

· 专题 ·

何首乌及首乌藤中二蒽酮类成分研究进展<sup>△</sup>杨建波<sup>1</sup>, 汪祺<sup>1a</sup>, 高慧宇<sup>1</sup>, 王雪婷<sup>1</sup>, 宋云飞<sup>1</sup>, 王莹<sup>1</sup>, 程显隆<sup>1</sup>, 魏锋<sup>1\*</sup>, 靳洪涛<sup>2</sup>,  
段宝忠<sup>3</sup>, 马双成<sup>1\*</sup>

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050;

2. 中国医学科学院 药物研究所, 北京 100050;

3. 大理大学 药学院, 云南 大理 671000

**[摘要]** 何首乌和首乌藤分别为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根和藤茎, 具有多种药理活性, 为传统药用植物, 且在我国分布广泛。然而, 近年来关于何首乌及首乌藤所引起的肝损伤风险已经引起了国家药品监督管理局的高度关注。目前, 何首乌和首乌藤的肝毒性成分尚不明确。文献报道何首乌中首次分离得到的二蒽酮类成分具有潜在的肝毒性, 因此从该类成分的提取分离、在线鉴别、毒性评价和含量测定等方面对其进行综述, 为该类成分与何首乌肝毒性的相关性研究提供参考。

**[关键词]** 何首乌; 首乌藤; 二蒽酮类成分; 提取分离; 在线鉴别; 毒性评价

**[中图分类号]** R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2022)08-1431-06

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20220107003

**Dianthrones of *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Caulis*: A Review**YANG Jian-bo<sup>1</sup>, WANG Qi<sup>1a</sup>, GAO Hui-yu<sup>1</sup>, WANG Xue-ting<sup>1</sup>, SONG Yun-fei<sup>1</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>, CHENG Xian-long<sup>1</sup>,  
WEI Feng<sup>1\*</sup>, JIN Hong-tao<sup>2</sup>, DUAN Bao-zhong<sup>3</sup>, MA Shuang-cheng<sup>1\*</sup>

1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China;

2. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China;

3. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

**[Abstract]** *Polygoni Multiflori Radix* and *Polygoni Multiflori Caulis*, the dried root and rattan of *Polygonum multiflorum* Thunb. (Polygonaceae), respectively, have a variety of pharmacological activities and have wide producing areas in China. Now, the risk of liver injury caused by them has been emphasized by National Medical Products Administration in recent years. The hepatotoxic components in them are still unclear so far. According to previous reports, dianthrones which were firstly isolated from *P. multiflorum* showed potential hepatotoxicity. This study reviewed the extraction, separation, online identification, toxicity evaluation, and quantitative analysis of these dianthrones, providing a reference for studying the correlation between these components and hepatotoxicity of *P. multiflorum*.

**[Keywords]** *Polygoni Multiflori Radix*; *Polygoni Multiflori Caulis*; dianthrones; extraction and separation; online identification; toxicity evaluation

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 为著名传统补益类中药, 有生和制何首乌之分, 生何首乌具有解毒、消痈、截疟、润肠通便等功效; 制何首乌具有补肝

肾、益精血、乌须发、强筋骨等功效<sup>[1]183-184</sup>。首乌藤, 别名夜交藤, 为何首乌的干燥藤茎, 秋、冬二季采割, 除去残叶, 捆成把或趁鲜切段, 干燥, 具有养血安神、祛风通络的功效, 可用于治疗失眠多

<sup>△</sup> **[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (81973476)

<sup>\*</sup> **[通信作者]** 魏锋, 研究员, 研究方向: 中药质量标准及安全性评价研究; E-mail: weifeng@nifdc.org.cn

