

· 药剂与炮制 ·

砂仁制地黄的炮制工艺分析

王芳¹, 于欢¹, 李凤琴¹, 张帅杰², 刘怀伟², 代良敏³, 李艳^{1*}, 杨明^{1*}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 成都百草和济科技有限公司, 成都 611137;
3. 西南医科大学附属医院, 四川 泸州 646000)

[摘要] **目的:**探讨砂仁制地黄的最佳炮制工艺。**方法:**采用肾阴虚兼湿困脾胃模型来评价砂仁制地黄的滋阴(增效)和祛腻作用,大鼠随机分成空白组,模型组,阳性组,地黄组,1%砂仁制地黄组,2%砂仁制地黄组,5%砂仁制地黄组和10%砂仁制地黄组,给药体积均为10 mL·kg⁻¹,筛选砂仁制地黄的最佳配比;以毛蕊花糖苷、单糖(D-果糖和D-无水葡萄糖)质量分数为评价指标,结合色黑如漆和中央发空的感官评价指标,通过单因素试验考察黄酒类型、黄酒用量、蒸制温度、蒸制时间、砂仁粉粒度和砂仁粉加入方式对砂仁制地黄炮制工艺的影响。**结果:**砂仁制地黄组与模型组相比,大鼠血清皮质醇、雌二醇、甲状腺素、三碘甲腺原氨酸、肌酐、甘油三酯、总胆固醇和胃动素降低,睾酮、免疫球蛋白G和胃泌素升高,且2%砂仁制地黄组效果最佳。砂仁制地黄的最佳炮制工艺为每100 kg生地黄用黄酒30~50 kg,砂仁粉蒸制前后各用1 kg,黄酒、砂仁粉拌匀,润透,110~120℃蒸约4 h,至内外色黑如漆为度,取出,低温干燥至约八成干时,切片,干燥,用砂仁粉拌匀,即可。**结论:**优选的炮制工艺稳定可行,为阐释砂仁制地黄的增效祛腻机制提供实验依据。

[关键词] 砂仁; 地黄; 药汁制; 湿困脾胃; 毛蕊花糖苷; D-果糖; D-无水葡萄糖

[中图分类号] R22;R283;R285.5;R284;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)18-0005-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181705

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180614.1141.008.html>

[网络出版时间] 2018-06-14 15:39

Optimization of Processing Technology of Rehmanniae Radix with Amomi Fructus

WANG Fang¹, YU Huan¹, LI Feng-qin¹, ZHANG Shuai-jie², LIU Huai-wei²,

DAI Liang-min³, LI Yan^{1*}, YANG Ming^{1*}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Chengdu Baicao Heji Technology Co. Ltd., Chengdu 611137, China;

3. The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the best processing technology of Rehmanniae Radix with Amomi Fructus. **Method:** Model of Kidney-Yin deficiency and wet-sleepy spleen and stomach was adopted to evaluate the effect of Rehmanniae Radix processed with Amomi Fructus on enhancing Yin (synergism) and eliminating the greasy, the best proportion of Amomi Fructus to Rehmanniae Radix was selected. The content of acteoside, monosaccharides (D-glucose, D-fructose) was used as the evaluation indexes, combined with sensory evaluation index of color black as lacquer and central airspace, single factor experiments were employed to select the technology of Rehmanniae Radix processed with Amomi Fructus. **Result:** The mass ratio of Amomi Fructus to

[收稿日期] 20171214(018)

[基金项目] 国家级中药炮制技术传承基地项目(国中医药科技[2015]86号);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ170752);江西中医药大学重点学科青年教师培养计划项目(2015jzzdxk011);江西中医药大学博士启动基金项目(2015BS002)

[第一作者] 王芳,讲师,博士,从事中药制剂学研究,Tel:0791-87118645,E-mail:cat689apple@163.com

[通信作者] *李艳,副主任医师,从事中药临床应用研究,Tel:0791-87119633,E-mail:liyan_62@163.com;

*杨明,教授,博士生导师,从事中药炮制学与中药制剂学研究,Tel:0791-87119118,E-mail:yangming16@126.com

Rehmanniae Radix was 2%. Optimum processing technology was as following: 100 kg of Rehmanniae Radix used 30-50 kg of rice wine; added 1 kg of Amomi Fructus powder before and after steaming, respectively; mixed evenly with rice wine and Amomi Fructus powder, soaked completely, steamed about 4 hours at 110-120 °C, until black inside and outside, and central blackening for degrees, dried at low temperature to about 80% drying, used Amomi Fructus powder to mix evenly. **Conclusion:** This optimized technology is stable and feasible, this study can provide basis for elucidating the mechanism of enhancing Yin and eliminating the greasy of Rehmanniae Radix processed with Amomi Fructus.

