

牡丹根不同部位成分差异性分析

张树蓉¹, 赵宏苏^{1,2}, 欧迎雪¹, 翟宏焱^{3,4}, 吴德玲^{1,2,4,5}, 张村⁶, 张伟^{1,2,4,5*}

¹安徽中医药大学药学院; ²中药饮片制造新技术安徽省重点实验室, 合肥 230012;

³安徽省食品药品检验研究院, 合肥 230051; ⁴国家药品监督管理局中药质量研究与评价重点实验室;

⁵安徽中医药大学国家中医药管理局中药炮制传承基地, 合肥 230012; ⁶中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

摘要:本研究比较了连丹皮、刮丹皮、栓皮、木心、须根这五个牡丹根加工过程中分成的不同部位成分差异, 探究牡丹药用部位的科学性, 评价牡丹根部非药用部位的开发利用的价值。采用超高效液相色谱建立牡丹根不同部位特征图谱, 通过化学计量学进行聚类分析 (hierarchical clustering analysis, HCA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘判别分析 (partial least squares discrimination analysis, PLS-DA) 等模式识别技术对牡丹根不同部位中酚及酚苷组分、单萜及其苷组分、鞣酸组分等类别化学成分进行差异性分析, 筛选的 10 个差异性成分中可指认的 7 个及含量大于 0.1 mg/g 的化学成分作为定量分析指标, 进行成分含量测定。特征图谱结合化学计量学分析表明连丹皮、刮丹皮和须根三者化学成分相似; 木心和栓皮与前三者的化学成分存在明显差异, 木心中化学成分较少, 且含量均较低; 栓皮化学成分最为丰富, 且单萜及其苷类成分占比较大。本研究表明连丹皮、刮丹皮与栓皮等部位在主成分上无显著性差异, 为牡丹皮在产地加工中留栓皮去木心提供依据; 牡丹须根与木心也具有一定药用价值, 可考虑综合开发利用。

关键词:牡丹根; 特征图谱; 含量测定; 化学计量学分析

中图分类号: R284.1; O657.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)2-0250-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.2.009

Analysis on the difference of components in different parts of peony root

ZHANG Shu-rong¹, ZHAO Hong-su^{1,2}, OU Ying-xue¹,
ZHAI Hong-yan^{3,4}, WU De-ling^{1,2,4,5}, ZHANG Cun⁶, ZHANG Wei^{1,2,4,5*}

¹College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine; ²Anhui Province Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces of New Manufacturing Technology, Hefei 230012, China; ³Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China; ⁴NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Traditional Chinese Medicine; ⁵Processing National Chinese Medicine Processing Technology Heritage Base, Hefei 230012, China; ⁶Institute of Chinese Materia Medica China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: This study compared the compositional differences of five peony roots in the processing process: moutan bark, moutan bark removed cork, cork, root core and fibrous root, explores the scientificity of the medicinal parts of peony, and evaluates the value of the development and utilization of the non medicinal parts of the root of peony. The characteristic chromatograms of different parts of peony root were established by ultra-high performance liquid chromatography. The chemical components in different parts of peony root were analyzed by pattern recognition techniques such as hierarchical clustering analysis (HCA), principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) in chemometrics. Seven of the ten differential components selected can be identified and the chemical components with content greater than 0.1 mg/g are used as quantitative analysis indicators for component content determination. The chemical constituents of moutan bark, moutan bark removed cork and fibrous root were similar by characteristic chromatogram and chemometrics analysis; The chemical constituents of the root core and cork were significantly different from the first three. The chemical constituents in the root core

were less and the content was lower; The chemical constituents of cork are the most abundant, and monoterpenes and glycosides account for a large proportion. This study shows that there is no significant difference in the principal components between moutan bark, moutan bark removed cork and cork, which provided a basis for the processing of Moutan Cortex in the producing area to leave cork and remove root core; The fibrous root and root core of peony also have certain medicinal value, which can be considered for comprehensive development and utilization.

Key words: peony root; characteristic chromatogram; content determination; chemometric analysis

毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的药用部位多为其根皮(牡丹皮), 临床应用广泛, 具有清热凉血、活血化癥功效^[1]。现代研究表明, 牡丹中主要化学成分为酚及酚苷类成分代表丹皮酚、单萜及其苷类成分代表芍药苷、鞣酸类成分代表没食子酸等, 其主要药理作用有抗炎、抗菌、中枢抑制、调节免疫、调节心血管系统等^[2-8]。早在南北朝《雷公炮制论》中就记载“凡采牡丹皮根, 日干, 以铜刀劈破去骨。”^[9], 《本草经集注》: “色赤者为好, 用之去心”^[10]中也记载牡丹皮去心加工方法并沿用至今。自宋代《传信适用方》^[11]中记载牡丹皮“去心及粗皮”、《万病回春》^[12]中记载“去皮”开始, 说明临床应用中出现刮去栓皮的牡丹皮, 即现今应用的“粉丹皮”。在《中华人民共和国药典》(2020版一部)中, 收载牡丹皮为连丹皮和刮丹皮两种规格, 且挑选长5~20 cm, 直径在0.5~1.2 cm范围内的根皮入药, 导致牡丹的侧根、须根以及木心、栓皮等部位作为不合格或非药用部位舍弃, 造成极大的资源浪费。在产地及市场调研中发现, 牡丹皮道地产区加工中只抽心不去栓皮, 市场上的刮丹皮多数以外观洁净为其商业目的。因此对牡丹根其他部位的有效成分进行研究, 可一定程度上扩大牡丹根部利用率, 减少资源浪费。

前期研究发现在牡丹不同部位均分布有药效成分^[13-18], 本研究根据加工过程将药用牡丹根分为连丹皮、刮丹皮、栓皮、木心、须根五个部位进行特征图谱研究并结合化学计量学分析不同化学组分在牡丹根加工过程中分成的不同部位中的分布, 对其进行质量的整体性及专属性评价, 为牡丹皮规格等级划分提供科学依据, 非药用部位的开发利用奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY H-CLASS UPLC 超高效液相色谱仪(组成: 四元溶剂管理器、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Empower 2 工作站、真空脱气机等); PALL Cascada II. I 实验室纯水一体化系统(PALL 过滤器北京有限公司); EX125DZHW 十万分

