

茜草炒炭过程中颜色-成分变化相关性与其“炒炭存性”探索

栾 飞¹, 邹俊波¹, 张小飞¹, 郭东艳¹, 孙 静^{2,3}, 赵重博^{1,2,3*}, 史亚军^{1,2,3*}

1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西省中药饮片工程技术研究中心, 陕西 咸阳 712046

3. 陕西省中药炮制技术传承基地, 陕西 咸阳 712046

摘要: 目的 考察不同炮制程度茜草炭 *Rubiae Radix et Rhizoma Carbonisata* 中化学成分、色度值和凉血止血活性的相关性。方法 制备不同炮制程度的茜草炭样品; 采用紫外分光光度法测定不同炮制程度茜草炭样品中总蒽醌的含量, HPLC 法测定羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素 7 个成分的含量, 采用分光测色仪测定 L^* (颜色亮度)、 a^* (红绿色度)、 b^* (黄蓝色度) 颜色值; 通过 SPSS 26.0 和 SIMCA-P 14.1 软件分别对总蒽醌和 7 种成分含量与颜色进行相关性分析、主成分分析和线性回归分析。建立脂多糖和干酵母发热小鼠模型评价不同炮制程度茜草炭样品的凉血止血作用。结果 在茜草炭炮制过程中, 随着炮制程度的加深, 颜色与有效成分含量有相关关系, 除异茜草素的含量呈上升的趋势且与 L^* 、 a^* 、 b^* 值有显著正相关 ($P < 0.05$) 外, 不同炮制程度茜草炭样品中总蒽醌和其余 7 个成分的含量与 L^* 、 a^* 、 b^* 值总体呈现逐渐下降的趋势, 但无显著性回归关系, 其中大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、总蒽醌与 L^* 、 a^* 、 b^* 值均具有显著性正相关 ($P < 0.01$), 羟基茜草素、大叶茜草素与 a^* 、 b^* 值成正相关 ($P < 0.05$ 、 0.01)。随着炒制时间延长, 止血作用先增加后降低, 凉血作用逐渐降低并消失。结论 茜草炭过程中化学成分和颜色特征的变化存在一定的相关性, 可为茜草炭饮片的质量评价提供参考, 并丰富茜草“炒炭存性”的科学内涵。

关键词: 茜草炭; 颜色; 炮制; 相关性; 主成分; 线性回归; 总蒽醌; 羟基茜草素; 大叶茜草素; 大黄素; 甲基异茜草素; 大黄酚; 1,8-二羟基蒽醌; 异茜草素

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)06-1945-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.06.008

Exploration of correlation between color and component changes during roasting process of *Rubiae Radix et Rhizoma* and its “roasted carbon stability”

LUAN Fei¹, ZOU Junbo¹, ZHANG Xiaofei¹, GUO Dongyan¹, SUN Jing^{2,3}, ZHAO Chongbo^{1,2,3}, SHI Yajun^{1,2,3}

1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Shaanxi Traditional Chinese Medicine Beverage Piece Engineering Technology Research Center, Xianyang 712046, China

3. Shaanxi Traditional Chinese Medicine Concoction Technology Inheritance Base, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between the chemical composition, color value and the activity of cooling blood and hemostasis in different degrees of processing of Qiancaotan (*Rubiae Radix et Rhizoma Carbonisata*, RRRC). **Methods** The RRRC samples with different degrees of processing were prepared; The total anthraquinones of RRRC was determined by ultraviolet spectrophotometry, and the contents of seven components, including hydroxylizarin, rubidin, emodin, methylisozalazarin, chrysophanol and 1,8-dihydroxy-anthraquinone, xanthopurpurin, were determined by HPLC. The L^* (color brightness), a^* (red-green degree) and b^* (yellow-blue degree) values of the colors were measured by a spectrophotometer; Correlation analysis, principal component analysis and regression analysis were performed on the content of total anthraquinones and seven components and colors by SPSS 26.0 and SIMCA-P 14.1 software, respectively. Mice models of lipopolysaccharide and dry yeast fever were established to evaluate the effect

收稿日期: 2024-10-21

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2024CY-JJQ-36); 陕西中医药大学科技创新人才体系建设计划项目 (2024-CXTD-03); 秦创原铜川“科学家+工程师”队伍建设项目; 王昌利全国老药工传承工作室 (国中医药人教函 (2024) 255 号)

作者简介: 栾 飞 (1989—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为中药新剂型与新技术。E-mail: luanfeiren@163.com

*通信作者: 赵重博 (1987—), 男, 副教授, 博士, 从事中药炮制与饮片质量标准研究。E-mail: zhao_chongbo@126.com

史亚军 (1976—), 男, 教授, 博士, 研究方向为中药新剂型与新技术。E-mail: 2051004@sntcm.edu.cn

of cooling blood and hemostasis on the samples of different degrees of processing. **Results** In the process of processing, with the deepening of processing degree, there was a correlation between color and the content of effective components, except the content of xanthopurpurin showed an increasing trend and showed a significant positive correlation with L^* , a^* and b^* values ($P < 0.05$), the contents of total anthraquinones and other seven components and the values of L^* , a^* and b^* of samples with different degrees of processing were gradually decreased, there was no significant regression relationship. The values of L^* , a^* and b^* were positively correlated with emodin, methyl isozalazarin, chrysophanol, 1,8-dihydroxy-anthraquinone and total anthraquinones ($P < 0.01$), and the values of a^* and b^* were positively correlated with those of hydroxy-alizarin and rubidin ($P < 0.05, 0.01$). With the extension of roasting time, the hemostatic effect increased first and then decreased, and the cooling blood effect gradually decreased and disappeared. **Conclusion** There is a certain correlation between the chemical composition and color characteristics in the frying process of RRRC, which can provide reference for the quality evaluation of char decoction pieces and enrich the scientific connotation of “roasted carbon stability” of RRRC.

Key words: *Rubiae Radix et Rhizoma Carbonisata*; color; processing; correlation; principal components; linear regression; total anthraquinones; hydroxyalazarin; rubidin; emodin; methylisozalazarin; chrysophanol; 1,8-dihydroxy-anthraquinone; xanthopurpurin

茜草 *Rubiae Radix et Rhizoma* (RRR) 为茜草科茜草属植物茜草 *Rubia cordifolia* L. 的干燥根和根茎, 性寒、味苦, 归肝经, 具有凉血通经、化瘀止血的功效, 临床上主要用于吐血、衄血、崩漏、外伤出血、跌打肿痛、关节痹痛、经闭瘀阻等症^[1]。茜草炒炭后寒性减弱, 药性收敛, 止血作用增强, 临床上主要用于治疗由血瘀而导致的各种出血症, 为妇科要药^[2]。现代药理研究表明, 茜草有止血、抗肿瘤、抗癫痫、抗病毒、抗微生物和保肝作用^[3], 据临床茜草炭 (*Rubiae Radix et Rhizoma Carbonisata*, RRRC) 用药规律数据显示, 用于止血的使用频次高达 26%, 如崩漏等疾病^[4]。茜草及其炭品均具有化瘀止血的功效, 炒炭能明显增强止血功效, 体现了传统炮制理论“炭药止血”的重要性。炒炭的关键是“存性”, 即所存之性为炮制后保留原有药材的固有特性。

