

基于炮制工艺与物质基础相关性的大黄古（九蒸九晒）今（药典法）炮制方法探讨

奥璇¹, 刘涛涛^{2#}, 于淼³, 王岚¹, 高峰⁴, 殷小杰¹, 左镜裕¹, 李丽^{1*}

1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700
2. 太极集团重庆桐君阁药厂有限公司, 重庆 401336
3. 中国科技出版传媒股份有限公司(科学出版社), 北京 100717
4. 中国中医科学院 西苑医院, 北京 100091

摘要:目的 基于物质基础的差异及其与炮制工艺的相关性探讨大黄 *Rhei Radix et Rhizoma* 古（九蒸九晒）、今（药典法）炮制方法的合理性。方法 采用 HPLC 法对古、今方法炮制的大黄饮片整体化学轮廓特征进行表征, 并对大黄酚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄酚、没食子酸等 15 个主要药效成分进行含量测定, 结合化学计量学对古、今方法炮制的大黄饮片中苷类、苷元类、鞣质类成分的含量及量比关系进行分析, 对大黄不同饮片主要成分进行正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)与系统聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA), 以变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值>1, 筛选出具有统计学意义的差异标志物。结果 大黄经古、今 2 种方法炮制而成的饮片, 化学组成较为相似, 均含有大黄酚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄酚、没食子酸等 14 种化学成分, 但上述成分的含量和比例具有显著差异。OPLS-DA 结果显示, 古、今 2 种方法炮制的大黄饮片分布在不同的象限, HCA 结果显示, 大黄不同饮片可各自聚类。以 VIP 值>1 共筛选得到没食子酸、白藜芦醇-4'-*O*- β -D-(6"-没食子酰基)-葡萄糖苷、大黄酸-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、儿茶素、芦荟大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素, 可以作为区分古、今方法炮制饮片的标志物。结论 通过对古、今 2 种方法炮制后大黄化学成分组成及其量比关系差异的分析, 揭示了炮制方法对大黄饮片质量属性内涵形成的影响, 明确了九蒸九晒大黄与药典法熟大黄的物质基础, 为进一步结合药效学研究全面了解二者的差异奠定了基础。

关键词: 大黄; 九蒸九晒; 物质基础; 炮制工艺; 特征图谱; 化学计量学; HPLC; 正交偏最小二乘法-判别分析; 系统聚类分析; 变量重要性投影; 差异标志物; 大黄酚; 大黄素; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素甲醚; 白藜芦醇; 番泻苷 A; 没食子酸; 儿茶素; 异莲花掌苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)11-3868-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.11.009

Discussion on ancient (nine-time repeating steaming and sun-drying) and modern (pharmacopoeia method) processing methods of *Rhei Radix et Rhizoma* based on correlation between processing technology and material basis

AO Xuan¹, LIU Taotao², YU Miao³, WANG Lan¹, GAO Feng⁴, YIN Xiaojie¹, ZUO Jingyu¹, LI Li¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China
2. Taiji Group Chongqing Tongjunge Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 401336, China
3. China Science Publishing & Media Co., Ltd., Beijing 100717, China
4. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Abstract: Objective To discuss the rationality of the ancient (nine-time repeating steaming and sun-drying) and modern (pharmacopoeia method) processing methods of Dahuang (*Rhei Radix et Rhizoma*, RRR) based on the perspective of the differences

收稿日期: 2024-12-08

基金项目: 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04205); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(ZXKT23007); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目(ZYJGKX202422)

作者简介: 奥璇, 硕士研究生, 从事中药炮制与中药质量评价研究。E-mail: aoxuan20210925@163.com

#共同第一作者: 刘涛涛, 硕士研究生, 从事中成药技术与工艺相关研究。E-mail: 15801308378@163.com

*通信作者: 李丽, 研究员, 硕士生导师, 从事中药炮制与中药质量评价研究。E-mail: lili7755@163.com

in the material basis and its correlation with the processing technology. **Methods** HPLC was used to characterize the overall chemical profile characteristics of RRR decoction pieces, and to determine the content of 15 main active components including chrysophanol-8-*O*- β -*D*-glucoside, chrysophanol and gallic acid. combined with chemometrics of ancient and modern methods of RRR decoction pieces, glycoside, tannin composition content and quantity ratio of analysis, the main components of different RRR decoction pieces to orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) and hierarchical cluster analysis (HCA), with variable weight importance projection (VIP) value > 1, selected statistically significant differential markers. **Results** The chemical composition of the ancient and modern methods is similar, containing 14 chemical components such as chrysophanol-8-*O*- β -*D*-glucoside, chrysophanol and gallic acid, but the content and proportion of the above components are significantly different. The OPLS-DA results showed that the RRR decoction pieces prepared by both ancient and modern methods were distributed in different quadrants, and the HCA results showed that different rhubarb slices could be clustered separately. The content and proportion of various components of the ancient and modern methods are significantly different. The gallic acid, resveratrol-4'-*O*- β -*D*-(6"-galloyl)-glucopyranoside, rhein-8-*O*- β -*D*-glucoside, catechin, aloe emodin-8-*O*- β -*D*-glucoside, and emodin can be used as markers to distinguish ancient and modern methods. **Conclusion** Through the ancient and modern two methods after RRR chemical composition and quantity ratio difference analysis, the effect of the processing method on the formation of the quality attributes of RRR decoction pieces was revealed, and the material bases of the nine-time repeating steaming and sun-drying RRR and pharmacopoeia method ripe RRR were clarified, laying the foundation for further combining the pharmacodynamic studies to comprehensively understand the differences between the two.

Key words: *Rhei Radix et Rhizoma*; nine-time repeating steaming and sun-drying; material basis; processing technology; characteristic chromatogram; chemometrics; HPLC; orthogonal partial least squares-discriminant analysis; hierarchical cluster analysis; variable importance projection; differential markers; chrysophanol; emodin; aloe-emodin; rhein; emodin methyl ether; resveratrol; sennoside A; gallic acid; catechin; isonuciferin

中药炮制技术作为我国独特的传统制药技术，具有悠久的历史。炮制方法的多样性赋予了中药饮片不同的药性和功效，是实现中医临床辨证施治的根本方式，也是实现中医临床精准治疗的基础。炮制对于中药药性及其功效的改变，其核心是通过不同的炮制方法改变其药效物质的组成及量比^[1]。而物质基础则是中药发挥作用的核心要素。不同的炮制工艺会引起药材化学成分的显著变化，进而导致药理活性的改变。大黄 *Rhei Radix et Rhizoma* (RRR) 作为临床常用中药，常以不同的炮制方法加工为饮片来满足临床用药需求^[2-3]。从汉代至清代共有 193 部书籍记载了大黄的炮制方法和临床应用。有关大黄的炮制最早出现在《金匱玉函经》中，“或炮或生，皆去黑皮，酒洗；酒浸^[4]”。到宋代时，出现了大黄的九蒸九晒炮制方法，记载于《圣济总录》，“九蒸九暴干^[5]”。明、清两代是中药炮制方法和炮制用药理论发展的鼎盛时期，九蒸九晒的炮制方法也是在此时期得到了广泛的应用，记载九蒸九晒或相当于九蒸九晒的著作有 12 部，包括《本草纲目》《修事指南》等。大黄经九蒸九晒炮制后，不仅能缓和其苦寒峻猛之性，还能发挥泻中有补的独特功效^[6]，因而受到历代医家推崇和肯定^[7]。《疮疡经验全书》中记载了“九蒸九晒”的方法，并且是可查阅到的明确记载炮制辅料用量的古代著作，书中“每黄

