

# 不同炮制方法对白及中 *militarine* 及浸出物含量的影响

唐修静<sup>1</sup>, 张羽斌<sup>1</sup>, 文运<sup>1</sup>, 杨青波<sup>1</sup>, 田紫平<sup>1</sup>, 刘安<sup>2\*</sup>

(1. 贵州益佰制药股份有限公司, 贵阳 550008; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 测定不同炮制方法对白及药材中 *militarine* 及浸出物含量的影响。方法: 采用直接切片、煮后切片和蒸后切片等方法对白及进行炮制, 采用高效液相色谱法及浸出物含量测定法对白及药材中 *militarine* 含量和浸出物含量进行测定。结果: 白及药材煮制切片 *militarine* 含量 2.37%, 蒸制切片含量 3.09%, 直接切片含量 1.78%; 煮制切片浸出物含量 17.88%, 蒸制切片含量 19.51%, 直接切片含量 17.72%, 可见不同炮制方法对白及药材中 *militarine* 含量和浸出物含量有一定的影响。结论: 从 *militarine* 含量和浸出物含量考察, 白及的炮制以蒸法为宜。

**[关键词]** 白及; 炮制; 双[4-( $\beta$ -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0067-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfix.2014070067

## Different Effect with Different Processing Methods on Chemical Constituents of *Bletillae Rhizoma*

TANG Xiu-jing<sup>1</sup>, ZHANG Yu-bin<sup>1</sup>, WEN Yun<sup>1</sup>, YANG Qing-bo<sup>1</sup>, TIAN Zi-ping<sup>1</sup>, LIU An<sup>2\*</sup>

(1. Guizhou Yibai Pharmaceutical Co. Ltd., Guiyang 550008, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine the effects on the content of *militarine* and extracts in herb *Rhizoma Bletillae* by different processing methods. **Method:** Several methods such as direct slices, slices after boiling and slices after steaming have been adopted to concoct *Bletillae Rhizoma*. The content of *militarine* and the extract were determined using high performance liquid chromatography (HPLC) and extract content assay. **Result:** Different processing methods have different effect on the content of *militarine* and extract of *Bletillae Rhizoma*. **Conclusion:** Based on the content of *militarine* and extract, the best concoct method is slice after steaming.

**[Key words]** *Bletillae Rhizoma*; concocted; *militarine*; HPLC

白及为兰科植物白及的干燥块茎, 味苦、甘、涩, 性微寒, 归肺、肝、胃经, 具有收敛止血、消肺生肌之功效<sup>[1]</sup>。白及块茎中含有大量的胶质、萜醌类、联苄类、菲类、联菲类、联菲醚类、菲并吡喃类、联苄葡萄糖苷类物质<sup>[2]</sup>。《中国药典》(2010年版)一部白及质量标准中仅收录了显微鉴别和薄层鉴别<sup>[1]</sup>, 未见指标性成分含量测定等方面的标准。何迅

等<sup>[3]</sup>建立了 HPLC 测定白及中双[4-( $\beta$ -D-吡喃葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯<sup>[4]</sup>含量的方法, 认为 *militarine* 在白及中含量较高, 可以作为白及的质控指标。本课题的研究也得到了类似的结论。

《中国药典》(2010年版)一部中记载了白及的采收加工方法为: 除去须根, 洗净, 置沸水中煮或蒸至无白心, 晒至半干, 除去外皮, 晒干<sup>[1]</sup>。在饮片炮制中则是采用: 洗净, 润透, 切薄片, 晒干的加工方法<sup>[1]</sup>, 《贵州省中药炮制规范》(2005年版)记载的白及炮制方法与药典炮制方法一致<sup>[5]</sup>, 而民间多采用笼蒸法和水煮法来加工白及<sup>[6]</sup>。这些炮制加工方法会对白及中 *militarine* 及浸出物含量产生什么样的影响, 目前尚未研究报道。本文揭示了不同炮

**[收稿日期]** 20130428(004)

**[基金项目]** 国家科技支撑计划项目(2009BAI74B02-2)

**[第一作者]** 唐修静, 药师, 从事天然药物化学研究, Tel: 13985427446, E-mail: 112311016@qq.com

**[通讯作者]** \* 刘安, 中药化学博士, 研究员, Tel: 010-64014411-2938, E-mail: la62@163.com

制方法对白及药材中 *militarine* 含量和浸出物含量的影响,旨在为以指标成分含量多寡来评价炮制工艺提供依据。

## 1 材料

岛津 Class VP 型高效液相色谱仪,检测器 SPD-M10AVP,泵 LC-10ATVP,色谱柱依利特 ODS 柱,电子分析天平(德国 sartorius)。

*Militarine* 对照品(本实验室自制,经<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR谱确认结构,HPLC法测度纯度 >98%),色谱甲醇(美国 TEDIA),纯净水(娃哈哈纯净水),其余试剂(分析纯,市售)。

