

不同砂炒时间钩吻炮制品的颜色、成分、抗肿瘤活性变化及相关性研究^Δ

吴昊^{1*}, 陈丽松¹, 黄成龙¹, 王月灵¹, 陈丽蓉¹, 王文义², 王英豪¹, 李德森¹, 吴水生¹, 陈莹^{1#} (1. 福建中医药大学药学院, 福州 350122; 2. 福建中医药大学科技创新与转化中心, 福州 350122)

中图分类号 R283;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)17-2258-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.17.08



摘要 目的 探究钩吻砂炒过程中颜色、成分、抗肿瘤活性的变化及相关性,为砂炒钩吻饮片的“减毒存效”和质量控制提供参考。方法 以钩吻生品和分别经砂炒15、30、75、105、120 s后的钩吻炮制品为检测样品,测定其色度值以及总生物碱和7种主要活性成分(钩吻素甲、胡蔓藤碱丙、钩吻素子、钩吻素己等)的含量,考察其体外抗肿瘤活性,并分析其颜色-成分含量、总生物碱含量-抗肿瘤活性的关联性。结果 砂炒炮制后钩吻样品的颜色总体变暗,砂炒75 s后样品的总色差值(ΔE^*)均大于20。在砂炒初期(15~30 s),钩吻炮制品中总生物碱含量较生品大幅降低;在砂炒后期(75~105 s),钩吻炮制品中总生物碱含量的下降趋势变缓并趋于稳定。各炮制品中钩吻素己、胡蔓藤碱乙等的含量在砂炒30 s时急剧下降,钩吻素子、常绿钩吻碱等的含量在砂炒75 s后大幅降低(约降低80%)并逐渐趋于稳定。各炮制品对HepG2细胞增殖的抑制活性随炒制时间的延长而减弱。相关性分析结果显示,颜色亮度、黄蓝色度与除钩吻素甲外的其余活性成分和总生物碱的含量均呈显著正相关($P<0.05$ 或 $P<0.01$);红绿色度与钩吻素子、常绿钩吻碱、钩吻绿碱和胡蔓藤碱乙的含量均呈显著正相关($P<0.05$ 或 $P<0.01$); ΔE^* 与除钩吻素甲外的其余活性成分和总生物碱的含量,以及总生物碱含量与样品对HepG2细胞的半数抑制浓度均呈显著负相关($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 随砂炒时间的延长,钩吻炮制品色泽逐渐趋于棕褐色,7种活性成分和总生物碱含量逐步降低,抗HepG2细胞活性整体呈下降趋势;砂炒75 s是上述变化的关键时间转折点。

关键词 钩吻;砂炒钩吻;色度值;活性成分;抗肿瘤活性;总生物碱;相关性分析;减毒存效

Study on changes and correlations of color, components and anti-tumor activity of processed products of *Gelsemium elegans* at different sand-frying durations

WU Hao¹, CHEN Lisong¹, HUANG Chenglong¹, WANG Yueling¹, CHEN Lirong¹, WANG Wenyi², WANG Yinghao¹, LI Desen¹, WU Shuisheng¹, CHEN Ying¹ (1. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China; 2. Science and Technology Innovation and Transformation Center, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the changes and correlations of color, components and anti-tumor activity of *Gelsemium elegans* during sand-frying processing, so as to provide a reference for the toxicity-attenuating and efficacy-preserving processing as well as quality control of sand-fried *G. elegans* decoction pieces. **METHODS** Raw *G. elegans* and its processed products prepared by sand-frying for 15, 30, 75, 105 and 120 s were taken as test samples. The chromatic values, contents of total alkaloids and seven main active components (gelsemine, humantenine, koumine, gelsenicine, etc.) were determined. Their *in vitro* anti-tumor activity was investigated. The correlations between color and component contents, as well as between total alkaloid content and anti-tumor activity were analyzed. **RESULTS** The color of *G. elegans* samples generally darkened after sand-frying, and the total color difference (ΔE^*) of samples sand-fried for 75 s was greater than 20. At the initial stage of sand-frying (15-30 s), the total alkaloid content in processed products decreased sharply compared with the raw material; at the later-stage of sand-frying (75-105 s), the declining rate of total alkaloid content slowed down and tended to be stable. The contents of gelsenicine and humantenidine in processed products dropped drastically at 30 s of sand-frying, while the contents of koumine and sempervirine decreased substantially (by about 80%) after 75 s of sand-frying and then gradually tended to be stable. The anti-HepG2 cell proliferation activity of each processed product decreased with the extension of frying time. Correlation analysis demonstrated that color brightness and yellow-blue chromaticity were significantly positively correlated with the contents of total alkaloids and all determined active components except gelsemine ($P<0.05$ or $P<0.01$); red-green chromaticity was significantly positively correlated with the contents of koumine, sempervirine,