十两当耗煮酒五十两入药，则泻中有补”为本课题中黄酒的具体用量提供了参考依据。

随着中药饮片现代工业化生产的发展，九蒸九晒因其工艺复杂，耗时较长而被单蒸/炖法取代。历版《中国药典》中熟大黄的炮制均采用单炖/蒸法，辅料均用黄酒，用量为每大黄 100 kg，用黄酒 30 kg，未见反复蒸晒的炮制方法。目前，仅有贵州省和黑龙江省地方炮制规范中仍然保留着大黄多次蒸晒的炮制方法，蒸晒次数均为 3 次，但辅料的用量不同，贵州省用 20% 的黄酒，黑龙江省用 50% 的黄酒。中药的疗效与安全性在很大程度上取决于其炮制工艺，而古、今炮制工艺及辅料用量上的显著改变，必然会直接导致大黄饮片产品质量和临床疗效的差异，甚至对其临床用药的安全性产生了影响^[8-9]。近年来，有关大黄不良反应的报道逐渐增多，引起国内外的广泛关注^[10]。有关中草药及其制剂导致肝损伤的前瞻性临床研究显示，在 187 例药源性肝损伤临床病例中，大黄及其制剂导致的肝损伤位居第 3^[11]。大黄中所含的大黄素、鞣质等成分已被证实具有肝毒性^[12-13]，不合理应用可引起肝损害。由此可知，忽视传统炮制理论和用药实践经验的工艺改造，可能是影响大黄现代应用安全性和有效性的关键所在。因此，亟需对大黄古法九蒸九晒炮制原理进行系统深入的研究。

为了追本溯源,本实验将遵循古代文献记载方法制备九蒸九晒熟大黄饮片,与《中国药典》2020年版收载的熟大黄饮片进行比较,基于 HPLC 技术及化学计量学方法,对二者进行物质基础的差异分析及其与炮制工艺的相关性分析,探讨大黄古、今炮制方法的合理性。为进一步规范大黄饮片炮制工艺,传承和发展传统炮制技术提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695/2998 型高效液相色谱仪, Waters 2695 Separations Module, Waters 2998 PDA 检测器, Empower 3 工作站,美国 Waters 公司; XS105DU 型十万分之一分析天平,瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司; FA2204B 型万分之一电子天平,上海精密科学仪器有限公司; ZN-08L 型高速粉碎机,中科耐驰技术(北京)有限公司; KQ-100DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司; DK-98-IIA 型电热恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司。

1.2 药品与试剂

大黄药材购自甘肃礼县,经中国中医科学院西苑医院高峰副研究员鉴定,为蓼科大黄属植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根或根茎。委托河北百草康神药业有限公司按照《中国药典》2020年版加工为生大黄饮片(DH),平行制备3份(DH-1~DH-3)。炮制用辅料黄酒,酒精度 $\geq 13.0\%$,绍兴师爷酒业有限公司。

对照品大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷(G1)、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷(G2)、芦荟大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷(G3)、大黄酸-8-O- β -D-葡萄糖苷(G4)、大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷(G5)、白藜芦醇-4'-O- β -D-(6"-没食子酰基)葡萄糖苷(G6)、番泻苷A、大黄酚、没食子酸、儿茶素,批号分别为 wkq21030801、wkq21060404、wkq21092406、wkq22083007、wkq17110202、wkq21080410、wkg21052804、wkq21072011、wkq21090111、wkq21020408,质量分数均 $\geq 98.0\%$,四川省维克奇生物科技有限公司;对照品芦荟大黄素-3-(羟甲基)-O- β -D-葡萄糖苷(G7),质量分数 $\geq 98.0\%$,批号 22063002,成都普菲德生物技术有限公司;对照品芦荟大黄素、大黄酸、大黄素,批号分别为 L-F014-190603、D-010-190424、D-029-190713,质量分数 $\geq 98.0\%$,北京融诚鑫德科技发展有限公司;对照品大黄素甲醚,批号 110758-200912,质量分数 $\geq 98.0\%$,中国食品药

品检定研究院;对照品异莲花掌苷,批号 H1062921198,质量分数 $\geq 98.0\%$,宝鸡市辰光生物科技有限公司;对照品大黄素-1-O- β -D-葡萄糖苷(G10)、4'-羟基苯基-2-丁酮-4'-O- β -D-[2"-O-没食子酰基-6"-O-(5"-羟基)-桂皮酰基]-葡萄糖苷(G11),质量分数 $\geq 98.0\%$,由课题组以往提取分离所得。甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,使用前均经 0.45 μm 微孔滤膜滤过;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 九蒸九晒熟大黄饮片(ZDH9)制备

取 DH 5.0 kg,每次加入生药量 50% 的黄酒,拌匀,闷润至酒被吸尽,装入不锈钢容器中,加盖,放置于蒸锅中屉,电磁炉 1 800 W 炖制 4 h,取出,如有液体,需拌入饮片中,待吸尽后,平铺摊开晾晒至五成干,作为一蒸一晒熟大黄饮片(ZDH1),重复上述操作,反复蒸晒 9 次,每次需加入新的黄酒(用量比例同前),得到 ZDH9,平行制备 3 份(ZDH9-1~ZDH9-3)。

2.2 药典法熟大黄饮片(SDH)制备

称取 DH 1.2 kg,按照《中国药典》2020年版大黄项下的炮制方法,加黄酒 30% (每 100 千克生大黄,加黄酒 30 kg),拌匀,闷润 1 h 后,用电磁炉隔水炖 8 h,炖制结束后,稍放凉,将饮片翻拌均匀,仍置于炖制容器内,放置约 16 h,次日再炖 8 h,共炖制 24 h。取出,晾凉,烘箱 40 $^{\circ}\text{C}$ 烘干 3 h,得到 SDH,平行制备 3 份(SDH-1~SDH-3)。