据报道茜草炭的炮制对其活性成分和药效作用尤为重要^[5-6], 但在实际炮制过程中, 对其炮制“存性”程度的把握没有统一的标准, 亟需对茜草炭的外观形状和成分的影响规律进行研究, 药材外观性状是其内部物质组成的外在反映^[7-13]。目前, 《中国药典》2020 年版中收录了生品及其炭品, 并提茜草制炭要求是“武火炒至表面焦黑色”, 可见外观颜色是评价其质量的重要指标之一。在中药饮片质量评价中, 颜色常常作为判断炮制程度的重要依据^[14], 但依靠人的肉眼判别常因描述模糊、个体差异而具有主观性, 且对于颜色的细微差别无法有效分辨。研究人员采用正交试验等方法, 来优化茜草炭的炮制工艺, 但主要聚焦于炒制温度和炒制时间, 并未探讨炮制过程中的色泽和成分之间的关联性, 具有一定的未知性^[15-16]。

目前, 有关于茜草炭颜色-成分的关联性研究以及茜草炒炭增加的成分定量测定的报道^[17-18], 但并未进一步阐明炮制程度与其凉血止血作用之间的关系, 文献“炒炭存性”也只是模糊的主观量化标准, 缺乏客观科学合理的控制方法。基于茜草炭炮制时质量控制指标不统一, 本研究从茜草炭炮制过程中的色泽和成分的角度出发, 建立 HPLC 法和紫外分光光度法测定茜草不同炮制程度样品中羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素以及总蒽醌的定量测定法, 利用电子眼测量其色度值, 并以多元统计学方法对茜草炭的颜色与成分含量进行相关性分析, 寻找茜草炭炮制过程中成分-颜色之间的变化规律。同时结合不同炮制程度样品凉血止血效应变化, 阐明茜草炭“炒炭存性”的科学内涵, 为茜草炭的炮制工艺研究提供数据参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 2695-2996 型高效液相色谱仪, 美国沃特斯公司; New CLassic MS-S 型十万分之一电子天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; XM-P102H 型无极调功超声波清洗机, 昆山超声仪器有限公司; UPL-10 L 型超纯水机, 四川卓越水处理有限公司; TESCAN VEGA3 型扫描电子显微镜 (SEM), 泰斯肯贸易有限公司; CS-520 型分光测色仪, 杭州彩谱科技有限公司; L5 型紫外-可见分光光度计, 上海仪电分析仪器有限公司; PHS-3C 型 PH 计, 上海雷磁仪器有限公司; Miji cube 6 型电陶炉, 上海米技电子电器有限公司; MEN-CI00FA2004N 型全自动血液流变仪, 上海泰益医疗仪器设备有限公司。

1.2 试剂

对照品羟基茜草素（批号 PS012081）、大叶茜草素（批号 PS010875）、大黄素（批号 PS010625）、大黄酚（批号 PS010666）、1,8-二羟基蒽醌（批号 PS010565）、异茜草素（批号 PS012134），质量分数均≥98.0%，购自普思生物科技股份有限公司；对照品甲基异茜草素，批号 AF21020862，质量分数≥98.0%，成都埃法生物科技有限公司；脂多糖，批号 S11060，上海源叶生物科技有限公司；乙腈、甲醇均为色谱纯，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；水为娃哈哈纯净水；其余试剂均为分析纯。

1.3 试药

茜草饮片购自于陕西兴盛德药业有限责任公司，批号 20220620，经陕西中医药大学药学院赵重博副教授鉴定为茜草科茜草属植物茜草 *R. cordifolia* L. 的干燥根和根茎。云南白药，国药准字 Z53020798，批号 ZCA2307，云南白药集团股份有限公司。

1.4 动物

SPF 级 KM 小鼠，体质量（20±2）g，购自陕西中医药大学动物实验中心，许可证号 SCXK（陕）2021-001，本实验已通过陕西中医药大学伦理委员会审批，伦理授权号 SUCMDL20230309003。

2 方法与结果

2.1 茜草炭不同炮制程度样品的制备

参考《中国药典》2020 年版一部和四部通则中要求：取茜草饮片，置热锅内，用武火炒至表面焦黑色，内部焦褐色。结合参考文献和预实验结果，确定茜草炒炭温度为 220 ℃。称取 10 份茜草饮片，每份约 100 g，分别炒 0、1.5、3.0、4.5、6.0、7.5、9.0、10.5、12.0、13.5 min，到达规定时间时取出晾凉，打粉，过四号筛，即得不同炮制程度茜草炭样品，分别编号为 S0～S9，不同炮制程度茜草炭样品的颜色见表 1 和图 1。

2.2 不同炮制程度茜草炭样品中总蒽醌定量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 1,8-二羟基蒽醌 20 mg 至 100 mL 量瓶中，加 0.5%醋酸镁乙醇溶液溶解，并定容至刻度，超声混合均匀后，即得质量浓度为 0.2 mg/mL 的对照品溶液^[19]。

2.2.2 供试品溶液的制备 取茜草炭样品粉末约 1.0 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 70%乙醇 20 mL，称定质量，回流提取 30 min，室温冷却后称定质量，用 70%乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

表 1 茜草在不同炮制时间下的颜色

Table 1 Color of RRR under different processing time				
编号	炒制时间/min	样品表面颜色	样品断面颜色	粉末颜色
S0	0	表面红棕色	紫红色	红棕色
S1	1.5	表面红褐色	红棕色	红褐色
S2	3.0	表面深棕色	红棕褐色	深棕色
S3	4.5	表面深褐色	棕褐色	深褐色
S4	6.0	表面黑色	棕褐色	焦黑色
S5	7.5	表面焦黑色	黑褐色	焦黑色
S6	9.0	表面焦黑色	黑褐色	黑色
S7	10.5	表面黑色	黑褐色	黑色
S8	12.0	表面灰黑色	黑色	灰黑色
S9	13.5	表面灰色	灰黑色	灰色

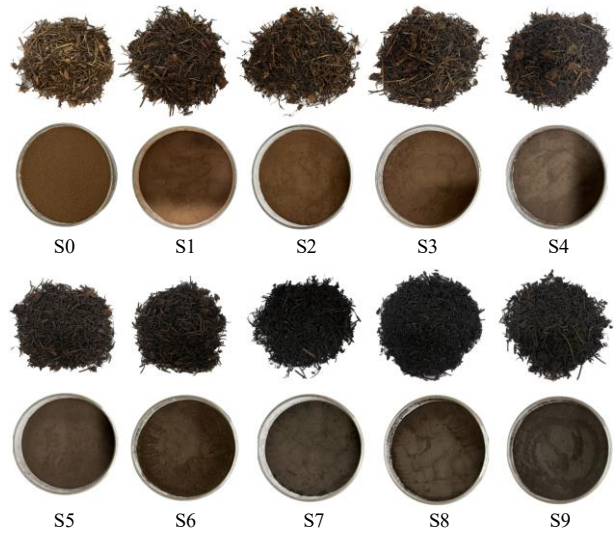


图 1 10 批不同炮制程度的茜草炭及其粉末外观
Fig. 1 Appearance of 10 batches of RRRC and powder with different processing degrees

2.2.3 线性关系考察 分别精密移取 1、2、4、8、16 mL 对照品溶液至 25 mL 量瓶中，加 0.5%醋酸镁乙醇溶液，定容后摇匀；以 0.5%醋酸镁乙醇溶液作为空白试剂，在 520 nm 处测定吸光度（A），以质量浓度为横坐标（X），A 值为纵坐标（Y），绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程为 $Y=3.398 4 X+0.255$ ， $r=0.999 0$ ，线性范围 8~128 μg/mL。