Δ 基金项目 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目-临床中医学(No.zyyzdxk-2023107);国家中医药管理局全国老药工传承工作室建设项目(No.国中医药人教函[2025]181号);福建省科技计划引导性项目(No.2025Y0027);福建中医药大学高层次人才科研项目(No.X2024010-人才)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中药药效物质基础及作用机制。E-mail:823540399@qq.com

通信作者 讲师,博士。研究方向:中药药效物质基础及药性。E-mail:chenying578119815@163.com

gelsemivirine and humantenidine ($P<0.05$ or $P<0.01$); ΔE^* was significantly negatively correlated with the contents of total alkaloids and all determined active components except gelsemine. Besides, total alkaloid content was significantly negatively correlated with the half maximal inhibitory concentration of the samples on HepG2 cells ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** With the prolongation of sand-frying time, the color of sand-fried *G.elegans* decoction pieces gradually turned brownish-brown, the contents of seven active components and total alkaloids decreased progressively, and its anti-HepG2 cell activity showed an overall downward trend. Sand-frying for 75 s serves as a critical turning-point for the above-mentioned changes.

KEYWORDS *Gelsemium elegans*; sand-fried *Gelsemium elegans*; chromatic value; active components; anti-tumor activity; total alkaloids; correlation analysis; toxicity-attenuating and efficacy-preserving

钩吻 *Gelsemium elegans* (Gardn. & Champ.) Benth. 为马钱科钩吻属植物, 又名断肠草, 始载于《神农本草经》^[1], 药用部位为根和茎^[2]。钩吻药材性温, 味苦、辛, 有大毒, 具有祛风散瘀、消肿拔毒等功效, 是闽产特色毒性中药^[3]。传统钩吻生品一般以外用为主, 用于治疗风湿痹痛、神经痛等症^[4]; 龙岩民间亦有服用炮制钩吻茎的情况, 主要用于防治恶性肿瘤、肝硬化腹水及关节病变等^[5]。研究表明, 钩吻中钩吻素甲、胡蔓藤碱丙、钩吻素子等吲哚类生物碱既是主要活性成分(具有抗肿瘤、抗炎、镇痛等多种生物活性), 又是重要毒性成分^[6-8]。由于钩吻生品毒性强、安全窗窄, 临床应用受到一定限制。实现减毒及安全有效用药, 是进一步开发利用钩吻的关键。

我国对有毒中药“减毒纠偏”的探索历史悠久。砂炒法作为传统炮制方法, 具有受热均匀、升温迅速的特点, 适用于毒性成分对热不稳定的饮片^[9]。本课题组前期系统研究了多种钩吻“减毒存效”方案, 发现高温砂炒工艺可在降低钩吻毒性的同时保留其镇痛活性^[10-12]; 然而, 钩吻经砂炒后, 其外观性状及成分等均发生了明显变化, 且该工艺仍处于实验室探索阶段, 主要依靠人工经验辨别炮制程度, 缺乏客观量化的炮制参数和质量控制体系。

中药饮片的颜色是炮制火候与内在质量的关键指示性指标, 历代本草强调“辨状论质”, 现代研究也证实饮片颜色变化与其化学成分含量密切相关^[13]。如已有研究将传统饮片色泽辨别经验转化为色度值等客观参数, 用于马钱子^[14]、半夏^[15]等毒性中药炮制程度的快速评价和质量控制。另有研究显示, 钩吻生品中总生物碱对人肝癌 HepG2 细胞等多种肿瘤细胞具有抑制作用^[6]。但钩吻经砂炒后, 其色泽、内在成分、抗肿瘤活性变化及三者的关联性尚不明确。因此, 本研究通过对不同砂炒时间钩吻炮制品的颜色进行量化表征, 测定其总生物碱及钩吻素甲、胡蔓藤碱丙等 7 种活性成分的含量, 并分析其对 HepG2 细胞增殖活性的影响。在此基础上, 探究不同砂炒时间钩吻炮制品颜色-成分-抗肿瘤活性的相关性, 为砂炒钩吻饮片的“减毒存效”和质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC H-Class 型超高效液相色谱仪购