2.3 基于 HPLC 特征图谱的古、今方法炮制熟大黄饮片整体化学轮廓表征

2.3.1 色谱条件^[14] 流动相梯度参考课题组以往研究。Roc C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.1%冰醋酸水溶液,梯度洗脱,流动相梯度为 0~8 min, 3%~12%甲醇; 8~9 min, 12%~22%甲醇; 9~12 min, 22%~25%甲醇; 12~31 min, 25%~45%甲醇; 31~44 min, 45%~52%甲醇; 44~46 min, 52%~55%甲醇; 46~48 min, 55%甲醇; 48~53 min, 55%~60%甲醇; 53~56 min, 60%甲醇; 56~60 min, 60%~80%甲醇; 60~65 min, 80%~90%甲醇; 65~69 min, 90%~100%甲醇; 69~76 min, 100%甲醇;检测波长 280 nm;体积流量 1.00 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量 10 μL 。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称定 G1 20.50 mg、G2 25.13 mg、G7 12.13 mg、G5 17.75 mg、芦荟大黄素 25.00 mg、大黄酸 33.75 mg、大黄素 97.50 mg、

大黄酚 43.00 mg、大黄素甲醚 27.75 mg、没食子酸 80.25 mg、儿茶素 247.88 mg、G6 86.00 mg、G3 88.63 mg、G4 158.25 mg、番泻苷 A 21.50 mg、异莲花掌苷 9.75 mg、G10 29.88 mg、G11 19.25 mg，加甲醇定容至 50 mL，精密吸取 1 mL 上述溶液，加甲醇定容至 25 mL，配制成质量浓度分别为 16.400、20.104、9.704、14.200、20.000、27.000、78.000、34.400、22.200、64.200、198.304、68.800、70.904、126.600、17.200、7.800、23.904、15.400 mg/L 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取各大黄饮片（DH、ZDH9、SDH）粉末（过 40 目筛）约 0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入纯甲醇 25 mL，密塞，称定质量，超声提取 10 min，放冷，密塞，再称定质量，用纯甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

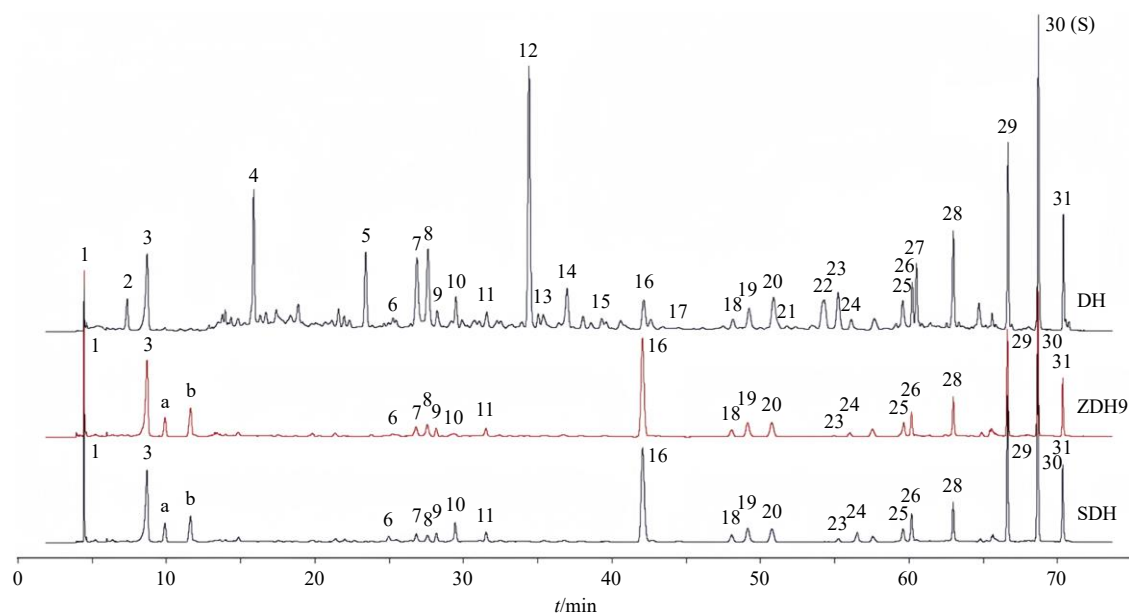
2.3.4 精密度考察 精密吸取 DH 供试品溶液 10 μL，按照“2.3.1”项下色谱条件，重复进样 6 次，记录特征图谱，以大黄酚（30 号峰）为参照峰（S），计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果各特征峰相对保留时间的 RSD 在 0.02%~0.31%，相对峰面积的 RSD 在 0.85%~2.26%，表明

该仪器精密度良好。

2.3.5 稳定性考察 精密吸取 DH 供试品溶液 10 μL，按照“2.3.1”项下色谱条件，分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 进样测定，记录特征图谱，以大黄酚（30 号峰）为参照峰（S），计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果各特征峰相对保留时间的 RSD 在 0.02%~0.25%，相对峰面积的 RSD 在 0.64%~2.37%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.6 重复性考察 取 DH 粉末约 0.5 g，共 6 份，精密称定，按照“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.3.1”项下色谱条件进行检测，记录特征图谱，以大黄酚（30 号峰）为参照峰（S），计算各特征峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果各特征峰相对保留时间的 RSD 在 0.01%~0.18%，相对峰面积的 RSD 在 0.76%~2.85%，表明该方法重复性良好。

2.3.7 古、今炮制方法对大黄整体化学轮廓的影响 根据建立的特征图谱方法，对古、今方法炮制的大黄饮片进行 HPLC 特征图谱测定，并以已知化学对照品为对照，归属了 18 个特征峰（图 1）。古、今 2 种方法炮制后，与 DH 相比，特征图谱均发生了显著改变，主要表现为炮制后 11 个特征峰消失（峰



3-没食子酸；4-儿茶素；6-异莲花掌苷；9-G3；10-G6；11-G4；13-番泻苷 A；15-G10；17-G11；19-G1；20-G7；21-G2；24-G5；26-芦荟大黄素；28-大黄酸；29-大黄素；30-大黄酚；31-大黄素甲醚；图 2 同。

3-gallic acid；4-catechin；6-isolindleyin；9-G3；10-G6；11-G4；13-sennoside A；15-G10；17-G11；19-G1；20-G7；21-G2；24-G5；26-aloe emodin；28-rhein；29-emodin；30-chrysophanol；31-phycion；same as figure 2.