[**Key words**] Amomi Fructus; Rehmanniae Radix; processed with herbal juice; wet-sleepy spleen and stomach; acteoside; *D*-fructose; *D*-glucose

地黄始载于《神农本草经》，被列为上品，味甘，性寒。其在 2015 年版《中国药典》收录的炮制品有生地黄和熟地黄^[1]。其中熟地黄由生地黄经过酒炖或蒸制而成，味甘，性微温，具有补血滋阴、益精填髓之功效，临床应用广泛，属于高配方频度中药之一。然而，熟地黄味甘而腻，易于助湿生满，有碍脾胃之消化吸收，用之常有胃纳欠佳、腹胀、便溏等反应，对脾虚而湿痰盛者尤为不利。古人在加工炮制熟地黄时对“腻滞”的处理极为重视，如《本草蒙筌》云：“夫补血剂，无逾地黄、当归，若服过多，其性缠滞，每于胃气亦有亏尔”；《本草述钩元》引缪仲淳语曰：“凡胸膈多痰，气道不利，升降窒息，药宣通者，汤液中禁用熟地”^[2]，因此限制了其临床应用范围。

药汁制是指将药材与一种或几种药物的药汁共制的一种中药炮制方法，是中药炮制的重要组成部分，始见于《雷公炮炙论》，其炮制目的及临床作用表现在解毒减毒、引药归经、纠正偏性等方面。其中砂仁制地黄是药汁制炮制法的代表性品种，最早出现于明代，在地黄炮制方法中占有重要地位，清代和现代都有沿用，其目的是借砂仁香燥之性而抑制地黄滋腻之性，以疏地黄之滞，健脾行滞，纳气归肾，有助于发挥其滋阴、益精的功效^[3-4]，如李中梓在《本草通玄》中指出：“熟地性滞，痰多者，恐其腻膈，宜姜汁炒之，以制其滞。更需佐以砂仁、沉香二味，皆纳气归肾，又能疏地黄之滞”；李时珍提出“盖地黄性泥得砂之香而窜，合和五脏冲和之气归缩丹田故也”。但经过对砂仁制地黄炮制方法的文献整理，发现历代典籍及各炮制规范记载的工艺尚不统一且过于宽泛，已不能满足现代化生产要求，这直接影响其临床的准确用药，严重限制了其临床应用。因此，本实验通过建立“肾阴虚兼湿困脾胃”动物模型，考察不同配比的砂仁制地黄炮制效果，并在此基础上，以毛蕊花糖苷、单糖含量为评价指标，对砂仁制地黄的蒸制温度、蒸制时间、砂仁粉用量、黄酒用量等因素

进行考察，优选砂仁制地黄的炮制工艺，为该特色饮片的开发奠定基础，并为其临床合理用药提供依据。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)，2000ES 型蒸发光散射检测器(美国 Alltech 公司)，BT25S 型 1/10 万电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]，JA2003 型电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司)，CD3001 型酶标仪和 BC321 型离心机(上海精密科学仪器有限公司)，ACCU-CHEK 型血糖测定仪(美国 Roche 公司)。

地黄、砂仁饮片(四川科伦药业股份有限公司，批号分别为 1601002 和 1602011，经成都中医药大学中药鉴定教研室卢先明教授鉴定，分别为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的干燥块根和姜科植物阳春砂 *Amomum villosum* 的干燥成熟果实)；毛蕊花糖苷，*D*-无水葡萄糖，*D*-果糖对照品(中国食品药品检定研究院，批号分别为 111530-201411, 110833-201506, 111504-200001，纯度依次为 94.4%，99.9%，100.0%)；大鼠血清皮质醇(Cort)，雌二醇(E₂)，甲状腺素(T₄)酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒，肌酐(Cr)，免疫球蛋白 G(IgG)，甘油三酯(TG)，总胆固醇(TC)，大鼠胃组织胃泌素(GAS)ELISA 试剂盒(南京建成生物工程研究所，批号分别为 20160615，20160615，20160615，20160603，20160612, 20160608, 20160607, 20160615)；大鼠血清睾酮(T)，三碘甲腺原氨酸(T₃)ELISA 试剂盒和大鼠胃组织胃动素(MTL)(北京科盈美科技有限公司，批号分别为 16061302, 16061304, 16011103)；猪油(购自柳岸农贸市场，自榨出油，出油率 93%)，羧甲基纤维素钠(成都市科龙化工试剂厂，批号 20110909)，甲状腺素片(山东仁和制药有限公司，批号 014150110)，利血平注射液(广东邦民制药有限公司，批号 15010101)，六味地黄丸(太极集团重庆中药二厂有限公司，批号 1601009)，藿香正气

