

# 人中黄炮制前后 6 种化学成分的含量变化及其质量评价

王胜超, 张振凌\*, 刘艳, 韩宁宁, 李柯柯, 黄亚森  
(河南中医药大学, 郑州 450008)

**[摘要]** **目的:**建立同时测定人中黄中甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草酸、甘草查尔酮 A 及甘草次酸 6 种化学成分含量的方法,比较甘草转化成人中黄前后三萜类和黄酮类成分的变化情况,评价人中黄样品的质量,为建立其科学制备方法提供参考。**方法:**采用 HPLC,流动相乙腈-0.05% 磷酸水溶液梯度洗脱,采集时间 100 min,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,检测波长 237 nm。采用聚类分析、主成分分析和 G 检验 3 种方法进行分析。**结果:**12 批市售人中黄样品中甘草苷,甘草素,异甘草素,甘草查尔酮 A,甘草酸和甘草次酸的质量分数分别为 0.04~0.23,0.25~0.66,0.17~0.37,0.33~3.42,1.54~15.21,0.03~0.95 mg·g<sup>-1</sup>。甘草中这 6 种成分的平均质量分数分别为 1.64,0.32,0.17,0.50,22.46,0 mg·g<sup>-1</sup>。相比甘草,市售人中黄中甘草苷含量下降了 98.17%,甘草素升高了 40.63%,异甘草素升高了 17.65%,甘草酸下降了 76.80%,甘草查尔酮 A 升高了 68.00%。甘草与人中黄具有本质差别,不同方法制备的人中黄及 12 批市售样品间均具有一定差异。**结论:**该方法稳定可行、重复性好。当前市面流通的人中黄样品质量参差不齐、差异明显,可能是由于人中黄的制备工艺存在差异或原料甘草品种不同所致,且在某种程度上氨化环境对于人中黄的形成具有积极作用。

**[关键词]** 人中黄; 主成分分析; 聚类分析; 甘草苷; 甘草查尔酮 A; 甘草酸; 甘草

**[中图分类号]** R283.4;R284.1;R943.1;R911 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)09-0011-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017090011

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170214.1621.058.html>

**[网络出版时间]** 2017-02-14 16:21

## Content Changes of Six Chemical Constituents in Manure-prepared Licorice Before and After Being Processed and Its Quality Evaluation

WANG Sheng-chao, ZHANG Zhen-ling\*, LIU Yan, HAN Ning-ning, LI Ke-ke, HUANG Ya-sen  
(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an accurate HPLC method for the determination of 6 components (liquiritin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, licochalcone A, glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid) in manure-prepared licorice. To compare content changes of triterpenes and flavonoids in manure-prepared licorice before and after being processed and evaluate its quality. **Method:** The analyses were performed on a Agilent Exlipse C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid aqueous solution for gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was set at 237 nm and the column temperature was at 30 ℃. Quality of manure-prepared licorice was analyzed by cluster analysis, principal component analysis and G-test. **Result:** The contents of these 6 components in 12 batches of manure-prepared licorice samples were in the ranges of 0.04-0.23, 0.25-0.66, 0.17-0.37, 0.33-3.42, 1.54-15.21, 0.03-0.95 mg·g<sup>-1</sup>, respectively; and the average contents of these 6 components in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma were 1.64, 0.32, 0.17, 0.50, 22.46, 0 mg·g<sup>-1</sup>, respectively. Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and manure-

**[收稿日期]** 20161207(020)

**[基金项目]** 国家中医药管理局中药炮制技术传承基地建设项目[2100601 中医(民族医)专项];河南中医药大学研究生科研苗圃工程项目(MPYJS2017-06)

**[第一作者]** 王胜超,在读硕士,从事中药饮片及新药研究,Tel:13783495211,E-mail:wangsc1204@163.com

**[通讯作者]** \*张振凌,博士生导师,从事中药饮片及新药研究,Tel:0371-65680970,E-mail:zhangzl6758@163.com

prepared licorice had essential difference, there were some differences among samples prepared by different methods and 12 batches of commercial samples. **Conclusion:** The method is simple and reproducible. Quality of manure-prepared licorice is influenced by preparation process, raw materials and ammoniated environment.

