

# 大黄真伪鉴定与质量控制方法研究进展<sup>△</sup>

陈敏<sup>1\*</sup>,王静<sup>2</sup>,林祥杰<sup>1</sup>,姚金剑<sup>1</sup>,张波<sup>1#</sup>,王晓<sup>3</sup>[1.临沂大学药学院,山东临沂 276000;2.临沂市中医医院肿瘤科,山东临沂 276000;3.齐鲁工业大学(山东省科学院)山东省分析测试中心/山东省中药质量控制技术重点实验室(筹),济南 250014]

中图分类号 R282 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)18-2583-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.18.24

**摘要** 目的:为大黄的临床用药安全、真伪鉴别提供参考。方法:以“大黄”“唐古特大黄”“掌叶大黄”“药用大黄”“大黄属”“酸模属”“鉴定”“质量控制”“质量评价”“安全性评价”“*Rhei Radix et Rhizoma*”“*Rheum tanguticum Maxim. ex Balf.*”“*Rheum palmatum L.*”“*Rheum officinale Baill.*”“*Rheum*”“*Rumex*”“*Rhubarb*”“Identification”“Quality control”“Quality evaluation”“Safety evaluation”等为关键词,在中国知网、万方数据、维普网、ScienceDirect、PubMed、Web of Science等数据库中单独或组合查询1999年1月—2019年1月发表的相关文献,对大黄的真伪鉴定、质量控制与评价方法作一综述。结果与结论:共检索到相关文献4 223篇,其中有效文献57篇。大黄真伪鉴定方法主要有性状鉴别、显微鉴别、薄层色谱鉴别、分子鉴别等方法,性状、显微、薄层色谱鉴别方法均具有简便、快速、不依赖仪器设备、成本低廉等优点,其不足之处在于性状鉴别和显微鉴别结果客观性偏弱,薄层色谱鉴别对掺伪样品的鉴别能力较弱;分子鉴别虽技术水平高、准确性及客观性强、适用性广,但如何降低其检测成本、简化操作是亟须解决的问题;质量控制方法主要有光谱测定技术、色谱及色谱-质谱联用技术、毛细管电泳技术、一测多评技术、指纹图谱技术、免疫检测技术等,色谱法、色谱-质谱联用法、毛细管电泳技术、一测多评技术、免疫检测法等均是以1种或少数几种中药有效成分为出发点而建立的质量评价方法,方法准确可靠、科学性强,但较光谱法和指纹图谱法等以成分群或药材整体来评价药材质量的方法则略显片面;安全性评价主要包括电感耦合技术测定重金属含量,以气相色谱法测定农药残留。

**关键词** 大黄;鉴定;质量控制;质量评价;安全性评价

大黄(*Rhei Radix et Rhizoma*)为蓼科植物掌叶大黄(*Rheum palmatum L.*)、唐古特大黄(*R. tanguticum Maxim. ex Balf.*)或药用大黄(*R. officinale Baill.*)的干燥根和根茎,是我国传统四大中药之一。大黄具有泻下、抗菌、抗炎、降脂、保肝、利胆、利尿、抗凝血、抗氧化、抗肿瘤、预防慢性肾衰竭、治疗肥胖性疾病等多种药理作用,临床应用十分广泛<sup>[1]</sup>。

大黄具有重要的药用价值和经济价值,市场流通量大,且属于出口较多的大宗药材之一。但由于大黄为多基源植物,且与同属和酸模属多种植物在性状及显微特征上较为相似,致使当前市场上大黄的品种混乱且有部分伪品出现。此外,大黄多为人工栽培,栽培环境差异、生长年限不同、原植物品种不同等多种因素亦导致其质量参差不齐<sup>[2]</sup>。大黄主要含有蒽醌类、蒽酮类、鞣质类、二苯乙烯类、苯丁酮类、有机酸类及多糖类等多种化学成分<sup>[3]</sup>,其中我国药典以蒽醌类成分总量作为大黄质量评

价指标,而日本药典及韩国药典则以番泻苷A作为质量评价指标性成分<sup>[4-6]</sup>。大黄国际间的质量评价标准不一致,给大黄药材的国际贸易带来较多不便。为此,本研究以“大黄”“唐古特大黄”“掌叶大黄”“药用大黄”“大黄属”“酸模属”“鉴定”“质量控制”“质量评价”“安全性评价”“*Rhei Radix et Rhizoma*”“*Rheum tanguticum Maxim. ex Balf.*”“*Rheum palmatum L.*”“*Rheum officinale Baill.*”“*Rheum*”“*Rumex*”“*Rhubarb*”“Identification”“Quality control”“Quality evaluation”“Safety evaluation”等为关键词,在中国知网、万方数据、维普网、ScienceDirect、PubMed、Web of Science等数据库中单独或组合查询1999年1月—2019年1月发表的相关文献。结果,共检索到相关文献4 223篇,其中有效文献57篇。现对大黄的真伪鉴定、质量控制与评价方法作一综述,旨在为大黄的临床用药安全、真伪鉴别提供参考。

## 1 真伪鉴定

大黄为多来源药用植物,包括掌叶大黄、药用大黄和唐古特大黄。除此三者之外,蓼科大黄属及酸模属多种植物与大黄相似,在个别地区存在被误用的情况,其中包括蓼科植物如河套大黄(*R. hotaoense C. Y. Cheng et Kao*)、华北大黄(*R. franzenbachii Munt.*)、藏边大黄(*R. emodii Wall.*)和疏枝大黄(*R. spiciforme Royle*)以及酸模属植物如尼泊尔酸模(*Rumex nepalensis S.*)、羊蹄(*R. japonicas Houtt.*)、巴天酸模(*R. patientis L.*)、齿果酸

△ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81803674);山东省自然科学基金资助项目(No.ZR2017BH010、ZR2019PH071);大学生创新创业训练计划项目(No.201910452056);山东省中药质量控制技术重点实验室开放课题