自美国 Waters 公司; SF180C 型中药粉碎机购自湖南中诚制药机械厂; ME204E 型万分之一分析电子天平购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; TDL-40B 型离心机购自上海安亭科学仪器厂; CR7 型分光色差仪购自深圳市三恩时科技有限公司; UV-5200 型紫外-可见分光光度计购自上海元析仪器有限公司; Infinite 200 Pro 型酶标仪购自瑞士 Tecan 公司; Milli-Q 型超纯水仪购自美国 Millipore 公司。

1.2 药材与试剂

钩吻药材于 2024 年 11 月 14 日采自福建省福州市闽侯县, 经福建中医药大学药学院王河山高级实验师鉴定为马钱科植物钩吻 *G. elegans* (Gardn. & Champ.) Benth. 的鲜茎。

对照品钩吻素子(批号 D09JB170837)、钩吻素甲(批号 D22GB172080)、钩吻绿碱(批号 JB336808)、胡蔓藤碱乙(批号 JB336809)的质量分数均不低于 98%, 对照品钩吻素己(批号 JB240326)、胡蔓藤碱丙(批号 JB336810)的质量分数均大于 96%, 以上对照品均购自上海源叶生物科技有限公司; 对照品常绿钩吻碱为本实验室自制(批号 20240901, 质量分数 $\geq 95\%$)。乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 细胞

人肝癌 HepG2 细胞株购自苏州海星生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 不同砂炒时间钩吻炮制品的制备

取钩吻鲜茎, 切制成直径 2~4 cm、厚度约 2 mm 的饮片, 60 °C 烘干。平行取钩吻干燥生品饮片(记为“RS”)6 份, 每份约 50 g, 将其中 1 份 RS 作为生品对照, 不进行炒制。其余 5 份 RS 进行砂炒炮制: 取洁净河砂置于炒制容器内, 武火预热至砂粒呈流利流动状态, 河砂用量以可完全掩埋生品饮片为宜^[12]; 控制砂炒温度为 200~220 °C, 分别炒制 15、30、75、105、120 s(对应 5 份 RS)。炒制结束后, 立即出料, 迅速筛除河砂, 将饮片摊晾至室温, 即得不同砂炒时间钩吻炮制品, 分别记为 PS-1、PS-2、PS-3、PS-4、PS-5, 详见图 1。将以上样品粉碎, 过 40 目筛, 备用。

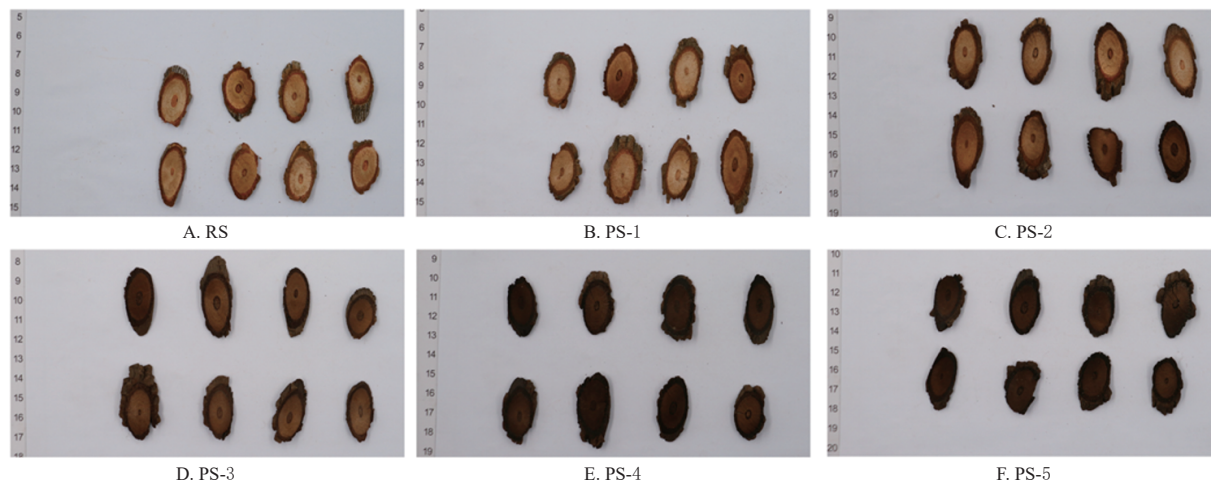


图1 各钩吻样品的外观图

2.2 样品色度值测定与分析

分别称取钩吻样品粉末各约1 g,以RS为对照,采用分光色差仪逐个采集样品色度值参数,包括颜色亮度(L^*)、红绿色度(a^*)、黄蓝色度(b^*)。每个样品重复测定3次,取平均值。根据以下公式计算总色差值(ΔE^*): $\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$;其中明度差 $\Delta L^* = L_{\text{样品}}^* - L_{\text{RS}}^*$,红-绿色品指数差 $\Delta a^* = a_{\text{样品}}^* - a_{\text{RS}}^*$,黄-蓝色品指数差 $\Delta b^* = b_{\text{样品}}^* - b_{\text{RS}}^*$ [16]。

