

· 药剂与炮制 ·

不同醋制方法对香附中指标成分含量的影响

季宁平¹, 卢君蓉¹, 李文兵², 盛菲亚¹, 王世宇^{1*}

(1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137;
2. 四川新绿色药业科技发展股份有限公司, 成都 611190)

[摘要] 目的:比较香附生品及其不同醋制品中圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮的含量变化,从物质基础出发,研究不同炮制方法对该药材质量的影响。方法:采用 HPLC 测定圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮含量,流动相甲醇-水(68:32),检测波长 242 nm。比较不同香附炮制品中 3 种指标成分的含量。结果:与生品相比,醋蒸品中圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮分别下降了 12.9%,14.2%,12.5%;醋煮品中各成分含量分别降低了 23.1%,12.8%,18.7%;醋炙品中香附烯酮虽然增加了 14.4%,但其他 2 种成分的含量大幅下降,圆柚酮约降低 62.5%, α -香附酮降低 44.9%。结论:醋炙法能使香附烯酮含量增加。各醋制法均能使样品中圆柚酮和 α -香附酮的含量较生品降低,若以 3 种成分含量总体降低幅度小为原则,则选择醋蒸法为香附最佳醋制法。

[关键词] 香附;生品;醋蒸;醋煮;醋炙;香附烯酮;圆柚酮; α -香附酮

[中图分类号] R283.3;R943.1;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2015)07-0005-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070005

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150211.1506.009.html>

[网络出版时间] 2015-02-11 15:06

Influences of Different Vinegar Processing Methods on Contents of Index Components in Cyperi Rhizoma
JI Ning-ping¹, LU Jun-rong¹, LI Wen-bing², SHENG Fei-ya¹, WANG Shi-yu^{1*} (1. State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Neo-green Pharmaceutical Co. Ltd., Chengdu 611190, China)

[Abstract] **Objective:** To compare contents change of of nootkatone, cyperotundone and α -cyperone in raw Cyperi Rhizoma and its different vinegar-processed products, to investigate effect of vinegar processing methods on its quality starting from material base. **Method:** HPLC was employed to determine contents of nootkatone, cyperotundone and α -cyperone in vinegar-processed products with mobile phase of methanol-water (68:32) and detection wavelength at 242 nm. **Result:** Comparing to contents of nootkatone, cyperotundone and α -cyperone in raw Cyperi Rhizoma, contents of these three components in vinegar-steamed product decreased by 12.9%, 14.2%, 12.5%; in vinegar-boiled product, they decreased by 23.1%, 12.8%, 18.7%; in vinegar-fried product, cyperotundone increased by 14.4%, but contents of the other two components decreased substantially, nootkatone and α -cyperone decreased by 62.5% and 44.9%, respectively. **Conclusion:** Stir-baking with vinegar can increase the content of cyperotundone. Each vinegar processing method can decrease contents of nootkatone and α -cyperone. In term of the lowest change of total contents of these three components as the principle, vinegar steaming method is the best process.

[收稿日期] 20140619(004)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81303227)

[第一作者] 季宁平,在读硕士,从事中药制剂新制剂、新剂型和新技术研究,Tel:13882189250,E-mail:504749915@qq.com

[通讯作者] *王世宇,博士,副教授,从事中药新制剂、新剂型和新技术研究,Tel:028-61800236,E-mail:497217505@qq.com

[Key words] Cyperi Rhizoma; raw materials; steamed with vinegar; boiled with vinegar; fried with vinegar; nootkatone; cyperotundone; α -cyperone

香附始载于《名医别录》^[1],具疏肝解郁、理气宽中、调经止痛之效,用于治疗肝郁气滞、胸胁胀痛、月经不调等证。临床常使用其醋制品,醋能引药入肝、强活血止痛之力,增疏肝理气、消食化滞之效。2010年版《中国药典》^[2]中醋香附饮片仅载了醋炙法,而醋制法还包括醋蒸及醋煮,研究指出醋蒸品在镇痛、解痉作用胜于醋炙品^[3]。目前关于香附含量测定和炮制工艺指标的选择相对单一,仅测定 α -香附酮^[4-5]、木犀草素^[6]或挥发油^[7]、总黄酮^[8]。本实验选择圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮为指标成分,从物质基础出发,研究不同醋制法对香附中指标成分含量的影响,为该药材的炮制方法选择提供参考。