2.2.4 精密度试验 取 1,8-二羟基蒽醌对照品溶液 2 mL，加 0.5%醋酸镁乙醇溶液定容至 25 mL 量瓶中，测定 A 值，连续测定 6 次，计算得其 RSD 为 0.73%，结果表明该仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取茜草炭样品（S1），按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，取 2 mL 供试品溶液加 0.5%醋酸镁乙醇溶液定容至 25 mL 量瓶中，分别在 0、20、40、60、80、100、120 min 测定 A

值, 计算得其 RSD 为 1.16%, 结果表明供试品溶液在 120 min 内稳定性良好。

2.2.6 重复性试验 精密称取茜草炭样品 (S1) 6 份, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 取 2 mL 加 0.5% 醋酸镁乙醇溶液定容至 25 mL 量瓶中, 测定 *A* 值, 计算得 S1 样品中总蒽醌质量分数的 RSD 为 1.02%, 结果表明该方法重复性良好。

2.2.7 加样回收率试验 取已测定总蒽醌含量的茜草炭样品 (S1) 6 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 按样品中 1,8-二羟基蒽醌的含量加入相应量的对照品溶液, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 测定 *A* 值, 计算得 1,8-二羟基蒽醌的平均加样回收率为 98.42%, RSD 为 1.73%, 结果表明该方法加样回收率良好。

2.2.8 样品中总蒽醌定量测定 取茜草炭各样品各 1.0 g, 精密称定, 平行 3 份, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 取 2 mL 加 0.5% 醋酸镁乙醇溶液定容至 25 mL 量瓶中, 测定 *A* 值并计算其含量, 结果 S0~S9 样品中总蒽醌质量分数的平均值分别为 27.89、4.32、2.95、3.22、2.89、1.57、0.50、0.54、0.34、0.23 mg/g。结果发现, 茜草总蒽醌随着炒炭时间的延长呈下降趋势, 且在加热初期就显著下降, 可能与蒽醌类成分不耐热而分解有关。

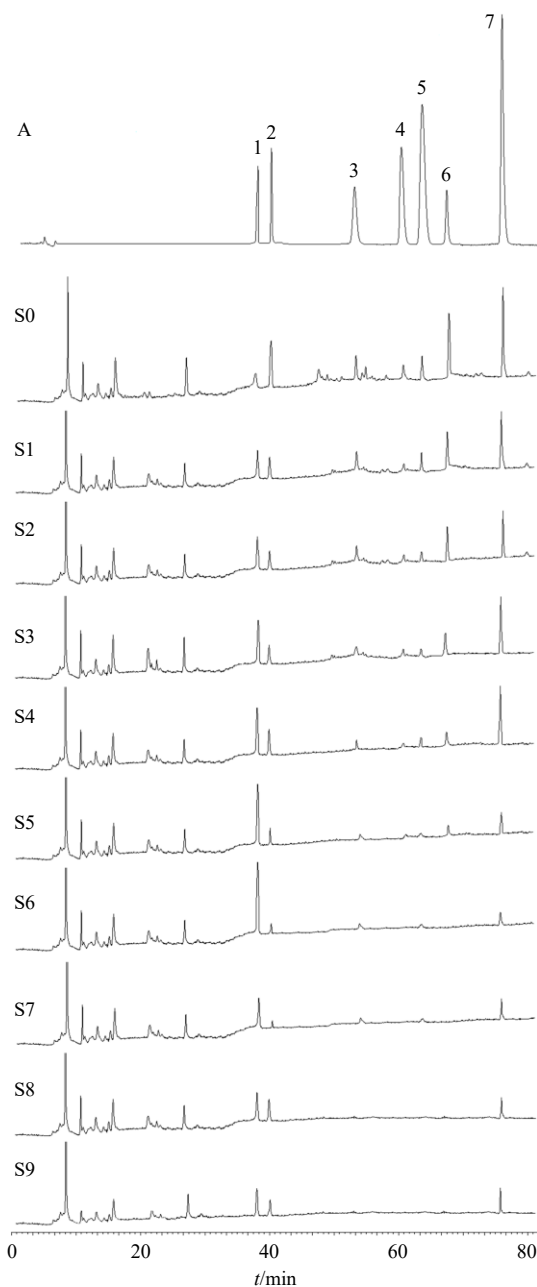
2.3 不同炮制程度茜草炭样品中 7 种代表成分定量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素适量, 加甲醇制成质量浓度依次为 0.268、0.238、0.258、0.218、0.430、0.184、0.141 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取茜草炭样品粉末约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 甲醇 20 mL, 称定质量, 回流提取 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 60% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.3.3 色谱条件^[20-21] 采用 Ultimate XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~5 min, 21%~40% 甲醇; 5~15 min, 40%~45% 甲醇; 15~25 min, 45%~60% 甲醇; 25~35 min, 60%~63% 甲醇; 35~40 min, 63%~65% 甲醇; 40~45 min, 65% 甲醇; 45~55 min, 65%~70% 甲醇; 55~60 min, 70%~75% 甲醇; 60~65 min, 75%~80% 甲醇; 65~70 min,

80%~85% 甲醇; 70~80 min, 85%~100% 甲醇; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 240 nm; 柱温 30 ℃; 进样量 20 μL。混合对照品溶液和供试品溶液的 HPLC 图见图 2。



1-异茜草素; 2-羟基茜草素; 3-1,8-二羟基蒽醌; 4-甲基异茜草素; 5-大黄素; 6-大黄酚; 7-大叶茜草素。

1-xanthopurpurin; 2-hydroxyalizarin; 3-1,8-dihydroxy-anthraquinone; 4-methylisoalizarin; 5-emodin; 6-chrysophanol; 7-rubiadin.

图 2 混合对照品溶液 (A) 及不同炮制程度茜草炭样品溶液 (S0~S9) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances solution (A) and RRRC sample solutions with different processing degrees (S0—S9)

2.3.4 线性关系考察 将“2.3.1”项下混合对照品溶液稀释至系列质量浓度,按照“2.3.3”项下色谱条件进样测定,以对照品溶液的质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程分别为羟基茜草素 $Y=7 \times 10^7 X-71\ 181$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 $1.072 \sim 26.800\ \mu\text{g/mL}$; 大叶茜草素 $Y=6 \times 10^7 X-96\ 931$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 $0.952 \sim 23.800\ \mu\text{g/mL}$; 大黄素 $Y=6 \times 10^7 X-158\ 217$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 $1.032 \sim 25.800\ \mu\text{g/mL}$; 甲基异茜草素 $Y=9 \times 10^7 X-67\ 059$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 $0.872 \sim 21.800\ \mu\text{g/mL}$; 大黄酚 $Y=3 \times 10^7 X+28\ 789$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 $1.720 \sim 43.000\ \mu\text{g/mL}$; 1,8-二羟基蒽醌 $Y=4 \times 10^7 X-28\ 687$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 $0.736 \sim 18.400\ \mu\text{g/mL}$; 异茜草素 $Y=6 \times 10^7 X-26\ 873$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 $0.564 \sim 14.100\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.3.5 精密度试验 取混合对照品溶液,按照“2.3.3”项下色谱条件连续进样测定 6 次,计算得到羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素峰面积的 RSD 分别为 0.71%、0.89%、0.75%、1.52%、0.67%、0.73%、1.32%,结果表明该仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取 S1 供试品溶液,分别在制备后 0、2、4、8、12、24、48 h,按照“2.3.3”项下色谱条件进样测定,计算得到羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素峰面积的 RSD 分别为 0.85%、0.73%、1.02%、1.52%、0.36%、0.71%、0.50%,结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 取 6 份茜草炭样品(S1)粉末 1.0 g,精密称定,按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.3.3”项下色谱条件进样测定,计算得到羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素质量分数的 RSD 分别为 1.55%、0.63%、0.94%、1.01%、1.60%、0.45%、0.65%,结果表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密称取已测知 7 个指标成分含量的样品粉末(S1)6 份,每份 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,按照加标量为待测物中含量的 1 倍,分别精密加入各对照品,按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.3.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率及 RSD。结果羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲

