

· 工艺与制剂 ·

江西建昌帮爇制熟地黄中辅料作用探索(II)

胡志方^{1*}, 王小平¹, 郭慧玲², 陈建章¹

(1. 江西中医药高等专科学校, 江西 抚州 344000; 2. 江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] 目的:考察江西建昌帮爇制熟地黄过程中炮制辅料的作用,为阐明爇制熟地黄的炮制机制提供参考。方法:采用HPLC建立熟地黄不同炮制品的指纹图谱,流动相乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~12 min,5%~10% A;12~40 min,10%~15% A;40~70 min,15%~25% A;70~85 min,25%~28% A),检测波长320 nm,运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2004A版分析各样品色谱图的差异性。结果:生地黄与爇制熟地黄的HPLC图谱差异显著;相对于爇制熟地黄,爇制熟地黄(缺黄酒)、爇制熟地黄(缺砂仁)、爇制熟地黄(缺陈皮)、爇制熟地黄(缺砂仁与陈皮)、爇制熟地黄(缺砂仁、陈皮与黄酒)的相似度分别为0.844,0.741,0.727,0.717,0.717。结论:该方法操作简便、稳定性高、结果准确。在熟地黄爇制过程中,辅料会带入新化学成分并使已有成分的含量发生变化。

[关键词] 建昌帮;熟地黄;指纹图谱;相似度评价;炮制机制

[中图分类号] R283.2;R283.1;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0007-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010007

Role of Accessories in Processed Rehmanniae Radix Praeparata With Jiangxi Jianchang Medicinal Band (II) HU Zhi-fang^{1*}, WANG Xiao-ping¹, GUO Hui-ling², CHEN Jian-zhang¹ (1. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Fuzhou 344000, China; 2. Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate role of accessories in processing of Rehmanniae Radix Praeparata with Jianchang band and to offer reference for illustrating its processing mechanisms. **Method:** Fingerprints of Rehmanniae Radix Praeparata was determined by HPLC, mobile phase was acetonitrile (A) -0.1% phosphoric acid solution (B) for gradient elution (0-12 min, 5% -10% A; 12-40 min, 10% -15% A; 40-70 min, 15% -25% A; 70-85 min, 25% -28% A) and detection wavelength was 320 nm, chromatogram difference of processed products was evaluated by 2004 A version of 'Chinese medicine fingerprint similarity evaluation system'. **Result:** There were obvious differences between Rehmanniae Radix and Rehmanniae Radix Praeparata. In contrast to Wenzhi Rehmanniae Radix Praeparata, similarity values of rice wine negative contrast, Amomi Fructus negative contrast, Citri Reticulatae Pericarpium negative contrast, Amomi Fructus and Citri Reticulatae Pericarpium negative contrast, Amomi Fructus and Citri Reticulatae Pericarpium and rice wine negative contrast were 0.844, 0.741, 0.727, 0.717, 0.717, respectively. **Conclusion:** This method is simple, accurate and reproducible. It demonstrates that new components are produced or contents of known components are changed due to accessories during processing of Rehmanniae Radix Praeparata.

[Key words] Jianchang band; Rehmanniae Radix Praeparata; fingerprint; similarity evaluation; processing mechanism

爇制熟地黄是江西建昌帮特色炮制品种^[1],以砂仁、陈皮、黄酒为辅料,采用爇制法制备,品质以“气味纯真而独厚,补血而不凝滞”著称,已被广泛用于

中医临床实践。前期试验证实建昌帮爇制熟地黄与酒炖熟地黄^[2]、清蒸熟地黄^[3]中化学成分存在一定差异^[4-5],作为辅料的砂仁、陈皮和黄酒会引起熟地

[收稿日期] 20140412(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160520);江西省自然科学基金项目(2009GZY0114)

[通讯作者] *胡志方,教授,硕士生导师,从事中药炮制及中药新制剂研究,Tel:0794-8239328,E-mail:jxrclf@163.com

黄炮制过程中糖类成分发生变化^[6]。为探讨在炮制地黄加工过程中各辅料的炮制作用,本实验拟采用指纹图谱技术分析该品种及其各缺辅料炮制品中等极性部位所含化学成分的差异,为阐明炮制地黄的炮制机制提供实验依据。

1 材料

1260型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), AB265-S型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司), AR2140型电子分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司]。地黄药材由江西富中药业有限公司提供,经江西中医药高等专科学校李秀英副教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* 的干燥块根;砂仁、陈皮由本校标本陈列室提供,黄酒(食品级,镇江恒顺酒业有限责任公司,批号20121024),毛蕊花糖苷、橙皮苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为111530-200706,110721-200613),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 炮制品的制备 取净生地黄适量,按文献[1]中方法制备炮制地黄;以同一批生地黄为原料,同法制备缺辅料的炮制地黄,包括炮制地黄(缺砂仁)、炮制地黄(缺陈皮)、炮制地黄(缺砂仁与陈皮)、炮制地黄(缺黄酒)、炮制地黄(缺砂仁、陈皮与黄酒)。