**[Key words]** manure-prepared licorice; principal component analysis; cluster analysis; liquiritin; licochalcone A; glycyrrhizic acid; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

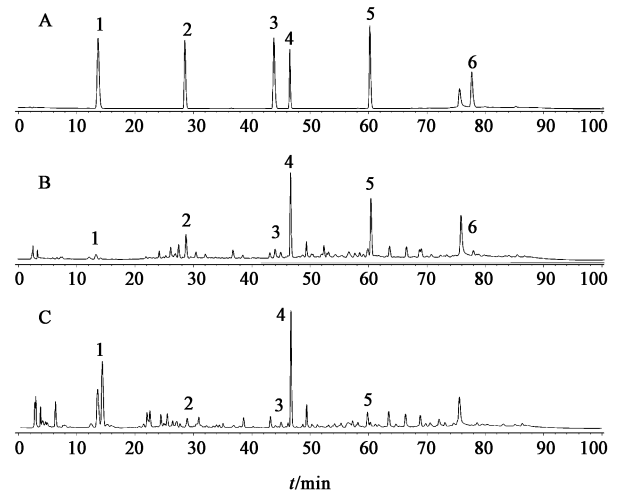
人中黄性寒凉,味甘、咸,归心、胃经,主要具有泻火解毒、清热凉血的作用,现收载于《中华本草》哺乳类<sup>[1]</sup>。是由甘草粉末装入竹筒,密闭后置于粪坑中浸渍一段时间后的制成品;其炮制方法的记载较早现于《丹溪心法》,该古籍中记载曰:“人中黄,以竹筒入甘草末于内,竹木塞两头,冬月浸粪缸中,立春取出悬风处阴干,破竹取草,晒干用”。在古代的医案或本草书籍中常能见到人中黄用于治疗天行热、瘟毒、疫戾、痰火、痘疹等疾病,现仍然在流通使用。由于人中黄制法的落后和特殊性,对其炮制方法、化学成分、质量控制、药理作用等方面的研究文献不多,缺少建立科学制备方法的基础。鉴于人中黄取材于甘草,后者含甘草酸、甘草苷等三萜类成分以及甘草素、异甘草素、甘草查尔酮 A 等黄酮类成分<sup>[2]</sup>。本实验参考甘草的测定方法,拟建立 HPLC 同时测定人中黄中 6 种成分(甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草酸、甘草次酸、甘草查尔酮 A)的方法,为探讨人中黄科学制备方法和质量标准奠定基础。

### 1 材料

600 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,含 2487 型紫外检测器,Empower Pro 化学工作站)。人中黄样品(编号 S1 ~ S12)均为安徽亳州市售药材,经河南中医药大学张振凌教授鉴定为甘草粉末置竹筒内,于人粪坑中浸渍一定时间后的制成品;2 批甘草样品均为安徽亳州市售药材,经河南中医药大学董成明教授鉴定为豆科植物甘草 *Glycyrrhizae uralensis* 的干燥根和根茎;自制样品 A 参照《中华本草》人中黄项下方法制备(传统法),自制样品 B 由本实验室模拟人中黄制备环境制备(新法制备);甘草苷、甘草酸、甘草次酸( $\beta$ 型)对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 P29M7F12158, P25J7F18327, T27J7X18416, 纯度均 > 98%),甘草素对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号 151026, 纯度  $\geq 98\%$ ),异甘草素对照品(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-16012503, 纯度 99.79%),甘草查尔酮 A 对照品(成都普斯生物科技有限公司,批号 F0710101, 纯度 99.73%),水为超纯水,乙腈、甲醇均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 采用 Exlipse C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈(A)-0.05% 磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 10 min, 16% ~ 18% A; 10 ~ 15 min, 18% ~ 25% A; 15 ~ 35 min, 25% ~ 35% A; 35 ~ 45 min, 35% ~ 45% A; 45 ~ 80 min, 45% ~ 75% A; 80 ~ 95 min, 75% ~ 16% A; 95 ~ 100 min, 16% A),采集时间共 100 min,进样量 20  $\mu$ L,流速设定 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30  $^{\circ}$ C,检测波长 237 nm。见图 1。



A. 对照品; B. 样品 S6; C. 甘草; 1. 甘草苷; 2. 甘草素; 3. 异甘草素; 4. 甘草酸; 5. 甘草查尔酮 A; 6. 甘草次酸

图 1 人中黄 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of manure-prepared licorice