之一天平(奥豪斯仪器(上海)有限公司); WL-100型打粉机(浙江省威力制药机械厂); KQ700DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂与材料

氧化芍药苷(批号: 16021505, 纯度 $\geq 98\%$)、丹皮酚新苷(批号: 100291-86-9, 纯度 $\geq 98\%$)、芍药苷(批号: 0736-200015, 纯度 $\geq 98\%$, 以上购于北京世纪奥科生物技术有限公司)、没食子酸(批号: GZDD-0128, 纯度 $\geq 98\%$, 购于贵州迪大生物科技有限责任公司)、没食子酸甲酯(批号: DST200424-077, 纯度 $\geq 98\%$)、丹皮酚原苷(批号: DST200302-049, 纯度 $\geq 98\%$)、1, 2, 3, 4, 6-O-五没食子酰葡萄糖(批号: DST200518-001, 纯度 $\geq 98\%$)、牡丹皮苷 C(批号: DST200226-065, 纯度 $\geq 98\%$)、苯甲酰氧化芍药苷(批号: DST191210-088, 纯度 $\geq 95\%$)、苯甲酰芍药苷(批号: 20032703, 纯度 $\geq 98\%$, 以上购于成都普菲德生物技术有限公司)、芍药内酯苷(批号: 39011-90-0, 纯度 $\geq 98\%$, 购于上海源叶生物科技有限公司)、1, 2, 3, 6-O-四没食子酰葡萄糖(批号: CFS201901, 纯度 $\geq 98\%$, 购于武汉天植生物技术有限公司); 丹皮酚(由天然药物化学实验室自制, 纯度大于99%)。

乙腈、甲醇(色谱级, 美国 Fisher 公司); 甲酸(色谱级, 美国 Sigma 公司), 其他试剂均为分析级。

1.3 样品来源与分类

牡丹植株采自安徽省芜湖市、铜陵市、亳州市, 经安徽中医药大学方成武教授鉴定原植物为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr.。10 月份采挖根部, 除去地上部分和根部表面泥沙。将牡丹根按照加工过程进行分类。

抽取牡丹根部木心作为木心部位; 剥取的根皮作为连丹皮部位; 将连丹皮表面栓皮刮去, 分别得到栓皮部位和刮丹皮部位(韧皮部); 参照《中国药典》2020 版一部中, 直径小于 0.5 cm 细根即为须根; 收集栓皮、木心、须根、连丹皮、刮丹皮五个部位, 分别晒干, 备用。牡丹根不同部位取材见图 1, 样品具体产地信息见表 1。

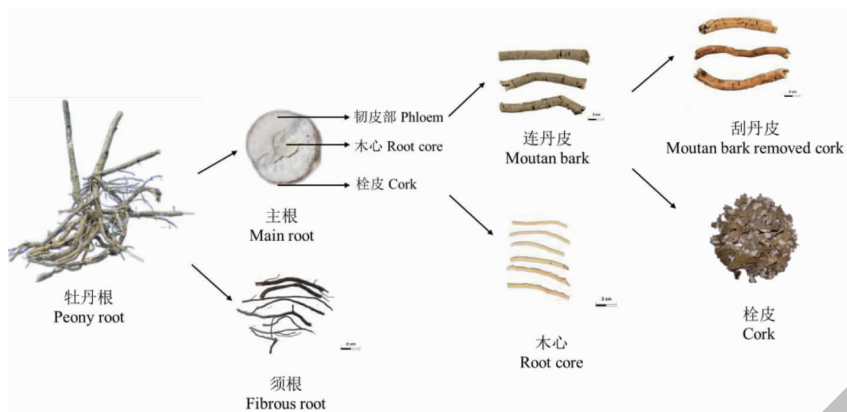


图1 牡丹根各部位示意图

Fig. 1 Schematic diagram of peony root

表1 样品信息来源

Table 1 Sources of samples

来源 Source	连丹皮编号 Moutan bark No.	刮丹皮编号 Moutan bark removed cork No.	木心编号 Root core No.	栓皮编号 Cork No.	须根编号 Fibrous root No.
安徽省芜湖市	MC-1	GD-1	MX-1	SP-1	XG-1
安徽省铜陵市	MC-2	GD-2	MX-2	SP-2	XG-2
安徽省铜陵市	MC-3	GD-3	MX-3	SP-3	XG-3
安徽省亳州市	MC-4	GD-4	MX-4	SP-4	XG-4
安徽省亳州市	MC-5	GD-5	MX-5	SP-5	XG-5
安徽省亳州市	MC-6	GD-6	MX-6	SP-6	XG-6

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备

称取没食子酸、氧化芍药苷、没食子酸甲酯、丹皮酚原苷、丹皮酚新苷、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,6-*O*-四没食子酰葡萄糖、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖、牡丹皮苷 C、苯甲酰氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、丹皮酚对照品适量,精密称定。加 70% 甲醇溶解制成质量浓度分别为 88.2、147、55.5、169.5、212.4、60.6、282.5、71.428、179.1、59.2、54.8、119.6、364.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品储备液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.2 供试品溶液制备

称取表 1 中药材栓皮、木心、须根、连丹皮、刮丹皮粉末(过 4 号筛),每份 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶,精密加入 70% 的甲醇 25 mL,密塞,称定重量,超声处理 30 min(功率 280 W,频率 40 kHz),放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补重,摇匀,离心(4 500 r/min,10 min),取上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液为供试品溶液。

2.3 色谱条件

色谱柱为 Thermo Scientific Synchronis C_{18} (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm),流动相为乙腈(A)和 0.1% 甲酸水溶液(B),柱温:30 $^{\circ}\text{C}$,进样体积:2 μL ,流速:0.2 mL/min,检测波长:246 nm。梯度洗脱程序为 0~1 min,8% \rightarrow 15% A;1~5 min,15% A;5~8 min,15% \rightarrow 18% A;8~15 min,18% \rightarrow 30% A;15~20 min,30% \rightarrow 45% A;20~24 min,45% \rightarrow 95% A;24~24.5 min,95% \rightarrow 8% A;24.5~30 min,8% A。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验

