

· 工艺与制剂 ·

## 江西建昌帮爇制地黄中辅料作用探索( I )

胡志方<sup>1\*</sup>, 王小平<sup>1</sup>, 郭慧玲<sup>2</sup>, 陈建章<sup>1</sup>

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

**[摘要]** **目的:**建立 HPLC-ELSD 测定熟地黄中单糖与低聚糖含量的方法, 研究江西建昌帮爇制地黄过程中炮制辅料的作用。**方法:**采用 HPLC 测定地黄中单糖和低聚糖的含量, 以蒸发光散射检测器进行检测, prevail carbohydrate ES 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 考察辅料对建昌帮爇制地黄的影响。**结果:**爇制地黄中单糖含量高于各缺辅料爇制品, 但其低聚糖含量低于各缺辅料爇制品。爇制地黄、爇制地黄(缺砂仁)、爇制地黄(缺砂仁与陈皮)、爇制地黄(缺砂仁、陈皮与黄酒)、爇制地黄(缺黄酒)、爇制地黄(缺陈皮)中单糖质量分数分别为(23.46 ± 1.07)%, (21.81 ± 0.94)%, (15.83 ± 1.01)%, (14.14 ± 0.58)%, (21.91 ± 0.76)%, (21.53 ± 0.84)%; 低聚糖质量分数分别为(3.02 ± 0.25)%, (3.29 ± 0.17)%, (11.73 ± 0.64)%, (14.33 ± 0.83)%, (6.17 ± 0.38)%, (3.77 ± 0.19)%。**结论:**建立的含量测定方法操作简便、稳定、准确; 辅料砂仁、陈皮与黄酒会影响熟地黄炮制过程中化学成分的变化, 为阐明其炮制机制提供实验依据。

**[关键词]** 建昌帮; 熟地黄; 单糖; 低聚糖; 炮制机制

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0001-05

## Exploring of Accessories Role in Wenzhi *Rehmannia glutinosa* with Jiangxi Jianchang Band ( I )

HU Zhi-fang<sup>1\*</sup>, WANG Xiao-ping<sup>1</sup>, GUO Hui-ling<sup>2</sup>, CHEN Jian-zhang<sup>1</sup>

(1. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 344000, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC-ELSD method for determining contents of monosaccharide and oligosaccharide in *Rehmannia glutinosa*, and study on role of accessories in Wenzhi *R. glutinosa* with Jianchang band. **Method:** HPLC-ELSD was applied to determine the content of monosaccharide and oligosaccharide with prevail carbohydrate ES column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), influence of accessories on Wenzhi *R. glutinosa* with Jianchang band was investigated. **Result:** The content of monosaccharide in Wenzhi *R. glutinosa* was higher than that of processing accessories negative contrast groups, but the content of oligosaccharide was just the opposite. The content of monosaccharide in Wenzhi *R. glutinosa*, *Amomum villosum* negative contrast group, *A. villosum* and *Citrus reticulata* negative contrast group, *A. villosum*, yellow rice wine and *C. reticulata* negative contrast group, yellow rice wine negative contrast group and *C. reticulata* negative contrast group were (23.46 ± 1.07)%, (21.81 ± 0.94)%, (15.83 ± 1.01)%, (14.14 ± 0.58)%, (21.91 ± 0.76)%, (21.53 ± 0.84)%, respectively; The content of oligosaccharide in them were (3.02 ± 0.25)%, (3.29 ± 0.17)%, (11.73 ± 0.64)%, (14.33 ± 0.83)%, (6.17 ± 0.38)%, (3.77 ± 0.19)%, respectively. **Conclusion:** This established determination method was simple, stable and accurate; It demonstrated that processing accessories could affect change of chemical component in processing of *R. glutinosa*, including *A. villosum*, yellow rice wine and *C. reticulata*. It could provid experimental basis to clarify processing mechanism of *R. glutinosa*.

