

炮制与用法对莱菔子-苦杏仁药对中总成分 及芥子碱溶出的影响

翟文君, 李丽, 吕文海*

(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] **目的:**探讨炮制、粉碎、分煎与合煎对莱菔子、苦杏仁及其药对中水、醇溶性总成分,芥子碱,脂肪油溶出的影响。**方法:**采用 HPLC 测定芥子碱溶出量,流动相乙腈-0.1%磷酸水溶液(15:85),检测波长 326 nm;重量法测定水、醇溶性浸出物及脂肪油溶出量。利用 GC-MS 技术鉴定苦杏仁脂肪酸组成及含量, DB-5 石英毛细管色谱柱(0.25 mm × 30 m),进样口温度 230 ℃,气化室温度 270 ℃,分流比 50:1,程序升温(100~180 ℃, 10 ℃·min⁻¹; 180~200 ℃, 4 ℃·min⁻¹; 200~220 ℃, 1 ℃·min⁻¹; 220~270 ℃, 5 ℃·min⁻¹), MS 条件为 EI 离子源, 70 eV, 扫描范围 *m/z* 30~500。**结果:**炮制有利于样品总成分及芥子碱的溶出,其中水溶性成分溶出最高增加 9.61%,醇溶性成分 141.03%,芥子碱 20.00%;粉碎后样品中水、醇溶性成分与芥子碱的溶出量分别增加了 0.36~1.85, 38.41~62.06, 1.40~2.60 倍;分煎与合煎对样品中水、醇溶性成分溶出无明显影响,芥子碱溶出量合煎后降低 45.16%~68.75%。**结论:**种子类中药如不粉碎不宜采用醇提取或入酒剂,粉碎能显著增加所测成分的溶出量,莱菔子和苦杏仁合煎不利于莱菔子中芥子碱的溶出。依法炮制与合理使用相结合才能确保中药疗效。

[关键词] 莱菔子; 苦杏仁; 芥子碱; 浸出物; 脂肪油

[中图分类号] R283.1; R283.3; R284.1; R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0006-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230006

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141027.1528.010.html>

[网络出版时间] 2014-10-27 15:28

Effects of Processing and Usage on Dissolution of Total Components and Sinapine from Drug Pairs of Raphani Semen and Armeniacae Semen Amarum

ZHAI Wen-jun, LI Li, LV Wen-hai*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To explore effects of processing and usage on dissolution of water, alcohol soluble total components, sinapine and fatty oil from drug pairs of Raphani Semen and Armeniacae Semen Amarum. **Method:** The content of sinapine was determined by HPLC, mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (15:85) and detection wavelength was set at 326 nm; contents of total components in water, alcohol-soluble extract and fatty oil were determined by weight method. Composition and content of fatty acids in Armeniacae Semen Amarum was analyzed by GC-MS with DB-5 quartz capillary column (0.25 mm × 30 m), temperature of injection port and gasification room were 230 ℃ and 270 ℃, respectively; split ratio was 50:1, programmed temperature (100-180 ℃, 10 ℃·min⁻¹; 180-200 ℃, 4 ℃·min⁻¹; 200-220 ℃, 1 ℃·min⁻¹; 220-270 ℃, 5 ℃·min⁻¹), MS conditions for EI ion source, 70 eV and scanning range of *m/z* 30-500. **Result:** Total composition was easy to dissolving out by processing, dissolution of water, alcohol soluble ingredients and

[收稿日期] 20140419(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173554)

[第一作者] 翟文君,在读硕士,从事饮片炮制理论与制备规范化研究, Tel:15863166118, E-mail:zhaiwj2012@163.com

[通讯作者] *吕文海,教授,从事饮片炮制理论与制备规范化研究, Tel:0531-89628081, E-mail:luwenhaitcm@163.com

sinapine were 9.61%, 141.03% and 20.00%, while increase were 0.36-1.85, 38.41-62.06, 1.40-2.60 times after being crushed, respectively; dissolution between single-decoction and mixed-decoction had no significant differences, dissolution of sinapine reduced 45.16%-68.75% after mixed-decoction. **Conclusion:** If seeds Chinese medicine not shattered, it do not suitable for extracting by alcohol or wine, crushing can significantly increase solubility of these measured components, mixed-decoction of Raphani Semen and Armeniacae Semen Amarum againsts dissolution of sinapine. Processing in accordance and reasonable application must be combined to ensure curative effect of traditional Chinese medicine.