\* 助教,硕士。研究方向:中药制剂与中药质量控制。电话:0539-7258639。E-mail:chenminjz@lyu.edu.cn

# 通信作者:教授,博士。研究方向:中药质量控制与品质评价。电话:0539-7258639。E-mail:zhangboyxy@lyu.edu.cn

模(*R. dentatus* L.)、长刺酸模(*R. maritimus* L.)、钝叶酸模(*R. obtusifolius* L.)等,以上10种植物的干燥根及根茎均为伪品大黄<sup>[7-8]</sup>。对于大黄及其伪品可通过性状鉴别、显微鉴别、薄层色谱(TLC)鉴别及分子鉴别等手段进行鉴定。

### 1.1 性状鉴别

性状鉴别是对药材的多种外在特征进行直接观察,以区分药材真伪优劣。3种正品大黄和10种常见伪品大黄在性状上的区别<sup>[9-11]</sup>见表1。由表1可见,大黄与伪

品大黄在表面颜色、有无星点及气味强弱等方面均具有一定差异:正品大黄表面呈黄棕色至红棕色,断面呈淡红棕色或黄棕色,根茎髓部有星点、具清香气味;而伪品大黄表面颜色较深,多为黄灰色、棕灰色或棕褐色,断面无星点,香气微弱。性状鉴别具有简便易行、鉴别快速的特点,但准确率及客观性不佳;再者因栽培地区气候、水文、地形等自然环境因素、原植物种类及栽培技术的不同,大黄的性状也存在一定差异,给性状鉴别增加了一定难度<sup>[12]</sup>。

表1 大黄及其常见伪品的性状鉴别特征

种类	形状	大小(长,cm×直径,cm)	表面特征	质地	断面	气味
掌叶大黄	类圆柱形、圆锥形,不规则瓣块状或片状	(3~25)×(3~10)	浅黄棕色至红棕色,有横皱和纵沟	质坚硬,有的中心稍松软,不易折断	淡黄色、黄棕色或淡红棕色;星点明显,环列或散在;木质部射线较密,形成层环明显;髓部宽广,有星点环列或散在	气清香,味苦而不涩
唐古特大黄	类圆锥形、纺锤形或圆柱形	(3~17)×(5~11)	黄棕色或红棕色,可见到类白色菱形的网状纹理,有时可见菊花状螺旋形星点	质坚硬,有的中心稍松软,不易折断	黄棕色,髓部横断面有星点	气清香,味苦而不涩
药用大黄	多形如马蹄,少数亦呈圆锥形或腰鼓形	(6~12)×(5~8)	黄棕色或黄色,有微弯曲的棕色线纹	质疏松,富纤维性,不易折断	黄褐色,多空腔,星点较大,排列不规则;根茎近顶端髓部横断面星点突起,环列或散在	气味较弱
河套大黄	类圆锥形或圆柱形	(5~20)×(2~7)	灰褐色或灰黑色,多纵沟及纵皱纹,去栓皮后表面黄褐色	质坚硬不易折断	横断面淡黄棕色,髓部横断面无星点	香气微弱,味涩而微苦
华北大黄	不规则类圆柱形	(5~10)×(1.5~5)	红褐色而黄,无横纹	质坚硬不易折断	根茎髓部横断面无星点,有细密而直的红棕色射线,新断面呈黄至棕红色	气微,味苦而涩
藏边大黄	类圆锥形	(4~20)×(1~5)	红棕色或灰褐色,具纵皱纹	质坚硬不易折断	灰蓝色,有明显的形成层环,射线棕红色,无星点;根茎髓部横断面无星点,木质部发达,具放射状纹理	香气微弱,味苦微涩
疏枝大黄	类圆柱形、圆锥形或不规则块状	(3~15)×(0.5~1.5)	黄棕色或红棕色	质坚硬易折断	白色至淡粉红色或黄棕色,呈颗粒状;髓部呈红棕色,根木质部较发达,具放射状纹理,无星点	气清香,味苦微涩
尼泊尔酸模	圆锥形	(3~13)×(0.4~2)	黄灰色	质坚硬易折断	淡棕色或黄棕色,无星点;木质部较宽,约占主根的2/3	气微,味苦涩
羊蹄	类圆锥形	(6~18)×(0.8~2.5)	棕灰色,具纵皱纹及横向突起的皮孔样疤痕	质坚硬易折断	黄灰色,颗粒状,无星点	香气微弱
巴天酸模	类圆锥形	(5~15)×(0.4~5)	棕灰色,具纵皱纹与点状突起的须根痕及横向延长的皮孔样疤痕;根头部有茎基残余及棕黑色鳞片状物和须根,下有密集横纹	质坚硬易折断	黄灰色,纤维状,无星点	气微,味苦
齿果酸模	类长条形	(5~15)×(0.4~1.5)	黄白色或棕灰色,根茎部顶端有茎基残留;根部少有分支	质坚硬易折断	灰白色,有棕色形成层环及放射纹,无星点	气微,味稍涩
长刺酸模	类圆锥形	(5~15)×(0.4~1.5)	棕褐色	质坚硬易折断	土黄色,断面不平整,常空心,无星点	气微,味微涩
钝叶酸模	类圆锥形	(10~25)×(0.6~1.8)	棕灰色,有纵向稍扭曲的粗皱纹	质坚硬不易折断	皮部黄色,木质部淡黄色,中心部黄棕色,无星点	气香,味微苦涩

### 1.2 显微鉴别

显微鉴别是采用显微镜观察中药材内部组织构造、细胞及细胞内含物的形态特征来鉴定中药材的方法,相对简便、快速。大量学者采用显微鉴别的方法对正品大黄和伪品大黄进行了鉴别<sup>[7-12]</sup>,本研究就上述10种常见

的伪品大黄和3种正品大黄的显微特征进行了总结与对比,详见表2。

此外,丁宁等<sup>[13]</sup>将草酸钙簇晶棱角(晶瓣外缘角)的角度值作为中药显微鉴定的新参数进行研究,其采用显微观察和拍摄技术获取中药大黄的草酸钙簇晶图像,并