**[收稿日期]** 20120920(004)

**[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, 从事中药炮制及中药新制剂研究, Tel: 0794-8239328, E-mail: jxrclf@163.com

[ **Key words** ] Jianchang band; *Rehmannia glutinosa*; monosaccharide; oligosaccharide; processing mechanism

生地黄经不同方法炮制加工成熟地黄后,其化学成分会发生改变<sup>[1-2]</sup>。江西建昌帮是南方著名的古药帮之一,其源于晋唐,兴盛于明清,以中药饮片加工炮制方法和集散经营著称,药业流传江西、福建、台湾及东南亚地区。加砂仁、陈皮煨制后用黄酒蒸制工艺制备的煨制地黄是建昌帮特色炮制品种<sup>[3]</sup>,具有“气味纯真而独厚,补血而不凝滞”的独特品质,在南方药界享有很高声誉。本课题组前期研究表明,煨制地黄中糖类成分含量变化与酒炖地黄、清蒸地黄存在差异<sup>[4-5]</sup>,推测与辅料加工有关。为探讨在加工过程中各辅料的炮制作用,本实验对煨制地黄及其各缺辅料炮制品中糖类成分含量进行测定,以期阐明其炮制机制。

## 1 材料

Agilent 1260 系列高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司),Alltech 3300 型蒸发光散射检测器(美国奥泰科技有限公司),METTLER-TOLEDO AB265-S 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司),FST-III-10 型精密型超纯水机(上海富诗特仪器设备有限公司),OHAUS AR2140 型电子分析天平(奥豪斯仪器有限公司)。

地黄药材购自江西富中药业有限公司,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* Libosch. 的新鲜或干燥块根;砂仁、陈皮购自江西富中药业有限公司,经李秀英副教授鉴定,均符合《中国药典》2010 年版相关项下要求。黄酒(食品级,批号 20111025,镇江恒顺酒业有限责任公司),D-无水葡萄糖和 D-果糖对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110833-200503,111504-200001),蔗糖(天津市大茂化学试剂厂,批号 20101108),棉子糖(XALSB 公司,批号 CAS17629-30-0),水苏糖(Sigma 公司,批号 CAS54261-98-2,049k3800),水为超纯水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

煨制地黄依规范中方法制备<sup>[3]</sup>;以同一批生地黄为原料,同法制备各缺辅料煨制地黄:煨制地黄(缺砂仁)、煨制地黄(缺陈皮)、煨制地黄(缺砂仁与陈皮)、煨制地黄(缺黄酒)、煨制地黄(缺砂仁、陈皮与黄酒)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

**2.1.1 单糖测定** Prevail carbohydrate ES 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(75:25),流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,漂移管温度 65 ℃,空气流速 2.5 L·min<sup>-1</sup>,增益 1。

**2.1.2 低聚糖测定** Prevail carbohydrate ES 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(65.5:34.5),流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 ℃,漂移管温度 60 ℃,空气流速 2.0 L·min<sup>-1</sup>,增益 1。

### 2.2 试液的配制

#### 2.2.1 对照品溶液的制备

**2.2.1.1 单糖** 精密称量 D-无水葡萄糖和 D-果糖对照品适量,用水溶解制成质量浓度分别为 0.995, 0.910 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液,即得。

**2.2.1.2 低聚糖** 精密称量蔗糖、棉子糖与水苏糖对照品适量,加水溶解制成质量浓度分别为 0.581, 0.666, 1.828 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液,即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取 60 ℃ 干燥至恒重的生地黄,煨制地黄及各缺辅料煨制地黄粉末约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加 60% 甲醇 100 mL,超声 30 min,滤过,精密吸取续滤液 2 mL,置 5 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,取上清液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

### 2.3 标准曲线考察

**2.3.1 单糖** 取单糖对照品溶液,精密量取 0.5, 1, 2, 4, 8, 10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,精密量取 20 μL,注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积的常用对数为横坐标, D-葡萄糖和 D-果糖的质量的常用对数为纵坐标,以最小二乘法进行线性回归,得线性方程  $Y_{D-葡萄糖} = 0.6967X - 1.2039 (r = 0.9998)$ ;  $Y_{D-果糖} = 0.8404X - 1.8509 (r = 0.9999)$ 。