马双成, 研究员, 研究方向: 中药民族药质量标准及安全性评价研究; E-mail: masc@nifdc.org.cn

<sup>a</sup> 并列第一作者

梦、血虚身痛、风湿痹痛和皮肤瘙痒等<sup>[1277-278]</sup>。何首乌和首乌藤均为我国传统中药，其中何首乌为传统中草药的“四大仙草”之一，被广泛应用于治疗乌发及脱发、补肝肾和调血脂的中药制剂和保健食品之中<sup>[2]</sup>。文献报道<sup>[3-12]</sup>，何首乌和首乌藤中主要含有蒽醌类（单核蒽醌和双核蒽醌）、二苯乙烯类、黄酮类和多酚类等成分。但是，近年来关于服用何首乌、首乌藤及其相关制剂所引发的肝损伤不良反应报道较多，已经引起国内外科研人员的高度关注<sup>[13-14]</sup>。

本课题组首次从何首乌中分离得到双核蒽醌，即二蒽酮类成分，药理研究结果显示其也具有一定的肝毒性<sup>[15-17]</sup>，提示其可能与何首乌造成肝损伤有一定的相关性。因此，本文对何首乌及首乌藤中二蒽酮类成分的提取分离、在线鉴别、安全性评价和含量测定等方面进行系统的综述，为该类成分肝毒性的进一步研究提供参考。

## 1 二蒽酮类成分的提取分离

本课题组采用大孔吸附树脂（DM-8型）、十八烷基硅烷键合硅胶（ODS）、Sephadex LH-20、MCI和半制备液相等多种色谱技术，对何首乌70%乙醇提取物进行了系统的分离和纯化，从中首次分离得到14个二蒽酮类成分<sup>[6-8]</sup>，分别为反式-大黄素-大黄素二蒽酮（1）、顺式-大黄素-大黄素二蒽酮（2）、polygonumnolide A<sub>1</sub>（3）、polygonumnolide A<sub>2</sub>（4）、polygonumnolide A<sub>3</sub>（5）、polygonumnolide A<sub>4</sub>（6）、polygonumnolide B<sub>1</sub>（7）、polygonumnolide B<sub>2</sub>（8）、polygonumnolide B<sub>3</sub>（9）、polygonumnolide C<sub>1</sub>（10）、polygonumnolide C<sub>2</sub>（11）、polygonumnolide C<sub>3</sub>（12）、polygonumnolide C<sub>4</sub>（13）和polygonumnolide E（14）。薄瑞<sup>[18]</sup>采用水浴回流提取法对首乌藤中的二蒽酮类成分进行提取，获得70%乙醇提取物；采用D101型大孔吸附树脂法对首乌藤70%乙醇提取物中的二蒽酮进行了选择性富集；利用正、反相硅胶和半制备液相等多种色谱技术对其进行系统的分离和纯化，从中首次分离得到2个二蒽酮苷类成分，分别为PMC-a-1（15）与PMC-a-2（16）。

目前，从何首乌及首乌藤中所分离得到16个二蒽酮类成分主要为大黄素-大黄素型二蒽酮和大黄素-大黄素甲醚型二蒽酮，是通过大黄素的C-10和大黄素甲醚的C-10相互聚合而成，具体结构见图1。

## 2 二蒽酮类成分的在线鉴别

Xu等<sup>[19]</sup>运用高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱质谱法（HPLC-LTQ-Orbitrap MS）对广东肇庆产区何首乌的70%乙醇提取液进行分析，通过一级质谱的准分子离子峰和多级质谱碎片信息推测出28个新的二蒽酮苷类成分，其苷元为大黄素（10→10'）大黄素型二蒽酮（I）和大黄素（10→10'）大黄素甲醚型二蒽酮（II），其中取代基主要为甲氧基、葡萄糖苷和丙二酰基化的葡萄糖苷等。Yang等<sup>[20]</sup>通过70%乙醇提取、DM-8型大孔吸附树脂纯化和Sephadex LH-20凝胶柱色谱富集等方法富集得到何首乌中微量成分二蒽酮类成分，并进一步运用高效液相色谱-紫外检测器-傅里叶变换离子回旋共振质谱法（HPLC-UV-FTICR-MS）对该组分和分离得到的7个二蒽酮对照品顺式-大黄素-大黄素二蒽酮（2）、polygonumnolide A<sub>1</sub>（3）、polygonumnolide A<sub>2</sub>（4）、polygonumnolide B<sub>1</sub>（7）、polygonumnolide C<sub>2</sub>（11）、polygonumnolide C<sub>3</sub>（12）和polygonumnolide E（14）进行一级高分辨质谱和多级质谱分析，结果表明何首乌中存在45个二蒽酮类成分，其中30个二蒽酮苷类成分可能为新化合物，主要分为3种结构类型，分别为大黄素-大黄素型二蒽酮（I）、大黄素-大黄素甲醚型二蒽酮（II）及大黄素甲醚-大黄素甲醚型二蒽酮（III），其差异主要是取代基和C-10/10'的手型中心构型不同，具体见图2。