14 批白及药材(批号 20120301-20120314)采于贵州省中药材研究所试验基地,经贵州省农科院吴明开博士鉴定为兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. 的块茎。对 14 批药材都分别采用直接切片、煮后切片和蒸后切片进行炮制加工。

## 2 方法

### 2.1 白及饮片制作

**2.1.1 洗净,润透,切薄片,干燥** 按《贵州省中药炮制规范》(2005 年版)白及项下炮制方法“洗净,润透,切薄片,”烘干。

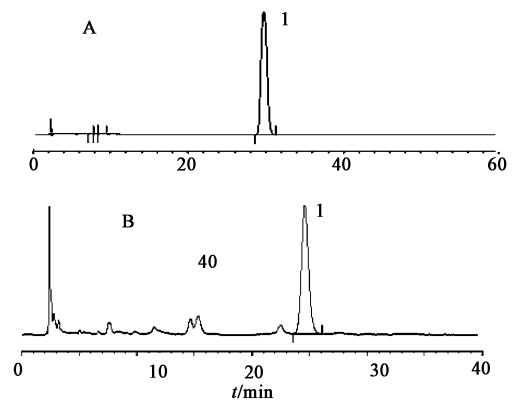
**2.1.2 煮制切片和蒸制切片** 按《中国药典》(2010 年版)一部,白及项下的“除去须根,洗净,置沸水中煮或蒸至无白心,晒至半干,除去外皮,切片,烘干”。

按上述方法将 14 批白及鲜药材(贵州省农科院提供),制成润透切片、煮透切片,蒸透切片等 3 种饮片。润透切片的白及饮片呈不规则薄片,外表皮灰白至黄白色,切面类白色;煮透或蒸透切片的白及饮片切面角质状,半透明。由于白及鲜药材富含糖且含水量较高,不及时干燥容易发霉变质。所以将原炮制项下的晒干改为及时干燥。

**2.2 白及中 *militarine* 含量测定方法学研究** 照《中国药典》(2010 年版)一部附录 XV III A<sup>[1]</sup> 中药质量标准分析方法验证指导原则,分别对方法的标准曲线绘制、精密度、重复性、稳定性、准确度等进行了试验,建立了白及药材中 *militarine* 含量测定方法。

**2.2.1 色谱条件** 依利特 ODS 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相 0.02% 磷酸水溶液-甲醇(63:37),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL,柱温 40 °C,检测波长 223 nm。见图 1。

**2.2.2 样品制备** 取白及饮片(购于贵州同济堂药店,批号 20111001),粉碎过 4 号筛,称取粉末



1. *militarine*; A. 对照品; B. 供试品

图 1 白及鲜药材 HPLC 色谱

0.35 g,精密称定,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,加热回流 120 min,放冷,以甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品液。

取 *militarine* 对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液,即得。

**2.2.3 标准曲线的绘制** 精密称取 *militarine* 对照品约 13 mg 于 10 mL 量瓶中,加甲醇适量使溶解。定容至刻度,作为贮备液。分别精密吸取贮备液 0.2, 0.8, 1.0, 1.2, 2 mL 于 10 mL 量瓶中,配制一系列质量浓度的对照品溶液,进样,记录峰面积,以峰面积(μV·S)对质量浓度(g·L<sup>-1</sup>)进行线性回归计算,得线性方程为  $Y = 14\ 582\ 017X + 58\ 594.93$  ( $r = 0.999\ 0$ ),结果表明在对照品质量浓度 0.026 36 ~ 0.263 6 g·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.2.4 精密度试验** 取白及(批号 20111001)粉末适量,按上述供试液制备方法制备供试液,重复进样 6 次,测定峰面积,计算含量, RSD 0.38%,表明精密度良好。

**2.2.5 重复性试验** 分别取白及(批号 20111001)粉末适量,按上述供试液制备方法制备 5 份供试液,分别进样,测定 *militarine* 峰面积,计算含量, RSD 1.03%。

**2.2.6 稳定性试验** 取白及(批号 20111001)药材粉末适量,按上述供试液的制备方法制备供试液,分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 测定 *militarine* 峰面积, RSD 0.99%,表明供试液在 12 h 内稳定。

**2.2.7 准确性-回收率试验** 采用加样回收法,分别精密称取 6 份已测定含量的白及(批号 20111001)药材粉末样品适量,置具塞锥形瓶中,精密加入 *militarine* 对照品 3.15 mg,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,回流提取 120 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,取上清液用滤

膜(0.45  $\mu\text{m}$ )滤过,取续滤液,制得供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,记录色谱,测定含量,计算回收率,平均回收率为 99.67%,RSD 1.74%。见表 1。

