

何首乌药材等级质量标准研究

谢凡¹, 侯文文^{2,3}, 殷颖¹, 宋嫵⁴, 杨莉^{2,3}, 李文艳^{1*}

(1. 上海市浦东新区公利医院, 上海 200135; 2. 上海中医药大学交叉科学研究院, 上海 201203; 3. 上海中医药大学中药研究所, 中药标准化教育部重点实验室, 上海 201203; 4. 上海上药华宇药业有限公司, 上海 200002)

摘要: 目的 通过对何首乌药材多种质控指标的检测和分析, 探索药材与成分指标间的关联性, 为何首乌药材等级质量标准的制定提供参考。**方法** 收集 51 批何首乌药材, 开展外观性状检查、水分、灰分、浸出物的测定, 以及主要成分二苯乙烯苷和结合蒽醌的含量测定, 并根据分析结果构建等级评价标准。**结果** 何首乌药材断面颜色的深浅与二苯乙烯苷、结合蒽醌含量呈显著正相关; 直径大小与二苯乙烯苷含量有正相关性, 而与结合蒽醌含量无相关性; 水分与二苯乙烯苷、结合蒽醌含量之间呈显著正相关; 灰分、浸出物等与其他指标间相关性不强。最终以何首乌主要成分二苯乙烯苷、结合蒽醌含量为等级划分指标, 将何首乌药材分为一级、二级、三级 3 个等级。一级为二苯乙烯苷不得低于 4.0%, 结合蒽醌不得低于 0.3%; 二级为二苯乙烯苷不得低于 3.0%, 结合蒽醌不得低于 0.2%; 三级为二苯乙烯苷不得低于 1.0%, 结合蒽醌不得低于 0.1%。**结论** 建立的何首乌药材等级标准具有一定合理性和可行性, 有利于确保何首乌药材的临床质量与疗效。

关键词: 何首乌; 等级; 质量标准; 二苯乙烯苷; 结合蒽醌

中图分类号: R282

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)06-2054-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.06.053

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 具有解毒、消痈、截疟、润肠通便的功效, 临床用于治疗疮痈、瘰疬、风疹瘙痒、久疟体虚、肠燥便秘等病症^[1], 何首乌主要化学成分为二苯乙烯苷类、蒽醌类、黄酮及其苷类、多糖类等, 其中二苯乙烯苷类和蒽醌类为主要活性成分, 发挥着抗炎、神经保护、抗肿瘤等作用^[2-8]。何首乌有生首乌与制首乌之分, 后者是何首乌药材的加工炮制品^[9], 两者均具有良好的临床疗效^[10-11]。何首乌不仅是多种药物制剂的主要组成部分, 也在保健、化妆等行业中使用, 应用广泛且需求量巨大^[12-13]。但是目前对何首乌药材并没有完善的分级评价标准, 市场上多以个头大小进行区分, 2020 年版《中国药典》也仅以指标性成分含量的高低以“合格”与“不合格”进行质量的区分, 无法满足市场需求。因此, 本研究从何首乌的 6 个主要产区收集了 51 批药材, 对何首乌药材鉴别、检查项进行研究, 依据结果对药材含量测定、水分、灰分及浸出物等内容进行合理规定, 在现行《中国药典》的标准上全面提升了解材质量标准, 为何首乌药材的行业标准制订奠定基础, 对推进中药产业链标准化体系的建设具有示范意义。

1 材料

1.1 药材 本研究收集了 51 批药材, 已由各生产企业初加工成为片状或块状, 并经鉴定人员按照经验分类初步划分为一、二、三 3 个等级。并对 51 批药材样本按照产地编号进行药材等级质量研究, 详见表 1。凭证标本存放于上海中医药大学。