[**Key words**] Raphani Semen; Armeniacae Semen Amarum; sinapine; extractives; fatty oil

莱菔子-苦杏仁药对始见于《景岳全书》卷五十四的杏仁萝卜子丸^[1],二药等量伍用,粥糊为丸,辛开苦降、相须为用,具有化痰止咳、降气平喘之功效^[2]。目前莱菔子和苦杏仁多用炮制品,关于二者炮制前后成分、药效变化的研究已有大量报道,但对配伍后炮制与用法对二者有效成分溶出的影响尚未见报导。故本实验选取莱菔子-苦杏仁药对为研究对象,探讨炮制、粉碎、分煎与合煎对该药对中水、醇溶性总成分,脂肪油及莱菔子中指标性成分芥子碱溶出的影响,为含有该药对的中药制剂炮制方法及合理用药提供借鉴。

1 材料

1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),GCMC-QP2010 型气相色谱-质谱联用仪(日本岛津)。芥子碱硫氰酸盐对照品(自制,经 IR,¹H-NMR,¹³C-NMR,MS 检测证实,HPLC 面积归一化法测得纯度 99%),乙腈、磷酸为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

莱菔子与苦杏仁均购于鄄城良海中药饮片有限公司,经山东中医药大学周凤琴教授鉴定,分别为十字花科植物萝卜 *Raphanus sativus* 与蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* 的干燥成熟种子,去净除杂,筛去灰屑,干燥后作为二药生品备用;按优选的工艺条件^[3]将莱菔子规范炒至质地鼓起,易脱皮,有爆裂声和特有香气溢出时,取出,晾凉,得炒莱菔子,计算平均得率 98.5%。取净生苦杏仁,放置沸水锅上,铺置 3~5 cm,蒸汽蒸制 30 min,取出,阴凉通风处干燥,得蒸苦杏仁^[4],计算平均得率 99.0%。上述饮片均粉碎过 20 目筛,置干燥器内平衡水分后备用。

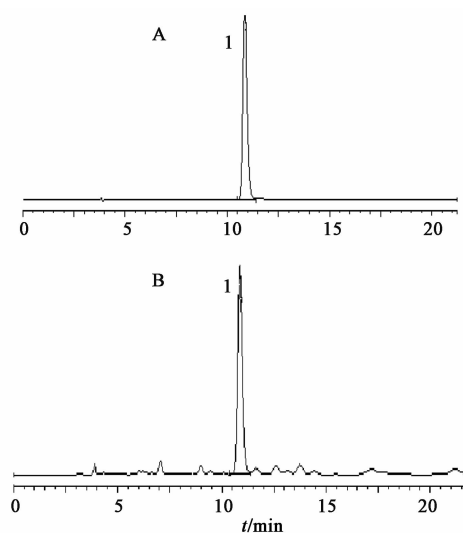
2 方法与结果

2.1 供试品水、醇溶性浸出物的测定 按《中国药典》2010 年版附录 XA 热浸法测定。

2.2 芥子碱溶出量的测定

2.2.1 色谱条件 AgilentTC-C₁₈(2) 色谱柱(4.6

mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液(15:85),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温室温,进样量 20 μL,检测波长 326 nm,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;1. 芥子碱硫氰酸盐

图 1 莱菔子-苦杏仁药对 HPLC

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取芥子碱硫氰酸盐对照品适量,加 0.1% 磷酸水溶解,依次稀释配制成 4,8,12,16,20,24 mg·L⁻¹的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取莱菔子和苦杏仁粗粉各 2 g,依 2010 年版《中国药典》附录 XA 水溶性浸出物热浸法,按料液比 1:25 加水回流提取,滤过,精密量取滤液 1 mL 稀释合适倍数,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.2.4 方法学考察 取 2.2.2 项下对照品溶液,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 $Y = 69.532X + 12.138$ ($r = 0.9996$),线性范围 4~24 mg·L⁻¹。取 16 mg·L⁻¹芥子碱硫氰酸盐对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 5 次,计算峰面积的 RSD 0.96%,表明仪器精密密度良好。取 2.2.3 项下供试品溶液,分别于 0,0.5,1,2,4,6,8 h 按 2.2.1 项下