表2 大黄及其常见伪品的显微鉴别特征

种类	粉末特征			
	颜色	草酸钙簇晶	导管 淀粉粒	
掌叶大黄	淡黄棕色	直径21~125 μm,棱角大多短钝,也有较长尖	网纹导管多见,并有具缘纹孔导管及螺旋导管,直径11~140 μm	单粒类球形或多角形,直径5~32 μm;复粒较多,由2~5分粒组成
唐古特大黄	黄棕色	直径12~138 μm,棱角大多长而尖	网纹导管较多见,直径11~144 μm	单粒类球形,直径3~24 μm;复粒较多,由2~12分粒组成
药用大黄	深棕色	直径13~170 μm,棱角大多短尖	网纹导管多见,并有具缘纹孔导管,排列紧密,直径16~190 μm	单粒类球形,直径5~44 μm;复粒较多,由2~8分粒组成
河套大黄	淡黄棕色	直径22~60 μm,棱角大多短钝	网纹导管多见,直径30~59 μm	单粒直径3~24 μm;复粒多由2~6分粒组成
华北大黄	深棕色	直径30~67 μm,棱角大多短钝,有的宽大,有的边缘棱角不清晰	网纹导管多见,稀环纹,螺旋导管,直径30~59 μm	单粒直径4~32 μm;复粒多由2~3分粒组成
藏边大黄	棕黄色	直径8~138 μm,棱角大多短钝	网纹导管和螺旋导管,直径约至150 μm	单粒类球形,直径3~48 μm;复粒由2~4分粒组成
疏枝大黄	黄棕色	直径20~130 μm,棱角大多短钝	网纹导管或梯纹导管,直径25~50 μm	单粒类球形或多角形,直径18~25 μm;复粒由2~4分粒组成
尼泊尔酸模	深黄棕色	数量众多,直径4 μm左右	网纹导管多见,并有具缘纹孔导管和细小螺旋导管,直径30~110 μm	数量较少,脐点多呈星状;复粒多由2~4分粒组成
羊蹄	浅黄棕色	数量众多,直径49~124 μm,棱角较钝	网纹导管多见,并有螺旋导管,直径49~125 μm	单粒长圆形,直径5~25 μm,脐点呈星点状;复粒由2到多粒组成
巴天酸模	黄棕色	数量少,直径30~60 μm	网纹导管和具缘纹孔导管多见	多为单粒,类球形,直径3~10 μm
齿果酸模	黄色	数量众多,直径34~139 μm,棱角钝	螺旋导管多见,直径25~50 μm	复粒由2~4分粒组成,直径5~25 μm
长刺酸模	土褐色	数量少,个体细小	具缘纹孔导管多见,并具有网纹导管	多为单粒,类球形,直径3~10 μm
钝叶酸模	淡黄棕色	数量众多,直径23~49 μm,棱角钝	网纹导管多见,并具有梯纹导管	单粒呈椭圆形或卵形,少为类球形,直径3.5~14 μm;复粒由2~3分粒组成

测量其簇晶棱角的角度值,统计分析结果显示,大黄的草酸钙簇晶棱角的平均角度值为63.04,与其他药材的簇晶角度有显著性差异( $P<0.05$ ),可作为大黄显微鉴定新的参考依据。

### 1.3 TLC鉴别

TLC是进行中药鉴定的一种常用方法和重要技术,准确性和专属性较强。2015年版《中国药典》(一部)收录了以土大黄苷为鉴别指标的TLC鉴别方法,展开剂为石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1,  $V/V/V$ )的上层溶液<sup>[9]</sup>。为获得更好的检测效果,尚磊<sup>[14]</sup>以土大黄苷为检测指标,对提取溶剂、提取方法、薄层展开剂进行了优化,最终确定提取溶剂为甲醇,以超声波提取作为供试品溶液制备方法、以苯-甲酸乙酯-甲酸-甲醇(30:10:0.1:15,  $V/V/V/V$ )为展开剂,用于河套大黄和华北大黄2种伪品与正品大黄饮片的区分,效果较好;该研究还对10批市售大黄饮片进行了检测,结果发现其中50%有土大黄苷成分,说明市售药材伪品较多。

### 1.4 分子鉴定

随着分子生物学的快速发展,分子标记技术已成为中药学研究的一项新的技术手段。DNA分子标记技术是目前中药分子鉴定的主要形式,为中药四大鉴定(基源鉴定、性状鉴别、显微鉴别和理化鉴别)方法的重要补充。

费凌云<sup>[15]</sup>采用ITS2碱基序列对中药大黄及其易混伪品(土大黄、虎杖)原植物进行鉴定,通过对3种药材rDNA中ITS2碱基序列的扩增及分析,成功区分了大黄与土大黄、虎杖。费焯等<sup>[16]</sup>采用 $matK$ 基因序列分析技术对高山大黄进行了分子鉴定研究,结果表明高山大黄(*R. nobile* Hook. f. et Thoms) $matK$ 基因序列的特异性位点与掌叶组和波叶组大黄存在显著差异。张晓芹等<sup>[17]</sup>通过对大黄正品基源及常用混淆品药材 $matK$ 基因序列的差异分析,总结了大黄正品基源与混淆品的基因型对应规律,成功鉴别了混淆品与正品的基源,实现了对大黄药材基源品种的鉴定。姬可平等<sup>[18]</sup>对大黄种子DNA中rRNA基因内转录间隔区进行了扩增和测序,其应用rRNA基因间隔区碱基序列分析成功实现了对大黄的鉴定。

## 2 质量控制

2015年版《中国药典》(一部)采用高效液相色谱(HPLC)法,以5种蒽醌类成分的总量(不得少于1.5%)及游离蒽醌的总量(不得少于0.20%)作为含量测定指标用于中药大黄的质量控制<sup>[3]</sup>。日本药典与韩国药典亦采用HPLC法,区别在于以“番泻苷A含量不得低于0.25%”作为大黄质量控制标准。除HPLC法之外,光谱测定技术[如紫外分光光度法、荧光光谱法、近红外光谱(NIR)法]、色谱及色谱-质谱联用技术(如HPLC-MS)、毛细管电泳技术(CE)、一测多评技术(QAMS)、指纹图谱技术、免疫检测技术等也被广泛应用于大黄的质量控制。