精密称取 MC-5 号粉末,按“2.2”项下制备供试品溶液,按“2.1”项色谱条件重复进样 6 次,测得没食子酸、氧化芍药苷、没食子酸甲酯、丹皮酚原苷、丹皮酚新苷、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,6-*O*-四没食子酰葡萄糖、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖、牡丹皮苷 C、苯甲酰氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、丹皮酚 RSD 值均在 0.48%~2.35%。结果表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验

精密称取 MC-5 号粉末,按“2.2”项下制备供试品溶液,分别在制备后 0、4、8、12、16、20 h 按“2.1”项色谱条件进行色谱分析。测得没食子酸、氧化芍药苷、没食子酸甲酯、丹皮酚原苷、丹皮酚新苷、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,6-*O*-四没食子酰葡萄糖、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖、牡丹皮苷 C、苯甲酰氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、丹皮酚的 RSD 值均在 1.32% ~ 2.73%,表明样品溶液在 20 h 内相对稳定。

2.4.3 重复性试验

精密称取 MC-5 号粉末 6 份,按“2.2”项下制备供试液,按“2.1”项色谱条件依次进样,测得没食子酸、氧化芍药苷、没食子酸甲酯、丹皮酚原苷、丹皮酚新苷、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,6-*O*-四没食子酰葡萄糖、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖、牡丹皮苷 C、苯甲酰氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、丹皮酚含量的 RSD 均在 1.63% ~ 2.90%。表明该方法重复性良好。

2.4.4 加样回收率

精密称取已知含量的样品粉末(MC-5)6份,每份约 0.125 g,另取没食子酸等对照品,用 70% 甲醇制成一定浓度混合对照品溶液。按“2.2”项下制备供试液,按“2.1”项色谱条件依次进样,测得没食子酸、氧化芍药苷、没食子酸甲酯、丹皮酚原苷、丹皮酚新苷、芍药苷、1,2,3,6-*O*-四没食子酰葡萄糖、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖、牡丹皮苷 C、苯甲酰氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、丹皮酚的回收率为 98.73% ~ 101.66%,其 RSD 均在 0.62% ~ 2.89%,表明方法准确度良好。

2.4.5 线性关系考察

精密适量移取各对照品储备液于 5 mL 容量瓶中,70% 甲醇定容至刻度,混匀,即得混合对照品储备液,按 2、5、10、20、50、100 倍稀释,得系列混合对照品溶液。以峰面积(y)为纵坐标,浓度为横坐标(x)绘制标准曲线,进行线性回归,回归方程、相关系数及线性范围见表 2。结果表明,各对照品在各自浓度范围内的线性关系良好。

表 2 13 种对照品的线性回归方程

Table 2 Linear regression equation of 13 reference substance of Cortex Moutan

序号 Number	成分 Component	回归方程 Regression equation	相关系数 r	线性范围 Linear range($\mu\text{g/mL}$)
1	没食子酸 Gallic acid	$y = 9\ 964.8x - 11\ 036$	0.999 0	0.882 ~ 88.2
2	氧化芍药苷 Oxypaeoniflorin	$y = 10\ 460x + 5\ 322.7$	0.999 5	1.470 ~ 147.0
3	没食子酸甲酯 Methyl gallate	$y = 10\ 394x + 1\ 256.4$	0.999 2	0.555 ~ 55.5
4	丹皮酚原苷 Paeonolide	$y = 4\ 180.8x + 2\ 972.4$	0.999 1	1.695 ~ 169.5
5	丹皮酚新苷 Aplopaenosid	$y = 4\ 409.6x + 3\ 184.6$	0.999 1	2.124 ~ 212.4
6	芍药苷内酯苷 Albiflorin	$y = 4\ 649.2x + 400.73$	0.999 2	0.606 ~ 60.6
7	芍药苷 Paeoniflorin	$y = 4\ 663.2x + 5\ 560.3$	0.999 2	2.825 ~ 282.5
8	1,2,3,6- <i>O</i> -四没食子酰葡萄糖 1,2,3,6- <i>O</i> -Tetragalloylglucose	$y = 5\ 695.6x - 10\ 112$	0.999 3	0.714 ~ 71.4
9	1,2,3,4,6- <i>O</i> -五没食子酰葡萄糖 1,2,3,4,6- <i>O</i> -Pentagalloylglucose	$y = 8\ 536.9x + 3\ 048.4$	0.999 8	1.791 ~ 179.1
10	牡丹皮苷 C Mudanpioside C	$y = 12\ 999x + 1\ 734.6$	0.999 3	0.592 ~ 59.2
11	苯甲酰氧化芍药苷 Benzoyloxypaeoniflorin	$y = 13\ 309x + 1\ 947.1$	0.999 2	0.548 ~ 54.8
12	苯甲酰芍药苷 Benzoylpaeoniflorin	$y = 6\ 435.5x + 3\ 389.4$	0.999 1	1.196 ~ 119.6
13	丹皮酚 Paeonol	$y = 6\ 105.2x + 4\ 361.9$	0.999 8	3.645 ~ 364.5

2.5 牡丹根不同部位差异性标志成分挖掘

2.5.1 UPLC 特征图谱的建立及共有峰标定

将各批次牡丹皮样品 UPLC 图谱数据导入到“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012A 版)”,设定(MC-1)为参照图谱,采用中位数法,时间窗的宽度默认为 0.1 min,经过多点校正后将谱峰自动匹

配,生成 30 批牡丹根不同部位 UPLC 特征图谱(见图 2)和对照图谱(见图 3),共标定共有峰 19 个,通过对照品色谱图指认,确定 1 号峰为没食子酸,2 号峰为氧化芍药苷,4 号峰为没食子酸甲酯,5 号峰为丹皮酚原苷,7 号峰为丹皮酚新苷,8 号峰为芍药内酯苷,10 号峰为芍药苷,13 号峰为 1,2,3,6-*O*-四没