基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素的平均加样回收率分别为 98.29%、102.30%、99.54%、104.12%、101.55%、100.25%、101.24%,RSD 分别为 1.23%、1.82%、1.46%、1.54%、1.18%、1.23%、1.66%,结果表明该方法准确度良好。

2.3.9 样品中 7 种指标成分定量测定 取不同炮制程度茜草炭样品各 1.0 g,精密称定,平行 3 份,按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按照“2.3.3”项下色谱条件进样测定,计算样品中各成分的含量,结果见表 2。不同炮制程度茜草炭中 7 种成分含量总体呈现降低趋势,羟基茜草素、大叶茜草素在炮制过程中呈现先降后升再降的趋势,可能与炒炭初期中水分进一步降低导致含量出现波动有关;异茜草素呈现先升高再降低的趋势,可能与炒炭过程中成分蒽醌类转化有关,但还需后续进一步研究。

表 2 茜草炭中 7 个成分的定量测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Determination results of seven components in

RRRC ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)						
	羟基茜草素	大叶茜草素	大黄素	甲基异茜草素	大黄酚	1,8-二羟基蒽醌	异茜草素
S0	1.542	8.153	2.694	0.283	8.827	1.028	0.169
S1	0.167	1.760	0.170	0.044	1.279	0.071	0.238
S2	0.144	1.255	0.141	0.040	0.721	0.085	0.477
S3	0.123	1.821	0.079	0.034	0.463	0.078	0.806
S4	0.258	1.808	0.065	0.020	0.148	0.038	0.923
S5	0.152	0.945	0.059	0.021	0.064	0.027	1.124
S6	0.090	0.225	0.060	—	—	0.031	0.632
S7	0.055	0.302	0.060	—	—	0.020	0.422
S8	0.036	0.235	—	—	—	—	0.236
S9	0.113	0.075	—	—	—	—	0.137

2.4 不同炮制程度茜草炭样品的色度值测定

分光测色仪开机稳定后,将仪器对准底座进行白校准,再将仪器对准空气进行黑校准。取样品粉末适量平铺在样品盘中,重复测定 3 次,记录颜色亮度(L^*)、红绿色度(a^*)、黄蓝色度(b^*),取平均值,并计算总色差值($\Delta E_{ab}^*=(L^{*2}+a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$),结果见表 3。

L^* 是亮度指标, L^* 越大,亮度越大,由表 3 可知,在茜草炭炮制过程中, L^* 从生品 S0 的 38.40 下降至 S9 的 13.34,明亮度下降 65.26%,总体呈逐渐下降趋势,S6 略有上升,可能是碳化太过出现灰化所致。 a^* 值代表红绿色度,在炮制过程中,从生品 S0 到炮制品 S9, a^* 值呈现先上升下降的趋势。 b^* 值

表 3 茜草炭不同炮制程度样品粉末色度值 ($n=3$)Table 3 Chromaticity value of RRRC powder with different processing degrees ($n=3$)

编号	L^*	a^*	b^*	ΔE^*_{ab}	编号	L^*	a^*	b^*	ΔE^*_{ab}
S0	38.40	10.43	12.99	41.85	S5	15.50	3.71	7.45	17.59
S1	39.00	13.61	15.79	44.22	S6	20.28	1.52	5.77	21.13
S2	35.43	11.79	14.22	39.95	S7	18.41	-1.18	2.81	18.66
S3	29.89	9.51	12.71	33.84	S8	18.58	-0.54	3.74	18.96
S4	19.63	5.39	9.67	22.53	S9	13.34	-3.18	2.03	13.86

代表黄蓝色度, b^* 越大, 颜色越黄, 在炮制过程中, b^* 值也呈现先上升再下降的趋势。总色差值 ΔE^*_{ab} 整体呈现降低的趋势, S4 之后下降较为缓和。

2.5 主成分分析 (principal component analysis, PCA)

通过 SPSS 26.0 和 SIMCA-P 14.1 软件对各炮制品中 7 个成分和总蒽醌进行 PCA, 以这 8 个指标的质量分数为基准, 计算特征值及累积方差贡献率, 结果显示, 共提取到主成分 1 个, 累积方差贡献率为 99.06%, 基本上能反映原变量的信息。所得主成分的因子矩阵见表 4。主成分得分 (F_1) 方程为 $F_1 = 0.373\ 5\ X_1 + 0.369\ 3\ X_2 + 0.375\ 2\ X_3 + 0.375\ 1\ X_4 + 0.376\ 3\ X_5 + 0.375\ 6\ X_6 - 0.136\ 1\ X_7 + 0.376\ 0\ X_8$ 。以主成分方差贡献率为权重, 构建不同炮制程度茜草炭质量优劣的综合评价模型, 表达式为 $F = 0.880\ 2\ F_1$, 模型得分越高, 表明该炮制程度茜草炭样品的质量越好, 见表 5。

分别应用 Origin 2024 软件对不同炮制程度茜草炭样品中 8 个指标和色度值进行 PCA。建立的 PCA 模型中, 主要成分模型 $R^2_X = 0.999$, $Q^2 = 0.992$; 色度值模型 $R^2_X = 0.997$, $Q^2 = 0.987$; 表明这 2 个模型的拟合能力和预测能力均良好。由图 3-A 可得, S0~S2、S3~S5、S6~S9 各自聚为一类; 由图 3-B

表 4 不同炮制程度茜草炭样品主成分的因子载荷矩阵

Table 4 Factor loading matrix of principal components of RRRC samples with different processing degrees

编号	成分	主成分 1 因子载荷
X_1	羟基茜草素	0.994 4
X_2	大叶茜草素	0.986 4
X_3	大黄素	0.995 3
X_4	甲基异茜草素	0.997 1
X_5	大黄酚	0.996 7
X_6	1,8-二羟基蒽醌	0.997 0
X_7	异茜草素	-0.361 2
X_8	总蒽醌	0.999 5

表 5 不同炮制程度茜草炭样品的综合评分

Table 5 Comprehensive score of RRRC samples with different processing degrees

编号	F_1	F	排序	编号	F_1	F	排序
S0	7.48	6.59	1	S5	-1.08	-0.95	6
S1	-0.10	-0.09	2	S6	-1.19	-1.05	10
S2	-0.44	-0.39	3	S7	-1.14	-1.00	8
S3	-0.59	-0.52	4	S8	-1.15	-1.01	9
S4	-0.70	-0.62	5	S9	-1.08	-0.95	6