结果(表1)显示,与RS相比,不同砂炒时间钩吻炮制品的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE^* 均明显改变,说明其颜色发生了明显变化。随着砂炒时间的延长,钩吻炮制品的 L^* 、 a^* 、 b^* 均呈降低趋势,而 ΔE^* 明显升高。这说明随着砂炒时间的延长,钩吻炮制品的颜色逐渐变暗,红色和黄色程度降低。其中, L^* 的整体变化相对较小,PS-3、PS-4、PS-5样品的 ΔE^* 均大于20,说明炒制75、105、120 s的样品颜色较RS有肉眼可见的差异,也提示砂炒75 s是钩吻炮制程度改变的关键时间点,这与本校药学院吴水生教授(全国老药工)的经验判别结果一致。

表1 不同砂炒时间钩吻炮制品的色度值变化($n=3$)

样品	L^*	a^*	b^*	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*	经验判别
RS	68.4	7.6	20.3	0	0	0	0	生品
PS-1	62.6	8.1	18.3	-5.8	0.5	-2.0	6.1	炮制不足
PS-2	56.0	7.0	13.4	-12.4	-0.6	-6.9	14.1	炮制适中
PS-3	49.4	6.1	9.3	-18.0	-1.5	-11.0	21.9	炮制稍过
PS-4	45.9	4.5	6.0	-22.5	-3.1	-14.3	26.8	炮制太过
PS-5	45.1	4.0	5.3	-23.3	-3.6	-15.0	28.0	炮制太过

2.3 酸性染料比色法测定样品中总生物碱含量

2.3.1 样品溶液制备

分别称取钩吻样品粉末各约5 g,置于50 mL离心管中,精密加入90%乙醇25 mL,摇匀,浸泡0.5 h后,60℃超声(功率250 W,频率50 kHz)提取30 min,然后以3 500 r/min离心10 min,取上清液;药渣重复提取1次,合并2次上清液,用旋转蒸发仪浓缩后,用超纯水定容至10 mL。取上述提取液,用30 mL二氯甲烷萃取至无色,

合并萃取液,减压回收浓缩后,冷冻干燥,得冻干粉末。取冻干粉末适量,精密加入1 mol/L盐酸溶液50 μ L,再加入无水乙醇配制质量浓度为0.4 mg/mL的样品溶液,备用。

2.3.2 标准曲线建立

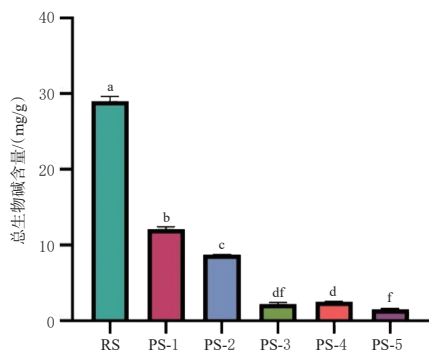
参照本课题组前期方法 [17] 建立标准曲线:精密称取钩吻素甲对照品适量于2 mL容量瓶中,先后加入1 mol/L盐酸50 μ L和适量无水乙醇溶解,得到质量浓度为1.116 mg/mL的钩吻素甲对照品贮备液。精密吸取钩吻素甲对照品贮备液10、20、40、50、60、80 μ L,分别置于60 mL分液漏斗中,挥干乙醇;加入pH4.0的醋酸-醋酸钠缓冲溶液5 mL、溴甲酚绿酸性染料溶液0.5 mL,然后加入7 mL二氯甲烷萃取,静置40 min后,将二氯甲烷层倒出,终止反应。以同法处理的二氯甲烷空白显色体系为对照,采用紫外-可见分光光度计在410 nm波长处测定上述显色体系的吸光度。以对照品含量(X)为横坐标,吸光度(Y)为纵坐标进行线性回归,得到回归方程为 $Y=0.0015 X+0.218$ ($r=0.9952$)。