食子酰葡萄糖,14号峰为1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖,15号峰为牡丹皮苷C,16号峰为苯甲酰氧

化芍药苷,17号峰为苯甲酰芍药苷,19号峰为丹皮酚。

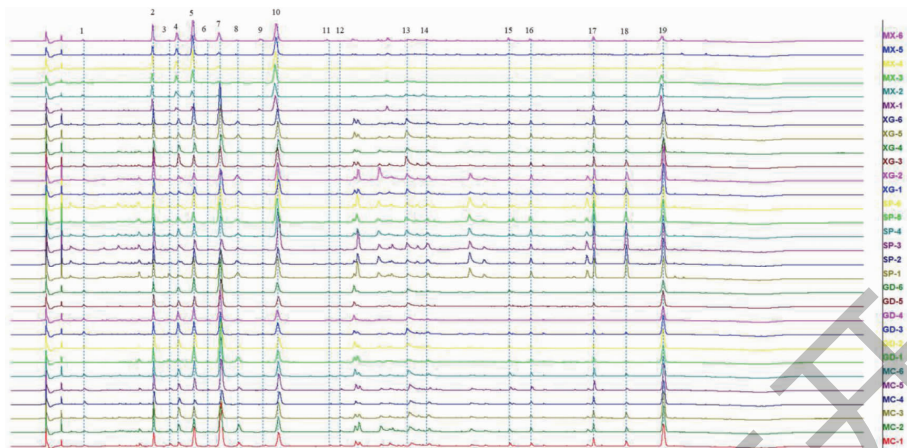


图2 牡丹根不同部位特征图谱

Fig.2 Characteristic map of different parts of peony root

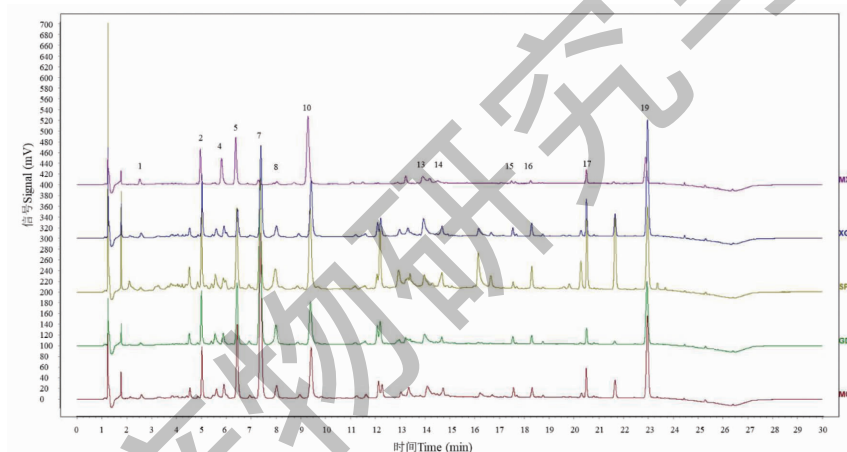


图3 牡丹根不同部位对照图谱

Fig.3 Control map of different parts of peony root

2.5.2 聚类分析(HCA)

以30批牡丹根不同部位样品UPLC特征图谱共有峰面积为变量,运用IBM SPSS Statistics 26.0以平方欧氏距离(Euclidean距离)为区间,采用组间联接法对30批牡丹根不同部位样品进行聚类分析,结果见图4。当分类距离达到15时,可分为3类,其中须根、连丹皮、刮丹皮基本聚为一类,栓皮聚为一类,木心基本聚为一类,说明连丹皮、刮丹皮、须根化学成分及含量无显著性差异,木心和栓皮与连丹皮、刮丹皮等常规药用部位的共有成分含量差异显著,聚类分析可以将牡丹根传统药用部位和非药用部位分开。

2.5.3 主成分分析(PCA)

为验证聚类分析结果,进一步采用PCA进行分

析。将30批牡丹根不同部位样品的19个共有峰峰面积导入SIMCA 14.1软件,以特征值>1,提取出主成分有5个,其累积贡献率为89.62%。通过少数贡献度较大成分,可将30批样本分为三类,其中须根、连丹皮、刮丹皮基本聚为一类,栓皮聚为一类,木心基本聚为一类,见图5。以上与聚类分析结果一致。

2.5.4 偏最小二乘判别分析(PLS-DA)

为筛选30批牡丹根不同部位样品的组内差异成分,将19个共有峰匹配结果导入SIMCA 14.1软件进行PLS-DA分析,变量重要性投影值(variable importance in projection, VIP)结果见图6。由图6可知, VIP值>1的成分有10个,说明这10个成分是牡丹根不同部位主要差异性成分,其中1号峰为没

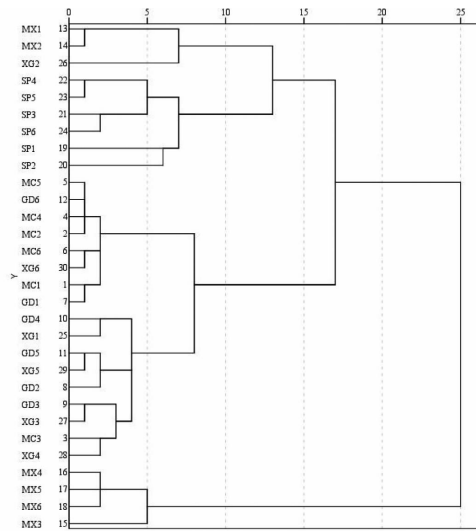


图 4 牡丹根不同部位样品聚类分析结果

Fig. 4 Cluster analysis results of samples from different parts of peony root

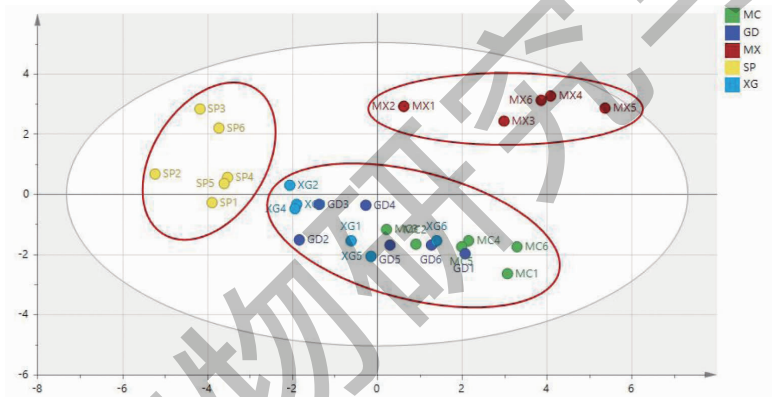


图 5 牡丹根不同部位样品主成分分析结果

Fig. 5 Principal component analysis results of samples from different parts of peony root