**2.3.2 低聚糖** 取低聚糖对照品溶液,精密量取 0.5, 1, 2, 4, 8, 10 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,精密量取 10 μL,注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积的常用对数为横坐标,蔗糖、棉子糖与水苏糖质量的常用对数为纵坐标,得线性方程  $Y_{蔗糖} = 0.9582X - 2.5331 (r = 0.9999)$ ,  $Y_{棉子糖} = 1.0135X - 2.226 (r = 0.9999)$ ,  $Y_{水苏糖} = 1.0063X - 2.4107 (r = 0.9996)$ 。

**2.4 精密度试验** 取单糖和低聚糖混合对照品溶液,分别依法重复进样 6 次,结果 D-葡萄糖、D-果

糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖的峰面积 RSD 分别为 0.27% ,0.61% ,0.94% ,0.62% ,0.75% 。

**2.5 稳定性试验** 取 2.2.2 项下供试品溶液,分别依 2.1 项下方法于制备后 0,2,4,6,8,24 h 各进样测定 1 次,结果 *D*-葡萄糖、*D*-果糖、蔗糖、棉子糖、水苏糖的峰面积 RSD 分别为 0.72% ,0.90% ,0.68% ,0.42% ,0.80% 。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.6 重复性试验** 精密称取生地黄样品 5 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,依法测定含量。结果 *D*-葡萄糖和 *D*-果糖的质量分数分别为 1.67% (RSD 0.89%) ,2.18% (RSD 1.03%) ;精密称取同一爇制地黄样品 5 份,按 2.2.2 项下方法制成供试品溶液,依法测定含量。结果蔗糖、棉子糖、水苏糖的质量分数分别为 0.74% (RSD 2.58%) ,1.00% (RSD 2.21%) ,1.33% (RSD 1.16%) ;说明该方法重复性良好。

## 2.7 加样回收率试验

**2.7.1 单糖** 称取 6 份已知含量的生地黄样品,每份 1.0 g,精密称定,分别加入 *D*-葡萄糖和 *D*-果糖约 15,20 mg,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算平均回收率。结果平均回收率分别为 99.11% (RSD 1.97%) ,98.98% (RSD 1.68%) 。见表 1。

表 1 生地黄中单糖加样回收率试验

对照品	取样量 /g	样品中含 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	
<i>D</i> -葡萄糖	1.000 5	16.71	15.17	31.75	99.15	
	1.001 6	16.73	15.14	31.46	97.31	
	1.002 1	16.73	15.29	32.13	100.69	
	1.003 4	16.76	14.97	31.66	99.55	
	1.002 0	16.73	15.10	31.29	96.40	
	1.002 8	16.75	15.16	32.14	101.54	
	<i>D</i> -果糖	1.000 5	21.81	20.01	41.56	98.70
		1.001 6	21.83	20.11	41.73	98.93
1.002 1		21.85	20.03	41.84	99.82	
1.003 4		21.87	20.25	41.71	97.95	
1.002 0		21.84	20.04	42.22	101.68	
1.002 8		21.86	20.12	41.34	96.81	

**2.7.2 低聚糖** 称取 6 份已知含量的爇制地黄样品,每份 1.0 g,精密称定,每份中加入蔗糖、棉子糖、水苏糖分别约 7,10,13 mg,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,依法测定。结果平均回收率分别为