2.3.3 样品中总生物碱含量测定

分别精密吸取“2.3.1”项下样品溶液0.2 mL于60 mL分液漏斗中,按“2.3.2”项下方法测定吸光度并通过标准曲线计算钩吻素甲含量,然后按以下公式计算样品中总生物碱含量:总生物碱含量(mg/g)=钩吻素甲含量 $\times$ 提取液体积与吸取液体体积的比值/(1 000 $\times$ 钩吻冻干粉质量)。实验重复3次。采用SPSS 26.0软件进行统计分析;经Shapiro-Wilk正态性检验,数据符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组间比较采用单因素方差分析,方差齐性时组间两两比较采用LSD- t 检验,方差不齐时组间两两比较采用Tamhane's T_2 检验;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结果(图2)显示,随着砂炒时间的延长,钩吻炮制品中总生物碱含量呈先急后缓的降低趋势。在砂炒前期(15~30 s),钩吻炮制品中总生物碱含量较RS分别降低

了58.13%、69.89%；在砂炒后期(75~105 s)，钩吻炮制品中总生物碱含量的下降趋势变缓，并趋于稳定。



注：图中两样品间字母不同，表示含量差异具有统计学意义($P<0.05$)；字母相同，表示含量差异无统计学意义($P>0.05$)。

图2 不同砂炒时间钩吻样品中总生物碱含量变化($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.4 样品中7种活性成分的含量测定与分析

2.4.1 检测方法与色谱条件

采用本课题组前期建立并经方法学验证的超高效液相色谱法进行测定，色谱条件如下^[18]：采用ACQUITY UPLC BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱，以乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~0.5 min, 12%A；0.5~8.0 min, 12%A→20%A；8.0~11.0 min, 20%A；11.0~13.0 min, 20%A→40%A；13.0~17.0 min, 40%A→70%A；17.0~20.0 min, 70%A)；流速为0.25 mL/min；柱温为30℃；进样量为3 μL；检测波长为254 nm。

2.4.2 混合对照品贮备液制备

精密称取钩吻素甲、胡蔓藤碱丙、钩吻素子、钩吻素己、钩吻绿碱、胡蔓藤碱乙和常绿钩吻碱对照品适量，置于5 mL容量瓶中，用含0.1%甲酸的50%甲醇溶液稀释至刻度，制成上述成分质量浓度分别为63.00、228.25、164.40、80.00、10.00、230.00、126.00 μg/mL的混合对照品贮备液。

2.4.3 供试品溶液制备

精密称取钩吻样品粉末约0.5 g，置于50 mL锥形瓶中，加入含0.1%甲酸的50%甲醇溶液25 mL，密塞，称定质量；超声30 min(功率250 W，频率50 kHz)，再次称定质量，并补足减失的质量，摇匀；以3 000 r/min离心10 min，取上清液，过0.22 μm微孔滤膜，取续滤液，即得。

2.4.4 标准曲线建立

精密量取“2.4.2”项下混合对照品贮备液适量，分别稀释0.6、0.8、2、10、20、40、100、160倍得到系列标准曲线工作液。分别取上述系列工作液和“2.4.2”项下混合对照品贮备液，按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，以对照品质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性

回归。结果(表2)显示，各成分在各自进样质量浓度范围内与峰面积线性关系良好。

表2 钩吻样品中7种活性成分的回归方程及线性范围

成分	回归方程	线性范围/(μg/mL)	r
钩吻素甲	$Y=1\,081.32X-263.83$	0.39~63.00	0.999 6
胡蔓藤碱丙	$Y=923.66X-381.33$	1.43~228.25	0.999 7
钩吻素子	$Y=806.24X-527.20$	1.03~164.40	0.999 9
钩吻素己	$Y=1\,046.59X-242.85$	0.50~80.00	0.999 8
钩吻绿碱	$Y=1\,088.48X+31.80$	0.06~10.00	0.999 4
胡蔓藤碱乙	$Y=924.52X-1\,010.19$	1.44~230.00	0.999 4
常绿钩吻碱	$Y=3\,578.9X-2\,829.88$	0.79~126.00	0.999 8

2.4.5 含量测定与分析

取各钩吻样品粉末适量，分别按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，采用外标法计算各样品中7种活性成分的含量。每份样品平行测定3次。按“2.3.3”项下方法对结果进行统计分析。