口服液(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,批号 15060012),试剂均为分析纯。

健康的 SPF 级 SD 大鼠 80 只,体质量(210 ± 20) g,雌雄各半,购于四川省人民医院,合格证号 SCXK(川)2013-0015,本文涉及的动物实验均符合实验动物福利伦理审查指南的要求。

2 方法与结果

2.1 砂仁制地黄的最佳配比筛选^[5-8]

2.1.1 药液制备 取适量生地黄,粉碎(过一号筛,下同),加 5 倍量水浸泡 30 min,煎煮 60 min,过滤,减压浓缩至生药质量浓度 0.2 g·mL⁻¹,得地黄药液。分别取对应质量比的砂仁制地黄饮片,粉碎后加 5 倍量水浸泡 30 min,煎煮 60 min,过滤,减压浓缩至生药质量浓度 0.2 g·mL⁻¹,即得 1% 砂仁制地黄药液,2% 砂仁制地黄药液,5% 砂仁制地黄药液和 10% 砂仁制地黄药液。取甲状腺素和利血平注射液配制成质量浓度分别为 7.5,0.5 g·L⁻¹的混悬液。取藿香正气口服液 1.3 mL,加水稀释至 10 mL,取六味地黄丸适量,用藿香正气口服液稀释液配制成质量浓度为 5.76 g·L⁻¹的混悬液。

2.1.2 动物实验 将 80 只大鼠适应性饲养 3 d,按

体质量随机分为空白组,模型组,阳性组,地黄组,1% 砂仁制地黄组(以下简称 1% 组),2% 砂仁制地黄组(以下简称 2% 组),5% 砂仁制地黄组(以下简称 5% 组)和 10% 砂仁制地黄组(以下简称 10% 组),每组 10 只,雌雄各半。除空白组外,其余各组大鼠单日禁食,并于早上灌胃给予 4 ℃ 冰水(剂量 2 mL/只)1 次,双日供应充足饲料并灌胃给予猪油(3~4 mL/只)1 次,每日令大鼠站在 4 cm 深水池中 10 h,同时每日灌胃给予甲状腺素和利血平混悬液(灌胃体积 10 mL·kg⁻¹),连续造模 10 d;造模期间,阳性组同日下午灌胃给予六味地黄丸和藿香正气口服液混悬液(灌胃体积 10 mL·kg⁻¹),其他给药组均给予相应的药物(灌胃体积均为 10 mL·kg⁻¹)连续 10 d;空白组正常饲养,同时灌胃给予等量生理盐水。末次给药后禁食不禁水,16 h 后股动脉取血,室温静置 1 h,于 3 500 r·min⁻¹离心 10 min,分取血清,按说明书测定各组大鼠血清 Cort, T, E₂, T₄, T₃, Cr, IgG, TG 和 TC 的水平;取部分胃组织匀浆,于转速 2 500 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,按说明书测定各组大鼠胃组织 MTL 与 GAS 的水平。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用 SPSS 19.0 软件进行分析,见表 1。

表 1 不同配比砂仁制地黄对大鼠血清及胃组织生化指标的影响

Table 1 Effect of different proportions of Rehmanniae Radix processed with Amomi Fructus on serum and gastric tissue biochemical indexes in rats