图 1 大黄炮制前后特征图谱变化

Fig. 1 Changes of characteristic map before and after RRR processing

2、4、5、12~15、17、21、22、27)；3个特征峰峰面积显著增加(峰1、3、16)；另有2个新的峰(峰a、b)生成。古、今2种炮制方法相比(图2)，ZDH9

中白藜芦醇苷(峰10)、大黄素(峰29)、大黄酚(峰30)、大黄素甲醚(峰31)的峰面积显著低于SDH。

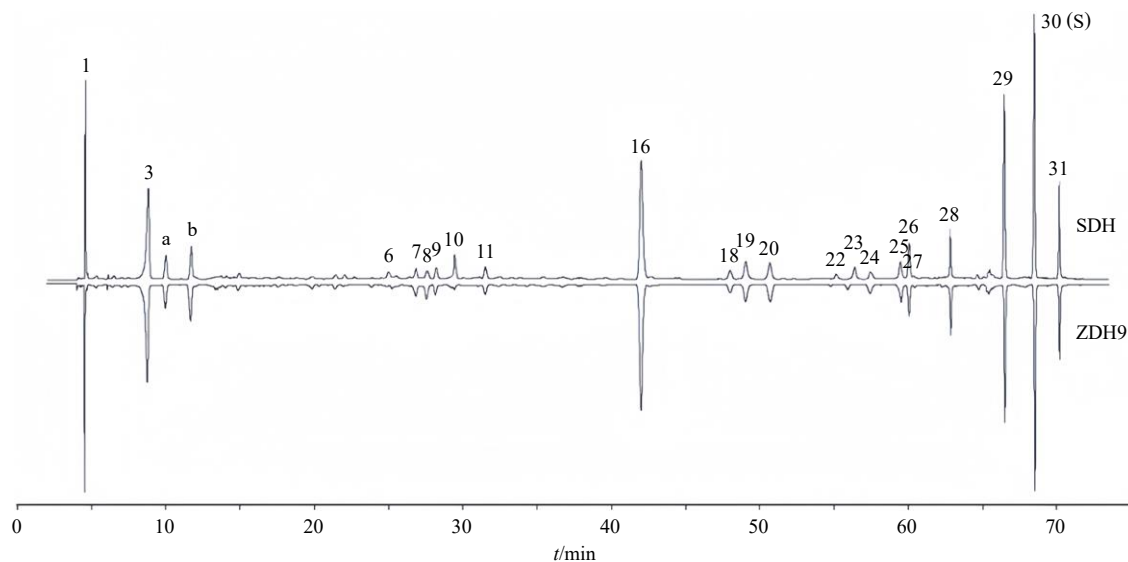


图2 古、今方法炮制熟大黄饮片特征图谱比较

Fig. 2 Comparison of characteristic maps of RRR decoction pieces prepared by ancient and modern methods

2.4 基于 HPLC 与化学计量学的大黄不同饮片定量表征

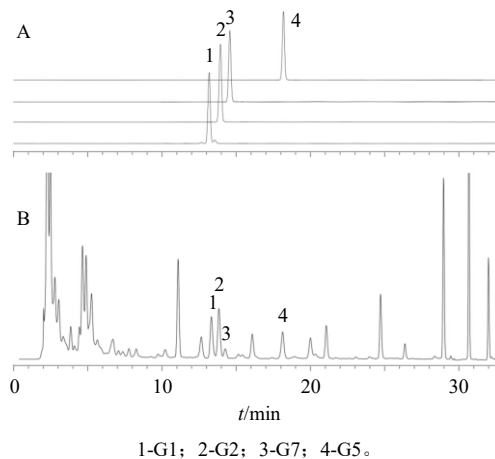
2.4.1 色谱条件^[15] 大黄化学成分众多，难以在同一色谱条件进行测定，故建立2种定量测定的方法，分别测定大黄饮片中15个主要成分的含量。

(1) 色谱条件1: Roc C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-0.1%冰醋酸水溶液，梯度洗脱：0~5 min, 54%甲醇；5~15 min, 54%~64%甲醇；15~20 min, 64%~73%甲醇；20~23 min, 73%~83%甲醇；23~26 min, 83%~90%甲醇；26~27 min, 90%~100%甲醇；27~33 min, 100%甲醇；苷元的检测波长 430 nm；苷的检测波长 280 nm；体积流量 1.00 mL/min；柱温 35 ℃；进样量 10 μL。

(2) 色谱条件2: Agilent Zorbax SB-C₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相为甲醇-0.1%乙酸水溶液，梯度洗脱：0~8 min, 3%~12%甲醇；8~9 min, 12%~22%甲醇；9~12 min, 22%~25%甲醇；12~31 min, 25%~45%甲醇；31~44 min, 45%~48%甲醇；44~46 min, 48%~100%甲醇；46~52 min, 100%甲醇；检测波长 280 nm；体积流量 1.00 mL/min；柱温 35 ℃；进样量 10 μL。

对照品溶液及供试品溶液的色谱图见图3~5。

2.4.2 对照品溶液制备 同“2.3.2”项。



1-G1; 2-G2; 3-G7; 4-G5。

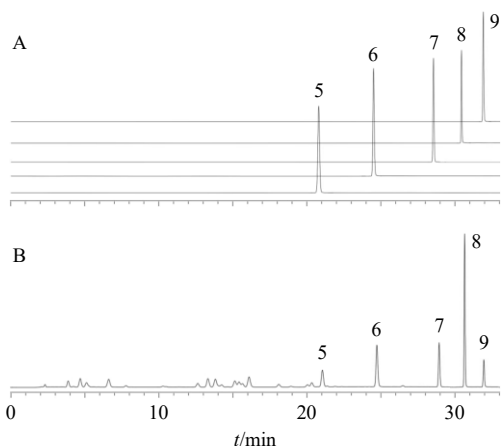
图3 色谱条件1对照品(A)及供试品(B)色谱图(280 nm)

Fig. 3 Chromatogram of control (A) and test (B) using chromatographic condition 1 (280 nm)

2.4.3 供试品溶液制备

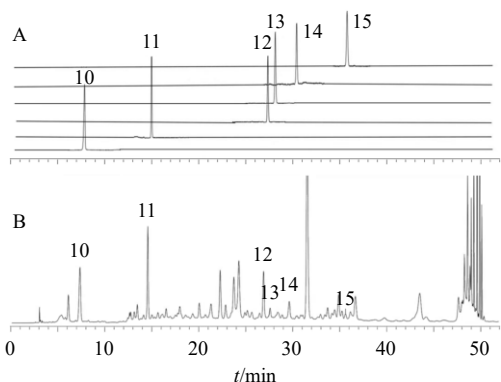
(1) 色谱方法1: 取各大黄饮片(DH、ZDH9、SDH)粉末(过40目筛)约0.5 g, 各平行2份, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入甲醇25 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取10 min, 放冷, 密塞, 再称定质量, 以甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 以0.22 μm微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

(2) 色谱方法2: 取各大黄饮片(DH、ZDH9、SDH)粉末(过40目筛)约0.5 g, 各平行2份,



5-芦荟大黄素; 6-大黄酸; 7-大黄素; 8-大黄酚; 9-大黄素甲醚。
5-aloe emodin; 6-rhein; 7-emodin; 8-chrysophanol; 9-phycion.

图4 色谱条件1对照品(A)及供试品(B)色谱图(430 nm)
Fig. 4 Chromatogram of control (A) and test (B) using chromatographic condition 1 (430 nm)



10-没食子酸; 11-儿茶素; 12-G6; 13-G3; 14-G4; 15-番泻苷A。
10-gallic acid; 11-catechin; 12-G6; 13-G3; 14-G4; 15-sennoside A.