结果(表3)显示，经砂炒后，钩吻样品中7种活性成分的含量整体呈降低趋势。PS-2中钩吻素己、胡蔓藤碱乙、钩吻绿碱的含量较RS分别减少74.62%、62.73%、61.58%；PS-3、PS-4、PS-5中三者均未检出。PS-3中常绿钩吻碱和钩吻素子的含量较RS分别减少76.38%、87.15%；PS-4、PS-5中两者的含量分别稳定在0.086~0.124、0.120~0.172 mg/g范围内。胡蔓藤碱丙含量随砂炒时间的延长呈缓慢降低趋势，PS-5中胡蔓藤碱丙含量较RS减少82.03%。

表3 钩吻样品中7种活性成分含量比较($\bar{x} \pm s, n=3, \text{mg/g}$)

成分	RS	PS-1	PS-2	PS-3	PS-4	PS-5
钩吻素甲	0.147±0.006	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
胡蔓藤碱丙	1.575±0.023 ^a	0.674±0.054 ^b	0.534±0.059 ^c	0.405±0.019 ^d	0.336±0.024 ^e	0.283±0.011 ^f
钩吻素子	4.126±0.098 ^a	3.616±0.023 ^b	2.571±0.274 ^c	0.530±0.018 ^d	0.172±0.010 ^e	0.120±0.009 ^f
钩吻素己	1.714±0.029 ^a	0.735±0.035 ^b	0.435±0.047 ^c	未检出	未检出	未检出
钩吻绿碱	0.177±0.012 ^a	0.114±0.012 ^b	0.068±0.005 ^c	未检出	未检出	未检出
胡蔓藤碱乙	5.929±0.098 ^a	3.678±0.048 ^b	2.210±0.113 ^c	未检出	未检出	未检出
常绿钩吻碱	1.266±0.095 ^a	0.948±0.069 ^b	0.972±0.023 ^b	0.299±0.004 ^c	0.124±0.003 ^d	0.086±0.006 ^d

注：两样品间字母不同，表示对应成分含量差异具有统计学意义($P<0.05$)；字母相同，表示含量差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.5 钩吻样品抗肝癌细胞增殖活性考察

2.5.1 药液配制

分别取“2.3.1”项下钩吻冻干粉适量，用二甲亚砜(DMSO)配制成质量浓度为400 μg/mL的样品母液，4℃保存备用。使用前用完全培养基将母液稀释至所需质量浓度。

2.5.2 细胞培养

将HepG2细胞接种至含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的DMEM培养基中，置于37℃、5%CO₂的培养箱中培养。

2.5.3 钩吻样品对HepG2细胞活力的影响

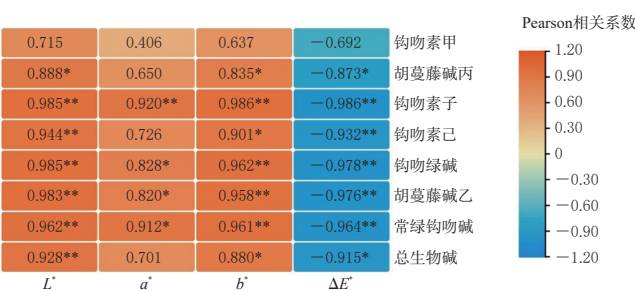
取对数生长期HepG2细胞，经胰蛋白酶消化后，以8.0×10⁴个/mL的密度接种至96孔板中，每孔100 μL。

当细胞汇合度为50%~60%时,将其随机分为空白组(DMEM完全培养基)、DMSO对照组(含0.1%DMSO的DMEM完全培养基)、RS组和不同砂炒时间钩吻样品组[含RS和各炮制品终质量浓度均为0.926、1.852、3.704、7.408、14.815 mg/mL(以生药量计)的DMEM完全培养基,药物浓度参照本课题组前期研究^[9]及预实验结果确定],每组设置3个复孔。培养24 h待细胞贴壁后,吸弃培养基,加入空白/含药培养基100 μL。培养48 h后,加入CCK-8试剂10 μL,避光培养2 h。采用酶标仪于450 nm波长处测定各孔光密度(OD)值,计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率(%)=[1-(实验组OD值-空白组OD值)/(DMSO对照组OD值-空白组OD值)]×100%。采用SPSS 26.0软件计算钩吻样品对HepG2细胞的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)。实验重复3次。

结果显示,RS对HepG2细胞增殖的抑制作用最强(IC₅₀为2.780 mg/mL),其次为PS-1(IC₅₀为3.624 mg/mL);PS-2、PS-3、PS-4、PS-5对HepG2细胞的增殖抑制活性呈逐渐降低趋势,其IC₅₀分别为4.156、4.444、4.202、5.831 mg/mL。

