

不同种类酒炮炙对牛膝饮片齐墩果酸含量的影响

张振凌*, 吴国学, 李君丽
(河南中医学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 比较牛膝不同种类酒(乙醇浓度不同)炙品、水炙品及生品中齐墩果酸的含量, 确定乙醇含量对牛膝齐墩果酸含量的影响。方法: 按酒炙法制备牛膝炮制品, 用高效液相色谱法测定其中齐墩果酸的含量。结果: 不同种类酒(乙醇浓度不同)炮炙后的牛膝饮片中齐墩果酸的含量有升高的趋势, 且高乙醇浓度的白酒炮炙的牛膝中齐墩果酸含量最高。结论: 不同辅料用酒对牛膝饮片中齐墩果酸的含量有一定影响, 齐墩果酸的含量整体上随着炮炙用酒的含醇量的升高而增大。

[关键词] 牛膝; 齐墩果酸; 炮制

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0039-03

Effect of Different Types of Wine Preparation on Oleanolic Acid Content of Radix Achyranthis Bidentatae

ZHANG Zhen-ling*, WU Guo-xue, LI Jun-li

(Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To compare oleanolic acid content of Radix Achyranthis Bidentatae prepared by different wines, prepared by distilled water and Radix Achyranthis Bidentatae itself. **Method:** HPLC was used to determine the content of oleanolic acid. **Result:** The content of oleanolic acid after prepared by different wines (different concentrations of ethanol) was in a rising trend. And oleanolic acid reached to the highest content when prepared by high alcohol concentration of liquor. **Conclusion:** Different type of wines had a certain effect in the content of oleanolic acid of Radix Achyranthis Bidentatae. And the content of oleanolic acid increased along with the increase of alcohol content of liquor.

[Key words] Radix Achyranthis Bidentatae; oleanolic acid; preparation

牛膝系苋科植物牛膝 *Chyrabthes bidentata* BL. 的干燥根。牛膝所含化学成分比较复杂, 不仅富含多糖, 而且还含植物变态激素、三萜皂苷、甜菜碱、挥发油、蛋白质、微量元素等。其中三萜皂苷为牛膝的主要药效成分之一, 经水解后生成齐墩果酸、葡萄糖醛酸等。有文献报道, 怀牛膝不同工艺炮制品中齐墩果酸含量较生品均有不同程度的增加^[1-2]。而杨朝莲等报道牛膝炮制后, 其齐墩果酸含量均有不同程度的下降, 表明牛膝炮制后其有效成分牛膝总皂苷遭到不同程度的破坏, 为保证药效, 建议以生药入

药为主^[3]。这说明牛膝中齐墩果酸炮炙前后含量变化并不一致, 因而有待进一步研究。本实验采用高效液相色谱法比较不同种类、不同浓度酒及蒸馏水对牛膝饮片中齐墩果酸含量的影响, 进而评价牛膝炮炙作用, 控制牛膝饮片质量, 并且对筛选炮炙辅料用酒提供初步依据。

1 仪器与材料

高效液相色谱分析仪 LC20AT, SPD-20A 检测器, Chromato-Solution light 色谱数据处理系统, 1/10 万电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

药材采购于亳州药材市场。经河南中医学院药学院生药学科陈随清教授鉴定为苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* BL. 的干燥根。炮炙辅料用酒: 黄酒(濮阳亚光制药厂, 批号 20040610)、加饭酒(中国粮油食品有限公司出品, 绍兴酒有限公司酿制, 批号 20061124)、花雕酒(中国粮油食品有限公司出

[收稿日期] 20100107(009)

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划课题 (2006BAI09B06-07)

[通讯作者] *张振凌, 教授, 从事中药炮制学教学与研究, Tel: 0371-65680970, E-mail: zhangz6758@163.com

品,绍兴酒有限公司酿制,批号 20060111)、京宫二锅头酒(北京京宫城酒业有限公司,批号 20061214)。齐墩果酸对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 0709-9803)供含量测定用;甲醇为色谱醇,其他化学试剂均为分析纯。

1.1 样品制备

1.1.1 切制工艺及生品饮片制备 取牛膝药材,切去芦头,抢水洗净,闷润 1~2 h 至软化(弯曲法检查对折不折断),切 2~4 mm 厚片(顶头片),60 °C 烘 4~6 h 至干(含水量 7%~13%)。

1.1.2 酒炙工艺及各酒炙品饮片的制备 每 100 kg 牛膝用酒量为 10 kg,与牛膝片拌匀后,闷润 60 min,控制文火炒干(90~110 °C,15 min)。本实验采用取切制好的牛膝生品饮片 5 份,每份 500 g,分别取黄酒、加饭酒、花雕酒、京宫二锅头酒、水各 50 g,按酒炙工艺进行炮制。表 1 为牛膝不同种类酒炮炙情况。