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Cort /μg·L ⁻¹	T /μg·L ⁻¹	E ₂ /ng·L ⁻¹	T ₄ /μg·L ⁻¹	T ₃ /μg·L ⁻¹	Cr /μmol·L ⁻¹
空白	-	49.927 ± 0.507	4.297 ± 1.032	78.628 ± 4.747	23.207 ± 0.854	2.154 ± 0.446	136.889 ± 0.849
模型	-	75.611 ± 0.624 ²⁾	2.653 ± 1.211 ²⁾	91.229 ± 4.374 ²⁾	32.045 ± 0.252 ²⁾	4.130 ± 0.324 ²⁾	159.163 ± 1.750 ²⁾
六味地黄丸 + 藿香正气口服液	0.057 6	50.283 ± 0.531 ⁴⁾	4.172 ± 0.530 ⁴⁾	79.241 ± 5.438 ⁴⁾	23.440 ± 0.714 ³⁾	2.130 ± 0.538 ⁴⁾	137.655 ± 0.606 ⁴⁾
地黄		56.741 ± 1.604 ³⁾	2.815 ± 1.302	81.859 ± 3.363 ³⁾	27.401 ± 0.088	2.129 ± 0.406 ⁴⁾	144.630 ± 1.520
1%	2.00	53.618 ± 1.743 ³⁾	3.968 ± 1.284 ³⁾	81.357 ± 3.193 ³⁾	27.729 ± 0.019	2.889 ± 0.559	140.817 ± 0.405 ³⁾
2%	2.00	50.182 ± 1.511 ⁴⁾	4.191 ± 1.597 ⁴⁾	80.080 ± 4.956 ⁴⁾	24.172 ± 1.256 ³⁾	2.118 ± 0.391 ⁴⁾	137.892 ± 0.600 ⁴⁾
5%	2.00	52.908 ± 0.692 ³⁾	4.003 ± 1.468 ³⁾	85.855 ± 2.216 ³⁾	24.848 ± 2.929 ³⁾	2.362 ± 0.591 ³⁾	137.569 ± 1.639 ⁴⁾
10%	2.00	54.352 ± 1.525 ³⁾	3.972 ± 1.650 ³⁾	83.493 ± 2.568 ³⁾	22.263 ± 0.839 ⁴⁾	2.358 ± 0.524 ³⁾	139.109 ± 3.606 ³⁾

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	IgG /mg·L ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹	TC /mmol·L ⁻¹	MTL /ng·L ⁻¹	GAS /ng·L ⁻¹
空白	-	2.937 ± 0.357	0.785 ± 0.235	1.555 ± 0.613	358.957 ± 1.589	130.715 ± 0.946
模型	-	0.610 ± 1.294 ²⁾	2.494 ± 0.196 ¹⁾	3.678 ± 0.622 ¹⁾	399.348 ± 2.643 ¹⁾	86.046 ± 0.333 ²⁾
六味地黄丸 + 藿香正气口服液	0.057 6	2.827 ± 0.726 ⁴⁾	0.955 ± 0.243 ³⁾	1.857 ± 0.267 ³⁾	355.694 ± 1.118 ³⁾	130.820 ± 2.409 ⁴⁾
地黄		1.699 ± 0.914	0.971 ± 0.360 ³⁾	2.999 ± 0.688	375.984 ± 1.351	121.756 ± 2.591 ³⁾
1%	2.00	2.702 ± 0.174 ³⁾	1.144 ± 0.394 ³⁾	2.120 ± 0.358 ³⁾	362.169 ± 3.245 ³⁾	122.956 ± 2.633 ³⁾
2%	2.00	2.645 ± 0.476 ³⁾	1.082 ± 0.220 ³⁾	1.803 ± 0.456 ⁴⁾	360.452 ± 2.069 ³⁾	128.232 ± 0.156 ³⁾
5%	2.00	2.393 ± 1.344 ³⁾	1.017 ± 0.315 ³⁾	1.956 ± 0.544 ³⁾	356.238 ± 0.410 ³⁾	125.396 ± 2.495 ³⁾
10%	2.00	2.691 ± 2.886 ³⁾	0.976 ± 0.373 ³⁾	1.990 ± 0.516 ³⁾	372.702 ± 1.791	124.517 ± 2.753 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;与模型组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01。

由表1可知,与空白组相比,模型组大鼠血清Cort, E₂, T₄, T₃, Cr升高, T和IgG降低,表明实验动物符合肾阴虚动物模型;实验动物体质量、饮水量、自主活动量显著下降,血清TG和TC升高,胃组织MTL升高和GAS降低,辩证认为大鼠符合湿困脾胃的中医症状。表明肾阴虚合并湿困脾胃动物模型复制成功。与模型组比较,除空白组与地黄组,其他各给药组大鼠血清Cort, T, E₂, T₄, T₃, Cr, IgG, TG和TC水平,胃组织MTL和GAS水平均有一定程度的变化,且大部分具有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$);其中大鼠血清Cort, E₂, T₄, T₃, Cr, TG, TC, MTL降低, T, IgG和GAS升高,表明各给药组均对肾阴虚兼湿困脾胃模型有改善效果,且以2%砂仁制地黄组的效果最佳。