2.6 钩吻样品色度值与成分的相关性分析

采用SPSS 26.0软件对RS和不同砂炒时间钩吻炮制品色度值(L*, a*, b*, ΔE*)与总生物碱及7种活性成分的含量进行Pearson相关性分析。结果(图3)显示, L*, b*与除钩吻素甲外的其余活性成分和总生物碱含量均呈显著正相关(P<0.05或P<0.01); a*与钩吻素子、常绿钩吻碱、钩吻绿碱和胡蔓藤碱乙含量均呈显著正相关(P<0.05或P<0.01); ΔE*与除钩吻素甲外的其余活性成分和总生物碱含量均呈显著负相关(P<0.05或P<0.01)。



注:图中数值表示7种活性成分或总生物碱含量与色度值间的Pearson相关系数,正值表示正相关,负值表示负相关,绝对值越接近1表示相关性越强;“*”表示P<0.05,“**”表示P<0.01。

图3 钩吻样品色度值与7种活性成分及总生物碱含量的相关性分析热图

2.7 钩吻样品中总生物碱含量与HepG2细胞增殖活性的相关性分析

应用SPSS 26.0软件对RS和不同砂炒时间钩吻炮制品中总生物碱含量和样品对HepG2细胞的IC₅₀进行

Pearson相关性分析。结果显示,钩吻样品中总生物碱含量与样品对HepG2细胞的IC₅₀呈显著负相关(r=-0.830, P<0.05),即样品中总生物碱含量越高,样品对HepG2细胞的IC₅₀越低,表现为其对HepG2细胞增殖的抑制作用越强。

3 讨论

3.1 不同砂炒时间钩吻炮制品的颜色变化特征

传统中药炮制强调“贵在适中”,炮制不及或太过均会影响饮片的质量与疗效,饮片颜色变化是判断炮制火候与程度的关键感官指标。色度分析法以客观、量化的方式表征药材颜色,不仅传承了“辨状论质”的传统智慧,而且弥补了人工感官判断易受主观影响、无法精准定量的缺陷,现已广泛应用于中药质量评价领域^[19]。在钩吻砂炒过程中,饮片整体颜色由浅黄色向棕褐色转变。自砂炒开始至75 s,其间各时间点钩吻饮片均呈现肉眼可辨的颜色差异;继续延长砂炒时间,饮片颜色进一步变为焦褐色,ΔE*明显升高,饮片色泽明显加深;砂炒至105 s时,饮片颜色呈焦黑色,并出现焦糊气味,提示样品已炒制太过。

3.2 不同砂炒时间钩吻炮制品中主要成分的动态变化

钩吻中毒性最强的成分钩吻素己、毒性较强的胡蔓藤碱乙和毒性中等的钩吻绿碱均易受高温影响^[20-21]。本研究结果显示,钩吻素己、胡蔓藤碱乙、钩吻绿碱在砂炒75 s时结构几乎均被破坏;同时,毒性较低的钩吻素子、常绿钩吻碱含量经高温砂炒后逐渐降低并趋于稳定,毒性较强的胡蔓藤碱丙的含量在砂炒过程中呈小幅降低趋势。这提示钩吻减毒存效的机制可能与主要毒性成分钩吻素己、胡蔓藤碱乙等转化、降解,毒性较低的成分保留或新成分生成有关,而高温砂炒是降低钩吻毒性较强成分比例的有效途径。

3.3 砂炒过程中钩吻颜色与活性成分含量的关联规律

本研究对钩吻砂炒过程中饮片颜色变化与内在成分含量进行相关性分析,结果发现钩吻素己、胡蔓藤碱乙、胡蔓藤碱丙、钩吻绿碱、钩吻素子、常绿钩吻碱及总生物碱含量与L*, b*均呈显著正相关,与ΔE*均呈显著负相关。这表明上述成分含量变化与饮片色泽参数间存在较强的线性关联,以色度值作为钩吻砂炒过程中成分含量变化的参考指标具有统计学依据,即可通过饮片外观颜色直观评估成分含量高低——随着砂炒时间的延长,钩吻样品外观颜色变暗并趋于棕褐色,主要毒性成分钩吻素己、胡蔓藤碱乙等的含量亦呈降低趋势。