**2.2 供试品溶液的制备** 精密量取样品粉末(过 3 号筛)1.0 g,置 250 mL 具塞锥形瓶内,精密加入 70% 甲醇 100 mL,超声(500 W, 50 Hz) 30 min,放冷,称定质量,用 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜,取续滤液,即得。

**2.3 混合对照品溶液的制备** 精密称定甘草苷、甘草酸、甘草素、异甘草素、甘草次酸、甘草查尔酮 A 对照品适量,置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,得质量浓度分别为 0.025, 0.128, 0.032, 0.048, 0.067, 0.067 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.4 线性范围考察** 分别精密吸取混合对照品溶液 1, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 20, 25  $\mu$ L,照 2.1 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐

标,分别绘制标准曲线,见表 1。

表 1 6 种成分的回归方程及线性范围

Table 1 Regression equations and linear ranges of 6 analytes

成分	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g}$
甘草苷	$Y = 7.17 \times 10^6 X - 3.67 \times 10^4$	0.999 7	0.025 ~ 0.50
甘草素	$Y = 3.69 \times 10^6 X + 2.53 \times 10^4$	0.999 2	0.032 ~ 0.80
异甘草素	$Y = 3.23 \times 10^6 X - 3.26 \times 10^4$	0.999 6	0.048 ~ 0.96
甘草酸	$Y = 5.86 \times 10^5 X + 1.50 \times 10^4$	0.999 3	0.129 ~ 3.20
甘草查尔酮 A	$Y = 2.19 \times 10^6 X - 2.29 \times 10^4$	0.999 9	0.067 ~ 1.21
甘草次酸	$Y = 1.27 \times 10^6 X + 4.45 \times 10^4$	0.999 8	0.067 ~ 0.67

**2.5 精密度试验** 取混合对照品溶液,依 2.1 项下色谱条件连续测定 6 次,计算甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草酸、甘草查尔酮 A 和甘草次酸峰面积的 RSD 分别为 2.3%, 2.3%, 2.3%, 2.3%, 2.3%, 2.2%, 表明仪器精密度良好。

**2.6 重复性试验** 精密称取同批人中黄药材(S6 样品)6 份,每份 1.0 g,照 2.2 项下方法制备供试品溶液,依 2.1 项下色谱条件测定,结果甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草酸、甘草查尔酮 A 和甘草次酸的质量分数分别为 0.118 3, 0.445, 0.42, 10.245, 3.09, 0.855  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 0.9%, 3.1%, 4.5%, 2.7%, 4.5%, 3.7%, 表明该方法重复性较好。

表 2 不同批次样品中 6 种成分的含量( $n=3$ )

Table 2 Contents of 6 constituents in different batches of samples( $n=3$ )

样品	编号	甘草苷	甘草素	异甘草素	甘草酸	甘草查尔酮 A	甘草次酸
市售人中黄	S1	-	0.35	0.25	6.46	1.02	0.83
	S2	-	0.25	0.22	5.46	0.95	0.78
	S3	-	0.29	0.23	5.77	0.99	0.71
	S4	0.04	0.34	0.23	5.34	0.93	0.95
	S5	0.04	0.46	0.18	2.03	0.50	0.09
	S6	0.23 <sup>1)</sup>	0.47	0.29	15.21	3.42 <sup>1)</sup>	0.66
	S7	0.12	0.63	0.37 <sup>1)</sup>	11.60	2.60	0.58
	S8	0.05	0.38	0.17	2.70	0.33	0.05
	S9	0.07	0.66	0.22	1.77	1.02	0.03
	S10	-	0.42	0.19	2.58	0.37	0.07
	S11	0.04	0.51	0.20	2.00	0.54	0.05
	S12	0.04	0.65	0.22	1.54	0.79	0.03
自制人中黄 A	H1	0.22	4.80	0.84	19.19	0.35	0.22
	H2	0.23	4.91	0.86	19.64	0.44	0.24
自制人中黄 B	N1	0.45	0.82	0.30	8.41	0.19	-
	N2	0.33	0.62	0.23	6.37	0.10	-
甘草	G1	1.64	0.32	0.17	22.51	0.49	-
	G2	1.65	0.31	0.16	22.41	0.50	-