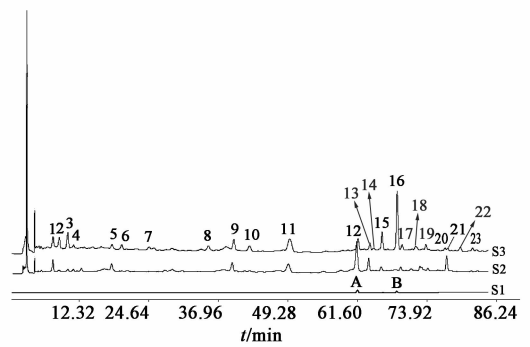
2.2 色谱条件 Wondasil C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~12 min, 5%~10% A; 12~40 min, 10%~15% A; 40~70 min, 15%~25% A; 70~85 min, 25%~28% A),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长320 nm,进样量20 μL,柱温30℃,见图1。结果生地黄经炮制成熟地黄后化学成分呈明显变化。在炮制地黄图谱中共有23个峰信号,与生地黄相比较,其中第6,7,8,10,14,16(橙皮苷),18,21,22号为新增峰信号;12(毛蕊花糖苷),13,21号峰信号明显减弱;而2,3,11,15号峰信号呈增强趋势。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取毛蕊花糖苷、橙皮苷对照品适量,加乙腈-0.1%磷酸溶液(25:75)制成86.23 mg·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 熟地黄供试品溶液 精密称取粉碎成细粉的熟地黄约2 g,置圆底烧瓶中,精密加入甲醇50 mL,回流1 h,放冷,摇匀,滤过,滤液蒸干;残渣加乙酸乙酯25 mL超声使溶解,滤过,取滤液,蒸干,加甲醇溶解并定容至2 mL,即得。

2.4.2 陈皮、砂仁供试品溶液 取陈皮、砂仁药材,



S1. 混合对照品;S2. 生地黄;S3. 供试品;A. 毛蕊花糖苷;B. 橙皮苷
图1 炮制地黄 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of Wenzhi Rehmanniae Radix Praeparata

分别粉碎成粗粉,备用;精密称取陈皮约12 g和砂仁约4.5 g,置圆底烧瓶中,按炮制地黄炮制方法加水炮制12 h,过滤,滤液浓缩至10 mL,加入甲醇50 mL,超声(150 W,40 kHz)处理15 min,滤过,滤液蒸干;残渣加乙酸乙酯25 mL超声使溶解,滤过,取滤液,蒸干,加甲醇溶解并定容至50 mL,即得。

2.4.3 陈皮与砂仁合煎液 称取陈皮粗粉约12 g,砂仁粗粉约4.5 g,同置圆底烧瓶中,依2.4.2项下方法制备,即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取同一炮制地黄供试品溶液,按2.2项下方法连续进样6次,记录色谱图,将图谱导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2004A版,结果各样品相似度均>0.98,RSD 0.5%。各主要色谱峰的相对保留时间及相对峰面积的RSD分别在0.3%~0.8%,0.5%~1.0%,表明仪器精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 取同一炮制地黄供试品溶液,分别在0,2,4,6,8,24 h按2.2项下方法进样,记录色谱图,结果各样品色谱图相似度均>0.98,RSD 0.8%。各主要色谱峰的相对保留时间及相对峰面积值的RSD分别在0.3%~0.8%,0.6%~1.4%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.5.3 重复性试验 取同批炮制地黄样品共6份,按2.4.1项下方法制备供试品溶液,按2.2项下方法进样,结果各样品色谱图相似度均>0.98,RSD 0.8%。各主要色谱峰的相对保留时间及相对峰面积值的RSD分别在0.4%~0.9%,1.0%~2.0%,表明该方法重复性良好。

2.6 指纹图谱分析

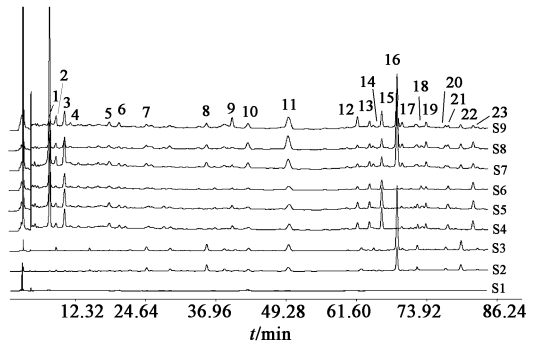
2.6.1 建立熟地黄 HPLC 指纹图谱 精密吸取混合对照品溶液及各供试品溶液适量,按2.2项下方