### 2.1 紫外分光光度法

在中药成分的含量测定研究中,光谱法具有专属性强、灵敏、准确、快速等优势。比色法是大黄中总蒽醌、鞣质和多糖含量测定的常用方法之一。魏江存等<sup>[19]</sup>以大黄素为对照品,1%醋酸镁甲醇溶液为显色剂,用紫外分光光度法对生大黄和醋大黄中总蒽醌的含量进行了测定,揭示了大黄炮制前后总蒽醌的含量变化。郭东艳等<sup>[20]</sup>采用紫外分光光度法测定了大黄炮制前后(即生药与炭药)的鞣质含量,以磷钼钨为显色剂,干酪素为鞣质吸附剂,没食子酸为对照品,在760 nm波长处测定其吸光度,计算鞣质含量。结果表明,与生药相比,炮制后鞣质含量均有不同程度的降低,该法适用于大黄及其炮制品中鞣质含量的测定。对于大黄中多糖含量的测定,何杏等<sup>[21]</sup>采用水提醇沉法提取大黄多糖,以葡萄糖为对照品,提取物以硫酸-苯酚显色后用紫外分光光度计测定吸光度,可实现对大黄中多糖的快速、准确定量分析。

### 2.2 荧光光谱法

大黄中的蒽醌类、鞣质类、芦荟苷类等物质多具有荧光特性,可采用荧光分光光度法对其进行含量测定。于建玉等<sup>[22]</sup>分别测定了大黄酸和大黄素的荧光光谱,结果表明荧光光谱可准确、清晰地对大黄成分进行测定,测定结果可作为药材评价的参考。李申丽<sup>[23]</sup>研究了大黄酚、大黄素甲醚的荧光光谱,建立了直接用溶液荧光法测定大黄中芦荟大黄素的分析方法,更为快速、便捷。

### 2.3 NIR法

NIR技术是近年来新兴的一种绿色分析技术,具有高效、简便、无损、环保等优点。耿焱等<sup>[24]</sup>通过声光可调滤光器-NIR仪对大黄乙醇提取液比重(密度)及大黄素含量进行在线分析,并采用偏最小二乘法分别建立了NIR与含量、比重(密度)的校正模型。结果,其建立的大黄乙醇提取液NIR校正模型,完成1次比重和含量的测定只需2 min,大大缩短了测定时间。于晓辉等<sup>[25]</sup>采用NIR和径向基函数神经网络对大黄样品中4类有效成分(蒽醌及其单糖苷类、水溶性蒽苷类、芪苷类、鞣质)的含量进行了定量预测,结果表明该法作为中药材复杂体系中化学组分定量测定的方法,可同时对多种组分进行检测。范积平等<sup>[26]</sup>通过HPLC法测定了3个不同产地大黄中大黄素、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素的含量,用41个样品建立了NIR法校对方程,并预测了大黄样品中各上述活性成分的含量,结果其建立的大黄蒽醌类化合物含量测定方法可实现对大黄指标性成分含量的定量分析,且简便、快速。

### 2.4 HPLC法

HPLC法具有灵敏度、准确度、精密度和自动化程序高、重现性好的特点,是近年来大黄分析研究中应用最广泛的检测方法。刘远平等<sup>[27]</sup>采用HPLC法对四川、陕西、云南三地产药用大黄中大黄素、大黄酸、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚等5种游离蒽醌类成分的含量进

行测定,以评价不同产地药用大黄的质量。结果,四川产药用大黄的大黄酸、大黄酚和芦荟大黄素的含量比云南与陕西的高,云南产的芦荟大黄素与大黄素的含量较高,该法可为大黄药材在实际生产和临床应用中的选择提供参考。

程小丽等<sup>[28]</sup>采用 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱,以 0.05% 磷酸-水-乙腈为流动相梯度洗脱、柱温 40 ℃、检测波长 280 nm、检测时间 100 min 为色谱条件,建立了反相高效液相色谱-二级管阵列检测器(RP-HPLC-DAD)法以同时测定大黄中 9 种有效成分含量的方法,其中包括 5 种游离蒽醌类成分、番泻苷 A 和 B、没食子酸及儿茶素等。该方法重复性好,结果准确,为以蒽醌类成分和番泻苷 A 为指标的大黄质量评价方法提供了新的手段。

## 2.5 液-质联用(LC-MS)法

LC-MS 是一种以液相色谱作为分离系统、质谱作为检测系统的分析技术,具有高灵敏度、高选择性、高稳定性及高通量的特点,特别适合于中药复杂成分及其代谢物的定性定量分析。蒋海强等<sup>[29]</sup>采用 HPLC-MS 技术对大黄的主要化学成分进行了分离鉴定与结构解析,结果共鉴别出 25 种化学成分,主要是鞣质类、蒽醌及其苷类化合物,表明 HPLC-MS 法可作为中药大黄化学成分的鉴定方法。王晴等<sup>[30]</sup>采用超高效液相色谱-串联四级杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF/MSE)结合诊断离子过滤法对掌叶大黄中的酚类成分进行了快速分析鉴定,结果共鉴定出 63 个成分,其中包括 36 个简单酚酸类化合物、8 个类黄酮类化合物和 19 个鞣质类化合物,其中 6 个为潜在的新化合物,进一步完善了大黄的药效物质基础信息。

## 2.6 CE 法

CE 法拥有电泳和色谱技术的双重优点,且具有分离快速、效率高、进样体积小、灵敏性高、成本低等特点。曾雪等<sup>[31]</sup>采用 CE 法分离测定了大黄提取物中大黄素、大黄酚和大黄酸的含量,通过加入 β-环糊精和调节