98.96% (RSD 1.44%) ,99.01% (RSD 2.39%) ,98.93% (RSD 1.18%) 。见表 2。

**2.8 样品测定** 精密吸取各供试品溶液注入液相色谱仪,测定峰面积,见图 1~2,依法计算样品中含量,结果见表 3~4。

表 2 爇制地黄中低聚糖加样回收率试验

对照品	取样量 /g	样品中含 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	
蔗糖	1.020 4	7.55	7.67	15.04	97.60	
	1.008 2	7.46	7.24	14.61	98.75	
	1.017 9	7.53	7.07	14.43	97.53	
	1.024 5	7.58	7.03	14.54	99.04	
	1.009 0	7.47	7.29	14.86	101.39	
	1.032 3	7.64	7.05	14.65	99.48	
	棉子糖	1.020 4	10.20	10.03	20.24	100.05
		1.008 2	10.08	10.31	20.12	97.36
1.017 9		10.18	10.72	20.55	96.72	
1.024 5		10.25	10.15	20.41	100.13	
1.009 0		10.09	10.64	21.02	102.75	
1.032 3		10.32	10.37	20.39	97.08	
水苏糖		1.020 4	13.57	13.34	26.85	99.52
		1.008 2	13.41	13.25	26.68	100.17
	1.017 9	13.54	13.61	26.93	98.37	
	1.024 5	13.63	13.58	26.79	96.95	
	1.009 0	13.42	13.10	26.49	99.76	
	1.032 3	13.73	13.26	26.83	98.83	

表 3 生地黄及爇制地黄中单糖含量测定 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ ) %

样品	<i>D</i> -葡萄糖	<i>D</i> -果糖	单糖
生地黄	1.67	2.18	3.85
爇制地黄	9.04 ± 0.36	14.42 ± 0.84	23.46 ± 1.07
爇制地黄(缺砂仁)	8.06 ± 0.38	13.75 ± 1.27	21.81 ± 0.94
爇制地黄(缺砂仁与陈皮)	5.44 ± 0.36	10.39 ± 0.80	15.83 ± 1.01
爇制地黄(缺砂仁、陈皮与黄酒)	4.38 ± 0.19	9.76 ± 0.44	14.14 ± 0.58
爇制地黄(缺黄酒)	8.62 ± 0.30	13.29 ± 0.82	21.91 ± 0.76
爇制地黄(缺陈皮)	7.51 ± 0.28	14.02 ± 0.91	21.53 ± 0.84

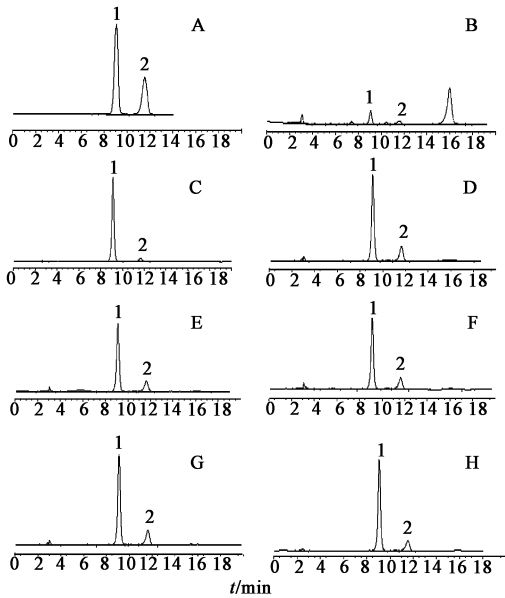
注:生地黄均选用同一批次原药材(表 4 同)。

## 3 讨论

在前期研究中,曾对检测条件进行探索,发现依 2.1.1 项下条件测定单糖时,果糖与葡萄糖色谱峰的对称因子分别为 1.026,1.055;依 2.1.2 项下方法测定低聚糖时,蔗糖、棉子糖与水苏糖色谱峰的对称因子依次为 1.059,1.082,1.143,能满足分析要求。

表 4 生地黄及地黄炮制品中低聚糖含量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品	蔗糖	棉子糖	水苏糖	低聚糖
生地黄	9.36	10.93	43.99	64.28
炮制地黄	0.74 ± 0.11	0.95 ± 0.08	1.33 ± 0.13	3.02 ± 0.25
炮制地黄(缺砂仁)	0.67 ± 0.06	1.00 ± 0.12	1.62 ± 0.22	3.29 ± 0.17
炮制地黄(缺陈皮)	0.78 ± 0.05	1.21 ± 0.09	1.78 ± 0.17	3.77 ± 0.19
炮制地黄(缺砂仁与陈皮)	1.00 ± 0.07	2.29 ± 0.20	8.44 ± 0.65	11.73 ± 0.64
炮制地黄(缺砂仁、陈皮与黄酒)	0.91 ± 0.04	1.98 ± 0.14	11.44 ± 0.97	14.33 ± 0.83
炮制地黄(缺黄酒)	1.16 ± 0.12	1.90 ± 0.10	3.11 ± 0.26	6.17 ± 0.38