薄瑞<sup>[18]</sup>采用超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱法（UPLC-Q-TOF-MS/MS）对富集得到的首乌藤70%乙醇提取物中的二蒽酮类成分进行定性分析，首次从首乌藤中推测出72个二蒽酮苷类成分和5个二蒽酮苷元成分，主要也分为3种结构类型，分别为I、II、III，其中有29个二蒽酮苷类成分可能为新化合物。

## 3 二蒽酮类成分的毒性研究

### 3.1 不同细胞水平的毒性评价

Yang等<sup>[6]</sup>对从何首乌中分离得到polygonumnolides A<sub>1</sub>~A<sub>4</sub>、polygonumnolides B<sub>1</sub>~B<sub>3</sub>（3~9）7个二蒽酮化合物，进行人口腔表皮癌细胞KB的细胞毒活性评价，发现其半数抑制浓度（IC<sub>50</sub>）值分别为29.7、35.6、36.8、31.1、82.4、88.6、95.8 μmol·L<sup>-1</sup>，均表现中等强度的细胞毒活性。Yang等<sup>[7]</sup>对从何首

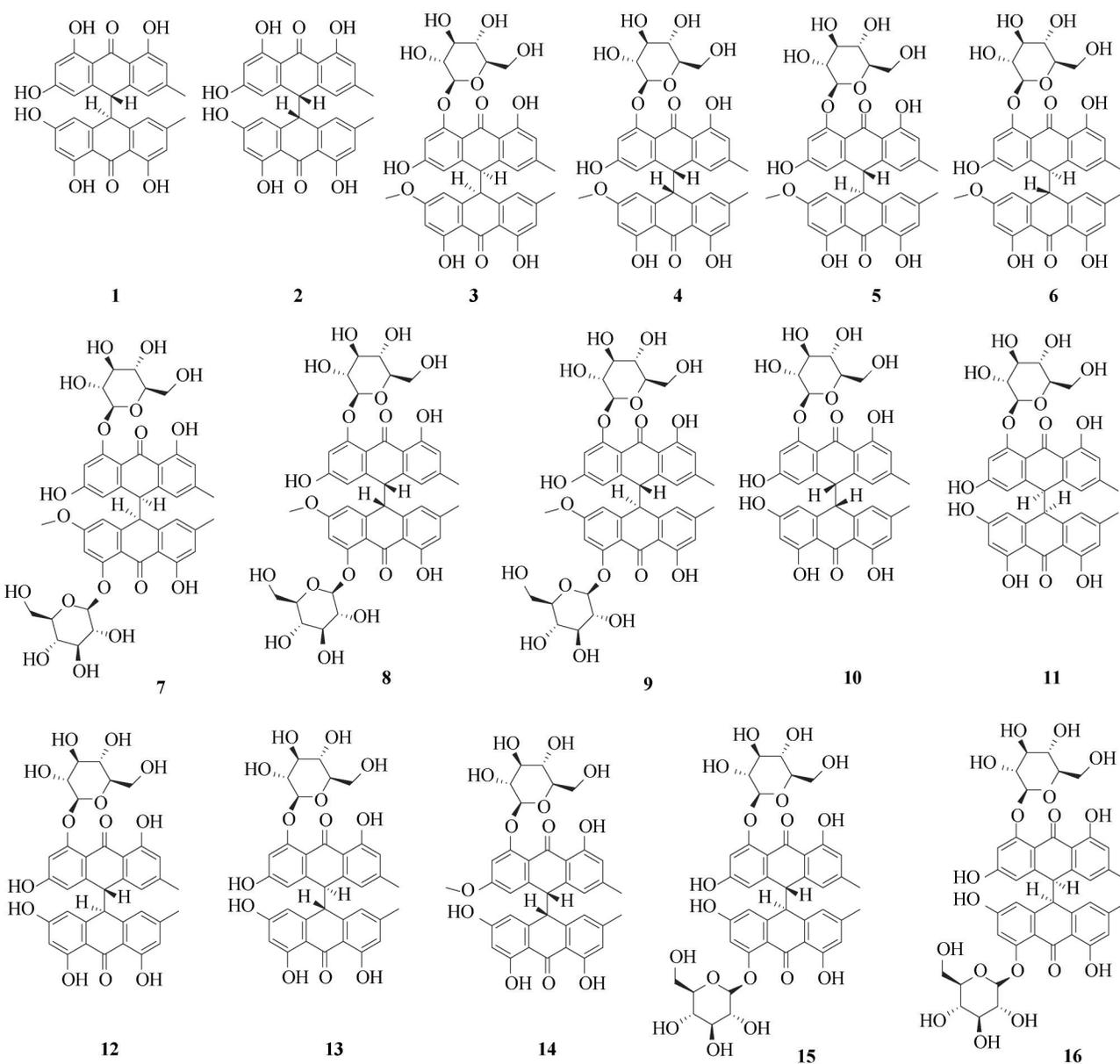
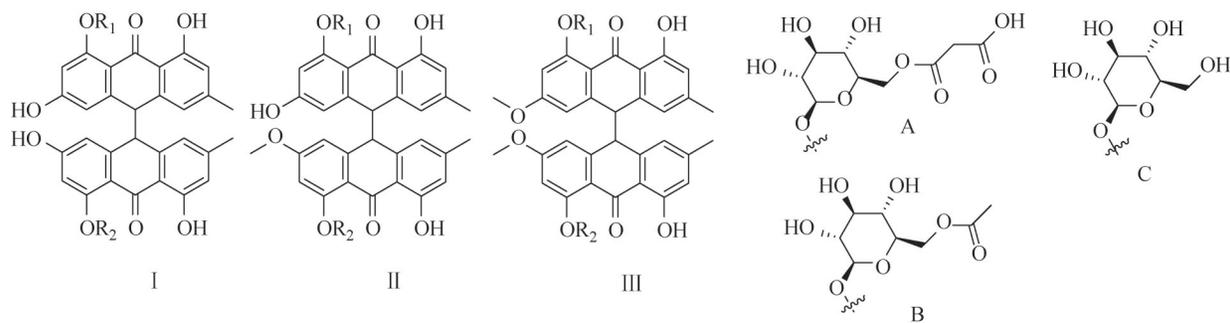


图1 何首乌和首乌藤中分离得到的二蒽酮单体化合物



注: A. 丙二酰基葡萄糖基; B. 乙酰基葡萄糖基; C. 葡萄糖基。

图2 何首乌和首乌藤中不同类型二蒽酮类成分及其不同取代基类型