图5 色谱条件2对照品(A)及供试品(B)色谱图
Fig. 5 Chromatogram of control (A) and test (B) using chromatographic condition 2

精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 80% 甲醇各 25 mL, 密塞, 称定质量, 回流提取 2 h, 放冷, 密塞, 再称定质量, 以 80% 甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 以 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取 15 种对照品溶液, 分别进样 1、5、10、15、20、25 μL, G1、G2、G7、G5、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚 9 种成分按照“2.4.1”项下色谱条件 1 进行检测, 以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 进行线性回归, 并计算回归方程分别为 $G1 Y=1\ 129\ 835.51 X-4\ 143.83$, $R^2=0.999\ 7$, 线性范围 16.400~410.000 ng; $G2 Y=1\ 166\ 589.59 X-4\ 843.54$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 20.104~

502.600 ng; $G7 Y=1\ 566\ 373.46 X-1\ 584.92$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 9.704~242.600 ng; $G5 Y=646\ 464.11 X-1\ 080.18$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 14.200~355.000 ng; 芦荟大黄素 $Y=2\ 655\ 755.60 X-3\ 898.75$, $R^2=1.000\ 0$, 线性范围 20.000~500.000 ng; 大黄酸 $Y=2\ 383\ 813.20 X-31\ 300.45$, $R^2=0.999\ 8$, 线性范围 27.000~675.000 ng; 大黄素 $Y=2\ 411\ 001.42 X-108\ 200.57$, $R^2=0.999\ 5$, 线性范围 78.000~1\ 950.000 ng; 大黄酚 $Y=1\ 263\ 925.57 X-25\ 731.33$, $R^2=0.999\ 2$, 线性范围 34.400~860.000 ng; 大黄素甲醚 $Y=1\ 958\ 043.52 X-9\ 490.67$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 22.200~555.000 ng。

没食子酸、儿茶素、G6、G3、G4、番泻苷 A 6 种成分按照“2.4.1”项下色谱条件 2 进行检测, 以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 进行线性回归, 并计算回归方程分别为没食子酸 $Y=2\ 219\ 535.10 X-143\ 104.27$, $R^2=0.999\ 0$, 线性范围 64.200~1\ 605.000 ng; 儿茶素 $Y=423\ 385.23 X-376.07$, $R^2=0.999\ 2$, 线性范围 198.304~4\ 957.600 ng; $G6 Y=2\ 534\ 277.90 X-110\ 977.55$, $R^2=0.999\ 8$, 线性范围 68.800~1\ 720.000 ng; $G3 Y=1\ 552\ 986.50 X-18\ 426.91$, $R^2=0.999\ 8$, 线性范围 70.904~1\ 772.600 ng; $G4 Y=1\ 010\ 378.20 X-30\ 311.15$, $R^2=0.999\ 9$, 线性范围 126.600~3\ 165.000 ng; 番泻苷 A $Y=1\ 604\ 380.49 X-8\ 125.70$, $R^2=0.999\ 5$, 线性范围 17.200~430.000 ng。

结果表明, 上述 15 种成分在各自质量浓度范围内线性关系良好。

2.4.5 精密度考察 精密吸取“2.4.3”项下 DH 供试品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, G1、G2、G7、G5、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚按照“2.4.1”项下色谱条件 1 进行检测, 结果其峰面积的 RSD 分别为 1.30%、1.30%、0.67%、1.37%、0.99%、1.96%、1.99%、1.95%、1.85%; 没食子酸、儿茶素、G6、G3、G4、番泻苷 A 按照“2.4.1”项下色谱条件 2 进行检测, 结果其峰面积的 RSD 分别为 1.09%、1.28%、1.96%、1.79%、1.84%、1.25%; 表明该仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性考察 精密吸取“2.4.3”项下 DH 供试品溶液 10 μL, 间隔 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, G1、G2、G7、G5、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚按照“2.4.1”项下色谱条件 1 进行检测, 结果其峰面积的 RSD 分别为

0.67%、0.31%、0.75%、0.29%、1.87%、1.48%、1.26%、1.55%、1.42%；没食子酸、儿茶素、G6、G3、G4、番泻苷 A 按照“2.4.1”项下色谱条件 2 进行检测，结果其峰面积的 RSD 分别为 0.40%、0.33%、0.25%、0.79%、0.37%、1.55%；表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.7 重复性考察 取 DH 粉末（过 40 目筛）约 0.5 g，共 6 份，精密称定，按照“2.4.3”项下方法分别制成供试品溶液，分别精密吸取 10 μ L，G1、G2、G7、G5、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚按照“2.4.1”项下色谱条件 1 进行检测，结果其质量分数的 RSD 分别为 0.52%、0.44%、0.39%、1.24%、1.90%、1.98%、1.65%、1.67%、1.45%；没食子酸、儿茶素、G6、G3、G4、番泻苷 A 按照“2.4.1”项下色谱条件 2 进行检测，结果其质量分数的 RSD 分别为 0.29%、0.34%、0.20%、0.22%、0.20%、1.83%；表明该方法重复性良好。

2.4.8 加样回收率考察 取已测知 15 种成分含量的 DH 粉末约 0.25 g，共 6 份，精密称定，按照样品中成分含量与添加对照品 1:1~1:1.5 的比例，分别精密加入各对照品适量，按照“2.4.3”项下方

法分别制备供试品溶液，G1、G2、G7、G5、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚按照“2.4.1”项下色谱条件 1 进行检测，结果其平均加样回收率分别为 99.28%、104.37%、100.67%、102.92%、99.57%、103.60%、102.37%、99.67%、102.24%，RSD 分别为 1.25%、0.71%、1.76%、1.40%、0.69%、0.98%、0.51%、0.80%、0.50%；没食子酸、儿茶素、G6、G3、G4、番泻苷 A 按照“2.4.1”项下色谱条件 2 进行检测，结果其平均加样回收率分别为 103.97%、103.00%、100.68%、101.50%、100.17%、100.06%，RSD 分别为 1.20%、0.82%、0.52%、0.72%、0.54%、0.87%；可见回收率均在 95%~105%，RSD 均小于 2.0%。

2.4.9 样品测定 分别称取 DH 及大黄古、今炮制饮片 ZDH9、SDH 适量，依法制成供试品溶液。精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L，注入液相色谱仪分析测定，具体结果见表 1。与 DH 相比，古、今 2 种方法炮制的熟大黄饮片中 15 种成分的含量均发生显著改变，其中苷和苷元类成分均减少，没食子酸含量增加，儿茶素含量减少。古、今方法炮制的熟大黄饮片相比，各成分含量也有所不同。

表 1 大黄古、今炮制饮片中主要成分定量测定结果 (n = 2)