食子酸,17号峰为苯甲酰芍药苷,14号峰为1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖,13号峰为1,2,3,6-O-四

没食子酰葡萄糖,10号峰为芍药苷,16号峰为苯甲酰氧化芍药苷,7号峰为丹皮酚新苷。

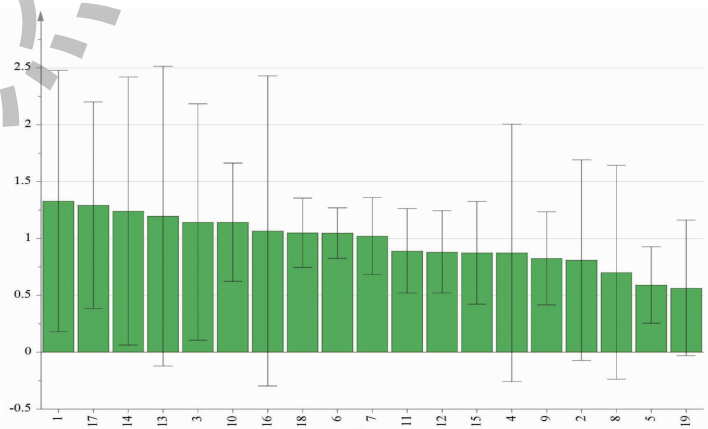


图 6 牡丹根不同部位样品的 PLS-DA 的 VIP 图

Fig. 6 VIP map of PLS-DA of samples from different parts of peony root

2.6 牡丹根不同部位特征性成分分析

为进一步探究牡丹根不同部位化学成分分布规律及富集特征,以上述筛选的 10 个差异性成分中可指认的 7 个差异性成分及含量大于 0.1 mg/g 的化学成分作为定量分析指标,分别为没食子酸、氧化芍药苷、没食子酸甲酯、丹皮酚原苷、丹皮酚新苷、芍药内酯苷、芍药苷、1,2,3,6-*O*-四没食子酰葡萄糖、1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖、牡丹皮苷 C、苯甲酰

氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷、丹皮酚 13 个成分。混合对照品和供试品样品色谱峰见图 7、图 8。将 30 批样品中所测定指标成分的峰面积带入 2.4.5 中性线回归方程计算,得到牡丹根各部位中各成分的含量,其中酚及酚苷类成分含量大致为连丹皮 > 刮丹皮 > 须根 > 栓皮 > 木心,单萜及其苷类成分大致为栓皮 > 连丹皮 > 须根 > 木心 > 刮丹皮,鞣酸类成分大致为须根 > 栓皮 > 连丹皮 > 刮丹皮 > 木心,具体见表 3、图 9。

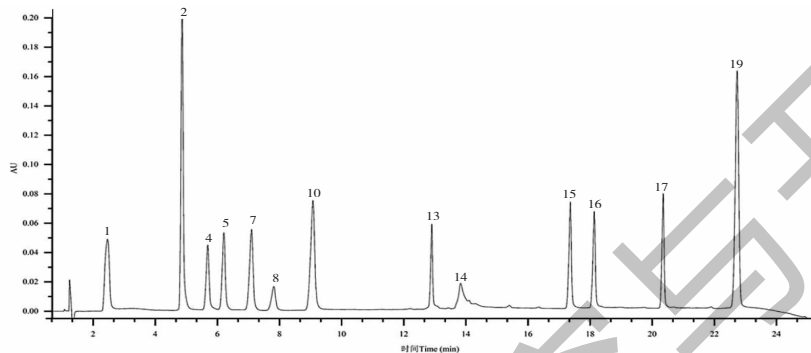


图 7 混合对照品色谱图

Fig. 7 Chromatogram of mixed reference substance

注:1-没食子酸;2-氧化芍药苷;4-没食子酸甲酯;5-丹皮酚原苷;7-丹皮酚新苷;8-芍药内酯苷;10-芍药苷;13-1,2,3,6-*O*-四没食子酰葡萄糖;14-1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖;15-牡丹皮苷 C;16-苯甲酰氧化芍药苷;17-苯甲酰芍药苷;19-丹皮酚。Note: 1-Gallic acid; 2-Oxypaeoniflorin; 4-Methyl gallate; 5-Paeonolide; 7-Aplopaeonoside; 8-Albiflorin; 10-Paeoniflorin; 13-1,2,3,6-*O*-Tetragalloylglucose; 14-1,2,3,4,6-*O*-Pentagalloylglucose; 15-Mudanpioside C; 16-Benzoyloxypaeoniflorin; 17-Benzoylpaeoniflorin; 19-Paeonol.

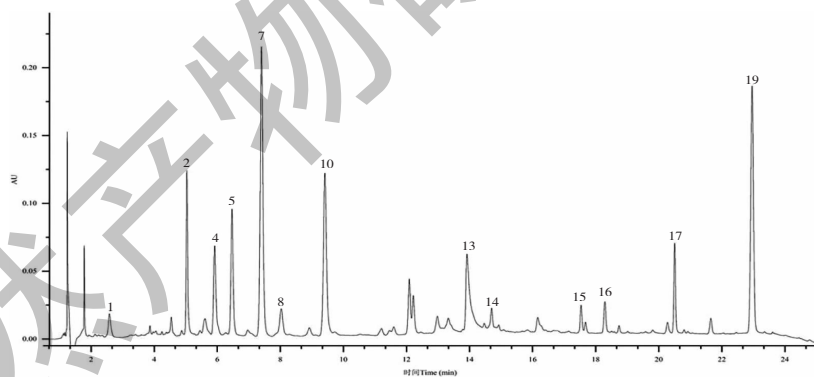


图 8 供试品样品色谱峰

Fig. 8 Chromatographic peaks of the test sample

注:各编号对应的化合物同图 7。Note: The compounds corresponding to each number are the same as Fig 7.