乌中分离得到反式-大黄素-大黄素二蒽酮 (1)、顺式-大黄素-大黄素二蒽酮 (2) 和 polygonumnolides

C<sub>1</sub> ~ C<sub>4</sub> (10~13) 6个二蒽酮类化合物进行人正常肝细胞 L02 的细胞毒活性评价, 结果发现化合物 10~13

作用24 h对L02细胞的 $IC_{50}$ 值分别为313.05、205.20、294.20、207.35  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，表现中等强度的细胞毒活性。Yang等<sup>[21]</sup>还对反式-大黄素-大黄素二萜酮(1)和顺式-大黄素-大黄素二萜酮(2)进行人肝癌细胞HepaRG的细胞毒活性评价，发现其 $IC_{50}$ 值分别为10.98、15.45  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。薄瑞<sup>[18]</sup>对从首乌藤分离得到的PMC-a-1(15)进行L02、HepG2细胞的细胞毒活性评价，结果发现其具有中等强度的抑制作用，作用48 h的 $IC_{50}$ 值分别为45.25、72.78  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ；PMC-a-2未对HepG2细胞表现较强的抑制活性，而对L02细胞表现一定的细胞毒活性，作用48 h的 $IC_{50}$ 值为61.11  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，从而提示二萜酮类成分可能是何首乌产生肝毒性的组分之一。