注: <sup>1)</sup> 表示异常值。

**2.7 稳定性试验** 取同一供试品溶液,依 2.1 项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样分析,结果甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草酸、甘草查尔酮 A 和甘草次酸峰面积的 RSD 分别为 4.3%, 0.8%, 3.7%, 1.4%, 2.4%, 5.3%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.8 加样回收试验** 精密称取甘草素、异甘草素、甘草酸、甘草查尔酮 A 和甘草次酸 0.55, 0.42, 9.2, 1.52, 1.53 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中,精密称取甘草苷 0.67 mg 置于 100 mL 量瓶中,照 2.3 项下方法制备对照品储备液。精密称取已知各指标成分含量的人中黄样品(S4)6 份,每份 0.2 g, 分别加入各对照品储备液 1 mL, 按 2.1 项下色谱条件测定。结果甘草苷、甘草素、异甘草素、甘草酸、甘草查尔酮 A 和甘草次酸的平均加样回收率分别为 99.75%, 100.97%, 99.01%, 101.63%, 100.75%, 97.92%, RSD 依次为 2.2%, 4.0%, 2.4%, 4.2%, 4.2%, 4.3%, 表明该方法准确可靠。

**2.9 样品测定** 取市售 12 批人中黄样品,2 批甘草样品,自制人中黄样品 A 和 B 各 2 批,照 2.2 项下方法制备供试品溶液,依 2.1 项下色谱条件测定,见表 2。运用 G 检验法对 12 批市售人中黄样品相关数据进行分析,淘汰异常值,剩余求平均值,见表 3。

表 3 市售人中黄、自制样品和甘草中 6 种成分的含量变化

Table 3 Content changes of 6 constituents in different samples

样品	甘草苷		甘草素		异甘草素		甘草酸		甘草查尔酮 A		甘草次酸	
	平均值 /mg·g <sup>-1</sup>	变化率 /%	平均值 /mg·g <sup>-1</sup>	变化率 /%	平均值 /mg·g <sup>-1</sup>	变化率 /%	平均值 /mg·g <sup>-1</sup>	变化率 /%	平均值 /mg·g <sup>-1</sup>	变化率 /%	平均值 /mg·g <sup>-1</sup>	变化率 /%
市售人中黄	0.03	-98.2	0.45	40.6	0.20	17.7	5.21	-76.8	0.84	68.0	0.40	-
自制人中黄 A	0.22	-86.6	4.86	1418.8	0.85	400.0	19.41	-13.6	0.40	-20.0	0.23	-
自制人中黄 B	0.39	-76.2	0.72	125.0	0.26	52.9	7.39	-67.1	0.14	-72.0	-	-
甘草	1.64	-	0.32	-	0.17	-	22.46	-	0.50	-	-	-

将市售人中黄、自制人中黄样品 A 和 B 中的 6 种成分含量的平均值与甘草中含量进行比较, 计算变化率, 见表 3。

**2.10 聚类分析** 对市售 12 批人中黄样品, 2 批甘草样品, 自制人中黄样品 A 和 B 各 2 批中 6 种成分的含量数据, 通过 G 检验法排除异常值, 采用 SPSS 19.0 软件标准化处理并进行聚类分析。采用组间连接法, 以余弦距离法作为样品间距离计算方法进行系统聚类分析, 见图 2。