2.2 毛蕊花糖苷的含量测定

2.2.1 色谱条件 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相乙腈-0.1%磷酸溶液(1:99),流速设定1 mL·min⁻¹,柱温为室温,检测波长210 nm,进样量10 μL。

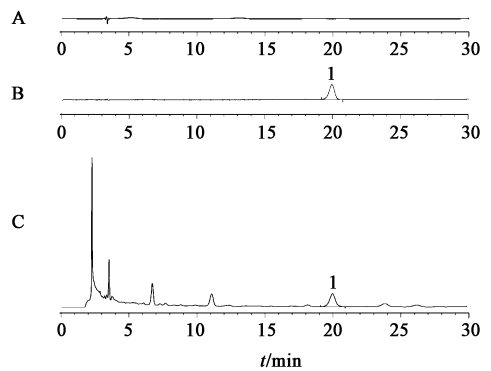
2.2.2 对照品溶液的制备 取毛蕊花糖苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含20.16 μg的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品切成约5 mm的小块,经80℃减压干燥24 h后,磨成粗粉,取约0.8 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,称定质量,加热回流提取1.5 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 mL,水浴浓缩至近干,残渣用流动相溶解并转移至10 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2.4 专属性考察 分别取空白溶剂、对照品溶液、供试品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件测定,见图1。结果理论板数以毛蕊花糖苷峰计算>5000,指标成分与其他组分的色谱峰分离良好,分离度>1.5,且阴性无干扰,表明该方法专属性良好。

2.2.5 线性关系考察 取毛蕊花糖苷对照品适量,加甲醇稀释成每1 mL含毛蕊花糖苷分别为10.1, 20.2, 25.2, 50.4, 100.8 μg的对照品溶液,得系列对照品溶液。按2.2.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 15.49X - 6.986$ ($r = 0.999$),线性范围10.1~100.8 mg·L⁻¹。

2.2.6 精密度试验 取同一供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件连续进样6次,计算毛蕊花糖苷峰面



A. 空白溶剂; B. 对照品; C. 供试品; 1. 毛蕊花糖苷

图1 2%砂仁制地黄中毛蕊花糖苷含量测定的HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of determination of acteoside in *Rehmanniae Radix* processed with 2% *Amomi Fructus*

积的RSD 1.1%,表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性考察 取同一供试品溶液,分别在制备后0, 2, 5, 9, 16, 24 h按2.2.1项下色谱条件测定,计算毛蕊花糖苷峰面积的RSD 2.4%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.8 加样回收试验 称取已知毛蕊花糖苷质量分数(0.025%)的同一批样品6份,分别约按1:1精密加入毛蕊花糖苷对照品适量(30 μg),按2.2.3项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件测定,计算毛蕊花糖苷的平均加样回收率102.5%,RSD 1.9%,表明该方法准确度良好。

2.3 单糖成分的含量测定

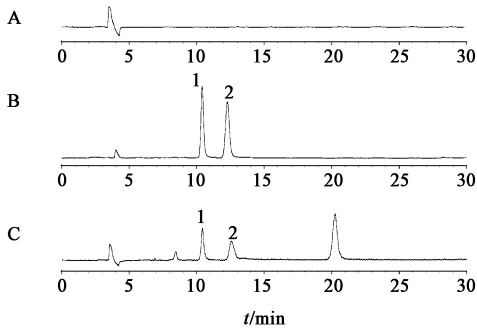
2.3.1 色谱条件 Sepax HP-Amino色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相水-乙腈(20:80),柱温30℃,流速1 mL·min⁻¹,进样量10 μL。ELSD检测器,漂移管温度90℃,载气为氮气,气体流速2.5 L·min⁻¹。

2.3.2 对照品溶液的制备 取D-果糖和D-无水葡萄糖对照品适量,精密称定,加水制成质量浓度分别为0.469, 0.631 g·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取本品粗粉1.0 g,加60%甲醇100 mL,超声提取30 min,滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 专属性考察 分别取空白溶剂、混合对照品溶液、供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件测定,见图2。结果发现D-果糖和D-无水葡萄糖的色谱峰与其他组分的色谱峰分离良好,分离度>1.5,且阴性无干扰,表明该方法专属性良好。