缓冲溶液 pH 实现了更高的分离效率,且分析速度更快。郑文捷等<sup>[32]</sup>通过对待测组分电泳迁移行为的研究以及对待测物质分离影响因素如酸度、缓冲液浓度、聚丙烯酰胺浓度等的考察,首次建立了一种同时分离测定大黄药材及青海野生大黄茶中 3 种主要活性蒽醌成分大黄素、芦荟大黄素、大黄酸含量的胶束毛细管电泳方法,该法简单、快速、准确、重现性好,对于中药大黄及其冲剂中有效成分的分析和质量控制具有重要的实用价值。刘训红等<sup>[33]</sup>采用胶束电动毛细管色谱(MEKC)-DAD 分离并同时测定了不同产地 10 批大黄及其炮制品中大黄素、大黄酚、大黄酸、芦荟大黄素及大黄素甲醚的含量,该方法简单、准确,重现性好,可用于大黄饮片内在质量的评价和控制。

## 2.7 指纹图谱研究

中药的化学成分多样,单一或少数几个指标性成分的检测往往难以反映中药的整体质量和疗效。中药指纹图谱具有系统性、重现性和特征性等特点,能够较全面反映中药品质,现已成为国际公认的中药鉴定和质量控制的有效手段<sup>[34]</sup>。常见的指纹图谱方法为色谱指纹图谱,如 HPLC 指纹图谱、UPLC 指纹图谱、MEKC 指纹图谱、微乳电动毛细管色谱(MEEKC)指纹图谱。色谱法可使各成分的色谱峰得到有效分离,可较为全面地检测其多种成分在中药材中分布的全貌,且操作简单易行,结果准确,是目前报道的大黄指纹图谱的主要研究方法<sup>[35-42]</sup>。光谱指纹图谱包括红外光谱(IR)<sup>[43]</sup>和 NIR<sup>[44-45]</sup>指纹图谱。其中,IR 具有操作简便、快速无损及样品制备简单等优点,目前已广泛用于中药的定性鉴别和定量研究。电化学法如洛索夫-扎鲍京斯基化学振荡技术可用于大黄电化学指纹图谱,方法简便、可靠、快速、直观,可对不同来源大黄进行定性分析<sup>[46-47]</sup>。随着科学技术的进步以及研究的深入,各种技术的产生和应用为大黄指纹图谱的研究方法拓宽了道路,各指纹图谱的特点及应用举例详见表 3。

表 3 大黄指纹图谱研究

方法	研究对象	结果	参考文献
HPLC	10 个不同产地的正品大黄	确定共有峰 24 个,相似度均大于 0.92;鉴定了 13 个成分	[35]
HPLC	10 批不同大黄饮片和 10 批不同大黄煮散颗粒	确定共有峰均为 14 个,相似度均大于 0.90;鉴定了 5 个成分	[36]
HPLC	青海 5 个产地的唐古特大黄和 5 个产地的掌叶大黄	确定共有峰 14 个,相似度均大于 0.93	[37]
UPLC-Q-TOF/MSE	10 批掌叶大黄药材	确定共有峰 21 个,相似度均大于 0.93;鉴定了 71 个成分	[38]
UPLC	3 个品种大黄对照药材和不同产地 21 批市售大黄饮片	确定共有峰 19 个,相似度为 0.60~0.93;鉴定了 14 个成分	[39]
UPLC	10 批市售生大黄饮片及其炮制品	确定共有峰 9 个,相似度为 0.64~0.92;炮制品与生品差异显著	[40]
MEKC-DAD	10 批不同产地的掌叶大黄	确定共有峰 11 个,相似度均大于 0.85;鉴定了 5 个成分	[41]
MEEKC	14 批不同来源的掌叶大黄	确定共有峰 17 个,相似度均大于 0.74;鉴定了 4 个成分	[42]
IR	10 批不同产地的正品大黄	确定共有峰 10 个,相似度均大于 0.96	[43]
NIR	14 批唐古特大黄和 15 批炮制品	大黄生品确定共有峰 6 个,相似度均大于 0.90;炮制品与生品差异显著	[44]
近红外漫反射光谱法	50 批不同产地正品大黄和 3 批伪品大黄	正品与伪品大黄的相似系数 < 0.68,正品大黄药材之间的相似系数均大于 0.81,同产地药材之间的相似系数均大于 0.92	[45]
非线性化学	不同来源的正品大黄	不同来源大黄的线性化学指纹图谱主要参数(诱导时间、停振时间、震荡寿命等)有较大区别,且诱导曲线、震荡曲线的形状不同,可对不同来源大黄进行定性分析	[46]
BZ 电化学振荡技术	正品大黄与山大黄	大黄与山大黄电学指纹图谱的诱导时间曲线和振荡波形差异性明显,诱导时间、振荡周期和振幅明显不同,可对正品大黄与山大黄进行鉴别	[47]

## 2.8 QAMS 法

HPLC 定量检测蒽醌类成分的分析方法多采用外标

法进行分析,近年来 QAMS 法作为适用于中药多成分、多功效作用评价的新模式和新方法,已经越来越多地被

应用于中药质量控制研究中,成为其定量评价的重要手段<sup>[48]</sup>。QAMS是利用中药有效成分之间的内在函数和比例关系,通过测定一个成分(对照品易得到)而实现多个成分(对照品难以得到或供应)的同步测定的多指标质量评价模式。QAMS是在外标法、内标法及校正因子法等分析方法的基础上发展起来的,适用于对照品不稳定或对照品成本高、制备难度大的中药材多成分质量控制,具有简单、快捷、操作成本低的优点<sup>[48]</sup>。谭玉柱等<sup>[49]</sup>采用基于QAMS的HPLC法对大黄地上部位提取物中的大黄素、大黄酚、芦荟大黄素和大黄素甲醚的含量进行测定,建立了大黄素与大黄酚、芦荟大黄素和大黄素甲醚的相对校正因子(RCF),通过测定大黄素的含量,再以RCF计算大黄酚、芦荟大黄素和大黄素甲醚的含量,并与外标法进行比较。结果,两种方法所得4种成分的含量无显著性差异( $P>0.05$ ),表明QAMS可用于大黄地上部位提取物的质量控制。