表 1 供试品溶液中 *militarine* 含量测定回收率试验

No.	称样量 /g	测得量 /mg	加入量 /mg	样品中的 量/mg	回收率 /%	平均回收 率/%	回收率 RSD/%
1	0.163 3	5.715 4	3.118 5	2.589 8	100.23	99.67	1.74
2	0.176 2	5.864 0	3.118 5	2.795 3	98.40		
3	0.174 1	5.814 5	3.118 5	2.761 7	97.89		
4	0.179 2	6.017 8	3.118 5	2.842 6	101.82		
5	0.174 7	5.935 4	3.118 5	2.770 9	101.47		
6	0.175 2	5.841 7	3.118 5	2.779 1	98.21		

**2.3 白及浸出物测定方法** 按照《中国药典》(2010年版)一部附录 X A<sup>[1]</sup> 浸出物测定法中乙醇热浸法进行白及浸出物含量测定。

### 3 结果

采用 2.2 项中方法对上述各白及饮片中 *militarine* 的含量进行测定;2.3 项中浸出物的测定方测定白及各饮片浸出物的含量,结果见表 2,3。

表 2 不同炮制方法白及饮片中 *militarine* 含量 %

No.	润透切片	煮透切片	蒸透切片
1	1.187 7	1.641 9	3.353 2
2	1.895 2	2.134 2	3.703 5
3	2.116 0	2.269 6	3.515 0
4	1.567 5	2.481 3	3.528 6
5	1.680 8	2.134 9	3.560 5
6	1.982 4	3.141 6	3.683 1
7	1.707 0	2.274 5	3.048 6
8	1.338 4	2.327 2	2.536 5
9	1.935 5	2.672 0	3.402 7
10	1.588 1	2.292 0	3.028 3
11	2.054 4	2.838 7	3.149 1
12	2.067 3	2.512 5	2.781 5
13	2.100 9	2.149 2	2.710 2
14	1.645 8	2.297 1	2.624 9

### 4 讨论

目前法定的白及炮制加工方法有《中国药典》(2010年版)一部中记载白及的采收加工方法“除去须根,洗净,置沸水中煮或蒸至无白心,晒至半干,除去外皮,晒干”,在白及饮片炮制中加工的方法是“洗净,润透,切薄片,晒干”;《贵州省中药炮制规范》(2005年版)记载的白及饮片炮制方法与药典炮制方法一致。表 1 煮制切片、蒸制切片中 *militarine* 含量高于直接切片,其中蒸制切片 *militarine* 含量约为鲜白及饮片含量的两倍。表 2 结果表明,白及煮制切片、蒸制切片醇浸出物的含量较直接切片略有

表 3 不同加工方法白及饮片浸出物测定 %

No.	润透切片	煮透切片	蒸透切片
1	19.07	19.30	19.37
2	19.62	20.11	20.39
3	19.53	20.03	20.38
4	17.22	17.52	20.63
5	18.79	19.19	23.04
6	18.07	18.20	23.04
7	17.31	18.49	20.23
8	17.78	18.60	18.49
9	16.90	17.01	17.22
10	17.52	18.97	21.48
11	17.23	18.51	18.78
12	16.90	17.49	17.64
13	18.10	18.97	19.78
14	14.11	16.77	16.80

所增加。民间多采用笼蒸法和水煮法来采收加工白及<sup>(1)</sup>。因而建议白及产地加工炮制时采用“除去须根,洗净,蒸至无白心,除去外皮,切片,及时干燥”的方法。作者认为白及鲜药材中水分含量较高,蒸、煮以后使得药材内部结构致密,含水量降低,从而导致某些耐热的成分含量相对于润透切片要高一些。

浸出物测定方法研究中,分别采用水、50%乙醇、95%乙醇作为溶剂对白及的水溶性浸出物和醇溶性浸出物进行测定,在实验操作中发现使用水、50%乙醇作为溶剂浸泡之后溶液过于黏稠,导致无法进行过滤操作,95%乙醇溶液作为溶剂就没有这样的现象,考虑是因为白及中含有的胶类成分遇水发黏,从而导致无法过滤,因此选择 95%乙醇作为溶剂对白及醇溶性浸出物进行测定。根据药典浸出物测定法项下冷浸法和热浸法分别对白及醇溶性浸出物进行测定,结果采用热浸法所得浸出物含量更高,故本课题选择热浸法对白及浸出物进行测定。

### [参考文献]

- [1] 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,2010:95,附录 130,附录 62.
- [2] 罗新根,刘文庸,张卫东,等. 中药白及的化学成分及临床研究进展[J]. 药学实践杂志,1999,17(6):359.
- [3] 何迅,王爱民,李勇军,等. HPLC 测定白及中 *militarine* 含量[J]. 中国中药杂志,2009,34(16):2076.
- [4] 韩广轩,王立新,张卫东,等. 中药白及化学成分的研究(II)[J]. 第二军医大学学报,2002,23(9):1029.
- [5] 《贵州省中药饮片炮制规范》编委会. 贵州省药材炮制规范[S]. 贵阳:贵州科技出版社,2005:12.
- [6] 夏家超. 白及的采收与加工技术[J]. 农村新技术,2008:22.

[责任编辑 蔡仲德]