

大黄炮制前后物质基础变化研究

胡永淑*(成都市第六人民医院药剂科,成都 610051)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)11-1016-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.11.20

摘要 目的:探讨大黄不同炮制品在炮制前后物质基础的变化规律。方法:分别制备生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭等几种炮制品,采用薄层色谱法测定不同炮制品中干燥失质量和酸不溶成分、总灰分、浸出物含量;并测定鞣质及蒽醌含量变化。结果:生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭总灰分及酸不溶成分含量相差不多;酒大黄及熟大黄干燥失质量及浸出物含量没有明显变化,大黄炭干燥失质量及浸出物含量明显降低;大黄在炮制前后蒽醌及鞣质含量发生了变化,且变化程度同炮制条件的强烈程度相关。熟大黄中游离蒽醌含量最高,生大黄中结合蒽醌含量最多。结论:鞣质及蒽醌类物质为大黄泻下解热的物质基础。对饮片不同炮制品的物质基础变化进行研究,可为不同炮制品的质量鉴定提供参考。

关键词 大黄;炮制;物质基础;变化

Change of Material Base of *Rheum palmatum* before and after Processing

HU Yong-shu(Dept.of Pharmacy, The Sixth People's Hospital, Chengdu 610051, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To probe into the change regularity of material base for different specifications of *Rheum palmatum* decoction pieces before and after processing. METHODS: *R. palmatum*, prepared *R. palmatum* with wine, prepared *R. palmatum*, charred *R. palmatum* and other processed preparation were preparation respectively; loss on drying, the contents of acid insoluble components, total ash content and extract in different processed *R. palmatum* products were all determined by TLC. Also, the contents of tannin and anthraquinone were determined. RESULTS: It was similar that the contents of total ash and acid insoluble components in *R. palmatum*, prepared *R. palmatum* with wine, prepared *R. palmatum*, charred *R. palmatum*; no obvious change was found in the loss on drying and the content of extract from prepared *R. palmatum* with wine and prepared *R. palmatum*; the loss on drying and the content of extract from charred *R. palmatum* decreased significantly. The contents of tannin and anthraquinone in *R. palmatum* before and after processing had changes, which were related with the density of process technology. The content of free anthraquinone in prepared *R. palmatum* was the most, and the content of anthraquinone in *R. palmatum* was the most. CONCLUSIONS: Tannin and anthraquinone were the material base for purgation and fever relief. The research on the changes of material base for different processed products can provide reference for the quality identification of different processed products.

KEYWORDS *Rheum palmatum*; Process; Material base; Change

中药炮制是在中医药理论指导下,按照中药药理及药物配伍需求,将药材或饮片进一步加工,使其在炮制后药性发生一定改变,降低或消除毒性及副作用,或者增加某方面疗效,达到增效减毒的目的,使其更适应临床用药需求。而炮制前后药材或饮片自身化学组分及生物活性变化规律,可以丰富药性理论,阐明炮制原理,为制订不同炮制品的质量标准提供可靠依据^[1]。

大黄,始载于《神农本草经》,为蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄等的干燥根和根茎,味苦,性寒,归脾、胃、

大肠、心、肝经^[2]。它既能攻击导滞、通肠泄热,又可以导湿热之邪自大便而出,促进黄疸消退;同时入心肝血分,可以泄血中实热火毒、凉血止血而解毒,还可以通利血脉、活血化瘀。目前,有关大黄的炮制品记载较多,常用的有生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭等4种炮制品。生大黄擅长攻击导滞;酒大黄善解上焦热毒,用于治疗齿龈肿痛、目赤咽痛;熟大黄能泻火解毒,用于治疗疮疡火毒;大黄炭能化瘀、凉血、止血,用于治疗血热积滞的出血诸证。笔者主要以生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭4种大黄炮制品为对象,研究炮制前后化学组分及

- [3] 黄文君,龙凤荣,伍庆,等.RP-HPLC法同时测定痛经宁胶囊中4种有效成分[J].中成药,2012,34(11):2133.
- [4] 田润.HPLC法同时测定妇炎康片中丹酚酸B、隐丹参酮和芍药苷[J].中成药,2013,35(1):91.
- [5] 赵华,李新莉.均匀设计优选胆舒平胶囊的提取工艺研究[J].中医药导报,2012,18(1):65.
- [6] 方开泰.均匀设计与均匀设计表[M].北京:科学出版社,

- 1994:13-98.
- [7] 徐维佳,周海虹,陈少东.均匀设计在中药复方研究中的应用[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(13):236.
- [8] 王晖,陈丽,陈垦,等.多指标综合评价方法及权重系数的选择[J].广东药学院学报,2007,23(5):583.
- [9] 崔红花,赵英日,王淑美.大黄蒽醌类成分的提取方法筛选及均匀设计优化工艺研究[J].中国药房,2010,21(7):612.