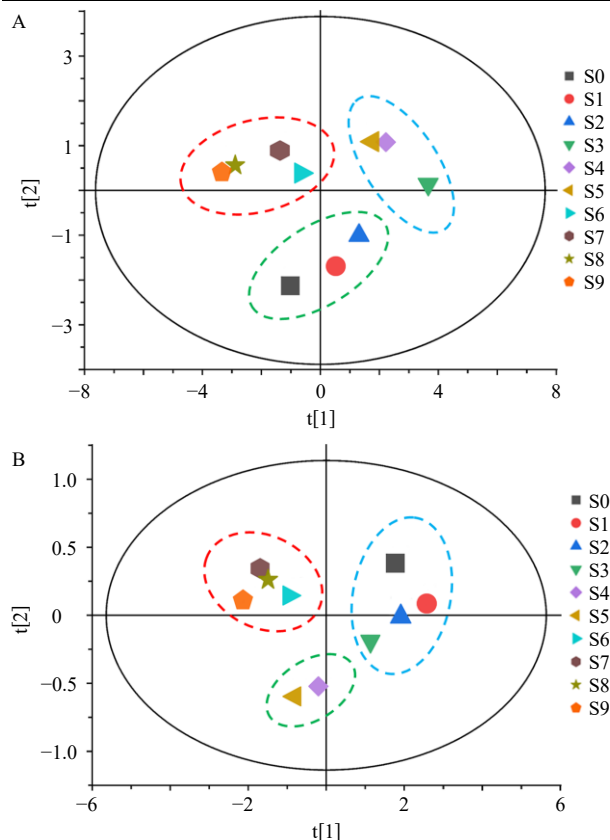


图 3 不同炮制程度茜草炭样品中主要成分 (A) 和色度值 (B) 的 PCA 结果

Fig. 3 PCA results of main components (A) and chromaticity values (B) in RRRC samples with different processing degrees

可得, S0~S3、S4 和 S5、S6~S9 各自聚为一类。结果表明, 成分和色度值均可以通过 PCA 方法将不同炮制程度茜草炭样品显著区分。

2.6 相关性分析与线性回归分析

2.6.1 相关性分析 通过对 7 种成分含量及色度值进行正态检验, 其中成分数据检测均呈现非正态分布, 故采用 SPSS 26.0 软件对茜草炭颜色测定值 (L^* 、 a^* 、 b^*) 及 7 个成分含量进行斯皮尔曼相关性分析。由表 6 可知, 大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、总蒽醌与 L^* 、 a^* 、 b^* 值均具有显著性

表 6 茜草炭不同炮制程度样品的斯皮尔曼相关性分析

Table 6 Spearman correlation analysis of RRRC samples with different processing degrees

成分	L*		a*		b*		成分	L*		a*		b*	
	相关系数	显著性(双尾)	相关系数	显著性(双尾)	相关系数	显著性(双尾)		相关系数	显著性(双尾)	相关系数	显著性(双尾)	相关系数	显著性(双尾)
羟基茜草素	0.503	0.138	0.709 ^{&}	0.022	0.709 ^{&}	0.022	大黄酚	0.819 ^{&&}	0.004	0.932 ^{&&}	0.000	0.932 ^{&&}	0.000
大叶茜草素	0.673 ^{&}	0.033	0.770 ^{&&}	0.009	0.770 ^{&&}	0.009	1,8-二羟基蒽醌	0.851 ^{&&}	0.002	0.881 ^{&&}	0.001	0.881 ^{&&}	0.001
大黄素	0.863 ^{&&}	0.001	0.942 ^{&&}	0.000	0.942 ^{&&}	0.000	异茜草素	-0.067	0.085	0.188	0.603	0.188	0.603
甲基异茜草素	0.782 ^{&&}	0.008	0.919 ^{&&}	0.000	0.919 ^{&&}	0.000	总蒽醌	0.830 ^{&&}	0.003	0.903 ^{&&}	0.000	0.903 ^{&&}	0.000

^{&&}在 0.01 级别(双尾),相关性显著; [&]在 0.05 级别(双尾),相关性显著;表 7~9 同。

^{&&} at level of 0.01 (two-tailed), correlation is significant; [&] at level of 0.05 (double tail), correlation is significant; same as tables 7—9.

正相关($P < 0.01$);大叶茜草素与 a^* 、 b^* 值具有显著相关性($P < 0.01$),与 L^* 值具有相关性($P < 0.05$);羟基茜草素与 a^* 、 b^* 值具有相关性($P < 0.05$),与 L^* 值没有相关性。

2.6.2 线性回归分析 通过 SPSS 26.0 软件,以羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素、总蒽醌的含量为因变量,以 L^* 、 a^* 、 b^* 值为自变量进行线性回归分析,研究成分含量与 L^* 、 a^* 、 b^* 值间的定量关系。结果见表 7~9。通过表 7 可知,羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、总蒽醌的含量与 L^* 、 a^* 、 b^* 值的 R^2 分别为

0.404、0.463、0.469、0.518、0.531、0.460、0.484,表明这 6 种成分和总蒽醌的含量分别在 40.4%、46.3%、46.9%、51.8%、43.1%、46.0%、48.4% 的程度上可以通过颜色值来反映。由表 8 可知,异茜草素的 P 值小于 0.05,具有显著性意义。由表 9 可知,异茜草素 L^* 的 P 值小于 0.05,说明异茜草素与茜草炒炭过程中灰亮度之间有显著的关系,其余值的 P 值均大于 0.05, L^* 、 a^* 、 b^* 值与成分含量无法确定定量关系,不能通过颜色值结合回归方程来预测这 6 种成分和总蒽醌的含量。

2.7 不同炮制程度茜草炭“凉血止血”药效评价

2.7.1 水煎液的制备 取各茜草炭样品 50 g,加 10

表 7 不同炮制程度茜草炭样品的线性回归模型汇总

Table 7 Summary of linear regression models of RRRC samples with different processing degrees

成分	R	R ²	调整 R ²	标准估计的误差	成分	R	R ²	调整 R ²	标准估计的误差
羟基茜草素	0.636	0.404	0.107	0.399 8	大黄酚	0.728	0.531	0.296	2.290 3
大叶茜草素	0.681	0.463	0.195	2.144 2	1,8-二羟基蒽醌	0.678	0.460	0.190	0.282 9
大黄素	0.685	0.469	0.204	0.743 1	异茜草素	0.877 ^{&}	0.769	0.653	0.202 4
甲基异茜草素	0.720	0.518	0.277	0.072 6	总蒽醌	0.696	0.484	0.226	7.364 4

表 8 不同炮制程度茜草炭样品线性回归模型的方差分析

Table 8 Analysis of variance of linear regression model of RRRC samples with different processing degrees

成分	模型	平方和	均方	F 值	P 值	成分	模型	平方和	均方	F 值	P 值
羟基茜草素	回归	0.651	0.217	1.358	0.342	大黄酚	回归	35.590	11.863	2.262	0.182
	残差	0.959	0.160				残差	31.474	5.246		
	总计	1.611					总计	67.064			
大叶茜草素	回归	23.797	7.932	1.725	0.261	1,8-二羟基蒽醌	回归	0.409	0.136	1.703	0.265
	残差	27.585	4.597				残差	0.480	0.080		
	总计	51.381					总计	0.889			
大黄素	回归	2.932	0.977	1.770	0.253	异茜草素	回归	0.817	0.272	6.648	0.025 ^{&}
	残差	3.313	0.552				残差	0.246	0.041		
	总计	6.245					总计	1.063			
甲基异茜草素	回归	0.034	0.011	2.149	0.195	总蒽醌	回归	305.081	101.694	1.875	0.235
	残差	0.032	0.005				残差	325.407	54.234		
	总计	0.066					总计	630.488			