2.3.5 线性关系考察 精密称取D-果糖和D-无水葡萄糖对照品,制成每1 mL含D-果糖分别为0.041 6, 0.083 2, 0.416, 1.321, 2.642 mg和D-无水



A. 空白溶剂; B. 对照品; C. 供试品; 1. *D*-果糖, 2. *D*-无水葡萄糖

图 2 2% 砂仁制地黄中单糖组分含量测定的 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of determination of two monosaccharides in *Rehmanniae Radix* processed with 2% *Amomi Fructus*

葡萄糖分别为 0.063 4, 0.126 8, 0.634, 1.572 5, 3.145 mg 的混合对照品溶液。按 2.3.1 项下色谱条件测定, 以峰面积的对数值为纵坐标, 质量浓度的对数值为横坐标, 得 *D*-果糖和 *D*-无水葡萄糖的回归方程分别为 $Y = 0.827X + 7.421$ ($r = 0.998$) 和 $Y = 0.701X + 7.462$ ($r = 0.997$), 线性范围依次为 0.041 6 ~ 2.642, 0.063 4 ~ 3.145 $g \cdot L^{-1}$ 。

2.4 砂仁制地黄炮制工艺的单因素试验考察 以毛蕊花糖苷, *D*-无水葡萄糖和 *D*-果糖质量分数为评价指标, 结合色黑如漆和中央发空的感官评价指标, 通过单因素试验筛选黄酒类型、黄酒用量、蒸制温度、蒸制时间、砂仁粉粒度和砂仁粉加入方式等因素。

2.4.1 黄酒类型 取生地黄 12 份, 每份 1 kg ($n = 3$), 淘洗至无泥沙, 各加入砂仁粗粉 20 g, 分别加入甜黄酒、半甜黄酒、干黄酒、半干黄酒 500 g, 混匀, 闷润至黄酒吸尽, 置蒸锅内, 分别于 120 $^{\circ}C$ 蒸制 4 h, 于 60 $^{\circ}C$ 干燥 16 h, 切片, 继续干燥 8 h, 取出, 按相应方法制备供试品溶液并测定指标成分含量, 见表 2。结果发现黄酒类型对毛蕊花糖苷含量的影响显著, 以干型和半干型黄酒为佳。

2.4.2 黄酒用量 取生地黄 9 份, 每份 1 kg ($n = 3$), 淘洗至无泥沙, 分别加入药材质量 30%, 40%, 50% 的黄酒, 其他步骤同 2.4.1 项, 见表 2。结果发现随着黄酒用量的增加, 毛蕊花糖苷含量升高, 结合 2015 年版《中国药典》(一部) 熟地黄炮制黄酒用量, 每 100 kg 生地黄用黄酒 30 ~ 50 kg 为宜。

2.4.3 砂仁粉粒度 取生地黄 6 份, 每份 1 kg ($n = 3$), 淘洗至无泥沙, 各加入黄酒 500 g, 分别加入砂仁粗粉、细粉 20 g, 其他步骤同 2.4.1 项, 见表 2。结果发现砂仁粗粉和细粉对熟地黄蒸制过程影响不显著, 故炮制工艺中对砂仁粉的粒度没有规定,

表 2 不同因素对 2% 砂仁制地黄炮制工艺的影响

Table 2 Effect of different factors on technology of *Rehmanniae Radix* processed with 2% *Amomi Fructus*

因素	水平	毛蕊花糖苷质量分数	<i>D</i> -果糖 + <i>D</i> -无水葡萄糖质量分数
黄酒类型	甜黄酒	0.014	15.296
	半甜黄酒	0.014	16.472
	干黄酒	0.027	16.856
	半干黄酒	0.027	16.400
黄酒用量	30%	0.019	16.978
	40%	0.030	18.832
	50%	0.061	17.442
砂仁粉粒度	粗粉	0.021	13.409
	细粉	0.019	13.119
蒸制温度	110 $^{\circ}C$	0.021	14.311
	120 $^{\circ}C$	0.021	16.675