*主管中药师。研究方向:临床药学。电话:028-84332066-8085。
E-mail: yshu0606@126.com

(收稿日期:2013-02-07 修回日期:2013-05-08)

物质基础变化,为大黄不同炮制品的质量标准制订提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

722 分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

1.2 饮片

大黄饮片(四川新荷花医药饮片公司,批号:111002)。

1.3 试剂

没食子酸、大黄素、1,8-二羟基蒽醌对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为041105、756-9003、847-4001);碳酸钠(重庆北碚精细化工厂);干酪素(成都科龙化学试剂厂,批号:041005;杭州天和微生物试剂厂,批号:041028)。

2 方法与结果

2.1 大黄不同炮制品的制备

2.1.1 酒大黄 取生大黄饮片适量,按每 100 kg 饮片用 15 kg 黄酒的比例,将大黄饮片用黄酒拌匀,药材闷润 1~2 h,用 80~120 °C 文火炒干,取出晾凉,备用。

2.1.2 熟大黄 取生大黄饮片适量,按照每 100 kg 饮片用 50 kg 黄酒的比例,将大黄饮片用黄酒拌匀,药材闷润 1~2 h,待黄酒被药材吸尽后,将药材装入特制蒸制容器,密封蒸制 18~24 h,待药材表面呈黑褐色,内部呈黄褐色时取出晾干,备用。

2.1.3 大黄炭 取生大黄饮片适量,180~220 °C 下在热锅中用武火炒至表面焦黑、内部焦褐色时,在饮片表面喷淋少许清水,待火星熄灭后取出晾凉,备用。

2.2 样品溶液的制备^[9]

按文献方法,分别将大黄各炮制品粉碎成粗粉,将粗粉过 100 目筛,得到大黄各炮制品粉末样品。将制得的大黄各炮制品粉末用 10 倍量的甲醇提取 3 次,每次 30 min,滤过,减压回收滤液,装于棕色玻璃瓶中,置阴凉处贮藏,得大黄不同炮制品的样品溶液,备用。

2.3 检测项目

2.3.1 薄层色谱(TLC)鉴别 取生大黄粉末样品 0.1 g,加入 20 ml 甲醇浸渍 1 h,滤过后取 5 ml 滤液蒸干,加 10 ml 水溶解后,再加入 1 ml 盐酸,水浴加热 30 min,冷却后用乙醚提取,每次 20 ml,提取 2 次,将提取的乙醚液蒸干,残渣加入氯仿进行溶解,制成 1 ml 的生大黄溶液,作为对照溶液;按上述方法分别制备大黄不同炮制品的溶液。分别吸取生大黄及各炮制品溶液 4 μl,点于同一加入 0.3% 羟甲基纤维素钠的硅胶 H 板上,以正己烷-醋酸乙酯-甲酸(30:10:0.5, V/V/V)为展开剂,展开晾干后,置紫外光灯(365 nm)下检视^[4]。结果,大黄不同炮制品色谱中,在与生大黄色谱相应的位置上,显相同的 5 个橙黄色荧光斑点;经氨蒸气熏后,置日光下检视,斑点变为红色。大黄不同炮制品的 TLC 图见图 1。

2.3.2 鞣质质量分数的测定^[5-6] 精密称取 0.027 mg/ml 的没食子酸溶液 25 ml,置 50 ml 棕色量瓶中,加水稀释至 50 ml,再精密量取 5 ml,加水稀释至 25 ml,摇匀,作为对照品溶液。分别量取大黄不同炮制品的样品溶液 2 ml,置 25 ml 棕色量瓶

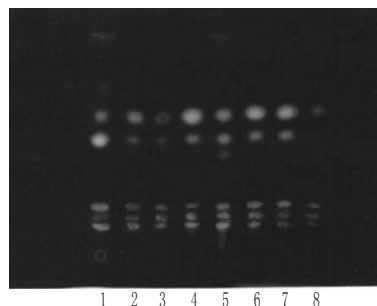


图 1 大黄不同炮制品的 TLC 图

1,5.生大黄;2~4.熟大黄;6~7.酒大黄;8.大黄炭

Fig 1 TLC of processed *R. palmatum* products

1,5. *R. palmatum*; 2-4. prepared *R. palmatum*; 6-7. prepared *R. palmatum* with wine; 8. charred *R. palmatum*