李树翠等<sup>[50]</sup>采用QAMS法对大黄及其提取物和制剂中5种蒽醌类成分的含量进行同步测定,分别以芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚为内参物,计算大黄及其制剂中其余4种成分的含量,比较5个内参物的适用性。最终确定以大黄素作为内参物,建立其与另外4种成分的RCF;通过测定大黄素的含量,计算其余4种成分的含量,并与外标法测定结果比较,并利用相对误差来评价QAMS方法的准确度。结果,两种测定结果之间无显著性差异( $P>0.05$ ),表明QAMS可用于大黄及其制剂中蒽醌类成分的质量评价。

## 2.9 免疫检测技术

近年来,免疫检测技术作为一种快速检测中药材的有效手段逐渐被应用于中药领域研究。免疫检测技术是一种利用抗原与抗体的特异性结合反应与其他显色反应相结合的定性定量检测技术,具有简便快捷、灵敏度高、特异性强、检测快速、仪器依赖性低、高通量等优点<sup>[51]</sup>。张波等<sup>[52]</sup>建立了大黄药材中大黄酸的酶联免疫吸附测定(ELISA)法,该法通过采用碳二亚胺法活化大黄酸,将其分别与牛血清白蛋白及鸡卵清白蛋白偶联制备免疫抗原及包被抗原,用免疫原免疫Bal b/c雌性小鼠制备抗血清,再利用包被抗原和抗血清建立的ELISA检测方法。该法灵敏度( $IC_{50}$ )达 $185.82\ \mu\text{g/L}$ ,检测范围( $IC_{20}\sim IC_{80}$ )为 $21.99\sim 1\ 569.99\ \mu\text{g/L}$ 。Zhang Y等<sup>[53]</sup>以大黄酸与牛血清白蛋白的偶联物为免疫抗原,通过免疫母鸡后,从鸡蛋中分离抗体,利用量子点标记抗体后,制备了检测大黄酸的免疫层析试纸,并利用试纸条读取器建立了定量检测大黄酸的检测方法,该方法检测限为 $98.2\ \text{ng/mL}$ ,检测范围为 $80\sim 5\ 000\ \text{ng/mL}$ ,为中药材中大黄酸的快速检测提供了有效手段。

## 3 安全性评价

药材质量低劣是影响中药现代化的“瓶颈”,而国际市场对无污染、绿色药材的需求,需要研究者从中药材

的规范化种植入手,严格把控药材的加工运输过程,以最大程度降低外源性有害物质污染的概率。为了保证中药的用药安全,除了需要注意药材真伪和有效成分含量等问题外,对于外源性有害物质的检测与控制,如重金属超标、农药残留也是国际上十分关注的问题。

### 3.1 重金属检测

中药材的重金属含量控制也是保障中药质量的重要途径。目前,对大黄中重金属检测的方法主要有电感耦合等离子体质谱法、原子荧光光谱法或原子吸收光谱法。王珺等<sup>[54]</sup>采用电感耦合等离子体质谱法对20批松潘地产大黄药材中的铅、镉、汞、铜、砷等5种重金属元素含量进行测定,以评价该地区大黄药材的安全性。结果,20批大黄样品中,5种重金属元素含量均低于国家限量标准。周萍等<sup>[55]</sup>采用原子荧光光谱法测定甘肃不同产地大黄中铅、镉、砷、汞等4种重金属的含量。结果,不同产地大黄中重金属元素的含量有一定差异,但其含量均未超出国家限量标准。

### 3.2 农药残留检测

由于中药资源的复杂化,一些药材因不规范种植或土壤被污染而可能导致其农药残留超限,因此有必要制定合理的大黄药材中农药残留量的检测限量,以对大黄药材中农药残留量进行控制。庞作正等<sup>[56]</sup>采用顶空气相色谱法测定大黄中代森锰锌农药残留量,结果4批不同产地的大黄残留量均不超过药品中农药最大残留量的国家标准,且检测方法简便、快速、灵敏度高。欧阳晓玫等<sup>[57]</sup>采用气相色谱法测定包括大黄在内的甘肃五大宗药材中的农药残留量,结果五大宗药材中有机氯类农药残留量均符合规定。

## 4 结语

大黄为常用大宗药材之一,保障大黄的货真质优对大黄的临床应用及其国际贸易具有十分重要的意义。通过本综述可知:性状鉴别、显微鉴别、TLC鉴别及分子鉴别可有效实现正品大黄及其伪品的真伪鉴别,性状、显微、TLC鉴别方法均具有简便、快速、不依赖仪器设备、成本低廉等优点,其不足之处在于性状鉴别和显微鉴别结果客观性偏弱,TLC鉴别对掺伪样品的鉴别能力较弱;分子鉴别虽技术水平高、准确性及客观性强、适用性广,但如何降低其检测成本、简化操作是亟须解决的问题。性状鉴别、显微鉴别、TLC鉴别更适用于中药材交易的现场鉴别,而分子鉴别则更多应用于大黄及其混伪品的植物基源鉴定。

光谱法、色谱法、色谱-质谱联用法、CE法、指纹图谱法、QAMS法、免疫检测法等方法可以实现对大黄的质量控制与品质优劣评价;色谱法、色谱-质谱联用法、CE法、QAMS法、免疫检测法等均是1种或少数几种中药有效成分为出发点而建立的质量评价方法,方法准确可靠、科学性强,但较光谱法和指纹图谱法等以成分群或药材整体来评价药材质量的方法则略显片面。此外,电

感耦合及气相色谱法可以分别用于大黄重金属及农药残留的安全性评价。

综上,大黄真伪优劣鉴别及质量评价方法众多,对大黄的质量保障提供了有力支撑。但对于大黄国际标准不统一的问题,笔者认为,以蒽醌类成分总量以及番泻苷A含量两类成分共同为指标性成分用于大黄质量控制更为全面,且现有报道的HPLC法可以实现对上述两种成分的同时测定。另外,随着国家大力发展中医药事业,中药的国民认可度正不断提升,中药的消费量及使用率不断提高,因此,建立适用于普通大众的简便易懂的中药鉴定与评价方法以及便于中药贸易交流的中药现场鉴定技术均具有重要的实用价值,亦是今后大黄鉴定与评价方法的研究方向。