注: 性状均为漆黑油润, 中央发空。

在实际生产过程中生产企业根据具体情况控制砂仁粉粒度。

2.4.4 蒸制温度 取生地黄 6 份, 每份 1 kg ($n = 3$), 淘洗至无泥沙, 各加入黄酒 500 g 和砂仁粗粉 20 g, 混匀, 闷润至黄酒吸尽, 置蒸锅内, 分别于 110, 120 $^{\circ}C$ 蒸制 4 h, 其他步骤同 2.4.1 项, 见表 2。结果发现当温度达到 110 $^{\circ}C$ 时, 熟地黄外观性状符合要求, 温度 110 ~ 120 $^{\circ}C$ 蒸制, 含量无显著性差异, 考虑到在实际生产过程中, 蒸制设备温度波动, 故蒸制温度以 110 ~ 120 $^{\circ}C$ 为宜。

2.4.5 蒸制时间 取生地黄 12 份, 每份 1 kg ($n = 3$), 淘洗至无泥沙, 各加入黄酒 500 g 和砂仁粗粉 20 g, 混匀, 闷润至黄酒吸尽, 置蒸锅内于 120 $^{\circ}C$ 分别蒸制 3, 4, 5, 6 h, 其他步骤同 2.4.1 项, 见表 3。结果发现当蒸制时间达到 4 h 后, 熟地黄外观性状均符合标准, 但随着蒸制时间的延长, 毛蕊花糖苷含量有所降低, 综合考虑, 选择蒸制时间 4 h。

表 3 蒸制时间对 2% 砂仁制地黄炮制工艺的影响

Table 3 Effect of steaming time on technology of *Rehmanniae Radix* processed with 2% *Amomi Fructus*

蒸制时间/h	性状	毛蕊花糖苷质量分数	<i>D</i> -果糖 + <i>D</i> -无水葡萄糖质量分数
3	深棕色, 中央发空	0.023	18.841
4	漆黑油润, 中央发空	0.029	21.332
5	漆黑油润, 中央发空	0.025	24.856
6	漆黑油润, 中央发空	0.025	18.947

2.4.6 砂仁粉加入方式 取生地黄 6 份, 每份 1 kg ($n = 3$), 淘洗至无泥沙, 各加入黄酒 500 g 和砂仁粉 20 g (其中 3 份一次性加入砂仁粉 20 g; 另 3 份先加

砂仁粉 10 g, 蒸制, 切片干燥, 拌砂仁粉 10 g), 混匀, 闷润至黄酒吸尽, 分别置蒸锅内于 120 °C 蒸制 4 h, 于 60 °C 干燥 16 h, 切片, 继续干燥 8 h, 取出。结果发现砂仁粉加入方式对熟地黄性状影响显著。一次加入砂仁粉时, 性状为漆黑油润, 中央发空; 在蒸制过程中, 砂仁的香气挥发殆尽, 健脾行滞作用微弱。分次加入砂仁粉时, 性状为表面附有淡棕色粉末, 内部漆黑油润, 中央发空, 有砂仁特异香气; 既能抑制地黄滋腻之性, 又保留了砂仁的特异香气, 说明分次加入砂仁粉的工艺较佳。

2.4.7 验证试验 根据单因素试验结果, 确定砂仁制地黄的最佳炮制工艺为每 100 kg 生地黄用黄酒 30 ~ 50 kg, 砂仁粉蒸制前后各用 1 kg, 黄酒、砂仁粉拌匀, 润透, 110 ~ 120 °C 蒸约 4 h, 至内外色黑如漆为度, 取出, 低温干燥至约八成干时, 切片, 干燥, 用砂仁粉拌匀, 即得。取生地黄 3 份, 每份 1 kg, 分别加入黄酒 300, 500, 300 g, 砂仁粉 10 g, 拌匀, 润透, 置蒸制容器内, 密闭, 分别以温度 120, 120, 110 °C 蒸制 4 h, 取出, 60 °C 下烘至八成干, 切片, 干燥, 加入砂仁粉 10 g, 拌匀。结果性状均为断面乌黑有光泽, 表面均匀粘附淡棕色粉末, 有砂仁特异香气; 毛蕊花糖苷质量分数依次为 0.027%, 0.034%, 0.029%; *D*-果糖质量分数分别为 14.382%, 13.894%, 14.706%; *D*-无水葡萄糖质量分数分别为 7.191%, 6.947%, 7.353%。说明优选的工艺条件稳定可行。