中,加入 1 ml 磷钼钨酸溶液和 10 ml 水,在 760 nm 波长下分别测定吸光度(A),根据回归方程 $[A=5.188 c - 0.005 68 (r=0.999 9)]$, c 为没食子酸质量浓度]计算溶液中没食子酸含量,作为溶液中总酚量。取大黄不同炮制品的样品溶液 12.5 ml,加入含有 0.3 g 干酪素的 50 ml 具塞锥形瓶中,密封后 30 °C 水浴 1 h 保温处理,随后取出,待冷却后滤过,精密量取 2 ml 滤液,置 25 ml 棕色量瓶中,在 760 nm 波长下测定 A ,根据上述回归方程计算溶液中没食子酸的含量,作为不被吸附的多酚量。根据下式计算大黄不同炮制品中鞣质质量分数:鞣质质量分数 = 总酚量 - 不被吸附的多酚量,结果见表 1。

表 1 大黄不同炮制品炮制前后鞣质、蒽醌质量分数测定结果 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab 1 Comparison of the contents of tannin and anthraquinone in *R. palmatum* before and after processing ($\bar{x} \pm s, \%$)

样品	成分			
	鞣质	结合蒽醌	游离蒽醌	总蒽醌
生大黄	2.61 ± 0.21	40.02 ± 4.45	4.08 ± 1.02	44.10 ± 3.04
酒大黄	2.54 ± 0.34	36.21 ± 5.24	5.45 ± 3.12	41.66 ± 4.12
熟大黄	0.39 ± 0.05	17.02 ± 1.36	6.87 ± 1.54	23.89 ± 1.18
大黄炭	0.01 ± 0.01	2.11 ± 1.18	2.58 ± 0.54	4.69 ± 1.89

2.3.3 蒽醌质量分数的测定^[7] 精密称取大黄素对照品 1.24 mg,置 10 ml 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 ml 含 0.124 mg 的大黄素对照品溶液。精密吸取大黄不同炮制品的样品溶液 10 ml,挥去甲醇,作为样品贮备液。加 1.0% 醋酸镁甲醇溶液,定容至 10 ml 量瓶中,摇匀后在 509 nm 波长处测定 A 。根据回归方程 $[A=3.462 4x+0.023 4 (r=0.999 2)]$, x 为黄素进样量,大黄素进样量在 0.024 8~0.248 mg 范围内与吸收度呈良好线性关系]计算溶液中大黄素质量分数,作为溶液中总蒽醌质量分数;取大黄不同炮制品的样品溶液 10 ml,加丙酮稀释至 25 ml 量瓶中,加入 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液(精密称取 1,8-二羟基蒽醌对照品 25 mg,置 50 ml 容量瓶中,加丙酮溶解至刻度),以丙酮为空白,在 460、540 nm 波长处测定 A (蒽醌的最大激发波长为 460 nm,固定该激发波长,扫描得发射图谱,得到其发射波长为 540 nm。选择该最大激发波长和最大发射波长作为测定波长。),根据回归方程 $[A=122.81c+46.224 (r=0.999 6)]$, c 为 1,8-二羟基蒽醌质量浓度,1,8-二羟基

蒽醌质量浓度在0.25~3 μg/ml范围内与吸光度呈良好的线性关系]计算溶液中游离蒽醌含量。并按下式计算结合蒽醌的质量分数:结合蒽醌质量分数=总蒽醌质量分数-游离蒽醌质量分数,结果见表1。

由表1可知,大黄在炮制前、后蒽醌及鞣质含量发生了变化,且变化程度同炮制条件的强烈程度相关。大黄不同炮制品中,熟大黄中游离蒽醌含量最高,生大黄中结合蒽醌含量最高。各成分含量高低排列顺序分别为游离蒽醌:大黄炭<生大黄<酒大黄<熟大黄;结合蒽醌:大黄炭<熟大黄<酒大黄<生大黄;鞣质:大黄炭<熟大黄<酒大黄<生大黄。

2.3.4 其他指标^[6] 按2010年版《中国药典》(一部)中灰分测定法、干燥失质量测定法和浸出物测定法进行检测,分别记录检测结果,结果见表2。

表2 大黄不同炮制品质量检测结果($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab 2 Results of quality test of different processed *R. palmatum* products($\bar{x} \pm s, \%$)

样品	检测指标			
	干燥失质量	总灰分质量分数	酸不溶灰分质量分数	浸出物质量分数
生大黄	6.52±0.41	8.56±0.74	0.58±0.05	47.02±4.31
酒大黄	6.40±0.34	9.24±0.68	0.51±0.04	45.56±3.21
熟大黄	6.12±0.18	9.08±0.65	0.44±0.06	45.42±2.98
大黄炭	5.41±0.24	9.79±0.48	0.48±0.06	13.02±0.71

由表2可知,生大黄、酒大黄、熟大黄、大黄炭总灰分及酸不溶灰分成分含量相差不多;酒大黄、熟大黄干燥失质量及浸出物含量无明显变化,大黄炭干燥失质量及浸出物含量明显降低。