### 3.2 酶水平的抑制作用

胆红素的异常代谢也是何首乌的临床不良反应之一。由于尿苷二磷酸(UDP)-葡萄糖醛酸转移酶1A1(UGT1A1)是唯一负责胆红素代谢的酶，因此Wang等<sup>[17]</sup>研究了二萜酮化合物对大鼠肝微粒体中UGT1A1的抑制作用，结果发现反式-大黄素-大黄素二萜酮(1)、顺式-大黄素-大黄素二萜酮(2)和polygonumnolide C2(11)均具有肝微粒体酶的抑制活性，表观抑制常数( $K_i$ )值分别为0.863、1.083、4.291  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，进一步分析发现二萜酮类化合物的6/6'位羟基为其潜在的活性基团。汪祺等<sup>[22]</sup>运用分子对接等技术对何首乌中分离得到的16个二萜酮类成分进行了毒性预测，结果发现这些二萜酮类成分的大鼠经口服给药的半数致死量( $LD_{50}$ )为125.3~1 239.6  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，从而提示该类成分可能具有潜在的肝毒性。

### 3.3 模式生物斑马鱼的毒性评价

Yang等<sup>[15]</sup>以斑马鱼胚胎发育为评价模型，将受精后2~4 h(2~4 hpf)的斑马鱼胚胎暴露于反式-大黄素-大黄素二萜酮(1)、顺式-大黄素-大黄素二萜酮(2)和polygonumnolides  $C_1\sim C_4$ (10~13)等二萜酮类化合物，结果发现其96 hpf的 $LD_{50}$ 值分别为(0.87±0.27)、(0.92±0.37)、(1.13±0.06)、(1.55±0.49)、(14.31±0.00)、(1.73±0.33)  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，进一步分析发现化合物1、2、10、11和13所观察到最低作用剂量(LOEL)分别为0.500、0.500、0.250、2.000、2.000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，表明该类成分具有一定的斑马鱼胚胎发育毒性。Li等<sup>[16]</sup>采用斑马鱼肝毒性评价

模型，以斑马鱼肝区面积、肝区灰度值和卵黄囊的吸收面积等为评价指标，对从何首乌中分离得到的反式-大黄素-大黄素二萜酮(1)、顺式-大黄素-大黄素二萜酮(2)、polygonumnolide  $C_1$ (10)和polygonumnolide  $C_4$ (13)进行肝毒性评价，结果发现游离二萜酮较结合二萜酮具有更强的肝毒性，推测二萜酮类成分可能是何首乌潜在诱发肝毒性的物质基础之一。

### 4 二萜酮类成分的含量分析

Yang等<sup>[21]</sup>运用超高效液相色谱-三重四极杆质谱法(UHPLC-QQQ-MS/MS)对从不同产地和市场收集的90批生何首乌中6个二萜酮类成分polygonumnolide  $C_4$ (13)、polygonumnolide  $C_3$ (12)、polygonumnolide  $C_1$ (10)、polygonumnolide  $C_2$ (11)、反式-大黄素-大黄素二萜酮(1)和顺式-大黄素-大黄素二萜酮(2)的含量进行分析。结果发现，何首乌中二萜酮类成分含量差异较大，6个二萜酮类化合物质量分数分别为0.03~19.04、0.02~13.86、0.07~15.53、0.034~23.35、0.38~83.67、0.29~67.00  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。选择其中15批何首乌样品，按照《中华人民共和国药典》2015年版制何首乌项下“清蒸工艺”进行炮制，结果发现，经过24 h炮制后何首乌中6个二萜酮类成分的含量下降幅度均超过80%，表明合理和规范炮制的制何首乌中二萜酮类成分含量大幅下降。对从市场收集的86批制首乌中6个二萜酮类成分含量进行分析，结果发现，其质量分数分别为0.02~13.03、0.05~8.94、0.02~7.23、0.03~12.75、0.10~28.54、0.14~27.79  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。如果以炮制24 h制何首乌中6个二萜酮类成分的含量来分析市场中制何首乌的质量，发现65%以上市场中销售的制何首乌可能存在炮制不规范的问题，需要进一步深入调查与研究。