3 讨论

本实验采用甲状腺素联用利血平注射液的方法复制肾虚模型^[9-13]。Cort 是由肾上腺皮质产生和分泌的, 依赖下丘脑-垂体-肾上腺轴的分泌规律, 受促肾上腺皮质激素控制, 是反映肾上腺皮质功能的重要指标, 肾虚患者大多表现为肾上腺皮质功能亢进, 血清 Cort 升高是诊断肾上腺皮质功能亢进的直接依据^[14-15]。T3 和 T4 含量可以反映甲状腺轴的功能状态; E₂ 和 T 水平的高低反应了肾阴与肾阳的平衡关系, 均可作为肾阴虚证的生化指标^[16-18]。在湿困脾胃动物模型复制过程中, 本实验分别模拟了外湿过盛, 困阻脾胃; 饮食不节, 脾胃受损, 湿从内生; 气机受阻, 水湿不运。湿困脾胃证主要表现为胃肠功能失调, 多与胃肠激素的改变有关, MTL 与 GAS 是胃肠激素的代表, 可调节胃肠道的分泌和运动, 故本实验选择以上指标科学合理。

砂仁制地黄炮制工艺将砂仁粉全部与地黄和黄酒相拌, 蒸制过程中, 砂仁的香气挥发殆尽, 健脾行滞作用微弱, 炮制出的熟地黄与清蒸或黄酒蒸的熟

地黄外观差异不明显; 在蒸制前后分别拌加砂仁粉, 既有利于蒸制过程中砂仁的香燥之性渗透到地黄内部, 抑制地黄滋腻之性, 又在炮制的饮片上保留了砂仁的特异香气, 增强其抑制地黄滋腻之性, 饮片性状特性也十分突出, 易于与其他炮制规格区分。本实验筛选的砂仁制地黄炮制工艺科学可靠, 可在实际生产中推广。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 124-125.
- [2] 仝小林. 熟地黄重剂应用探讨[N]. 中国中医药报, 2010-12-03(5).
- [3] 包来发. 李中梓医学全书[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1999: 512.
- [4] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1977: 893.
- [5] 王水华, 陈帮明, 刘永芳, 等. 养阴益肾颗粒对糖皮质激素致肾阴虚证大鼠 HPA 轴的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(11): 142-147.
- [6] 吕爱平, 林庶茹, 李德新, 等. 脾肾阴虚模型大鼠肝细胞线粒体磷脂组分变化的比较研究[J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(1): 82-83.
- [7] 谭颖颖, 张楠, 张琪. 六味地黄丸含药血清减弱高糖环境下肾系膜细胞的增殖和炎症因子表达[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 103-107.
- [8] 张丰华, 黄秀深, 刘伟, 等. 湿困脾胃证动物模型的实验研究——宏观体征研究[J]. 成都中医药大学学报, 2008, 31(2): 36-38.
- [9] 刘瑶, 刘伟. 藿香正气散对湿困脾胃型亚健康大鼠胃肠功能的影响[J]. 江苏中医药, 2011, 43(6): 89-90.
- [10] 刘伟. 大鼠湿困脾胃动物模型复制的实验研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2006.
- [11] 冯永辉. 浅谈熟地黄常见药对的配伍应用[J]. 陕西中医, 2011, 32(8): 1064-1065.
- [12] 王萍, 王喜军. 肾虚证动物模型研究概况[J]. 中医药信息, 2013, 30(4): 123-125.
- [13] 樊蔚虹, 岳广欣, 李素香, 等. 长期激怒致肝肾阴虚证动物模型研制[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(9): 67-69.
- [14] 易宁育, 夏宗勤, 胡雅儿, 等. 滋肾阴助肾阳药对细胞调控机制的双向调节作用[J]. 中医杂志, 1989, 30(10): 44-46.
- [15] 王会霞. 地黄不同炮制品的滋阴补血作用比较研究[D]. 郑州: 河南中医学院, 2006.
- [16] 朱玲锦, 管昌田. 甲状腺功能亢进症[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2003: 107-109.
- [17] 付海尔, 李建民, 刘玉红. 左归丸对肾阴虚模型大鼠神经-内分泌-免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(22): 155-159.
- [18] 傅万山, 杨解人, 丁伯平, 等. 六味地黄丸对肾上腺皮质激素型肾阴虚小鼠的药效学研究[J]. 皖南医学院学报, 2002, 21(1): 11-12.

[责任编辑 刘德文]