3 讨论

3.1 大黄饮片炮制前后一般项目检测

目前,相关部门沿用《中国药典》中各饮片检测标准对不同中药饮片进行质量检测。规定炮制后干燥失质量应不超过15.0%;总灰分质量分数不得超过10.0%;酸不溶灰分质量分数不得超过0.8%;浸出物质量分数不得少于25.0%。本试验中,生大黄、酒大黄、熟大黄及大黄炭4种大黄炮制品在干燥失质量,总灰分含量、酸不溶灰分含量方面均同国家规定相符合。在浸出物检测上,酒大黄及熟大黄浸出物含量变化不大,高于45%,符合《中国药典》规定,但大黄炭浸出物含量为(13.02±0.71)%,低于《中国药典》标准,这应该同大黄饮片在炒炭过程中因剧烈受热,饮片内成分被大量分解破坏相关。

3.2 大黄饮片炮制前后化学组分含量及药理作用改变

多数学者实验研究证明,大黄的泻下作用同其中含有的鞣质及蒽醌含量多少有密切关系^[9]。生大黄饮片中鞣质含量高,并含有多种苷类组分,因此其具有明显的泻下、解热功效;熟大黄、大黄炭中以蒽醌苷元、没食子酸等化成分为主,而苷类组分的含量下降,因此其泻下、解热作用减弱,活血化瘀功能增强。这些都说明大黄泻下、解热作用与蒽醌含量是密切相关的。同时,泻下解热作用与鞣质含量也呈正相关。传统中医理论中,生大黄苦寒,炮制后苦寒性质得到缓和,且大黄炭苦寒之性基本消失,故大黄苦寒性质强弱同其泻下解热

作用呈正相关。因此,大黄中鞣质及蒽醌含量同大黄苦寒之性相关,为苦寒性质的物质基础,且大黄中鞣质及蒽醌含量变化同大黄药性改变关系密切。

在大黄不同炮制品中,熟大黄中游离蒽醌含量最多,生大黄中结合蒽醌含量最多,并且含量变化与炮制条件的强烈程度相关。生大黄中鞣质含量最高,炮制过程中根据受热程度而减少,其中大黄炭中鞣质含量最低,几乎检测不到。现代药理研究证实,鞣质中的没食子酸及*d*-儿茶素是大黄发挥止血作用的有效成分。但是,在本试验中生大黄中鞣质含量最高,按照药理实验结论,生大黄止血效果应该强于大黄炭及其他炮制品,而临床应用中,大黄炭止血效果最好,两者在理论上相悖,今后还应做进一步研究。大黄炭中总蒽醌含量最低,这应该同炒炭炮制中,条件剧烈,各种化学组分被严重分解破坏有关。熟大黄因为受热时间久,加热温度高,总蒽醌成分也受到显著破坏,而结合蒽醌多分解为游离蒽醌,因此熟大黄中游离蒽醌含量最高。而酒大黄在制备过程中,加热温度低,因此被破坏程度低,蒽醌成分在结合及游离两种类型间相关转化,因此总量变化不大。

总之,从炮制前后鞣质及蒽醌类物质基础含量变化能够显示大黄不同炮制品间药性及毒性差异,反映大黄饮片不同的苦寒性质,从而为不同炮制品临床作用发挥提供科学理论基础,同时也可作为制订不同炮制品的质量标准提供参考。

参考文献

- [1] 宾驰,颜栋林.高效液相色谱法测定中药退黄外洗液中 大黄酸、大黄素、大黄酚的含量[J].临床合理用药杂志, 2011,4(17):48.
- [2] 荆晶,陆小丹,周旭美.HPLC法测定大黄相关制剂中大黄素的含量[J].遵义医学院学报,2010,33(4):83.
- [3] 方既明,章怀奋.高效液相色谱法同时测定麻仁丸中大黄素、大黄酚、大黄酸、大黄素甲醚、芦荟大黄素的含量[J].中南药学,2011,9(5):28.
- [4] 张伟.大黄不同炮制品的功效研究与应用[J].长春中医药大学学报,2010,26(6):156.
- [5] 耿家玲,沈勇,康绍建.HPLC法测定栽培亚大黄中3种成分的含量[J].中国药师,2011,14(5):78.
- [6] 王坤,鲁静.中药材中鞣质含量测定方法的研究[J].中国药事,2004,18(6):361.
- [7] 刘素兰.HPLC法测定三黄片中大黄素及大黄酚的含量[J].中国美容医学,2012,21(14):156
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010;附录53、附录51、附录62.
- [9] 戴晓燕,盛振华,郝云云.不同产地大黄中微量元素含量的主成分分析及聚类分析[J].中华中医药杂志,2012,27(5):231.

(收稿日期:2013-10-30 修回日期:2014-02-10)