表 3 牡丹根不同部位中各组分含量测定结果

Table 3 Content of components in different parts of peony root (mg/g)

样品 Sample	酚及酚苷组分 Phenols and phenolic glycosides				单萜及其苷组分 Monoterpene and monoterpene glycosides					鞣酸组分 Tannin			
	19	4	5	2	8	10	15	16	17	1	3	13	14
MC-1	15.48	16.99	43.04	3.41	3.99	14.49	0.51	0.71	3.07	0.61	1.76	2.89	1.12
MC-2	18.04	11.87	24.58	5.11	9.55	16.37	0.50	0.89	3.13	0.82	3.27	7.58	1.41
MC-3	18.34	9.76	20.12	4.05	3.07	17.14	0.49	0.63	2.87	1.14	4.48	8.57	2.94

续表 3 (Continued Tab. 3)

样品 Sample	酚及酚苷组分 Phenols and phenolic glycosides			单萜及其苷组分 Monoterpene and monoterpene glycosides						鞣酸组分 Tannin			
	19	4	5	2	8	10	15	16	17	1	3	13	14
	MC-4	17.02	3.77	13.89	3.28	0.84	13.07	0.28	0.66	2.80	1.24	2.55	3.40
MC-5	18.17	10.39	30.14	4.06	2.26	2.57	0.65	0.79	3.67	1.06	2.56	7.61	1.51
MC-6	13.88	13.20	38.32	3.64	2.84	15.45	0.78	0.73	3.05	0.91	2.83	7.79	0.98
GD-1	12.15	14.15	43.21	3.64	7.05	12.47	0.42	0.51	1.67	0.40	1.35	4.58	1.06
GD-2	13.66	12.80	27.49	3.53	1.55	2.31	0.44	0.44	1.31	1.03	3.12	7.52	0.73
GD-3	13.52	10.73	21.38	2.97	1.24	12.35	0.39	0.43	1.65	1.22	4.70	7.62	1.75
GD-4	9.47	10.84	29.57	2.83	1.17	10.64	0.23	0.36	1.12	0.91	3.22	5.66	0.47
GD-5	10.67	8.55	26.45	2.82	1.21	10.93	0.32	0.31	1.16	0.86	2.22	5.50	0.49
GD-6	8.36	12.23	33.59	2.38	0.81	10.28	0.46	0.30	1.25	0.79	2.05	5.03	0.47
MX-1	11.09	3.05	1.27	2.78	0.16	15.96	0.19	0.31	1.91	0.66	1.32	1.06	1.10
MX-2	9.62	4.67	1.18	2.69	0.57	14.10	0.14	0.28	1.77	0.72	2.47	2.78	1.58
MX-3	5.69	10.61	1.12	2.23	0.84	19.32	0.13	0.15	1.41	0.64	2.67	2.68	0.69
MX-4	2.82	16.54	2.45	3.37	0.63	18.04	0.13	0.16	0.82	0.35	2.94	0.59	0.30
MX-5	1.06	16.33	2.10	1.94	0.39	18.46	0.17	0.05	0.51	0.25	2.32	0.52	0.03
MX-6	3.00	19.57	7.44	3.89	0.80	18.06	0.54	0.37	1.59	0.50	3.09	1.83	1.00
SP-1	15.36	18.91	29.20	5.19	8.89	23.81	0.47	1.56	8.03	0.43	1.65	6.09	2.58
SP-2	18.99	13.85	14.13	4.30	9.65	23.85	0.47	1.35	6.74	0.60	2.03	6.12	2.46
SP-3	19.82	10.32	10.48	5.32	3.31	40.63	0.55	2.03	10.56	0.83	2.79	4.60	4.32
SP-4	15.27	11.59	19.58	4.93	4.53	29.80	0.38	1.55	8.97	0.82	3.20	8.16	1.66
SP-5	15.89	9.05	18.81	4.12	1.88	5.75	0.46	1.32	8.88	0.74	2.13	6.48	1.78
SP-6	17.25	14.65	20.74	5.88	5.08	42.92	0.89	2.42	12.26	0.65	2.06	7.93	3.02
XG-1	22.19	6.91	23.44	4.21	4.19	16.01	0.52	0.86	4.01	0.70	1.57	6.91	1.76
XG-2	23.84	6.20	10.44	7.30	7.90	18.41	0.51	1.25	4.58	0.69	2.64	8.38	1.89
XG-3	20.20	9.87	19.62	4.85	1.43	20.16	0.51	0.79	3.58	1.03	5.55	12.19	1.65
XG-4	10.46	8.46	17.20	3.03	1.62	13.73	0.70	0.36	1.16	0.96	2.99	6.53	0.97
XG-5	19.66	11.47	33.39	4.45	4.99	18.13	0.70	1.02	4.32	0.92	2.31	9.46	1.09
XG-6	9.84	17.57	41.52	4.02	4.26	16.57	0.67	0.76	3.50	0.47	2.43	1.31	0.96

注:各编号的对应化合物同图 7。

Note: The compounds corresponding to each number are the same as Fig 7.