色谱条件测定, 计算芥子碱硫氰酸盐含量的 RSD 2.0%, 表明供试品溶液在制备后 8 h 内稳定性良好。取同批样品, 按 2.2.3 项下方法平行制备供试品溶液 5 份, 按 2.2.1 项下色谱条件测定, 计算芥子碱硫氰酸盐质量分数平均值 0.1674%, RSD 0.1%, 表明该方法重复性良好。精密称取 5 份已知含量的炒莱菔子粗粉, 每份 1.0 g, 各精密加入一定量芥子碱硫氰酸盐对照品, 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, 计算加样回收率, 结果见表 1, 表明该方法回收率较好。取各供试品适量, 按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 和 2.2.1 项下方法测定, 结果见表 2~4。

表 1 炒莱菔子粗粉中芥子碱含量测定的加样回收率试验

样品中 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.68	1.60	3.27	99.38		
1.69	1.60	3.26	98.13		
1.66	1.61	3.25	98.75	99.79	1.0
1.64	1.61	3.26	101.87		
1.65	1.60	3.26	100.83		

表 2 炮制对供试品中成分溶出量的影响 %

组别	水浸出物质量分数		醇浸出物质量分数		芥子碱溶出量	
	平均值	RSD	平均值	RSD	平均值	RSD
莱菔子	12.84	3.1	0.36	1.9	0.15	0.5
炒莱菔子	13.22	1.3	0.52	2.1	0.16	0.6
苦杏仁	6.26	3.1	0.32	1.5	-	-
蒸苦杏仁	6.82	2.2	0.66	1.2	-	-
生品药对	10.09	3.2	0.39	1.3	0.05	1.1
制品药对	11.06	4.1	0.94	2.4	0.06	1.8

注:“-”表示未检出。

表 3 粉碎对供试品成分溶出量的影响 (n=3) %

组别	水浸出物质量分数		醇浸出物质量分数		芥子碱溶出量	
	平均值	RSD	平均值	RSD	平均值	RSD
莱菔子	12.84	3.1	0.36	1.9	0.15	0.5
莱菔子粉	17.52	0.1	14.19	2.4	0.36	0.9
苦杏仁	6.26	3.1	0.32	1.5	-	-
苦杏仁粉	17.81	1.0	20.18	1.6	-	-
药对	10.09	3.2	0.39	1.3	0.05	1.1
药对粉碎	16.68	2.5	18.46	1.0	0.18	2.0

表 4 分煎与合煎对供试品成分溶出量的影响 (n=3) %

组别	水浸出物质量分数		醇浸出物质量分数		芥子碱溶出量	
	平均值	RSD	平均值	RSD	平均值	RSD
生品合煎	10.09	3.2	0.39	1.3	0.05	1.1
生品分煎	9.63	0.8	0.33	3.1	0.16	0.5
生粉合煎	16.68	2.5	18.46	1.0	0.18	2.0
生粉分煎	17.16	0.1	17.18	2.5	0.36	1.9
制品合煎	12.26	4.1	1.89	2.4	0.07	1.8
制品分煎	11.75	3.9	1.53	1.1	0.16	0.6
制粉合煎	17.34	2.2	17.95	2.0	0.17	0.5
制粉分煎	17.84	2.2	16.80	3.2	0.31	0.3

由表 2 可知, 炮制有利于药对供试品总成分及芥子碱的溶出, 其中水溶性成分溶出最高增加 9.61%, 醇溶性成分 141.03%, 芥子碱 20.00%。虽然醇溶性成分炮制后溶出量较生品有显著增加, 但由于种子类中药有致密的外种皮, 乙醇的穿透力很差, 溶出量仅 0.32%~0.94%, 远低于水溶性成分的 6.26%~13.22%, 提示种子类中药如不粉碎不宜采用醇提取或入酒剂。