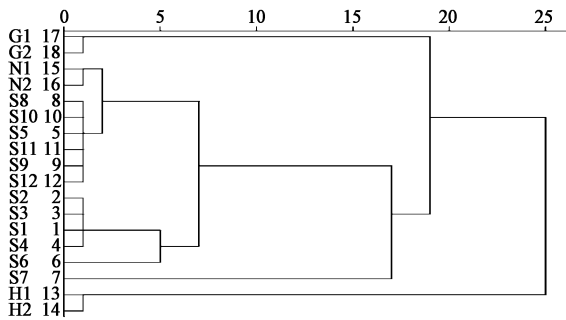


图 2 市售人中黄、自制人中黄样品和甘草的聚类分析

Fig. 2 Hierarchical cluster analysis of different samples

结果当判别条件距离为 20 时, 18 批样品被分为 2 大类, 即全部市售人中黄、甘草和新法制备的人中黄样品聚为一类, 另一类为依传统法自制的人中黄样品。当判别距离为 15 时, 分为 4 大类, G1 ~ G2 甘草样品聚为一类; S1 ~ S6, S8 ~ S12, N1 ~ N2 即大部分市售人中黄和新法制备的人中黄样品聚为一类; H13 ~ H14 传统法自制的人中黄样品聚为一类; S7 样品单独聚为一类。说明新法制备的人中黄和大部分市售人中黄更为接近, 人中黄与甘草存在本质的差别。当判别距离减小到 5 时, G1 ~ G2 甘草样品聚为一类, 说明甘草转化人中黄前后变化极为显著; N1 ~ N2 新法制备样品和 S5, S9 ~ S12 部分市售人中黄聚为一类, 说明本文制备人中黄的氨化环境对促成人中黄有一定的作用; S1 ~ S4 和 S6 部分市售人中黄聚为一类, 表明市售人中黄样品的质量

存在较大差异; H13 ~ H14 传统法自制的样品聚为一类; 2 批甘草样品单独成为一类; 表明人中黄与甘草存在本质的差别, 人中黄的制备工艺存在差异, 有待优化及完善。

**2.11 主成分分析** 利用 G 检验法淘汰异常值, 采用 SPSS 19.0 软件进行数据标准化处理, 对 12 批市售人中黄样品中指标成分含量进行主成分分析, KMO 和 Bartlett 检验结果符合主成分分析要求。进一步处理数据, 得样本的相关系数矩阵和方差特征值, 见表 4, 5。主成分载荷矩阵反映了各变量对主成分的贡献大小和作用方向, 见表 6。

表 4 市售人中黄中 6 种成分的相关系数矩阵

Table 4 Correlation matrix of 6 constituents in commercial manure-prepared licorice

成分	甘草苷	甘草素	异甘草素	甘草酸	甘草查尔酮 A	甘草次酸
甘草苷	1.000					
甘草素	0.689	1.000				
异甘草素	-0.801	-0.377	1.000			
甘草酸	0.003	-0.054	-0.080	1.000		
甘草查尔酮 A	0.672	0.285	-0.755	0.240	1.000	
甘草次酸	-0.277	-0.578	0.163	0.628	0.303	1.000

表 5 市售人中黄解释的总方差

Table 5 Total variance explained of commercial manure-prepared licorice

主成分因子	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差/%	累积方差/%	合计	方差/%	累积方差/%
1	2.888	48.139	48.139	2.888	48.139	48.139
2	1.930	32.167	80.306	1.930	32.167	80.306
3	0.719	11.984	92.290			
4	0.313	5.212	97.501			
5	0.135	2.257	99.758			
6	0.015	0.242	100.000			

利用 SPSS 19.0 软件对上述主成分载荷值进行

表 6 市售人中黄主成分载荷矩阵<sup>a</sup>

Table 6 Principal component load matrix<sup>a</sup> of commercial manure-prepared licorice

成分	主成分	
	1	2
甘草苷	0.954	-0.004
异甘草素	-0.879	-0.185
甘草查尔酮 A	0.752	0.535
甘草素	0.734	-0.379
甘草次酸	-0.316	0.915
甘草酸	0.008	0.794

表 7 12 批市售人中黄的主成分得分

Table 7 PCA score of commercial manure-prepared licorice

排序	样品	Z <sub>1</sub>	Z <sub>2</sub>	Z <sub>3</sub>	Z <sub>4</sub>	Z <sub>5</sub>	Z <sub>6</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F
1	S7	-0.91	-0.72	0.71	0.29	0.28	1.14	2.87	1.13	2.17
2	S4	-0.91	-1.44	0.28	0.06	0.18	1.01	-0.24	0.91	0.22
3	S1	-0.91	-1.15	0.42	0.13	0.24	0.82	-0.60	0.93	0.02
4	S2	0.18	-0.79	0.42	0.03	0.14	1.46	-0.66	0.94	-0.02
5	S3	0.18	0.07	-0.28	-0.74	-0.52	-0.83	-0.62	0.81	-0.04
6	S9	-0.91	0.14	1.27	2.34	-1.29	0.69	0.61	-1.17	-0.10
7	S6	2.36	1.28	-2.83	1.49	2.73	0.47	-0.91	0.95	-0.16
8	S12	0.45	-0.51	-0.42	-0.58	-0.78	-0.94	0.22	-1.21	-0.35
9	S5	1.00	1.50	0.28	-0.80	0.28	-0.99	-0.03	-0.84	-0.35
10	S8	-0.91	-0.22	-0.14	-0.61	-0.72	-0.89	-0.09	-0.76	-0.36
11	S11	0.18	0.42	0.00	-0.75	-0.46	-0.94	-0.02	-0.97	-0.40
12	S10	0.18	1.43	0.28	-0.86	-0.07	-0.99	-0.54	-0.73	-0.62