1.2 仪器 电子分析天平 (型号 AE200, 瑞士梅特勒-托利多公司); 恒温水浴锅 (型号 HWS-24, 上海诚献仪器设备有限公司); 数控超声波清洗器、超声仪 (型号 KQ-250 DB、KQ-2500-DB, 昆山市超声仪器有限公司); HPLC 色谱仪 (型号 1260 Infinity, 美国 Agilent 公司); 电子分析天平 [型号 BSA124S-CW, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; Mili-Q 超纯水仪 (型号 Mili-QAdvantageA10, 美国 Milipore 公司)。

1.3 试剂 二苯乙烯苷 (2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷, 批号 13-1004)、大黄素 (批号 05-2004)、大黄素甲醚 (批号 04-2007) 对照品购自上海中药标准化研究中心; 何首乌对照药材 (批号 120934-201410) 购自上海源叶生物科技有限公司。乙醇、甲醇、甲酸等试剂均购

收稿日期: 2022-01-10

基金项目: 国家中医药标准化项目 (ZYBZH-Y-SH-38); 上海市临床药学重点专科建设项目经费资助 (2018); 上海市浦东新区卫生系统领先人才项目 (PWRI2021-11)

作者简介: 谢凡 (1991—), 女, 硕士, 主管药师, 从事中药活性成分与质量标准研究。Tel: (021) 58858730—5296, E-mail: xiefan_5@163.com

* 通信作者: 李文艳 (1971—), 女, 主任药师, 硕士生导师, 从事中药新药和临床药学研究。Tel: (021) 58858730—5160, E-mail: liwenyan_linda@163.com

自国药集团化学试剂有限公司。

2 方法与结果

2.1 外观性状鉴定 本研究采用传统质量评价方法^[14-15]对51批何首乌药材样本进行外观性状的观察研究,包括药材颜色、断面色泽与特点、质地、气味、直径大小等传统

观察指标,结果见表1。并通过SPSS数据分析软件对何首乌样本直径测定结果进行分析处理,记录最小值 S_{\min} 、最大值 S_{\max} 、药材直径的最低限度 P_{20} 、中值等数据。以皮尔森相关系数 r 值,对药材直径测定结果与产地、初步划分的等级进行相关性分析。

表1 何首乌药材外观性状研究结果($\bar{x}\pm s$)

编号	等级	粉性	直径/cm	产地	性状
H1	一级	足	4.06±0.42	四川	断面黄棕色、红棕色;厚片状、圆形;有明显云锦花纹;质地坚实
H2	一级	足	3.90±1.12		
H3	一级	足	3.53±0.46		
H4	二级	足	2.79±0.50		
H5	二级	足	2.92±0.35		
H6	二级	足	3.35±0.62		
H7	三级	足	2.28±0.41		
H8	三级	足	2.53±0.44		
H9	三级	足	2.43±0.42		
H10	二级	较足	3.33±0.43	重庆	断面黄棕色、红棕色;不规则片状;有明显云锦花纹;质地脆、易折断
H11	二级	较足	3.82±1.11		
H12	二级	较足	3.47±0.59		
H13	三级	足	2.65±0.42		
H14	三级	足	2.56±0.47		
H15	三级	足	2.94±0.49		
H16	一级	足	5.79±1.07	湖北	断面黄棕色、红棕色;厚片状、圆形;有明显云锦花纹;质地坚实
H17	一级	足	4.97±0.90		
H18	一级	足	5.03±0.88		
H19	二级	足	3.46±0.42		
H20	二级	足	3.57±0.68		
H21	二级	较足	3.57±0.57		
H22	三级	足	3.27±0.60		
H23	三级	较足	2.80±0.62		
H24	三级	较足	3.03±0.69		
H25	一级	足	3.31±0.70	广东	断面黄棕色、黄白色;不规则片状、纺锤形、长条状较多;有明显云锦花纹;质地脆、易折断
H26	一级	足	3.16±0.81		
H27	一级	足	3.79±0.91		
H28	一级	足	3.79±0.93		
H29	一级	足	3.25±0.50		
H30	二级	足	2.37±0.34		
H31	二级	足	2.37±0.53		
H32	二级	足	2.35±0.42		
H33	二级	足	2.30±0.86		
H34	二级	足	2.21±0.50		
H35	三级	较足	2.37±0.72		
H36	三级	较足	2.51±0.42		
H37	三级	较足	2.04±0.53		
H38	三级	较足	2.89±0.78		
H39	三级	较足	2.44±1.10		
H40	一级	较足	5.84±1.03	贵州	断面黄色、黄棕色;圆形、厚片状;有明显云锦花纹;质地坚实
H41	一级	较足	5.34±0.84		
H42	一级	较足	6.40±1.11		
H43	一级	足	5.18±0.77		
H44	二级	足	4.82±0.42		
H45	二级	足	4.45±0.70		
H46	二级	足	4.61±0.44		
H47	二级	较足	4.97±1.08		
H48	三级	足	2.63±0.66		
H49	三级	较足	3.01±0.50		
H50	三级	较足	3.87±0.55		
H51	三级	足	3.73±0.67		