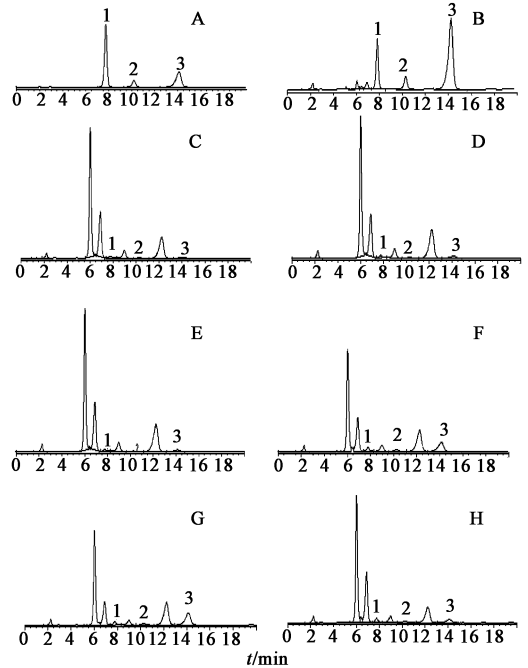
A. 混合对照品; B. 生地黄; C. 炮制地黄; D. 炮制地黄(缺砂仁);  
E. 炮制地黄(缺砂仁与陈皮); F. 炮制地黄(缺砂仁、陈皮与黄酒);  
G. 炮制地黄(缺黄酒); H. 炮制地黄(缺陈皮); 1. 果糖; 2. 葡萄糖

图 1 生地黄及炮制地黄中单糖 HPLC

曾比较 80% 甲醇和 60% 甲醇的提取效果, 结果表明 80% 甲醇制备的供试品中可溶性杂质少, 但 60% 甲醇的提取效率更高, 且其所含少量可溶性杂质不影响目标成分的测定。

在炮制地黄中低聚糖含量均低于各缺辅料炮制地黄, 但单糖含量高于各缺辅料炮制地黄。缺砂仁炮制地黄与缺陈皮炮制地黄中单糖与低聚糖的含量均相近, 但同时缺少砂仁与陈皮的炮制地黄中低聚糖含量较之高出约 3 倍多, 而单糖含量较之则明显偏低, 表明二者可能是通过协同作用共同影响熟地黄炮制过程中化学成分的变化。

缺黄酒炮制地黄比炮制地黄, 缺黄酒、砂仁与陈皮炮制地黄比缺砂仁与陈皮炮制地黄中单糖含量均低约 10%。原因可能是: ①加黄酒比未加黄酒组的低聚糖含量低, 提示加黄酒蒸制可能有助于地黄中低聚糖的分解; ②由于黄酒中富含  $17 \sim 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的单糖<sup>[6]</sup>, 可能会直接增加炮制品的单糖含量。



A. 混合对照品; B. 生地黄; C. 炮制地黄; D. 炮制地黄(缺陈皮);  
E. 炮制地黄(缺砂仁); F. 炮制地黄(缺砂仁与陈皮); G. 炮制地黄  
(缺砂仁、陈皮与黄酒); H. 炮制地黄(缺黄酒);  
1. 蔗糖; 2. 棉子糖; 3. 水苏糖