注: Z<sub>i</sub> 表示各成分标准化数据。

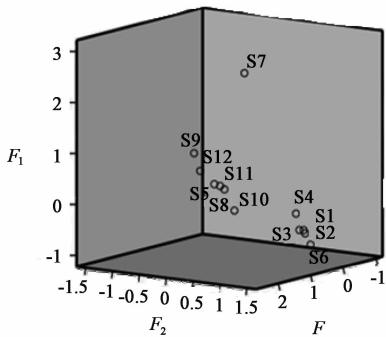


图 3 12 批市售人中黄主成分得分碎石

Fig. 3 PCA score gravel of commercial manure-prepared licorice

和甘草查尔酮 A 的贡献较大;甘草查尔酮 A,甘草酸和甘草次酸对主成分 2 成正相关,且甘草酸和甘草次酸贡献较大;异甘草素对主成分 1,2 皆成负相关,甘草酸和甘草查尔酮 A 对主成分 1,2 皆具有正相关性。由图 3 可知,样品大体分为 3 个类区,其中 S1 ~ S4 和 S6 分布较近,S5 和 S8 ~ S12 样品分布较

线性模型处理,得各主成分得分  $F_1$  和  $F_2$ ,以各主成分的贡献率为权数对主成分得分进行加权平均 ( $F = F_{1i} \times 48.139\% + F_{2i} \times 32.167\%$ )/80.306%,得综合得分  $F$ ,见表 7。以样品的第 1,2 个主成分得分和综合得分作三维散点图,见图 3。

由表 5 可知,前 2 个因子的累积方差贡献率达到 80.306% (>80%),初始特征根(合计)均 >1,可代表市售人中黄中 6 种化学成分含量的大部分信息,故选取第 1,2 个因子作为主成分 1 和 2。由表 6 可见,6 个变量其中以甘草苷、甘草酸、甘草素和甘草查尔酮 A 对主成分 1 成正相关,其中以对甘草苷

近,而 S7 分布位置较为独立且得分最高,质量较好。

### 3 讨论

本文参考了 2015 年版《中国药典》甘草【含量测定】项下方法和文献研究方法<sup>[3-4]</sup>,对市中黄的样品制备方法、流动相系统、梯度波长进行了对比优化。最终选用 70% 甲醇超声提取方式;通过对比不同波长下的混合 HPLC 的峰度和数量,以 237 nm 作为检测波长,各个对照品的峰度相对最优;以乙腈-0.05% 磷酸水溶液梯度系统进行检测分析,基线相对稳定。市售人中黄样品由于没有国家标准,所以其制备方法多有地域和环境差异,但其制作方法与《中华本草》所载方法基本一致。本研究为了能够较为准确地判定在甘草转化为人中黄过程中的内在化学成分变化,消除与甘草比较中由于甘草品种的差异所致的误差,按照《中华本草》传统方法制作了自制样品 A 作为参比,为了改进制备方法,实验室