注: 直径大小采用直尺测量的方法,每批何首乌样本随机选取10片药材进行测量,取3次测量平均值作为每片药材直径测量值。

结果表明,何首乌药材直径大小符合正态分布,介于1.3~8.2 cm之间,平均值为3.49 cm,80%样本直径大于8.2 cm。本研究初步拟定何首乌药材直径大小范围是2.4~

何首乌药材直径大小与初步划分的等级、产地之间的 r 值分别是0.638、0.316,表明药材直径与两者之间均有相关性。药材直径与等级之间相关性较高,目前普遍认为个头大、质量较重即是优质药材。此外,药材直径大小与产地之间也具有一定的相关性,这与地理、气候等环境因素有关,侧面反映中药材道地性的影响。

2.2 水分、灰分、浸出物测定 按照2020年版《中国药典》四部水分测定法(通则0832)第二法(烘干法)、灰分测试法(通则2302)项下总灰分测定法、热浸法(通则2201)对何首乌样本进行水分、灰分、水溶性浸出物进行测定,结果见表2。

表2 何首乌药材水分、灰分、水溶性浸出物及主要成分含量测定结果

编号	初步等级划分	水分/%	灰分/%	浸出物/%	二苯乙烯苷/%	结合蒽醌/%
H1	一级	11.95	3.15	23.45	2.33	0.259
H2	一级	12.11	2.89	26.81	3.41	0.587
H3	一级	12.18	3.07	26.34	4.32	0.325
H4	二级	11.73	2.98	26.24	3.67	0.390
H5	二级	12.09	3.15	27.40	4.24	0.325
H6	二级	11.45	2.34	25.25	5.75	0.320
H7	三级	11.80	2.54	26.30	4.35	0.502
H8	三级	11.51	2.33	27.02	4.36	0.388
H9	三级	11.40	2.42	36.10	5.34	0.580
H10	二级	10.14	2.65	27.31	3.45	0.283
H11	二级	11.07	2.58	22.24	4.24	0.223
H12	二级	10.85	2.71	26.35	4.83	0.223
H13	三级	11.16	3.02	26.19	4.12	0.207
H14	三级	10.95	2.85	23.43	4.41	0.128
H15	三级	10.76	2.67	27.67	4.56	0.233
H16	一级	10.78	2.85	24.68	3.57	0.103
H17	一级	10.23	2.35	25.74	4.20	0.102
H18	一级	10.53	2.68	30.93	4.39	0.099
H19	二级	10.28	2.74	25.36	3.77	0.134
H20	二级	10.55	2.48	21.68	3.11	0.063
H21	二级	10.58	2.90	20.83	3.61	0.112
H22	三级	10.42	2.68	22.31	4.49	0.135
H23	三级	11.05	2.55	22.58	3.75	0.097
H24	三级	11.36	2.36	23.06	3.97	0.113
H25	一级	10.62	2.76	25.05	1.52	0.115
H26	一级	10.19	2.68	26.05	2.53	0.093
H27	一级	10.16	2.79	25.05	1.99	0.133
H28	一级	10.07	3.08	30.15	2.18	0.150
H29	一级	10.42	2.82	26.04	1.51	0.126
H30	二级	10.50	2.91	25.28	1.53	0.121
H31	二级	10.58	2.65	27.92	1.59	0.064
H32	二级	10.40	3.12	28.83	2.14	0.109
H33	二级	10.06	2.96	24.58	2.11	0.110
H34	二级	9.89	2.95	27.70	1.77	0.165
H35	三级	9.80	3.07	25.17	1.84	0.172
H36	三级	9.83	2.99	26.95	2.53	0.127
H37	三级	10.23	3.17	27.96	2.22	0.132
H38	三级	10.57	3.12	26.75	2.23	0.140
H39	三级	10.46	2.85	30.81	1.94	0.118
H40	一级	10.45	3.12	25.65	4.11	0.068
H41	一级	10.12	2.98	29.50	5.51	0.100
H42	一级	10.09	3.03	28.40	4.70	0.148
H43	一级	10.42	3.12	25.65	4.57	0.149
H44	二级	10.23	3.06	24.81	3.75	0.058
H45	二级	10.31	3.15	24.58	3.77	0.084
H46	二级	9.98	2.98	30.46	4.82	0.179
H47	二级	10.25	2.85	35.08	4.80	0.243
H48	三级	10.06	3.15	26.85	3.47	0.056
H49	三级	10.57	3.24	28.15	3.42	0.059
H50	三级	10.26	2.85	26.58	3.99	0.193
H51	三级	10.33	2.94	24.58	4.55	0.154
平均值		10.66	2.85	26.47	3.51	0.182