表 9 不同炮制程度茜草炭样品的线性回归分析结果

Table 9 Linear regression analysis of RRRC samples with different processing degrees

成分	模型	非标准化系数	标准系数	t 值	P 值	成分	模型	非标准化系数	标准系数	t 值	P 值
羟基茜草素	常量	1.724		0.910	0.398	大黄酚	常量	9.156		0.844	0.431
	L*	0.014	0.328	0.373	0.722		L*	0.168	0.609	0.780	0.465
	a*	0.384	5.396	1.131	0.301		a*	2.379	5.187	1.225	0.267
	b*	-0.432	-5.305	-1.211	0.272		b*	-2.788	-5.301	-1.363	0.222
大叶茜草素	常量	7.356		0.724	0.496	1,8-二羟基蒽醌	常量	1.041		0.777	0.466
	L*	0.075	0.310	0.371	0.724		L*	0.018	0.567	0.677	0.524
	a*	1.757	4.376	0.966	0.371		a*	0.263	4.974	1.095	0.316
	b*	-1.896	-4.117	-0.990	0.361		b*	-0.309	-5.095	-1.221	0.268
大黄素	常量	3.098		0.880	0.413	异茜草素	常量	1.489		1.554	0.171
	L*	0.046	0.546	0.657	0.535		L*	-0.074	-2.139	-3.902	0.008 ^{&}
	a*	0.760	5.431	1.206	0.273		a*	0.064	0.967	0.354	0.735
	b*	-0.893	-5.561	-1.345	0.227		b*	0.059	1.029	0.346	0.741
甲基异茜草素	常量	0.299		0.870	0.418	总蒽醌	常量	28.106		0.806	0.451
	L*	0.004	0.449	0.567	0.591		L*	0.406	0.479	0.585	0.580
	a*	0.074	5.176	1.206	0.273		a*	6.971	4.957	1.116	0.307
	b*	-0.084	-5.089	-1.291	0.244		b*	-7.947	-4.927	-1.208	0.273

倍量水浸泡 30 min 后, 煎煮 1 h, 滤过, 第 2 次加 8 倍量水浸泡 30 min 后, 煎煮 1 h, 滤过, 将 2 次滤液合并, 减压浓缩至 1 g/mL, 即得。

2.7.2 动物分组及给药 将 78 只 ICR 小鼠随机分为 13 组, 即对照组、模型组、云南白药组 (0.26 g/kg)、不同炮制程度茜草炭样品 (S0~S9) 组 (参考文献报道, 取中剂量 6.5 g/kg^[22-23]), 每组 6 只, 适应性饲养 1 周后, 对照组和模型组 ig 生理盐水, 各给药组 ig 相应药物, 1 次/d, 连续 7 d。末次给药后, 除对照组外, 其余各组 ip 脂多糖, 剂量为 10 EU/kg, 每组注射体积均为 10 mL/kg, 同时背部皮下多点注射 20% 干酵母混悬液 (10 mL/kg)^[24]。

2.7.3 凉血止血指标检测 造模完成后, 分别于 0、3、6、9、12 h 测定小鼠肛温。测定完肛温后, 于距鼠尾 5 mm 处剪断, 观察小鼠尾部出血情况, 自血液自动溢出时开始计时, 每隔 30 s 用滤纸吸附断尾处 1 次, 至滤纸上无血迹时停止计时, 记录止血时间^[25]。同时摘去一侧眼球, 于载玻片两端各滴 1 滴血, 血滴直径约 5 mm, 每隔 30 s 用清洁大头针自边缘向里轻轻挑动 1 次, 观察有无血丝出现, 自采血开始至挑起血丝止, 记录凝血时间; 另 1 滴血供复检使用。收集剩余全血, 迅速于血液流变仪测定全血黏度^[26]。

2.7.4 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行处理, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间比较采用单因素方差

分析, 当方差齐性时采用 LSD 分析, 当方差不齐时采用 Tamhane's T^2 检验, $P < 0.05$ 、0.01 均表示差异具有统计学意义。

2.7.5 茜草炭对血热出血模型小鼠的影响 由表 10、11 可知, 与对照组相比, 模型组小鼠肛温升高 ($P < 0.01$); S0 组茜草样品不同时间点均显著降低肛温 ($P < 0.01$); 3 h 时, 茜草炭各组样品肛温均呈不同程度降低 ($P < 0.05$ 、0.01); 6 h 时, 除 S8 茜草炭样品外, 其余各组样品肛温均呈不同程度降低 ($P < 0.01$); 9 h 时, 茜草炭 S1~S3 组肛温显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01), 保留有清热的药性, 其余组肛温变化与模型组相比没有显著变化; 12 h 时, 除了茜草炭 S1 组样品 ($P < 0.01$), 其余组肛温与模型组均没有显著性变化。止血方面, 与模型组相比, 各给药组的止血时间和凝血时间均显著性下降 ($P < 0.01$), 表明不同炮制程度的茜草炭均具有一定的止血作用; 且 S0~S5 组, 小鼠止血时间和凝血时间较云南白药组更短, 可能与其凉血止血作用有关。

综合止血时间、凝血时间和血液黏度指标考虑, S3 组止血作用最佳。可见, 随着炮制程度的增加, 茜草炭的凉血止血和凝血作用呈现先增加后降低的趋势, 大体上从 S4 开始凉血止血和凝血效果减弱。

2.7.6 茜草炭凉血止血效应 PCA 应用 Origin 2024 软件对不同炮制程度茜草炭样品中凉血作用和止

表 10 不同炮制程度茜草炭样品对小鼠肛温及止血时间和凝血时间的影响结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 10 Effects of RRRC samples with different processing degrees on rectal temperature, hemostasis time and coagulation time in mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	肛温/℃					止血时间/s	凝血时间/s
	0 h	3 h	6 h	9 h	12 h		
对照	36.42±0.02	36.55±0.17	36.64±0.26	36.46±0.40	36.35±0.24	241.60±14.34	93.51±5.08
模型	36.27±0.04	40.36±0.52 ^{##}	39.13±0.02 ^{##}	38.51±0.21 ^{##}	37.42±0.31 ^{##}	492.67±17.26 ^{##}	176.31±5.38 ^{##}
云南白药	36.31±0.04	39.47±0.36 ^{&&}	38.44±0.10 ^{&&}	38.33±0.05	37.25±0.26	262.16±12.72 ^{&&}	95.48±6.90 ^{&&}
S0	36.46±0.01	37.58±0.02 ^{&&}	36.84±0.39 ^{&&}	36.16±0.27 ^{&&}	36.04±0.41 ^{&&}	229.75±17.73 ^{&&}	83.12±7.28 ^{&&}
S1	36.39±0.02	37.84±0.06 ^{&&}	36.99±0.37 ^{&&}	36.37±0.25 ^{&&}	36.24±0.07 ^{&&}	189.21±5.22 ^{&&}	69.60±7.21 ^{&&}
S2	36.91±0.07	38.24±0.13 ^{&&}	37.65±0.24 ^{&&}	37.35±0.19 ^{&&}	36.96±0.18	168.60±5.58 ^{&&}	62.73±7.33 ^{&&}
S3	36.22±0.05	38.41±0.17 ^{&&}	38.04±0.17 ^{&&}	37.91±0.18 ^{&}	37.22±0.05	156.19±9.40 ^{&&}	58.60±7.00 ^{&&}
S4	36.28±0.04	38.79±0.23 ^{&&}	38.09±0.17 ^{&&}	37.98±0.17	37.70±0.17	215.95±6.58 ^{&&}	78.52±7.50 ^{&&}
S5	36.32±0.03	38.60±0.20 ^{&&}	38.20±0.15 ^{&&}	38.14±0.17	37.53±0.45	231.89±7.90 ^{&&}	83.83±6.72 ^{&&}
S6	36.34±0.03	38.40±0.16 ^{&&}	38.31±0.13 ^{&&}	38.30±0.17	37.35±0.44	282.57±12.14 ^{&&}	100.72±7.53 ^{&&}
S7	36.43±0.01	39.59±0.38 ^{&}	38.49±0.09 ^{&&}	38.57±0.17	37.34±0.12	323.11±11.97 ^{&&}	114.24±7.62 ^{&&}
S8	36.40±0.02 ^{&&}	39.49±0.36 ^{&&}	38.73±0.05	38.59±0.40	37.67±0.16	377.12±17.44 ^{&&}	132.24±9.44 ^{&&}
S9	36.58±0.02 ^{&&}	39.59±0.38 ^{&}	38.33±0.12 ^{&&}	38.34±0.17	37.76±0.19	393.92±13.58 ^{&&}	137.84±9.90 ^{&&}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: [&] $P < 0.05$ ^{&&} $P < 0.01$; 表 12 同。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; [&] $P < 0.05$ ^{&&} $P < 0.01$ vs model group; same as table 12.