法测定,记录色谱图,导入《中药色谱指纹图谱相似
度评价系统》2004A 版。设定时间窗宽度 0.30 min,
采用中位数法,得叠加图谱,结果见图 2 和表 1。

由图 2 可知,砂仁与陈皮合煎液的色谱图是陈
皮与砂仁色谱图的简单叠加,提示在煎煮过程中陈
皮与砂仁间并未发生明显的化学成分变化。在炆熟
地黄图谱中,7,8,14,16(橙皮苷),22 号峰信号为陈
皮所引入,而砂仁、黄酒主要影响炆熟地黄峰信号
的强弱,其中 9,12 号峰信号适当增强,1 号峰信号
明显减弱;提示在熟地黄炆制过程中,辅料带入了新的
成分并使已有成分的含量发生变化。

由表 1 可知,与炆熟地黄相比,炆熟地黄(缺黄
酒)影响相对较小,相似度 > 0.84;炆熟地黄(缺砂
仁)其次,相似度 0.74;而炆熟地黄(缺陈皮)、炆熟
地黄(缺砂仁与陈皮)、炆熟地黄(缺砂仁、陈皮与黄
酒)相似度均 < 0.73。提示辅料对炆熟地黄炮制过

程中化学成分的变化产生了一定影响。



S1. 砂仁;S2. 砂仁与陈皮合煎液;S3. 陈皮;S4. 炆熟地黄(缺陈
皮);S5. 炆熟地黄(缺砂仁与陈皮);S6. 炆熟地黄(缺砂仁、陈
皮与黄酒);S7. 炆熟地黄(缺砂仁);S8. 炆熟地黄(缺黄酒);
S9. 供试品

图 2 不同炆熟地黄炮制品 HPLC 叠加谱

Fig. 2 HPLC superposition spectrum of different processed
products of Wenzhi Rehmanniae Radix Praeparata

表 1 不同炆熟地黄炮制品 HPLC 指纹谱的相似度评价

Table 1 Fingerprints similarity analysis of different processed products of Wenzhi Rehmanniae Radix Praeparata

No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
S1	1.000	0.000	0.000	0.647	0.605	0.717	0.447	0.528	0.694
S2	0.000	1.000	0.962	0.044	0.044	0.030	0.324	0.720	0.424
S3	0.000	0.962	1.000	0.041	0.040	0.022	0.336	0.750	0.439
S4	0.647	0.044	0.041	1.000	0.994	0.968	0.878	0.635	0.727
S5	0.605	0.044	0.040	0.994	1.000	0.967	0.898	0.624	0.717
S6	0.717	0.030	0.022	0.968	0.967	1.000	0.867	0.623	0.717
S7	0.447	0.324	0.336	0.878	0.898	0.867	1.000	0.738	0.741
S8	0.528	0.720	0.750	0.635	0.624	0.623	0.738	1.000	0.844
S9	0.694	0.424	0.439	0.727	0.717	0.717	0.741	0.844	1.000

3 讨论

预试验考察了乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸 2 个流
动相系统,结果确定以乙腈-0.1% 磷酸溶液作为流
动相进行梯度洗脱时基线稳定、峰形较好。曾发现
采用甲醇提取的供试品溶液的 HPLC 基线不佳,经
乙酸乙酯超声处理后图谱基线显著好转,且主要色
谱峰信息未减少。

建昌帮药界认为生地黄酒经砂仁、陈皮、黄酒炆制
后性转微温,取其辛温香窜之气以健脾行滞、纳气归
肾,且黄酒富含单糖与低聚糖^[7],以此增强炆熟地
黄的补益之功,体现了古人炮制用药的独到之处。
本文研究表明辅料的加入的确改变了熟地黄所含化
学成分的组成,但炆熟地黄中新增化学成分的结构
及炮制辅料对其药效的影响还有待探索。

[参考文献]

[1] 江西省中药饮片炮制规范编写组. 江西省中药饮片炮
制规范[S]. 上海:上海科学技术出版社,2009:

327-328.

[2] 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,2010:116-117.

[3] 邓富明,余寿祥,张海云. 樟树中药传统炮制法[M].
南昌:江西人民出版社,1984:105-107.

[4] 王小平,王进,陈建章. 建昌帮与樟树帮、中国药典法
炮制的熟地黄中多糖含量比较[J]. 陕西中医,2009,
30(8):1066-1067.

[5] 胡志方,王小平,陈建章. HPLC-ELSD 测定地黄不同炮
制品中单糖含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19
(13):72-74.

[6] 胡志方,王小平,郭慧玲,等. 江西建昌帮炆制地黄中
辅料作用探索(I) [J]. 中国实验方剂学杂志,2013,
19(4):1-5.

[7] 李博斌,刘兴泉,吴坚,等. 黄酒中糖和无机元素成分
与黄酒口味品质的定量关系研究[J]. 中国酿造,2010
(8):37-40.

[责任编辑 刘德文]