由此可知,何首乌药材中水分含量平均值为10.66%,与2020年版《中国药典》所规定水分不得高于10%有出入,这与药材在产地初加工方法、运输及贮藏等因素相关。本研究所收集样本水分含量测定结果普遍高于10% (占比92.16%)。因此,根据实验结果初步制定何首乌的水分限度,按平均值上浮15%进行界定,即含水量低于12.0%为合格。何首乌药材中灰分平均值为2.85%,符合2020年版《中国药典》所规定灰分不得高于5.0%的要求,故拟定何首乌药材灰分限度为5.0%。何首乌药材中浸出物含量介于20.83%~36.10%之间,平均值为26.47%,按平均值上浮20%进行界定,即何首乌药材浸出物低于22.0%者为不合格。

2.3 主要成分含量测定 2020年版《中国药典》规定二苯乙烯苷以及结合蒽醌为其指标性成分,作为衡量何首乌药材合格与否的重要指标。本研究按2020年版《中国药典》一部“何首乌”项下方法测定二苯乙烯苷含量,并根据课题组前期研究^[16],利用一测多评含量测定方法测定结合蒽醌含量,结果见表2。

2.4 何首乌药材分级质量研究

2.4.1 相关性分析 本研究对何首乌药材进行了外观性状

观测、常规项检查以及指标性成分含量测定,根据测定结果对各指标进行相关性分析。对51批何首乌药材的颜色进行量化,“2.1”项下结果表明,断面颜色主要是黄白色、黄色、黄棕色以及红棕色,分别以数字1、2、3、4表示。采用SPSS分析软件对药材断面颜色、直径大小、水分、灰分、浸出物、二苯乙烯苷含量、结合蒽醌含量等指标进行相关性分析,以皮尔森相关系数r值表示相关性大小,研究药材性状特点与内在成分间的关联度大小。