薄瑞<sup>[18]</sup>发现首乌藤中所存在的72个二萜酮苷类成分主要分为3种类型，其中大黄素-大黄素二萜酮和大黄素-大黄素甲醚二萜酮具有 $m/z$  254、416、458的特征离子，而大黄素甲醚-大黄素甲醚二萜酮具有 $m/z$  268、537的特征离子，运用UPLC-Q-TOF-MS/MS，以半定量的方式初步评价了首乌藤中各类型的二萜酮的相对含量。结果发现，在首乌藤中I和II型的二萜酮类成分的含量占比相对较高，分别为54.69%和41.58%，而III型的二萜酮类成分的含量

占比较低,为3.73%。

## 5 讨论

何首乌及首乌藤中二蒽酮类成分主要为2个分子大黄素和/或大黄素甲醚蒽酮通过蒽环碳原子连接而成的化合物,主要通过C-10和C-10'中位连接,多以单键连接。本课题组通过传统的提取分离与纯化技术首次从何首乌中分离得到二蒽酮类成分,并对其进行了L02、HepG2、HepRG等细胞毒性评价及UGT1A1酶、模式生物斑马鱼等毒性评价,结果发现该类成分具有潜在的肝毒性,可能为何首乌中肝毒性组分之一。然而该类成分为何首乌及首乌藤中微量成分,具有数量多和单一成分含量低等特点,所以通过传统的提取与分离获得较为费时费力,故有必要对其开展全合成研究,解决样品量不足的问题。目前,对何首乌及首乌藤中二蒽酮类成分的毒性评价主要集中在体外细胞和模式生物斑马鱼模型,这些模型与哺乳动物模型存在一定的差异,所以有必要对其进行小鼠急性毒性与大鼠长期毒性评价等实验,有助于进一步系统地阐明该类成分的肝毒性。