Table 1 Determination results of main components of RRR (n = 2)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)														
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	番泻苷A	大黄酚	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄素甲醚	没食子酸	儿茶素
DH-1	1.297	1.089	2.855	5.030	0.446	2.720	0.421	0.997	3.163	0.697	1.430	1.690	1.137	2.576	11.881
DH-2	1.297	1.098	2.843	5.022	0.451	2.723	0.421	0.996	3.217	0.713	1.434	1.674	1.154	2.580	11.904
DH-3	1.302	1.098	2.842	5.039	0.454	2.727	0.423	1.013	3.213	0.703	1.426	1.674	1.154	2.568	11.914
ZDH9-1	0.736	0.412	0.564	1.411	0.283	0.466	0.342	0.000	2.534	0.588	0.989	1.168	0.860	3.777	0.257
ZDH9-2	0.623	0.350	0.612	1.398	0.257	0.493	0.296	0.000	2.267	0.512	0.828	1.006	1.011	3.759	0.267
ZDH9-3	0.775	0.436	0.547	1.422	0.318	0.457	0.369	0.000	2.595	0.607	1.026	1.202	1.259	3.781	0.285
SDH-1	0.745	0.372	0.701	1.627	0.270	1.109	0.308	0.000	3.115	0.636	0.834	1.476	1.053	4.692	0.176
SDH-2	0.314	0.314	0.707	1.697	0.228	1.101	0.262	0.000	2.656	0.539	0.814	1.238	0.847	4.714	0.175
SDH-3	0.665	0.334	0.715	1.672	0.253	1.111	0.275	0.000	2.681	0.572	0.768	1.327	1.307	4.715	0.162

2.5 多模式化学计量学分析

2.5.1 总体分析 由于番泻苷 A 在炮制后已检测不到，故采用正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 对大黄古、今方法炮制饮片中其余 14 种成分的含量进行总体分析。OPLS-DA 模型的累积解释能力参数 R^2_X 和 R^2_Y 分别为 1.000 和 1.000，预测能力参数 Q^2 为 0.988， R^2 和 Q^2 均大于 0.5，表明所构建模型具有可靠性。古、今 2 种方法炮制的熟大

黄饮片分布在不同的象限，可以较好地分开 (图 6)。按照模型中变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) 顺序预测值来筛选出具有统计学意义的差异标志物，即选出 VIP > 1.0 的差异标志物为没食子酸、G6、G4、儿茶素、G3、大黄素 (图 7)，可以作为区分古、今方法炮制熟大黄饮片的标志物。系统聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 结果 (图 8) 显示，大黄不同饮片可各自聚类，当分类距离大于 2 时，3 种饮片聚为 2 类，DH

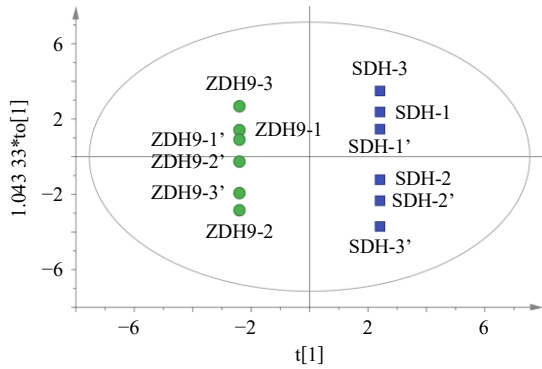


图6 古、今方法炮制的熟大黄饮片中主要成分含量的 OPLS-DA

Fig. 6 OPLS-DA of major components in RRR decoction pieces prepared by ancient and modern methods

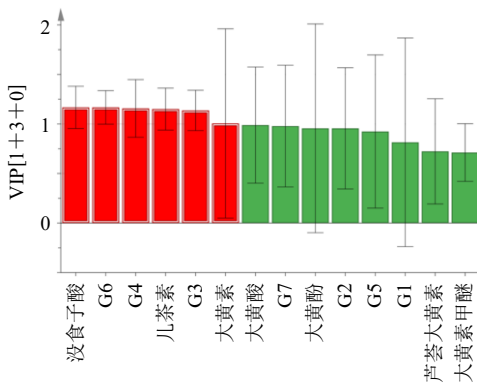


图7 古、今方法炮制的熟大黄饮片中主要成分含量的 VIP 值

Fig. 7 VIP value of content of main components in RRR decoction pieces prepared by ancient and modern methods

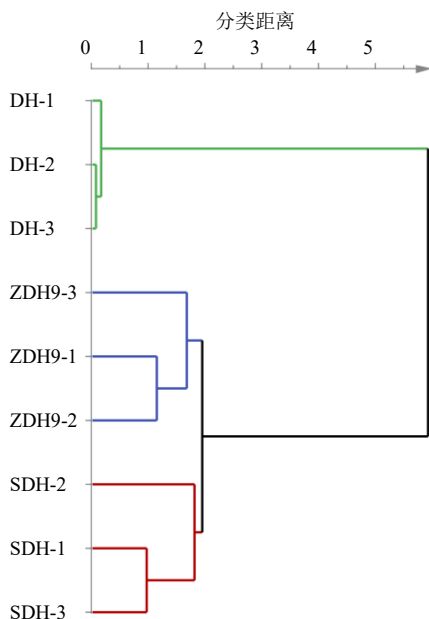


图8 古、今方法炮制的熟大黄饮片中主要成分含量 HCA

Fig. 8 HCA content main components in RRR decoction pieces prepared by ancient and modern methods

聚为一类，SDH 和 ZDH9 聚为一类。

2.5.2 苷类成分分析 对大黄炮制前后饮片中 7 种苷类成分的含量进行偏最小二乘-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)，模型的累积解释能力参数 R^2_X 和 R^2_Y 分别为 1.000 和 1.000，预测能力参数 Q^2 为 0.999， R^2 和 Q^2 均大于 0.5，表明所构建模型具有可靠性。3 种饮片分布在不同的象限，可以较好地地区分开 (图 9)。古、今方法炮制的熟大黄饮片中 7 种苷类成分的量比关系分析显示，ZDH9 中含量排名前 4 的成分为 G4、G1、G3、G6，4 种成分的比例约为 2 : 1 : 0.82 : 0.65；SDH 中含量排名前 4 的成分种类与 ZDH9 相同，但 4 种成分的比例发生了显著改变，约为 2.83 : 1 : 1.17 : 1.83；结果见表 1。

