产地归属,饮片含量规格,饮片炮制时间以及成分差异等方面提供新思路。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2015. 164-165.
- 2 Tu C(涂焯), Jiang BQ(蒋冰倩), Zhao YL(赵艳玲), et al. Polygonum Multiflorum thumb damage in rat liver compared before and after processing and sensitive index selection. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2015, 40:654-660.
- 3 Yu J(俞捷), Xie J(谢洁), Zhao RH(赵荣华), et al. Polygonum multiflorum thumb liver adverse reaction progress. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2010, 41:1206-1210.
- 4 Wang JB(王伽伯), Xiao XH(肖小河), Du XX(杜晓曦), et al. Based on conversion of toxicology, liver damage the objective identification and early diagnosis of traditional Chinese medicines. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2104, 39:5-9.
- 5 Liu SQ(刘世琪), Wang L(王磊), Yue L(越亮). Influence of high processing on contents of active ingredients from Polygonum Multiflorum Radix. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19(21):37-40.
- 6 Du CH(杜晨晖), Wang XH(王兴红), Zhao RH(赵荣华), et al. The primary studies on preparation of Polygonum Multiflorum thumb by fermentation method. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2008, 20:540-544.

勘误说明:

本刊 2017 年第 29 卷第 9 期发表的“太子参化学成分研究”一文中基金号,在文章提交时出现错误,现应作者请求,发表勘误校正,文章中基金项目应为“国家自然科学基金(81360635)”,敬请读者谅解,特此更正。