如表3所示,何首乌药材断面颜色的深浅与其主要成分二苯乙烯苷、结合蒽醌含量呈显著正相关,表明经验判别时认为药材断面颜色越深,质量越好是有显著意义的;何首乌直径大小与二苯乙烯苷含量呈正相关性,而与结合蒽醌含量无相关性,表明按照个头大小对其分级也具有一定合理性;此外何首乌药材中水分与二苯乙烯苷、结合蒽醌含量之间呈正相关,即在一定限度内药材水分越高,指标性成分含量越高,这可能与药材干燥方法有关,现在多采用烘干法对药材进行干燥,二苯乙烯苷和结合蒽醌均为糖苷类成分,何首乌药材进行长时间或高温烘干时,可能会导致其分解,此外灰分、浸出物等与其他指标间相关性不强。

表3 何首乌药材颜色、大小、常规项与指标成分含量的相关性分析结果

指标	断面颜色	直径	水分	灰分	浸出物	二苯乙烯苷含量	结合蒽醌含量
断面颜色	1	—	—	—	—	—	—
直径	0.107	1	—	—	—	—	—
水分	0.663 **	-0.163	1	—	—	—	—
灰分	-0.482 *	0.114	-0.221	1	—	—	—
浸出物	-0.240	0.045	-0.112	0.088	1	—	—
二苯乙烯苷含量	0.649 **	0.428 **	0.298 *	-0.281 *	0.136	1	—
结合蒽醌含量	0.471 **	-0.193	0.697 **	-0.261	0.299 *	0.342 *	1

注: ** 表示两变量在0.01水平(双侧)上显著相关; * 表示两变量在0.05水平(双侧)上显著相关。

2.4.2 分级质量制定 通过查阅相关文献、整合实验结果、参考相关等级标准研究制定^[1,17-18]等资料,选择以何首乌主要成分二苯乙烯苷、结合蒽醌含量为等级划分指标,将何首乌药材分为一级、二级、三级3个等级,三级为统货,何首乌药材等级质量标准拟定为一级:二苯乙烯苷不得低于4.0%,结合蒽醌不得低于0.3%,无杂质,个头均匀;二级:二苯乙烯苷不得低于3.0%,结合蒽醌不得低于0.2%,无杂质,个头均匀;三级:二苯乙烯苷不得低于1.0%,结合蒽醌不得低于0.1%,无杂质,个头均匀;不合格:二苯乙烯苷含量低于1%或者结合蒽醌含量低于0.1%。当药材指标性成分含量无法同时满足条件时,采用“就低原则”进行等级划分。

以何首乌药材外观性状特征(直径、大小、质地、断面颜色、粉性、云锦花纹等)为基础,按照检测指标要求(水分、总灰分、浸出物)和特征指标成分含量差异,制定了何首乌药材分级要求,根据指标性成分含量测定结果进行等级划分,见图1。

由此可知,所收集的样本中,一级的有6批,占总样本数的12%;二级8批,占总样本数的16%;三级27批,

占总样本的53%;其中有10批药材为不合格。该结果表明,何首乌中结合蒽醌与二苯乙烯苷含量普遍较低,一半以上的样本属于三级;另外不合格样本数量较多,表明样本收集的可能存在质量问题,后续研究可能需要扩大样本进行验证,以此评价该研究分级方法的适用性。

3 讨论

本研究充分调研何首乌药材产地及市场,收集的药材

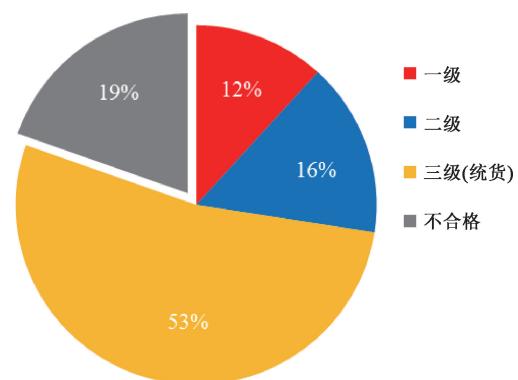


图1 51批何首乌药材样本等级分布

样本来自华中、华南地区6个不同省市，具有一定代表性；并在2020年版《中国药典》基础上，增加了浸出物检查项并规定限度；建立一测多评法测定主要成分的含量，能够较为全面地把控何首乌药材质量。本研究在何首乌外观性状研究中，关于药材直径以及水分测定限度的结果，仍需进一步扩大样本量及实验检测数据进行验证，以期为合理制订标准提供科学依据。