由表 3 可知, 粉碎后, 供试品中水、醇溶性成分与芥子碱的溶出量分别增加了 0.36~1.85, 38.41~62.06, 1.40~2.60 倍, 说明粉碎能显著增加所测成分的溶出量, 而且对中等极性成分的增溶作用远大于极性成分。

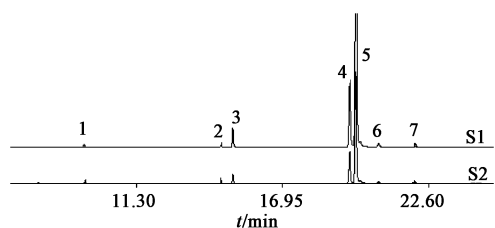
由表 4 可知, 分煎与合煎对供试品中水、醇溶性成分溶出无明显影响。芥子碱溶出量合煎后降低 45.16%~68.75%, 提示二药合煎不利于莱菔子中芥子碱的溶出。

2.3 苦杏仁脂肪油的含量测定与 GC-MS 分析^[5]

2.3.1 苦杏仁生、制品中脂肪油的含量测定 参照《中国药典》2010 年版巴豆油测定方法^[6], 采用索氏提取法得黄色透明的苦杏仁油, 测得生苦杏仁含油率 40.97% (n=3), RSD 1.2%; 蒸苦杏仁含油率 46.44% (n=3), RSD 1.4%。t 检验证明在索氏提取 8 h 内, 蒸制可显著增加苦杏仁中脂肪油的溶出。这可能是蒸制导致苦杏仁外种皮破裂, 内胚乳细胞与子叶细胞中所含脂肪油滴在蒸制过程中膨胀, 导致细胞破裂所致。延长提取时间至 11 h, 生、制品脂肪油含量趋于相同, 证明了上述推测。

2.3.2 GC-MS 分析^[5] 将脂肪油甲酯化, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 备用。GC-MS 条件为 DB-5 石英毛细管色谱柱 (0.25 mm × 30 m × 0.25 mm), 载气高纯氦气, 流速 1 mL·min⁻¹, 进样口温度 230 °C, 气化室温度 270 °C, 进样量 1 μL, 分流进样, 分流比 50:1, 程序升温 (100~180 °C, 10 °C·min⁻¹; 180~200 °C, 4 °C·min⁻¹; 200~220 °C, 1 °C·min⁻¹; 220~270 °C, 5 °C·min⁻¹)。MS 条件为 EI 离子源, 70 eV, 扫描范围 m/z 30~500。苦杏仁脂肪酸成分 GC-MS 总离子流色谱图见图 2。从图 2 中共鉴定出 7 个峰, 生、制品相对质量分数由高到低依次为油酸 (67.60%, 69.68%), 亚油酸 (18.78%, 19.17%), 棕榈酸 (4.25%, 4.00%), 10-十八碳烯酸 (2.96%, 1.43%), 硬脂酸 (1.09%, 1.45%), 棕榈油酸 (0.38%, 0.33%), 花生酸 (0.12%, 0.10%), 生品总相对质量分数达 95.18%, 制品 96.16%。结果表

明苦杏仁生、制品中脂肪酸种类和含量接近,提示炮制前后脂肪酸无本质变化。



S1. 蒸制品;S2. 生品

图2 苦杏仁脂肪油总离子流

2.3.3 溶出度的测定^[5] 精密称取苦杏仁生、制品粗粉,依据2010年版《中国药典》附录XA方法中热浸法制备水提液,滤过。滤液浓缩后用石油醚萃取5次,每次50 mL,合并萃取液,回收石油醚,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴低温挥干,100℃干燥1 h,移置干燥器中,冷却30 min,得水煎液中脂肪油。结果生品脂肪油在水中溶出率4.09% ($n=3$),RSD 1.56%;制品4.12% ($n=3$),RSD 2.2%。经t检验,两者无显著差异。表明苦杏仁中脂肪油在常规水煎剂中仅有少量得到利用,大量随药渣废弃。