表 11 不同炮制程度茜草炭样品对小鼠血液黏度的影响结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 11 Effects of RRRC samples with different processing degrees on blood viscosity in mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	黏度/(mPa·s ⁻¹)			
	低切 (1 s ⁻¹)	中切 (5 s ⁻¹)	中切 (50 s ⁻¹)	高切 (200 s ⁻¹)
对照	9.44±0.31	6.30±0.20	4.32±0.20	3.50±0.33
模型	9.05±0.35	6.04±0.23	4.43±0.21	2.95±0.25 ^{##}
云南白药	9.65±0.29	6.67±0.17	4.85±0.17	3.35±0.07
S0	8.68±0.39	6.43±0.19	4.70±0.19	4.00±0.21 ^{&&}
S1	9.74±0.28	6.49±0.18	5.67±0.11 ^{&&}	4.69±0.09 ^{&&}
S2	10.23±0.23 ^{&&}	6.82±0.15 ^{&&}	5.70±0.06 ^{&&}	4.72±0.15 ^{&&}
S3	11.29±0.15 ^{&&}	7.53±0.10 ^{&&}	6.83±0.17 ^{&&}	6.08±0.17 ^{&&}
S4	11.33±0.08 ^{&&}	7.55±0.05 ^{&&}	5.65±0.17 ^{&&}	5.06±0.06 ^{&&}
S5	10.81±0.45 ^{&&}	7.43±0.10 ^{&&}	5.50±0.19 ^{&&}	4.61±0.23 ^{&&}
S6	10.28±0.15 ^{&&}	6.52±0.10	4.87±0.17	3.67±0.21 ^{&&}
S7	10.75±0.36 ^{&&}	6.44±0.24	4.50±0.21	3.46±0.17 ^{&}
S8	10.20±0.23 ^{&&}	5.82±0.05 ^{&}	3.99±0.26	3.18±0.08
S9	10.00±0.25 ^{&&}	5.80±0.15 ^{&&}	3.71±0.30 ^{&&}	3.10±0.08

血作用进行 PCA, 建立的 PCA 模型中, 凉血模型 $R^2_X = 0.994$, $Q^2 = 0.983$; 止血模型 $R^2_X = 0.999$, $Q^2 = 0.994$; 表明这 2 个模型的拟合能力和预测能力均良好。由图 4-A 可得, S0 和 S1、S2、S3~S6、S7~S9 各自聚为一类; 由图 4-B 可得, S0~S2、S3~S5、S6~S9 各自聚为一类。结果表明, 可以通过 PCA 方法将不同炮制程度茜草炭样品显著区分。

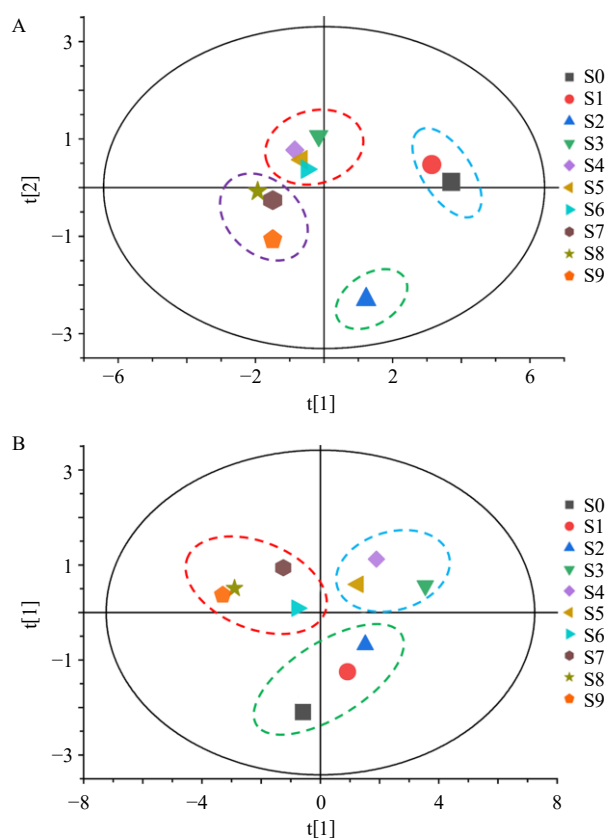


图 4 不同炮制程度茜草炭样品的凉血效应 (A) 和止血效应 (B) 的 PCA 结果

Fig. 4 PCA results of cooling blood effect (A) and hemostatic effect (B) in RRRC samples with different processing degrees

3 讨论

本实验进行了茜草炭的提取溶剂考察, 分别选择不同浓度乙醇和甲醇, 作为提取溶剂, 比较了回流提取和超声提取, 发现 60% 甲醇回流提取测得的 7 种成分的含量最高, 其次对回流的时间进行考察, 分别选取 10、20、30、50 min, 结果显示最佳提取时间为 30 min。在流动相系统的选择中, 本实验考察了甲醇-0.5% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 甲酸水溶液、甲醇-0.1% 磷酸水溶液、乙腈-0.4% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 磷酸水溶液。结果发现以甲醇-0.1% 磷酸水溶液为流动相梯度洗脱时, 各成分峰形对称, 所测色谱峰与相邻的杂质峰均能达到有效分离, 并且基线平稳, 故选用甲醇-0.1% 磷酸水溶液作为流动相。预试验对照品溶液与茜草炭药材提取液分别进行了不同波长 (240、254、260、330 nm) 的检测, 结果发现在 240 nm 处均有较大吸收, 故选择 240 nm 作为检测波长。