## 参考文献

- [1] 孙汉青,李锦萍,刘力宽,等.大黄化学成分与药理作用研究进展[J].青海草业,2018,27(1):47-51.
- [2] 师霞,郭玫,余晓辉,等.产地对大黄药材质量的影响[J].时珍国医国药,2004,15(7):401-402.
- [3] 傅兴圣,陈菲,刘训红,等.大黄化学成分与药理作用研究新进展[J].中国新药杂志,2011,20(16):1534-1538.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:23.
- [5] Ministry of Food and Drug Safety. *Korean Pharmacopoeia: part II* [S].10th ed. Seoul: Korea Institute of Health, 2012:1358.
- [6] Pharmaceutical and Food Safety Bureau. *Japanese Pharmacopoeia*[S].16th ed. Tokyo: Ministry of Health, Labour and Welfare, 2011:1723.
- [7] 邓玉环.土大黄基源鉴定及质量标准研究[D].太原:山西省中医药研究院,2016.
- [8] 罗嫚.大黄与土大黄的药学鉴定[J].内蒙古中医药,2011,30(24):46.
- [9] 任伟光,王琦,黄林芳.大黄类药材的质量评价进展[J].中南药学,2014,12(4):354-359.
- [10] 邓玉环,郭丁丁,倪艳,等.5种酸模属药用植物的形态组织学研究[J].中国药房,2016,27(31):4367-4369.
- [11] 高慧新,田慧.酸模属植物研究概况[J].壮瑶药研究,2018(1):25-31.
- [12] 何雪梅.大黄与伪品大黄的鉴定方法探究[J].中国社区医师,2018,34(13):17-18.
- [13] 丁宁,周汉华,邵晓霜,等.草酸钙簇晶棱角角度用于中药鉴定的研究[J].中国民族民间医药,2018,27(17):35-41.
- [14] 尚磊.薄层色谱法鉴别大黄饮片真伪[J].食品与药品,2014,16(3):201-203.
- [15] 费凌云.大黄与易混伪品土大黄、虎杖原植物的ITS2序列鉴定[J].世界最新医学信息文摘,2015,15(5):132-242.
- [16] 费焯,付深振,吴浩忠,等.高山大黄的显微及分子鉴定研究[J].世界中医药,2015,10(2):261-264.
- [17] 张晓芹,刘春生,闫兴丽,等.多基源药材大黄叶绿体matK基因序列分析及鉴定研究[J].药学学报,2013,48(11):1722-1728.
- [18] 姬可平,李啸红,李应东,等.应用rRNA基因间隔区碱基测序对中药(大黄)进行鉴定[J].世界科学技术,2002,4(4):44-47.
- [19] 魏江存,陈勇,谢臻,等.紫外可见分光光度法测定生大黄和醋大黄的总蒽醌含量[J].井冈山大学学报(自然科学版),2017,38(6):88-92.
- [20] 郭东艳,师延琼,王幸,等.大黄不同炮制品中鞣质含量的测定[J].现代中医药,2012,32(4):76-78.
- [21] 何杏,江培,王金宏.大黄中多糖的含量测定[J].黑龙江医药,2013,26(2):169-171.
- [22] 于建玉,于建娟,丁厚伟.中药大黄及其有效成分的荧光光谱分析[J].中国处方药,2014,12(11):115-116.
- [23] 李申丽.中药大黄三维荧光图谱解析及活性成分测定方法研究[D].石家庄:河北师范大学,2009.
- [24] 耿昭,胡浩武,李胜华,等.近红外光谱在中药大黄乙醇提取液快速分析中的应用研究[J].应用化工,2011,40(5):900-902.
- [25] 于晓辉,张卓勇,马群,等.径向基函数神经网络和近红外光谱用于大黄中有效成分的定量预测[J].光谱学与光谱分析,2007,27(3):481-485.
- [26] 范积平,张贞良,张柳瑛,等.近红外光谱法测定药用大黄中4种蒽醌类成分[J].第二军医大学学报,2005,26(10):1194-1195.
- [27] 刘远平,陈粟.不同产地药用大黄中5种游离蒽醌的含量测定[J].亚太传统医药,2016,12(15):42-44.
- [28] 程小丽,魏胜利,刘春生,等. RP-HPLC-DAD同时测定大黄中9种有效成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(18):99-103.
- [29] 蒋海强,容蓉,吕青涛.大黄化学成分的液相色谱-质谱联用鉴别[J].时珍国医国药,2011,22(7):1705-1706.
- [30] 王晴,卢志威,刘月红,等. UPLC-Q-TOF/MSE结合诊断离子过滤方法快速分析大黄中酚类成分[J].中国中药杂志,2017,42(10):1922-1931.
- [31] 曾雪,杨元娟,陈竹,等.毛细管区带电泳测定大黄提取物中有效成分的含量[J].重庆医学,2018,47(2):220-222.
- [32] 郑文捷,陈兴国,贾伟.高效毛细管电泳法测定中药大黄及青海野生大黄茶中活性蒽醌类成分的含量[J].中国中药杂志,2004,29(9):870-873.
- [33] 刘训红,李俊松,张月婵,等. MEKC-DAD同时测定大黄及其炮制品中5种蒽醌的含量[J].药物分析杂志,2010,30(5):814-818.
- [34] 徐妍,杨华蕊,杨永寿,等.中药指纹图谱研究现状及展望[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(76):91-94.
- [35] 袁晓,高俊飞,曹建,等.大黄药材蒽醌成分的HPLC指纹图谱研究[J].天然产物研究与开发,2012,24(1):36-40.
- [36] 任虹,傅超美,何瑶,等.大黄煮散颗粒与大黄饮片的HPLC指纹图谱对比研究[J].中药与临床,2017,8(1):18-22.
- [37] 王宁芳.青海不同产区大黄的HPLC指纹图谱的对比研究[J].安徽农业科学,2014,42(12):3477-3478,3482.
- [38] 赵倩,陈育鹏,崔旭盛,等.掌叶大黄UPLC多指标成分测