与此同时,二蒽酮类成分还广泛存在于蓼科植物大黄、豆科植物番泻叶和藤黄科植物贯叶连翘中,该类成分还具有较好的泻下作用<sup>[23]</sup>,且具有抗肿瘤<sup>[24]</sup>、抗病毒<sup>[25]</sup>和抗抑郁<sup>[26]</sup>等活性,所以有必要对何首乌及首乌藤中的二蒽酮类成分进行系统的提取分离和结构鉴定,进一步对其有效性进行评价,从而有助于评价含二蒽酮类成分中药的安全性及有效性,为临床安全、合理用药提供参考。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] 李春雨,李晓菲,涂灿,等. 基于内毒素模型的何首乌特异质肝损伤评价[J]. 药学学报,2015,50(1):28-33.
- [3] 于瑞丽,门伟婕,周昆,等. 何首乌毒性物质基础及肝毒性机制研究进展[J]. 中国药物警戒,2019,16(8):496-503.
- [4] 沈晓静,张敬娟,吕奇,等. 何首乌化学成分及其药理活性的研究进展[J]. 热带亚热带植物学报,2021,29(4):439-450.
- [5] TEKA T, WANG L M, GAO J, et al. *Polygonum multiflorum*: Recent updates on newly isolated compounds, potential hepatotoxic compounds and their mechanisms[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271: 113864.
- [6] YANG J B, YAN Z, REN J, et al. Polygonumnolides A<sub>1</sub>-B<sub>3</sub>, minor dianthrone derivatives from the roots of *Polygonum multiflorum* Thunb. [J]. Arch Pharm Res, 2018, 41(6): 617-624.
- [7] YANG J B, LI L, DAI Z, et al. Polygonumnolides C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>; minor dianthrone glycosides from the roots of *Polygonum multiflorum* Thunb. [J]. J Asian Nat Prod Res, 2016, 18(9):813-822.
- [8] YANG J B, TIAN J Y, DAI Z, et al. A-glucosidase inhibitors extracted from the roots of *Polygonum multiflorum* Thunb. [J]. Fitoterapia, 2017, 117:65-70.
- [9] YANG J B, YE F, TIAN J Y, et al. Multiflorumisides HK, stilbene glucosides isolated from *Polygonum multiflorum* and their *in vitro* PTP1B inhibitory activities [J]. Fitoterapia, 2020, 146: 104703.
- [10] YANG J B, SUN H, MA J, et al. New phenolic constituents obtained from *Polygonum multiflorum* [J]. Chin Herb Med, 2020, 12(3):342-346.
- [11] 杨建波,高慧宇,王雪婷,等. 何首乌中1个新的木脂素酰胺类化合物[J]. 中草药,2021,52(18):5475-5482.
- [12] 李明超,付亚轩,张新宇,等. 夜交藤化学成分及其药理活性研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2018,39(3):81-84.
- [13] 杨建波,高博闻,孙华,等. 何首乌肝毒性物质基础研究进展[J]. 中国药物警戒,2022,19(6):610-614.
- [14] 陶丽宇. 何首乌及首乌藤与肝损伤风险的相关性研究[D]. 上海:上海中医药大学,2019.
- [15] YANG J B, LI W F, LIU Y, et al. Acute toxicity screening of different extractions, components and constituents of *Polygonum multiflorum* Thunb. on zebrafish (*Danio rerio*) embryos *in vivo* [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99: 205-213.
- [16] LI H Y, YANG J B, LI W F, et al. *In vivo* hepatotoxicity screening of different extracts, components, and constituents of *Polygonum multiflorum* Thunb. in zebrafish (*Danio rerio*) larvae [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 131:110524.
- [17] WANG Q, WANG Y D, LI Y, et al. Identification and characterization of the structure-activity relationships involved in UGT1A1 inhibition by anthraquinone and dianthrone constituents of *Polygonum multiflorum* [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):17952.
- [18] 薄瑞. 首乌藤中二蒽酮化合物的富集、分析及肝细胞毒性评价[D]. 广州:广东药科大学,2021.
- [19] XU W, ZHANG J, HUANG Z H, et al. Identification of new dianthrone glycosides from *Polygonum multiflorum* Thunb. using high-performance liquid chromatography coupled with LTQ-Orbitrap mass spectrometry detection:

- A strategy for the rapid detection of new low abundant metabolites from traditional Chinese medicines [J]. *Anal Methods*, 2012, 4(6): 1806.
- [20] YANG J B, LIU Y, WANG Q, et al. Characterization and identification of the chemical constituents of *Polygonum multiflorum* Thunb. by high-performance liquid chromatography coupled with ultraviolet detection and linear ion trap FT-ICR hybrid mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 172: 149-166.
- [21] YANG J B, SONG Y F, LIU Y, et al. UHPLC-QQQ-MS/MS assay for the quantification of dianthrones as potential toxic markers of *Polygonum multiflorum* Thunb. : Applications for the standardization of traditional Chinese medicines (TCMs) with endogenous toxicity [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 51.
- [22] 汪祺, 闫明, 马双成, 等. 基于定量构效关系的何首乌毒性单体成分预测[J]. *中国药物警戒*, 2021, 18(4): 352-355.
- [23] KON R, IKARASHI N, NAGOYA C, et al. Rheinanthrone, a metabolite of sennoside A, triggers macrophage activation to decrease aquaporin-3 expression in the colon, causing the laxative effect of rhubarb extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(1): 190-200.
- [24] BARNES J, ANDERSON L A, PHILLIPSON J D. St John's wort (*Hypericum perforatum* L. ): A review of its chemistry, pharmacology and clinical properties [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53(5): 583-600.
- [25] AGOSTINIS P, VANTIEGHEM A, MERLEVEDE W, et al. Hypericin in cancer treatment: More light on the way [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002, 34(3): 221-241.
- [26] HUDSON J B, HARRIS L, TOWERS G H. The importance of light in the anti-HIV effect of hypericin [J]. *Antiviral Res*, 1993, 20(2): 173-178.

(收稿日期: 2022-01-07 编辑: 田苗)