模拟了人中黄的制备环境,制作了自制样品 B,作为工艺改进的初步探索。

人中黄现收载于《中华本草》,仍流通使用,但是相关质量标准研究甚少。通过查阅古代文献,发现人中黄有可能是在宋元时期形成与发展而来的,作为治疗天行热、瘟疫、疫戾、痰火、痘疹等疾病的常用药发展并繁荣于清代,沿用至近现代,在古代的医案或本草书籍中多有记载,具有应用价值。现代研究表明甘草苷具有抗溃疡作用,甘草酸具有抗病毒、抗过敏、抗炎及抗盐皮质激素样作用,甘草次酸具有抗肿瘤、抗炎、调节免疫等作用,二氢黄酮类成分甘草素具有抗癌、抗炎、抗艾滋病病毒等作用,查耳酮类成分异甘草素有抗氧化、抑制酪氨酸酶等作用,甘草查耳酮 A 具有抗炎、抗肿瘤和抗寄生虫等作用<sup>[5-8]</sup>。这 6 种成分为甘草的活性成分,多具有抗炎、抗病毒等与人中黄基本功效相关的作用,通过比较 12 批市售人中黄样品和甘草中 6 种成分的含量,甘草素、异甘草素、甘草查耳酮 A 为明显升高类成分,甘草酸和甘草苷为降低类成分。不仅提示了由甘草转化为人中黄过程中的化学成分变化趋势,而且从化学成分含量变化的角度提示了可能由于甘草次酸、甘草素、异甘草素和甘草查耳酮 A 等物质的升高,使得抗病毒、解热、抗炎和皮质激素样作用等药效在人中黄中得以明显体现或增强。

对相关化学成分的研究文献进行分析,发现这 6 种化学成分之间存在转化或转变的关系。甘草苷可经过肠道和肝脏中酶水解为甘草素及甘草素的硫酸结合物;而且甘草查耳酮为甘草苷常见的异构化形式;甘草酸在胃中经胃酸水解或经肝中  $\beta$ -葡萄糖醛酸酶分解为甘草次酸<sup>[8-9]</sup>。结合化学结构,甘草酸为三萜皂苷类化合物,其水解产物为甘草次酸;甘草苷和甘草素为二氢黄酮类化合物,异甘草素和甘草查耳酮 A 为查耳酮类化合物,甘草苷水解后可转变为甘草素,经过结构异化可转变为异甘草素或甘草查耳酮 A<sup>[10]</sup>。结合本文研究结果,初步认为甘草在转化成人中黄的过程中,其炮制机制为部分三萜类成分呈现下降或转化趋势,黄酮类成分呈转化或升高趋势。是否此种转化关系和含量变化比例有利于人中黄的质量提高,仍需实验证实。

本文对全部样品进行聚类分析,结果提示人中黄与甘草存在本质差别,当前市面流通的人中黄样品质量参差不齐、差异明显,可能是由于人中黄的制备工艺存在差异或原料甘草品种不同所致,且在某种程度上本研究所采用的氨化环境(自制样品 B)对于人中黄的形成有积极作用,但其工艺方法有待进一步研究优化,且有必要规范其炮制方法和质量标准。利用主成分分析对不同批次市售样品 6 种化学成分的含量进行综合评价比较,其中 S7 得分最高,质量较好,但是当前流通的人中黄药材的质量差异较大。自制样品 A 和 B 除甘草查耳酮 A 异常的变化外,其他成分的变化趋势与市售样品基本一致。本研究所购买和制备的样本相对较少,未能作出更为全面的数据分析,对于质量评价具有一定的局限性。

#### [参考文献]

- [1] 《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:8669-8670.
- [2] 何薇,宁静,吴敬敬,等. 甘草化学成分与细胞色素 P450 酶间的相互作用研究进展[J]. 中草药,2016,47(11):1974-1981.
- [3] 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,2015:86-87.
- [4] 周萃,杨燕云,张振秋,等. 波长切换 HPLC 法同时测定甘草及其炮制品中 7 个物质的含量[J]. 药物分析杂志,2011,31(11):2067-2072.
- [5] 祁增,郑炳真,刘金平,等. 甘草生物活性的研究进展[J]. 特产研究,2016(2):71-76.
- [6] 邵玉蓝,曹岗,熊耀康. 甘草生物活性研究的某些新进展[J]. 中国实用医药,2009,4(13):228-230.
- [7] 陈云华. 不同来源甘草的化学成分及其相关药效的研究[D]. 北京:北京中医药大学,2008.
- [8] 刘建群,王卓,徐金娣,等. 甘草干预雷公藤内酯酮的代谢组学分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(19):70-75.
- [9] 吴青青,陈彦,辛然,等. 甘草主成分及其提取物肠吸收差异的多元化分析[J]. 药学学报,2012,47(5):657-663.
- [10] 张友波,徐崑,杨秀伟,等. RP-HPLC 法同时测定不同产地甘草中 9 个主要成分的含量[J]. 药物分析杂志,2013,33(2):214-219,229.

[责任编辑 刘德文]