3 讨论

《中国药典》2010年版规定制苦杏仁有燀苦杏仁及炒苦杏仁两种规格。但研究证明^[7-8]燀制过程会导致苦杏仁苷等成分的流失,炒制过程工艺会因工具和条件的不同,难以稳定统一,蒸制捣碎后应用更有利于工艺的规范和其内在成分的保存,故本文采用蒸法炮制苦杏仁。

本文建立了莱菔子-苦杏仁药对中芥子碱硫氰酸盐的HPLC,考察了水、流动相及0.1%磷酸水溶液溶解芥子碱硫氰酸盐对照品,结果发现采用0.1%磷酸时,所测色谱峰峰形及稳定性最优。

本文综合分析了炮制与用法对莱菔子、苦杏仁及其药对中水、醇溶性总成分,脂肪油及芥子碱溶出的影响。证明规范炮制有利于各成分溶出;粉碎是增加所测成分溶出最重要的环节,影响远大于炮制;二药分煎与合煎在总成分溶出上无显著性差异,但分煎有利于芥子碱的溶出,并有助于不同配方颗粒间的配伍应用。但二者生、制品性效有别^[9-10],不能仅以所测成分溶出量作为选择炮制品入药的依据,据临床需要选用相应的饮片规格,才能体现依法炮

制的优势。药对的配伍不是药物作用的简单相加,而是通过药物各成分间的相互作用,以发挥综合功效,某一成分含量的增减不能推出药效的优劣及效应大小差异的统计学意义。提示现有试验尚不能确切证明该药对单、合煎的优劣,还应结合单、合煎成分群的变化等综合分析。

莱菔子与苦杏仁含有高达1/3~1/2的脂肪油,在传统水提应用中,90%甚至更多的脂肪油得不到应用,随药渣废弃。莱菔子中为高芥酸脂肪油,不利于食用,但具有重要的工业利用价值。苦杏仁油中亚油酸、亚麻酸等不饱和脂肪酸质量分数>95%^[11],有益于脑血管和智力发育,可预防高血脂和高血压,并可作为油、高级涂料和高级化妆品的原料,具有很高的经济价值^[12]。随着中药饮片加工的规模化和集约化水平的提高,莱菔子中高芥酸脂肪油及苦杏仁油的综合利用应引起重视。

[参考文献]

- [1] 张景岳.景岳全书.第五十四卷[M].太原:山西科学技术出版社,2006:738.
- [2] 刘家骅.药对[M].北京:人民卫生出版社,2009:179.
- [3] 任涛,吕文海.以硫代葡萄糖苷相对含量优选莱菔子炮制工艺研究[J].中成药,2010,32(7):1159.
- [4] 周倩,杨书斌,孙立立,等.正交试验法优选蒸苦杏仁炮制工艺[J].中成药,2012,34(3):532.
- [5] 孙忠迪,王群,李书云,等.炮制对莱菔子中脂肪油的含量影响及GC-MS分析[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(1):67.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:74.
- [7] 马雪松,陈缤.苦杏仁及其炮制品中苦杏仁苷含量测定[J].辽宁中医杂志,2006,33(3):355.
- [8] 盛家峰,谢彩玲.苦杏仁不同炮制品中苦杏仁苷含量比较[J].河南中医学院学报,2005,20(6):33.
- [9] 谭鹏,姜虹玉,吕文海.莱菔子临床应用研究概况[J].中药研究与信息,2004,6(9):29.
- [10] 梁爱华,聂淑琴,薛宝云,等.炮制对苦杏仁特殊毒性及药效的影响[J].中国中药杂志,1993,18(8):474.
- [11] 刘化冰,韩保国,利刚,等.“杏仁汁”品质及工艺技术改善[J].广州食品工业科技,1998,14(2):36.
- [12] 赵云霞,王建中,吴迪,等.不同方法制取山杏仁油的实验研究[J].食品工业科技,2006,27(6):59.

[责任编辑 刘德文]