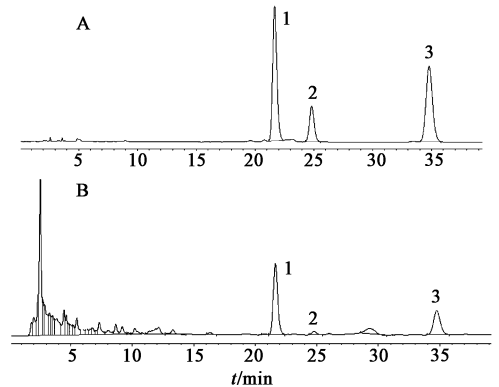
1 材料

1200系列高效液相色谱仪(包括G1312B型四元梯度泵,G1316B型柱温箱,G1329B型自动进样器,G1315C型二极管阵列紫外检测器,美国安捷伦公司),Bp211DAG型电子天平(德国Sartorius公司)。香附药材购于四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学中药鉴定教研室卢先明教授鉴定为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* 的根茎;圆柚酮对照品(美国Sigma公司,批号10112423,纯度>98%), α -香附酮对照品(江西本草天工科技有限责任公司,批号1443-080529,纯度 \geq 98%),香附烯酮对照品(自制,纯度>98%),米醋(江苏恒顺醋业股份有限公司,批号20131025A7),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Phenomenex C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m),流动相甲醇-水(68:32),检测波长242 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30 $^{\circ}$ C。在该条件下,各色谱峰与样品中其他组分色谱峰达基线分离,理论塔板数均>4 000,见图1。

2.2 香附炮制品的制备 参考《中国药典》2010年版附录II D炮制通则中对醋制法的要求及《临床中药炮制学》^[9]中对香附炮制法的描述。取香附饮片,粉碎,过一号筛,得香附粒,作为生品,备用。取适量香附粒,加入0.2倍量米醋和水,拌匀,盖盖,闷透(以醋被吸尽,药材心被浸透为标准)。取适量醋闷润的香附粒,置于铁锅内用文火加热,炒干,取出晾凉,得醋炙品。取适量醋闷润的香附粒,放在蒸笼中蒸制透心,取出,得醋蒸品。取适量醋闷润的香附



A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 香附烯酮; 2. 圆柚酮; 3. α -香附酮

图1 香附 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of Cyperi Rhizoma

粒,置铁锅内共煮置醋液基本吸尽,药材无白心,取出,得醋煮品。将所有炮制品置于烘箱中,50 $^{\circ}$ C低温干燥,备用。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液 精密称取圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮对照品适量,分别加甲醇溶解,得各对照品母液。精密量取各母液适量,配成质量浓度分别为4.991 4, 50.978 9, 21.434 7 mg·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 精密称取样品细粉约0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定质量,超声处理(250 W, 40 kHz) 30 min,放冷,称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,经0.45 μ m微孔滤膜滤过,即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 μ L,按2.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮回归方程分别为 $Y = 4\ 209.1X - 1.69$ ($r = 1.000\ 0$), $Y = 1\ 377.1X - 1.36$ ($r = 0.999\ 9$), $Y = 2\ 847.5X - 2.38$ ($r = 0.999\ 7$),线性范围依次为0.005 ~ 0.059 9, 0.051 ~ 0.611 7, 0.021 4 ~ 0.257 2 μ g。

2.5 精密度试验 取同一供试品溶液(生品),精密量取10 μ L按2.1项下色谱条件连续测定6次,计算圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮峰面积的RSD分别为0.3%, 0.3%, 0.2%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液(生品),分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h精密吸取10 μ L进样,按2.1项下色谱条件测定,计算圆柚酮、香附烯酮及

α -香附酮峰面积的 RSD 分别为 1.0% , 0.8% , 1.2% , 表明供试品溶液室温放置 24 h 稳定。

2.7 重复性试验 精密吸取同一供试品溶液(生品)6份,每份 10 μ L,按 2.1 项下色谱条件测定,计算圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮含量的 RSD 分别为 1.6% , 2.3% , 2.1% , 表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知各指标成分含量的生品 0.5 g,共 6 份,各精密加入 0.078 $g \cdot L^{-1}$ 圆柚酮对照品溶液 1 mL, 1.382 $g \cdot L^{-1}$ 香附烯酮对照品溶液 1 mL, 0.709 $g \cdot L^{-1}$ α -香附酮溶液 1 mL,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 香附中各指标成分含量测定的加样回收率试验