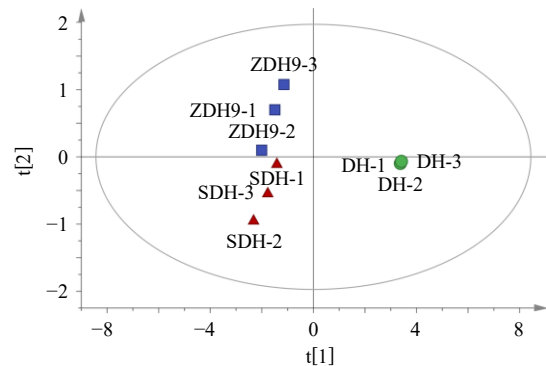


图9 古、今方法炮制的熟大黄饮片中苷类成分含量 PLS-DA

Fig. 9 PLS-DA analysis of glycoside content in RRR decoction pieces prepared by ancient and modern methods

2.5.3 苷元类成分分析 对大黄炮制前后饮片中苷元类成分的含量进行 PLS-DA，结果显示，3 种饮片分布在不同的象限，可以较好地地区分开 (图 10)。

2.5.4 鞣质类成分分析 对大黄炮制前后饮片中鞣质类成分的含量进行 PLS-DA，结果显示，3 种饮片分布在不同的象限，可以较好地地区分开 (图 11)。鞣质类成分分析结果 (表 2) 显示，古、今 2 种方法炮制后熟大黄饮片中没食子酸的含量均显著增加 ($P < 0.001$)，其中以 SDH 的增加幅度最为显著，约为 DH 的 1.83 倍、ZDH9 的 1.25 倍；熟大黄饮片中儿茶素含量经过古、今 2 种方法炮制后均显著降低 ($P < 0.001$)，二者下降幅度相近，但 SDH 稍大于 ZDH9。

3 讨论

HPLC 特征图谱具有整体性、特征性等特点，可以同时显示不同样本之间的“相似性”和“差异

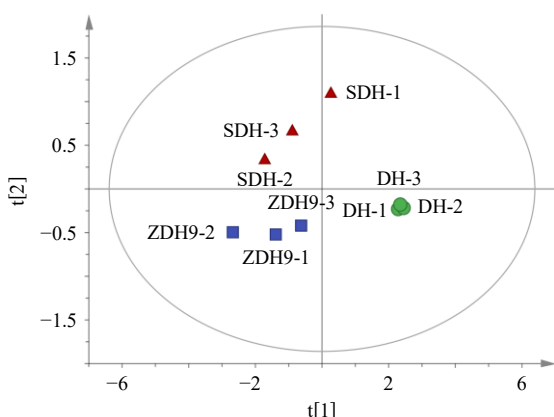


图 10 古、今方法炮制的熟大黄饮片中蒽醌类成分含量 PLS-DA

Fig. 10 PLS-DA of anthraquinone cone components in RRR decoction pieces prepared by ancient and modern methods

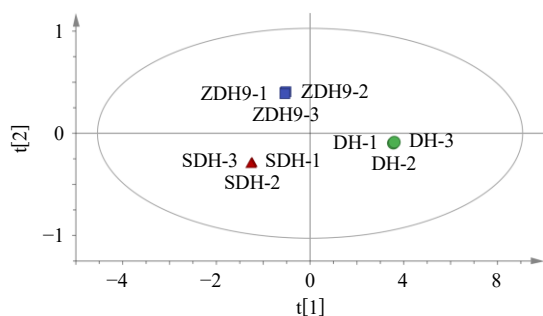


图 11 古、今方法炮制的熟大黄饮片中鞣质类成分含量 PLS-DA

Fig. 11 PLS-DA of tanning ingredients in RRR decoction pieces prepared by ancient and modern methods

表 2 古、今方法炮制的熟大黄饮片中鞣质类成分含量分析 (n = 3)

Table 2 Analysis of content of tannin components in RRR decoction pieces processed by ancient and modern methods (n = 3)

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)	
	没食子酸	儿茶素
DH	2.574 ± 0.006	11.900 ± 0.017
ZDH-9	3.772 ± 0.011***	0.270 ± 0.014***
SDH	4.707 ± 0.013***###	0.171 ± 0.008***###

与 DH 比较: ***P < 0.001; 与 ZDH9 比较: #P < 0.01 ###P < 0.001。

***P < 0.001 vs DH; #P < 0.01 ###P < 0.001 vs ZDH9.

性”，是中药质量控制的常用手段^[16-17]。而定量分析不仅能够提供主要指标成分的绝对含量，借助化学计量学方法，还能找到不同样本的关键质量标志物及鉴别指标。因此，则为了探寻大黄古、今炮制方法的差异，本实验采用 HPLC 结合化学计量学方法，

从物质基础角度对古代经典九蒸九晒炮制方法与现代药典收录的熟大黄炮制方法进行了对比研究。结果显示，大黄经古、今 2 种方法炮制而成的饮片，化学组成较为相似（均含有 G1、大黄素、没食子酸等 14 个化学成分），但主要成分的含量及各成分间的比例有着明显的差异，ZDH9 中 G4、G1、G3、G6 的比例为 2 : 1 : 0.8 : 0.6，而 SDH 中上述 4 种成分的比例为 2.8 : 1 : 1.2 : 1.8。明确了大黄饮片在古、今 2 种炮制方法下物质基础的共性规律和个性特征，揭示了炮制工艺改变对大黄饮片物质基础的影响，为深入了解大黄的九蒸九晒炮制方法和现代炮制方法提供了有效依据，也为进一步探讨炮制工艺与其功效的相关性奠定了基础。

大黄所含化学成分众多，通过深入分析古、今 2 种炮制方法对各类成分的影响，明确了工艺与物质基础的相关性。蒽醌类化合物是大黄中一类重要的活性成分，本实验共测定 6 种蒽醌苷类和 5 种蒽醌苷元类成分含量，结果表明，ZDH9 和 SDH 与 DH 相比变化显著，泻下作用代表性成分蒽醌苷类成分及蒽醌苷元含量降低。

炮制后，苷元类成分含量占所测成分总含量比例升高，表明经过炮制后苷元类成分由苷类成分裂解而来，所占比例有所升高^[18]。而由于蒽醌苷元类成分自身对光、热的不稳定性，使其在反复蒸、晒过程中也会发生分解^[19]，导致 ZDH9 中大黄酚、大黄素等蒽醌苷元类成分的含量降低的幅度比 SDH 更为显著。酒可以通过分解、转化药物的有效成分以及影响成分溶出等多种方式来影响有效成分的含量，进而影响药效^[20]。而九蒸九晒方法与药典熟大黄炮制方法在黄酒用量上有着显著的差异，并且配合反复蒸晒，可能使大黄的药性更趋向于缓和^[7,21]，其泻下作用也因蒽醌苷类成分的降低，而减弱的更为明显。

此外，古、今方法炮制的大黄饮片所含苷类成分的比例也有明显不同，其中 G6 的差异最为显著，SDH 中 G6 的含量是 ZDH9 的 2.3 倍，G6 属二苯乙烯类化合物，对光较为敏感。高温使分子运动加剧，增加白藜芦醇苷分子的活泼性，当同时存在光照时，热效应和光效应相互叠加，会大大提高白藜芦醇苷的分解效率。有研究表明，白藜芦醇苷具有调血脂^[22]、降血糖^[23-24]及缺血再灌注损伤保护等作用^[25]，SDH 和 ZDH9 中白藜芦醇苷含量的显著差异可能导致二者功效差异的主要原因之一。