图 2 生地黄及炮制地黄中低聚糖 HPLC

建帮药界认为生地黄性寒, 多液而腻滞, 脾虚者慎用。经加入黄酒、砂仁、陈皮炮制后性转微温, 取其辛温香窜之气, 健脾行滞、纳气归肾, 以增强补益之功, 并纠熟地黄滋腻碍脾之弊。本实验表明生地黄经炮制法制成熟地黄, 单糖含量增加 6 倍, 低聚糖含量下降 20 倍。现代药理学证实, 果糖、葡萄糖具有直接供给热能、补充体液及营养全身的补益功效。同时, 由于水苏糖、棉子糖为  $\alpha$  型低聚半乳糖, 分子中的 1~3 个半乳糖不能被人体内  $\beta$ -半乳糖苷酶、蔗糖酶所分解, 属难消化糖。在辅料黄酒、砂仁、陈皮共同作用下, 生地黄中难以消化的低聚糖在炮制过程中逐渐分解成易消化的单糖, 可用于治疗脾虚之症, 这也初步验证了建帮加辅料黄酒、砂仁、陈皮炮制地黄工艺的合理性, 但其作用机制有待进一步研究。

# 羧基化碳纳米管负载羟基喜树碱的制备、 表征及肠吸收特性考察

邓亚利<sup>1</sup>, 林芳花<sup>2</sup>, 何秀华<sup>1</sup>, 周莉玲<sup>3\*</sup>

(1. 华南农业大学制药工程系, 广州 510642; 2. 惠州学院生命科学系, 广东 惠州 516007;  
3. 广州中医药大学, 广州 510405)

**[摘要]** 目的: 研究羧基化多壁碳纳米管负载羟基喜树碱(HCPT)的制备工艺及负载物(HCPT-MWCNTs-COOH)的肠吸收特性。方法: 比较球磨法、超声法与振荡法的吸附量差异, 选择最优负载法; 负载物采用 FIR, 紫外光谱进行表征, 通过 HPLC 测定其含量; 采用离体外翻肠囊模型研究负载物在不同肠段的吸收特性, HPLC 测定样品质量浓度, 计算吸收速率常数(Ka)。结果: 冷冻球磨法负载量最高(12.5 mg·g<sup>-1</sup>); 紫外、红外图谱变化表明碳纳米管负载了 HCPT; 肠吸收试验表明随 HCPT 质量浓度上升, 肠吸收速率常数呈线性增加; 高质量浓度在十二指肠、空肠、回肠、结肠的 Ka 分别为 150.9, 92.7, 148.9, 183.0 ng·cm<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>, 在各个肠段的 Ka 均无显著性差异。结论: 负载物中 HCPT 溶解性增加并保护了内酯环, 提高了肠透过速率; 在小肠中为被动扩散吸收。

**[关键词]** 羧基化碳纳米管; 羟基喜树碱; 离体外翻肠囊模型; 肠吸收

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0005-05

## Investigation of Preparation, Characterization and *in vitro* Intestinal Absorption Characteristics for Carboxylated Carbon Nanotubes Load Hydroxycamptothecin

DENG Ya-li<sup>1</sup>, LIN Fang-hua<sup>2</sup>, HE Xiu-hua<sup>1</sup>, ZHOU Li-ling<sup>3\*</sup>

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;  
2. Department of Life Science, Huizhou University, Huizhou 516007, China;  
3. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

**[收稿日期]** 20120708(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30672669)

**[第一作者]** 邓亚利, 博士, 副主任药师, 从事药物新剂型及新技术研究, Tel: 13580399281, E-mail: xiyuandeng@scau.edu.cn

**[通讯作者]** \* 周莉玲, 教授, 博士生导师, E-mail: zhouliling717@sina.com

### [参考文献]

- [1] 王宏洁, 刘婷, 梁爱华, 等. 鲜地黄化学成分的分离鉴定及活性作用初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(1): 15.
- [2] 刘彦飞, 赵宇, 武卫红. 地黄的化学成分及其在加工炮制过程中的变化[J]. 国外医药: 植物药分册, 2007, 22(3): 102.
- [3] 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.
- [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.
- [5] 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还原糖含量比较[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(1): 90.
- [6] 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, 221(8): 37.

[责任编辑 仝燕]