Table 1 Recovery tests of determination of three index components in *Cyperi Rhizoma*

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
圆柚酮	0.076	0.078	0.156	102.56	98.29	2.3
	0.077	0.078	0.153	97.44		
	0.079	0.078	0.156	98.72		
	0.078	0.078	0.153	96.15		
	0.079	0.078	0.154	96.15		
	0.077	0.078	0.154	98.72		
香附烯酮	1.370	1.382	2.725	98.05	98.20	2.2
	1.395	1.382	2.714	95.44		
	1.383	1.382	2.722	96.89		
	1.391	1.382	2.757	98.84		
	1.371	1.382	2.726	98.05		
	1.375	1.382	2.784	101.95		
α -香附酮	0.707	0.709	1.427	101.55	99.79	2.1
	0.720	0.709	1.405	96.61		
	0.714	0.709	1.413	98.59		
	0.717	0.709	1.429	100.42		
	0.707	0.709	1.410	99.15		
	0.709	0.709	1.435	102.40		

2.9 样品测定 取香附生品、醋煮品、醋蒸品、醋炙品,按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,计算圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮的含量,结果见表 2。

表 2 香附炮制品中 3 种组分的含量 (n=3)

Table 2 Contents of three components in processed products of *Cyperi Rhizoma* (n=3) $mg \cdot g^{-1}$

样品	圆柚酮	香附烯酮	α -香附酮
醋炙	0.057 5	3.115 7	0.774 8
醋蒸	0.133 7	2.336 8	1.229 4
醋煮	0.118 1	2.375 2	1.141 7
生	0.153 5	2.722 8	1.404 9

3 讨论

在供试品溶液的制备方法中,考察了提取溶剂(乙醇和甲醇)、提取溶媒体积分数(25% , 50% , 75% , 100%)、提取方法(回流法和超声法)、粉碎粒度(粗粉、中粉、细粉、最细粉、极细粉),结果确定 2.3.2 项下方法为最佳。

与香附生品相比,各炮制法均能降低生品中圆柚酮和 α -香附酮的含量,圆柚酮和 α -香附酮含量的排序均为醋炙品 < 醋煮品 < 醋蒸品 < 生品;但醋炙法却能增加香附烯酮含量,该成分排序为醋蒸品 < 醋煮品 < 生品 < 醋炙品,仅以香附烯酮为指标,说明 2010 年版《中国药典》选择醋炙法炮制香附具有一定合理性。3 种醋制法中,醋炙的温度最高,推断高温会促使香附中香附烯酮的生成。

综合 3 种指标成分的含量变化分析,与生品相比,醋蒸品中圆柚酮、香附烯酮及 α -香附酮分别下降了 12.9% , 14.2% , 12.5% ;醋煮品中各成分含量分别降低了 23.1% , 12.8% , 18.7% ;醋炙品中香附烯酮虽然增加了 14.4% ,但其他 2 种成分的含量大幅下降,圆柚酮约降低 62.5% , α -香附酮降低 44.9% 。前期药理试验证明醋蒸品在镇痛、解痉的药效方面优于醋炙品,而综合 3 种含量的整体变化趋势,以含量降低幅度小为原则,确实一定程度上从物质基础方面证明了该说法。

[参考文献]

- [1] 陶弘景. 名医别录[M]. 北京:人民卫生出版社,1986: 154-155.
- [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,2010:241-242.
- [3] 王爱芳,华卫国,李祖德,等. 香附炮制的初步研究[J]. 中成药,1982(9):20-22.
- [4] 卢君蓉,王世宇,傅超美,等. 香附醋制工艺的优化研究[J]. 成都中医药大学学报,2012,35(1):60-62.
- [5] 王雪婷,王磊,宋德成,等. 不同产地香附中 α -香附酮含量测定[J]. 天津科技,2013(1):28-29.
- [6] 李英霞,陆永辉,冯文,等. HPLC 测定不同产地香附及醋炙香附中木犀草素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):56-58.
- [7] 杨培民. 香附最佳炮制品规格的实验研究[J]. 辽宁中医杂志,1991(4):37-38.
- [8] 李英霞,刘春农,张泰,等. 不同地区市售香附饮片中总黄酮含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(14):93-95.
- [9] 胡昌江. 临床中药炮制学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:139-141.

[责任编辑 刘德文]