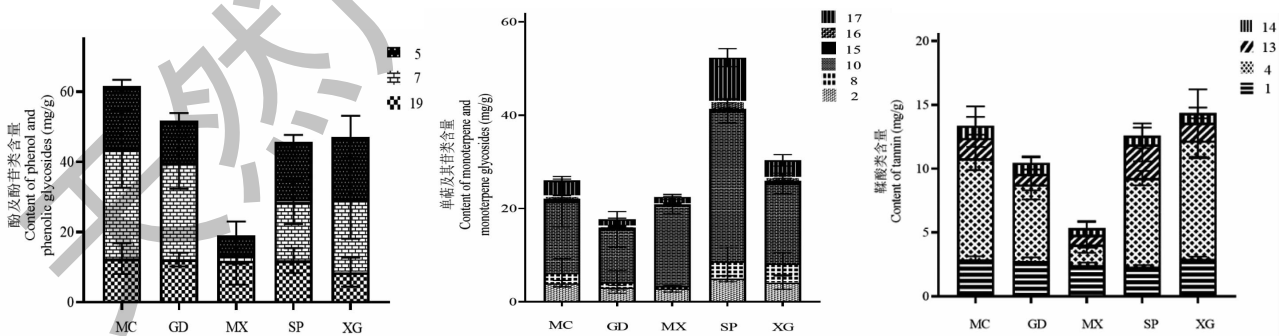


图 9 牡丹根不同部位中各组分含量

Fig. 9 Content of components in different parts of peony root

注:各编号对应的化合物同图 7。Note: The compounds corresponding to each number are the same as Fig 7.

3 讨论与结论

化学成分是中药发挥其传统功效的物质基础,合理选取指标性成分进行中药质量控制与评价研究

是关键步骤。本研究采用特征图谱对牡丹根在加工过程中分成的五个部位的整体化学信息进行采集,结合化学计量学的评价体系筛选 13 个差异性特征

成分进行含量测定,对牡丹皮根不同部位进行客观性质量评价。

通过 UPLC 特征图谱对牡丹根不同部位化学成分进行整体表征,较为全面地比较了连丹皮、刮丹皮、木心、栓皮、须根的化学信息,通过 HCA 和 PCA 分析可以得出连丹皮、刮丹皮、须根三个部位化学成分相似,可聚为一类,木心中化学成分较少,且主要成分如丹皮酚和芍药苷含量偏低,栓皮中化学成分较为丰富。

通过 PLS-DA 筛选了牡丹根不同部位 10 个特征性差异成分,根据对照品指认得没食子酸、丹皮酚原苷、芍药苷、1,2,3,6-O-四没食子酰葡萄糖、1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖、苯甲酰氧化芍药苷、苯甲酰芍药苷等 7 个成分,同时结合含量大于 0.1 mg/g 的功效成分(氧化芍药苷、没食子酸甲酯、丹皮酚新苷、芍药内酯苷、牡丹皮苷 C、丹皮酚)共 13 个成分进行含量测定,以酚及酚苷类、单萜及其苷类、鞣酸类组分等类别化学组分分析牡丹根不同部位化学成分分布规律^[19]。含量测定结果表明牡丹根不同部位化学成分既有相似性又有差异性,造成差异性的原因可能与牡丹生长过程中次生代谢产物的合成与转移有关^[20]。连丹皮中酚及酚苷类、鞣酸类含量与刮丹皮大致相当,但单萜及其苷类组分含量高于刮丹皮,这与伍淳操等^[21]文献报道一致,说明单萜及其苷类组分主要累积在最外栓皮层,史素影等^[22,23]在研究芍药根不同部位发现单萜苷类成分含量分布栓皮层 > 韧皮 > 木质,推测芍药属特征性组分单萜苷类次生代谢累积特征相同。栓皮在连丹皮中所占比重较少,但其所含化学成分丰富,单萜苷类成分含量富集。这说明在临床疗效上,连丹皮可能优于刮丹皮,也提示牡丹皮产地加工时保留栓皮部位更为适宜。

非药用部位木心中有效成分含量比较发现,木心中所测的特征成分含量相对较低,因木心为牡丹根部木质化程度高的部位,去除木心可提高牡丹药用部位有效成分富集,因此,牡丹皮加工过程中去心具有科学性。非药用部位须根中酚及酚苷类、单萜及其苷类、鞣酸类组分含量与连丹皮相当,作为非药用部位舍弃较为可惜,但须根在加工过程中较难与木心完全剥离,且较容易映入灰分部分导致整体产品下降,不易纳入药用部分进行质量控制,可收集须根部位考虑综合资源开发利用。

药用植物体内次生代谢物差异积累是不同基源、产地药材质量差异的核心问题。本研究表明,牡丹根皮是主要功效成分及其次生代谢产物积累的主

要器官,牡丹药用部位为去心的根皮具有科学性,又因栓皮中单萜及其苷类成分含量较高,因此,牡丹产地加工保留栓皮更为合适。非药用部位须根中各组分含量与连丹皮相差不大,但因其直径过细,难与木心剥离,且较难对其进行质量控制,而不宜纳入药用部位,但可考虑加工用于日化、兽药等产业。值得注意的是,单萜及其苷类成分在牡丹根不同部位中差异积累,这可能与牡丹在植物生长中次生代谢产物如何合成并转运至药用部位贮藏有关,需要结合转录组学等分子生药学进一步揭示科学内涵,这对于牡丹皮质量评价具有重要意义。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I(中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 179.
- 2 Zhai CM, Meng XY, Fu JJ, et al. Research progress of peony bark in modern pharmacy[J]. Inf Tradit Chin Med(中医药信息), 2020, 37: 109-114.
- 3 Huang Q, Chen JJ, Pan Y, et al. Chemical profiling and antidiabetic potency of *Paeonia delavayi*: comparison between different parts and constituents[J]. J Pharmaceut Biomed, 2021, 198: 113998.
- 4 Cheng P, Xue X, Su J, et al. ¹H NMR-based metabolomic revealed protective effect of Moutan Cortex charcoal on blood-heat and hemorrhage rats[J]. J Pharmaceut Biomed, 2019, 169: 151-158.
- 5 Vellasamy S, Murugan D, Abas R, et al. Biological activities of paeonol in cardiovascular diseases: a review[J]. Molecules, 2021, 26: 4976.
- 6 Zhang L, Li DG, Liu LF. Paeonol: pharmacological effects and mechanisms of action[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 72: 413-421.
- 7 Park KR, Lee H, Kim SH, et al. Paeoniflorigenone regulates apoptosis, autophagy, and necroptosis to induce anti-cancer bioactivities in human head and neck squamous cell carcinomas[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 288: 115000.
- 8 Bai MM, Liu HN, Wang SS, et al. Dietary Cortex Moutan radices improves serum antioxidant capacity and intestinal immunity and alters colonic microbiota in weaned piglets[J]. Front Nutr, 2021, 8: 679129.
- 9 Lei X. Leigong Treatise on the Preparation(雷公炮炙论)[M]. Shanghai: Shanghai College of Traditional Chinese Medicine Press, 1987: 70.
- 10 Tao HJ. Annotation of Materia Medica(本草经集注)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994: 227.
- 11 Wu YK. Applicable Party for Communication(传信适用方)[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2005: 15.
- 12 Gong TX. Curative Measures for All Diseases(万病回春)