# 泻白散及其加减方的临床应用研究进展<sup>△</sup>

林倩\*,于帅,董丹华,赵赞赞,张康华,姜珊,高鹏,代龙<sup>#</sup>(山东中医药大学药学院,济南 250355)

中图分类号 R285.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)18-2589-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.18.25

**摘要** 目的:为泻白散及其加减方的现代开发和应用提供参考。方法:以“泻白散”“临床应用”“Xiebai Powder”“Clinical application”等为关键词,在中国知网、万方数据、维普网、PubMed、Web of Science等数据库中组合查询1985—2019年4月发表的相关文献,对泻白散及其加减方的临床应用进行综述。结果与结论:共检索到相关文献265篇,其中有效文献37篇。泻白散及其加减方的临床应用较多,主要应用于治疗呼吸系统疾病、皮肤病、鼻病、小儿顽固性厌食症、肺癌等疾病,疗效较好;但泻白散成方的作用靶点尚未明确,研究机制大多集中在抗炎机制方面,研究内容相对局限。

**关键词** 泻白散;临床应用;研究进展

泻白散又名泻肺散,出自宋·钱乙《小儿药证直诀》<sup>[1]</sup>。该方由桑白皮、地骨皮、甘草、粳米组成,有清泻肺热、止咳平喘的功效。桑白皮中含有黄酮类、二苯乙烯类、香豆素类、甾体类等多种活性成分<sup>[2]</sup>;地骨皮主要含有有机

酸类、二酰胺类、八肽类、生物碱类以及酚类等化合物<sup>[3]</sup>。方中桑白皮、地骨皮能清肺中伏火以消郁热,甘草、粳米可养胃和中、助生肺气,使该方在清泻肺热时不至于伤及脾胃,常用于小儿咳嗽<sup>[4]</sup>。后世医者对泻白散进行加

- 定及指纹图谱研究[J].药物分析杂志,2018,38(10):1697-1710.
- [39] 杜清涛,温金莲,严优芍,等.不同品种不同产地大黄UPLC指纹图谱研究[J].中药材,2013,36(5):725-731.
- [40] 李会芳,王伽伯,金城,等.基于UPLC指纹图谱的市售大黄不同饮片品质研究[J].时珍国医国药,2012,23(9):2314-2316.
- [41] 刘训红,李俊松,张月婵,等.大黄饮片MEKC-DAD指纹图谱的研究[J].中国中药杂志,2009,34(23):3034-3038.
- [42] 李楠,潘红,丁绍东,等.微乳电动毛细管色谱在掌叶大黄指纹图谱上的应用[J].分析试验室,2008,27(9):69-72.
- [43] 郭兴蕾,徐海星,许沛虎,等.不同产地大黄红外指纹图谱及相似度分析[J].中国药师,2018,21(7):1174-1176.
- [44] 马丹,顾志荣,甘玉伟,等.唐古特大黄及其不同炮制品的近红外光谱分析[J].中药材,2015,38(9):1842-1845.
- [45] 范积平,张柳瑛,张贞良,等.不同产地大黄药材的近红外漫反射光谱法鉴别[J].药学实践杂志,2005,23(3):148-150.
- [46] 陈振华,程旺兴,方成武,等.大黄的非线性化学指纹图谱研究[J].分子科学学报,2013,29(3):190-197.
- [47] 张秀莉,佟德成,李守君,等.中药大黄电化学指纹图谱研究[J].黑龙江医药科学,2010,33(2):21-22.
- [48] 朱晶晶,王智民,高慧敏,等.一测多评法在中药质量评价中的应用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(16):220-228.
- [49] 谭玉柱,童婷婷,赵高琼,等.基于一测多评法对大黄地上部位提取物的质量控制研究[J].中草药,2013,44(9):1190-1194.
- [50] 李树翠,冯俭,张秋燕,等.采用“一测多评”法测定大黄及其制剂中大黄蒽醌类成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(10):66-71.
- [51] ZHANG B, NAN T, ZHAN Z, et al. Development of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for luteoloside detection in Flos Lonicerae Japonicae[J]. *Anal Bio Chem*, 2016, 408(22):6053-6061.
- [52] 张波,袁媛,黄璐琦,等.大黄酸人工抗原合成及免疫原性鉴定[J].中国中药杂志,2015,40(8):1463-1467.
- [53] ZHANG Y, KONG H, LIU X, et al. Quantum dot-based lateral-flow immunoassay for rapid detection of rhein using specific egg yolk antibodies[J]. *Artif Cell Nanomed Bio*, 2018, 46(8):1685-1693.
- [54] 王珺,金琰琰,方成武,等.电感耦合等离子体质谱法测定松潘地产大黄药材中重金属元素[J].安徽中医学院学报,2012,31(2):61-64.
- [55] 周萍,周浓,杨颖,等.甘肃不同产地大黄中重金属的含量测定[J].中国现代应用药学,2011,28(3):234-236.
- [56] 庞作正,孙晖,薛健,等.顶空气相色谱法测定大黄中代森锰锌农药残留[J].中华中医药杂志,2012,27(5):1283-1285.
- [57] 欧阳晓玫,何英梅,贺军权,等.甘肃五大中药材农残及重金属检测[J].中医学报,2005,33(5):26-28.

△ 基金项目:国家科技重大新药创制专项项目(No.2018ZX09721-004)

\* 硕士研究生。研究方向:中药制剂新技术、新剂型研究。E-mail:lq1076617370@163.com

# 通信作者:教授,硕士生导师,硕士。研究方向:中药制剂新技术、新剂型研究。E-mail:2665275709@qq.com

(收稿日期:2019-05-14 修回日期:2019-08-13)  
(编辑:孙冰)