“辨状论质”是中药材的传统分级方法，通常情况下以外形特点及产地为主要指标对药材进行等级区分，然而这种经验判别的质量控制方式缺乏一定的客观性。药材质量好坏往往是由其含有的主要化学成分决定的，以药材功效性成分作为质量评价指标往往更能反映药材的质量。研究表明，采用现代化分析仪器与方法，对药材进行外观特点以及化学成分测定分析，建立科学合理的中药材质量评价体系，对把控药材质量以及中药市场流通具有深远意义。

本研究对何首乌药材等级标准进行研究与制定，系统、全面地评价何首乌质量，有利于何首乌市场流通与开发利用。

参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020年版一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社，2020.
- [2] 倪昌荣, 刘史佳, 卢嘉微, 等. 不同产地制何首乌 HPLC 指纹图谱研究及 5 种成分的含量测定 [J]. 中医药导报, 2020, 26(9): 29-33.
- [3] 李欣, 孟磊, 魏胜利, 等. 不同产地何首乌药材质量及差异研究 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(3): 384-390.
- [4] Zheng Y Y, Li J, Wu J K, et al. Tetrahydroxystilbene glucoside isolated from *Polygonum multiflorum* Thun. demonstrates osteoblast differentiation promoting activity [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 2845-2852.
- [5] 张静娴, 崔艳梅. 中药何首乌的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(17): 3252-3255.
- [6] 袁炜, 高增平, 杨建波, 等. 何首乌化学成分的研究 [J]. 中草药, 2017, 48(4): 631-634.
- [7] 王娅, 闫丽娜, 孙甜甜, 等. 何首乌多糖的结构表征及其免疫调节活性研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2290-2295.
- [8] 王浩, 杨健, 周良云, 等. 何首乌化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13): 192-205.
- [9] 蒲俊安, 张思敏, 刘梦娇, 等. 何首乌九蒸九晒炮制工艺的优化研究 [J]. 中国药房, 2020, 31(22): 2713-2719.
- [10] 刘梦娇, 蒲俊安, 戴冰, 等. 何首乌“九蒸九晒”炮制工艺优选及对 L02 肝细胞生长的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(4): 70-73.
- [11] 王丽. 何首乌炮制后化学成分及药理作用分析 [J]. 中国现代药物应用, 2020, 14(6): 229-231.
- [12] 周明, 费占洋, 赵久丽, 等. 口服何首乌制剂用药前后肝功能变化分析 [J]. 中国药物警戒, 2021, 18(3): 235-239.
- [13] 杨春燕, 叶向锋, 魏金锋, 等. 麒麟丸及其主要成分制何首乌对大鼠的长期肝毒性研究 [J]. 中医药导报, 2021, 27(4): 15-19.
- [14] Zhang M, Yu L M, Zhao H, et al. 2, 3, 5, 4'-Tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside protects murine hearts against ischemia/reperfusion injury by activating Notch1/Hes1 signaling and attenuating endoplasmic reticulum stress [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(3): 317-330.
- [15] 畅洪昇, 鲁艺, 王伟明, 等. 何首乌的抗抑郁作用及其对海马 5HT_{1A}受体表达和神经细胞发生的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(12): 822-825.
- [16] 侯文文, 石燕红, 宋嫌, 等. 一测多评法同步测定何首乌中 4 种蒽醌类成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(1): 133-141.
- [17] 李登科, 李宝赛, 崔宝弟, 等. 何首乌中大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷的分离纯化与体外抗癌活性研究 [J]. 癌变·畸变·突变, 2014, 26(6): 401-406.
- [18] 李春霞. 浅谈中药的传统经验鉴别 [J]. 医学理论与实践, 2013, 26(10): 1380-1381.