- [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 1998:338,346,347.
- 13 Pan Y, Gao Z, Huang XY, et al. Chemical and biological comparison of different parts of *Paeonia suffruticosa* (Mudan) based on LCMS-IT-TOF and multi-evaluation *in vitro* [J]. *Ind Crop Prod*, 2020, 144: 112028.
 - 14 Zhou G, Lv QH. Studies on content determination and fingerprint of active constituents in different parts of Cortex Moutan [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, 33: 2070-2073.
 - 15 Fan XH, Ma TC, Shen X, et al. UPLC determination of six active components in different parts Moutan Cortex from different habitats [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2012, 34: 317-320.
 - 16 Deng AP. Research of quality evaluation and commercial grades of Cortex Moutan [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University (广东药科大学), 2018.
 - 17 Wang ZQ. Research on quality evaluation and high throughput sequencing based screening of bioactive compounds of Cortex Moutan [D]. Hefei: Anhui Medicine University (安徽医科大学), 2018.
 - 18 Wang RX, Ji NN, Wang HF. Callus culture system and paeonol determination of *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang var. *lishizhenii* B. A. Shen [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32: 1182-1189.
 - 19 Xia YQ, Zhou MM, Li R, et al. Structural characteristics of pharmacodynamical components in genuine Cortex Moutan [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2020, 45: 3351-3359.
 - 20 Xiao CN, Wang P, Ma CX, et al. The distribution of metabolites in different root parts from tree peony [J]. *Chin J Magn Reson* (波谱学杂志), 2015, 32: 648-660.
 - 21 Wu CC, Guo XH, Liu X, et al. Determination of paeonol and paeoniflorin in Mudanpi (Cortex Moutan) traditional commodity specifications, wood heart and teria from Dianjiang by HPLC [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm* (中医药导报), 2020, 26: 25-28.
 - 22 Li B, Ge JY, Liu W, et al. Unveiling spatial metabolome of *Paeonia suffruticosa* and *Paeonia lactiflora* roots using MALDI MS imaging [J]. *New Phytol*, 2021, 231: 892-902.
 - 23 Shi SY, Yu NJ, Peng DY, et al. Study on different parts from root of *Paeonia lactiflora* Pall. by HPLC characteristic chromatogram [J]. *J Yunnan Coll Tradit Chin Med* (云南中医学院学报), 2020, 43: 12-18.
- ~~~~~
- (上接第 318 页)
- 12 Hu JZ, Zhang QC, He CF. Research progress of traditional Chinese medicine in the treatment of advanced prostate cancer [J]. *Chin Pract Med* (中国实用医药), 2020, 15: 189-191.
 - 13 Zhao B, Xiang XL, Wang W, et al. Preparation of flavonoids from sea buckthorn and its inhibitory effect on human prostate cancer PC-3 cells *in vitro* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2018, 30: 27-32.
 - 14 Gai P, Li N, Liu M. Effect of combining traditional chinese medicine with hormonal therapy on quality of life and tumor markers of prostate cancer patients [J]. *Evid-based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 5061867.
 - 15 Gioti K, Papachristodoulou A, Benaki D, et al. *Glycyrrhiza glabra*-enhanced extract and adriamycin antiproliferative effect on PC-3 prostate cancer cells [J]. *Nutr Cancer*, 2020, 72: 320-332.
 - 16 Zhang B, Lai Y, Li Y, et al. Antineoplastic activity of isoliquiritigenin, a chalcone compound, in androgen-independent human prostate cancer cells linked to G2/M cell cycle arrest and cell apoptosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 821: 57-67.
 - 17 Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18: 11-22.
 - 18 Cariaga-Martinez AE, López-Ruiz P, Nombela-Blanco MP, et al. Distinct and specific roles of AKT1 and AKT2 in androgen-sensitive and androgen-independent prostate cancer cells [J]. *Cell Signal*, 2013, 25: 1586-1597.
 - 19 Su B, Zhang L, Zhuang W, et al. Knockout of Akt1/2 suppresses the metastasis of human prostate cancer cells CWR22rv1 *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25: 1546-1553.
 - 20 Pearson HB, Li J, Meniel VS, et al. Pik3ca identification of mutation as a genetic driver of prostate cancer that cooperates with loss to accelerate progression and castration-resistant growth [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8: 764-779.
 - 21 Cham J, Venkateswaran AR, Bhangoo M. Targeting the PI3K-AKT-mTOR pathway in castration resistant prostate cancer: a review article [J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2021, 19: 563. e1-563. e7.
 - 22 Kolinsky MP, Rescigno P, Bianchini D, et al. A phase I dose-escalation study of enzalutamide in combination with the AKT inhibitor AZD5363 (capiwasertib) in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31: 619-625.
 - 23 Pagadala NS, Syed K, Tuszyński J. Software for molecular docking: a review [J]. *Biophys Rev*, 2017, 9: 91-102.
 - 24 Li C, Li T, Zhu M, et al. Pharmacological properties of glabridin (a flavonoid extracted from licorice): A comprehensive review [J]. *J Funct Foods*, 2021, 85: 104638.
 - 25 Khan HY, Zubair H, Ullah MF, et al. A prooxidant mechanism for the anticancer and chemopreventive properties of plant polyphenols [J]. *Curr Drug Targets*, 2012, 13: 1738-1749.