大黄中所含鞣质主要是由没食子酸和儿茶素为基本单元结合或缩合形成的系列衍生物。高温条件下,鞣质类成分与含有没食子酰基的苷类成分均可分解产生没食子酸,从而导致 ZDH9 和 SDH 中没食子酸含量均显著增加。同时,又因古、今 2 种炮制工艺的不同,没食子酸在 ZDH9 和 SDH 中的含量相差 1.25 倍,说明炮制工艺与没食子酸的转化方式和“转化-破坏”平衡形成具有密切关系。儿茶素为黄烷-3-醇类化合物,结构中存在 2 个手性碳原子,在高温条件下极易发生差向立体异构化并被逐渐破坏^[26],这是 ZDH9 和 SDH 中儿茶素含量显著降低的主要原因,但与没食子酸的变化规律不同,儿茶素在 ZDH9 和 SDH 中的变化无显著差异,说明古、今 2 种炮制工艺对儿茶素的影响较为相似。此外,有研究显示^[27-28],大黄蒽醌和鞣质类成分对肝脏具有保护和损伤的双向作用,其作用的趋向取决于 2 类成分的量比关系。古、今 2 种方法炮制的大黄饮片中蒽醌和鞣质类成分的量比有明显差异,可能会导致二者功效与毒性也产生显著差异。综上所述,各类成分含量以及比例的差异,不仅是鉴别 ZDH9 与 SDH 的关键依据,也是导致 ZDH9 与 SDH 药效差异的原因之一。

本实验通过对古、今 2 种方法炮制后大黄化学成分组成及其量比关系差异的分析,揭示了炮制方法对大黄饮片质量属性内涵形成的影响,明确了 ZDH9 与 SDH 的物质基础,为进一步结合药效学研究全面了解二者的差异奠定了基础。同时,本实验的研究结果可从物质基础层面对古代经典炮制方法有了更具象的了解,为传承经典炮制技术和方法,拓宽大黄饮片的临床应用提供了思路、方法和依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 周瑞,郜玉钢,臧埔,等. 炮制对中药活性成分及功效的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 209-212.
- [2] 罗仁书. 大黄不同炮制方法对其有效成分及临床疗效的影响 [J]. 临床合理用药杂志, 2013, 6(13): 108-109.
- [3] 张桥,陈艳琰,乐世俊,等. 大黄炮制的历史沿革及对化学成分、传统药理作用影响的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(3): 539-551.
- [4] 谢春燕,曲珍妮,刘静静,等. 大黄炮制历史沿革、标准概况与现代研究进展 [J]. 中华中医药学刊, (2024-09-20) [2025-03-15] <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20240919.1801.040>.
- [5] 王孝涛. 历代中药炮制法汇典-古代部分 [M]. 南昌:江西科学技术出版社, 1998: 20.
- [6] 窦汉卿. 疮疡经验全书 [M]. 浩然楼依五桂堂本重镌, 1717: 228.
- [7] 吴思俊,王龙,赵铭威,等. 中药九蒸九晒炮制技术研究进展 [J]. 中南药学, 2022, 20(9): 2015-2022.
- [8] 姚杨,贾英杰,邓仁芬,等. 基于大黄的肝毒性探讨其临床的合理运用 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(6): 1180-1183.
- [9] 赵玲,胡昌江,潘新,等. 长期服用生大黄、熟大黄对大鼠肝肾功能影响的比较 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(15): 1384-1387.
- [10] Wu J Z, Ma Z, Zhang Y H, et al. Precise subcellular organelle-targeted analyses of the hepatotoxicity of rhubarb [J]. *Acupunct Herb Med*, 2024, 4(2): 243-256.
- [11] 何婷婷,钟学文,张宁,等. 187 例中草药及其制剂导致肝损伤病例前瞻性临床研究 [J]. 肝脏, 2018, 23(8): 666-669.
- [12] 王洪鑫,张石宇,金阳,等. 基于网络药理学和实验验证探究大黄致肝毒性作用机制 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2024, 26(1): 167-178.
- [13] 黄巧波,刘明平. 基于网络药理学与分子对接技术探讨大黄肝毒性的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(12): 2965-2970.
- [14] 李丽,张村,肖永庆,等. 大黄 5 种饮片化学成分的变化规律 [J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(12): 839-841.
- [15] Liu T T, Yu M, Dai Y, et al. Traditional method of rhubarb processing optimized by combining flavor analysis with anthraquinone content determination [J]. *Front Nutr*, 2024, 11: 1406430.
- [16] 连益纯,林静,李知瑾,等. HPLC 特征图谱技术在中药制剂质量控制中的应用进展 [J]. 海峡药学, 2024, 36(2): 1-5.
- [17] 秦红霖,李永申. 特征图谱技术在中药质量分析中的应用 [J]. 中国实用医药, 2014, 9(7): 253-255.
- [18] 李丽,肖永庆. 大黄饮片炮制前后物质基础变化规律研究 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(4): 803-813.
- [19] 李除夕,丁菲,贾树田,等. 大黄中蒽醌苷元双相动态提取方法研究 [J]. 安徽医药, 2014, 18(7): 1229-1232.
- [20] 孙希峰,王雷. 浅谈酒对中药药效的影响 [J]. 河北中医, 2004, 26(4): 276.
- [21] 白亚亚,张桥,程鸿俊,等. 酒制对“寒性”中药影响的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(17): 5773-5785.
- [22] 高越,季倩. 白藜芦醇苷降血脂作用的实验研究 [J].

- 药实践杂志, 2013, 31(4): 280-282.
- [23] Zhou Q, Wang Y M, Han X K, *et al.* Efficacy of resveratrol supplementation on glucose and lipid metabolism: A Meta-analysis and systematic review [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 795980.
- [24] Zhao X H, Tao J H, Zhang T, *et al.* Resveratrolside alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice by competitively inhibiting α -glucosidase [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(10): 2886-2893.
- [25] 刘洋, 李嘉民, 陈荣, 等. 白藜芦醇苷对脑缺血再灌注损伤小鼠血脑屏障的保护作用研究 [J]. 天津医科大学学报, 2022, 28(3): 278-283.
- [26] 王云, 李丽, 张村, 等. 大黄 5 种饮片中没食子酸和儿茶素的含量比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(17): 2267-2269.
- [27] 覃鲁珊, 赵海平, 赵艳玲, 等. 大黄蒽醌与鞣质对大鼠肝脏的保护和损伤双向作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(6): 698-703.
- [28] 杨天文, 周纪军, 廖玉, 等. 大黄防治肝病的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7536-7544.

[责任编辑 郑礼胜]