茜草凉血、祛瘀、止血、通经, 用于外伤出血及血瘀证, 与三七、蒲黄等药为临床上常用的化瘀止血药, 生品既活血又能止血, 但以凉血止血为主, 《本草纲目》曰“茜根赤色而气温, 味微酸而带咸。色赤入营, 气温行滞, 味酸入肝而咸走血, 手足厥阴血分之药也, 专于行血活血”, 从辨状论质的角度认为其色红而行血活血, 现代研究认为 β -谷甾醇与治疗心肌梗死等疾病有关^[27]。炒炭后可大幅度增强其止血作用, 据报道茜草中主要止血成分是大叶茜草素、茜素以及异茜草素^[18,28], 大叶茜草素在炒炭过程中含量剧烈下降, 茜素是茜草所含的一种红色色素, 虽然 HPLC 未检测到, 但从其颜色变化可以推测茜素含量可能也是剧烈下降, 异茜草素则呈现先升高后降低的趋势, 尤其是灰化的茜草炭样品中含量剧烈下降, 也符合炭药传统炮制程度要求。有学者认为高温处理能够促使茜草大量的草酸钙针晶分解成易于被机体吸收的钙离子, 进而提高凝血酶原的作用效果, 加快血液的凝聚进程; 同时, 通过碳元素的释出, 可以减少毛细血管的渗透率, 进一步强化其收缩功能和抗出血的效果^[29]。后续可以考虑从无机元素表征方面进一步探索茜草炭增强止血的作用机制。大黄酚、大黄素等蒽醌类成分被报道具有清热作用^[30], 该类成分也是大量降低, S6 样品之后几乎消失。

因此, 综合考虑茜草炭“炒炭存性”的话, 从止血和凉血角度不宜久炒, PCA 结果表明 S3~S5

可聚为一类, 以 S3 样品综合考虑为佳, 但其外形未达到药典规定的表面焦黑色。结合颜色、成分和功效综合考虑 S5 样品最佳, 即茜草武火炒炭 7.5 min 即可达到炮制要求。

本研究建立以羟基茜草素、大叶茜草素、大黄素、甲基异茜草素、大黄酚、1,8-二羟基蒽醌、异茜草素 7 个成分和总蒽醌含量为考察指标的茜草炭定量测定法, 并利用电子眼技术对不同炮制程度茜草炭样品颜色进行客观表征, 发现颜色可以在一定程度上反映成分含量, 尤其是异茜草素的含量和碳化程度呈显著相关性。通过颜色能初步估计比较有效成分含量, 同时也可作为一种简单、便捷的评价茜草炭质量的初步方法稳定、可靠, 可弥补传统炮制程度肉眼鉴别的主观性和模糊性, 为茜草炭的质量控制研究提供新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 270, 300.
- [2] 高兰, 王侃, 贾媛, 等. 茜草不同炮制品对子宫内膜出血模型大鼠的影响 [J]. 中医学报, 2020, 35(1): 144-148.
- [3] Wang K, Gao L, Zhang Q, *et al.* Revealing the mechanisms and the material basis of *Rubia cordifolia* L. on abnormal uterine bleeding with uniting simultaneous determination of four components and systematic pharmacology approach-experimental validation [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 189: 113475.
- [4] 卫若楠, 吉红玉, 于同月, 等. 茜草的临床应用及其用量探究 [J]. 吉林中医药, 2020, 40(11): 1513-1516.
- [5] 崔丽丽, 梁振华, 高莉, 等. 茜草炮制前后红外图谱分析 [J]. 河南大学学报: 医学版, 2020, 39(4): 240-243.
- [6] 杨宇婷, 崔春雨. 茜草不同炮制品的对比研究 [J]. 山东化工, 2020, 49(9): 47-48.
- [7] 欧阳少琴, 陈慧荣, 拱健婷, 等. 基于颜色气味信息融合的苦杏仁走油程度判别分析与质量预测模型建立 [J]. 中草药, 2023, 54(12): 3806-3814.
- [8] 李辰荃, 倪琳, 张诗华, 等. 基于色差原理分析土茯苓断面颜色与成分之间的相关性 [J]. 药物分析杂志, 2023, 43(3): 422-428.
- [9] 杨琳琳, 辛洁萍, 李千, 等. 乌梅炭炮制过程中颜色与内在质量的相关性及其炮制终点研究 [J]. 中国药房, 2023, 34(3): 289-293.
- [10] 陈高源, 曹皇亮, 涂济源, 等. 基于物性表征-内在指标结合化学模式识别比较不同醋淬方法对醋鳖甲质量的影响 [J]. 中草药, 2024, 55(22): 7653-7662.
- [11] 郑晓倩, 徐超, 金传山, 等. 基于颜色变化的“九蒸九

- 晒”黄精炮制火候及内外在质量的相关性研究 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1719-1729.
- [12] 甄臻, 王杨, 魏海峰, 等. 基于颜色变化的麸炒山药质量标准及炮制工艺探究 [J]. 中成药, 2021, 43(3): 816-819.
- [13] 张陈了一, 李阳阳, 李明星, 等. 党参炮制工艺优化及颜色与其内在关键质量属性相关性研究 [J]. 中草药, 2024, 55(23): 8023-8034.
- [14] 刘立伟, 姜宇懋, 李强, 等. 中药炮制炒法的历史沿革 [J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40(1): 239-246.
- [15] 陈朝军, 刘利平, 王美龄, 等. 茜草炭炮制规范化研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 305-306.
- [16] 高思英, 陆兔林. 茜草炭炮制工艺实验分析 [J]. 江苏药学与临床研究, 1997, 5(1): 64-65.
- [17] 余欣彤, 甘力帆, 邓桂海, 等. 不同炮制时间茜草炭的色度值与特征图谱的相关性研究 [J]. 中国药学杂志, 2023, 58(23): 2157-2164.
- [18] 王娟弟, 张明童, 李欣, 等. 基于高效液相色谱法检测茜草炮制前后异茜草素的含量及意义 [J]. 世界中医药, 2024, 19(19): 2884-2888.
- [19] 曹丽丽, 阮长青, 高金玲, 等. 茜草根茎中蒽醌的提取工艺研究 [J]. 辽宁化工, 2024, 53(4): 501-505.
- [20] 王珺, 刘亚蓉, 宋霞, 等. 基于多元统计分析对茜草与藏茜草特征图谱的研究 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(11): 2043-2049.
- [21] 彭亮, 罗瑶, 李翡, 等. 外源茉莉酸甲酯和赤霉素对茜草生长、相关酶活性及主要活性成分含量的影响研究 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3463-3471.
- [22] 张振凌, 黄显峰, 张春爽, 等. 茜草饮片炒炭前后药理作用的比较 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(10): 879-881.
- [23] 高兰, 王侃, 贾媛, 等. 茜草不同炮制品对子宫内出血模型大鼠的影响 [J]. 中医学报, 2020, 35(1): 144-148.
- [24] 王宇航. 杭蓟化学成分分析与凉血止血和护肝作用的药效评价研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [25] 乔瑞瑞, 刘硕, 白亚亚, 等. 黄芩炒炭过程中主要成分与色度值的变化规律及其止血作用研究 [J]. 中草药, 2024, 55(15): 5083-5092.
- [26] 李昕瞳, 王炳然, 蒋常鹏, 等. 马齿苋炒炭前后凉血止血作用比较 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(13): 3243-3248.
- [27] 徐婷, 王延, 伍沙沙, 等. 茜草防治心肌梗死的作用及网络药理学方法预测其作用机制 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(3): 132-139.
- [28] 崔皓然. 基于茜草止血活性成分筛选及复合止血材料研究 [D]. 北京: 军事科学院, 2024.
- [29] 张明童, 张艳慧, 马潇, 等. 茜草炭的质量标准提升研究 [J]. 安徽医药, 2024, 28(4): 672-675.
- [30] 杨琬卿, 刘嘉灏, 解秋凤, 等. 基于“异效异标”的大黄质量评价新模式探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(8): 148-153.

[责任编辑 郑礼胜]