3.4 砂炒对钩吻样品中总生物碱含量及其抗HepG2细胞活性的影响

研究表明,钩吻中总生物碱具有良好的抗肿瘤活性^[8]。然而,本研究结果显示,砂炒钩吻炮制品中总生物

碱含量降低,特别是砂炒初期(15~30 s),样品中总生物碱含量大幅降低,其是否仍保留抗肿瘤活性尚不明确。因此,本研究以RS为自身对照,0.1%DMSO为溶剂对照,进一步探究砂炒过程中钩吻样品对HepG2细胞增殖抑制活性的变化。结果显示,随着砂炒时间的延长,钩吻样品对HepG2细胞的增殖抑制活性整体下降,但未完全消失。相关性分析进一步表明,钩吻样品中总生物碱含量与样品对HepG2细胞的IC₅₀呈显著负相关,提示砂炒后钩吻样品抗HepG2细胞活性下降可能与其总生物碱含量降低有关。

综上,随着砂炒时间的延长,钩吻炮制品色泽逐渐趋于棕褐色,7种活性成分和总生物碱含量逐步降低,抗HepG2细胞活性整体呈下降趋势;砂炒75 s是上述变化的关键时间转折点。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 孙星衍. 神农本草经[M]. 孙冯翼,重辑. 北京:人民卫生出版社,1963:42.
- [2] 广东省药品监督管理局. 广东省中药材标准:第三册[M]. 广州:广东科技出版社,2018:356.
- [3] 石冬梅,苏燕评,吴宏霞,等. 闽产钩吻资源分布及药用部位的研究[J]. 福建医科大学学报,2016,50(3):159-162,185.
- [4] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,1983:118-121.
- [5] 福建省中医药研究院. 福建药物志:第一卷:修订本[M]. 福州:福建科学技术出版社,1994:112
- [6] Liu Y S, Tang Q, Cheng P, et al. Whole-genome sequencing and analysis of the Chinese herbal plant *Gelsemium elegans* [J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(2):374-382.
- [7] Lin H L, Qiu H Q, Cheng Y, et al. *Gelsemium elegans* Benth: chemical components, pharmacological effects, and toxicity mechanisms[J]. Molecules, 2021, 26(23):7145.
- [8] 陈惠娴,王文义,檀兴慧,等. 钩吻总生物碱及常绿钩吻碱的体外抗肿瘤作用及机制[J]. 中国药房,2023,34(12):1437-1442.
- [9] 柳清,洪燕,汪永忠,等. 苍耳子清炒改砂炒炮制工艺研究[J]. 中草药,2016,47(15):2656-2662.
- [10] 朱翠萍,高汉云,赵茜茜,等. 钩吻配伍玉叶金花对外排转运蛋白BCRP和药物代谢酶CYP3A11的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(1):58-64.
- [11] 李德森,王文义,吴水生. 基于太阳蓄血“方证相关”的钩吻减毒存效的实验研究[J]. 时珍国医国药,2020,31(3):567-570.
- [12] 吴水生,李德森,许豪然,等. 基于谱效关系的钩吻炮制减毒存效的实验研究[J]. 中医药学报,2017,45(5):80-84.
- [13] 刘天睿,金艳,孟虎彪,等. 论中药“辨状论质”之辨色泽与品质评价的生物学内涵研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(19):4545-4554.
- [14] 张宏伟,林秀敏,王彦志,等. 不同炮制程度制马钱子毒性成分与色度变化研究[J]. 时珍国医国药,2024,35(3):629-633.
- [15] 崔美娜,钟凌云,兰泽伦,等. 法半夏多物料多流程炮制工艺及饮片色泽研究[J]. 中华中医药杂志,2022,37(2):1051-1055.
- [16] 周巧,吕佳,朱娟娟,等. 不同炮制时间制吴茱萸色、味与成分的变化表征及相关性研究[J]. 中草药,2025,56(22):8153-8161.
- [17] 李德森,王英豪,吴水生,等. 钩吻配伍减毒存效作用实验研究[J]. 福建中医药,2018,49(2):17-19,23.
- [18] 黄美霞,叶璐,洪怀山,等. 超高效液相色谱质谱法同时测定不同发酵天数钩吻中7种化学成分的含量[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(19):2403-2406.
- [19] 郑长辉,马丽娜,何婷,等. 基于“表里关联”的酒柴胡炮制工艺优化及颜色与质量关联性分析[J]. 中草药,2025,56(20):7344-7354.
- [20] Li N P, Yang Y R, Zhang S Y, et al. The toxic components, toxicological mechanism and effective antidote for *Gelsemium elegans* poisoning[J]. Acta Pharm Sin B, 2025, 15(9):4872-4885.
- [21] 任丽,李高攀,湛赛男,等. 钩吻炮制减毒存效的物质基础分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(3):117-124.

(收稿日期:2026-04-12 修回日期:2026-08-20)

(本文责编:林 静)