表 1 不同种类酒的炮炙情况

样品	乙醇度 /%	炙品质量 /g	收得率 /%
河南黄酒炙品	22	488.6	97.7
加饭酒炙品	16.5	509.3	101.8
花雕酒炙品	16	516.4	103.3
白酒炙品	56	482.8	96.6
蒸馏水炙品	—	543.0	108.6

上述样品制备过程中为了考察加热对其的影响,不同辅料炮制样品采取了同一工艺和同样的加热条件,结果造成样品收率不一致,说明不同辅料对药物的渗透吸收和干燥过程是不同的。由于收率不同,并且有样品收率高于 100%,所以在测定含量时应以干燥品计。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 HC-C₁₈ Analytical 色谱柱(4.6 mm×250 mm);流动相甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(90:10:0.03:0.06);流速 0.8 mL·min⁻¹;柱温 25 °C;检测波长 215 nm。

2.2 供试品溶液的制备 取牛膝各样品粉末(过 20 目筛)约 2 g,精密称定,置 150 mL 圆底烧瓶中,分别加入 2 mol·L⁻¹ 盐酸 30 mL,回流提取 4 h,冷却,滤过得滤渣,用蒸馏水洗至中性,60 °C 烘干,置 100 mL 索氏提取器中分别加入 60 mL 三氯甲烷,提取至无色,于水浴锅上挥干,残渣用色谱甲醇溶解,并定

容至 25 mL 量瓶中,摇匀,用 0.45 μm 为微孔滤膜滤过,即得。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取齐墩果酸对照品 4.98 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(每毫升含齐墩果酸 0.498 mg)。

2.4 线性关系考察 取齐墩果酸对照品溶液,在上述色谱条件下,分别精密吸取 4,6,8,10,12 μL,进样,测定峰面积。以进样体积为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y = 75\ 868 X + 13\ 954$, $R^2 = 0.999\ 7$ 。结果表明,齐墩果酸进样量在 1.992~5.976 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品(牛膝黄酒制品)溶液 10 μL,在上述色谱条件下连续进样 5 次,测得齐墩果酸的平均含量为 13.73 mg·g⁻¹,RSD 2.24%,表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品试液(牛膝黄酒制品)分别于制备后 0,6,12,18,24,48 h 进样 5 μL,测得齐墩果酸的平均含量为 13.49 mg·g⁻¹,RSD 1.51%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.7 重复性实验 取同一批样品(牛膝黄酒品)5 份,每份约 2.0 g,精密称定,制成 5 份供试品溶液,进行含量测定,结果测得平均值为 12.29 mg·g⁻¹,RSD 1.97%。

2.8 回收率试验 取同一批已知含量牛膝粉末(过 20 目筛)5 份,每份约 1.0 g,精密称定,依次加入齐墩果酸对照品溶液 2 mL(6.281 mg·mL⁻¹),按照 2.3 方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行色谱分析,测定平均回收率 98.32%,RSD 2.42%,表明该方法的回收率良好。结果见表 2。

表 2 齐墩果酸加样回收试验

No.	称样量 /g	样品中含量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%
1	1.000 7	11.925	24.180	97.56
2	1.000 5	11.922	24.091	96.87
3	1.000 9	11.927	24.738	101.98
4	1.000 3	11.920	24.392	99.28
5	1.000 3	11.920	23.971	95.93

注:样品齐墩果酸含量为 13.31 mg·g⁻¹,加入量为 12.562 mg。

2.9 含量测定 取牛膝生品、加饭酒炙品、花雕酒炙品、黄酒炙品、二锅头酒炙品、蒸馏水炙品各 2 份,每份约 2.0 g,精密称定,分别照上述供试品溶液制备方法 & 色谱条件测定,保留时间为 16.60 min 左右,见图 1;以外标法计算含量,结果见表 3。

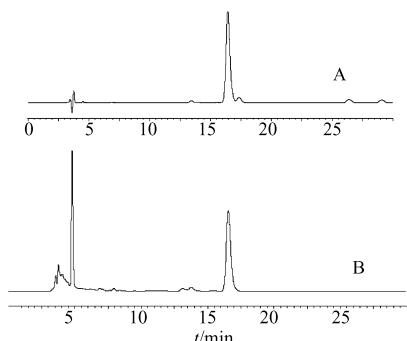


图 1 牛膝酒炙饮片齐墩果酸 HPLC 图
A. 对照品; B. 样品

表 3 牛膝不同酒炙品饮片齐墩果酸质量分数 %

样品	齐墩果酸	水分	齐墩果酸 (干燥品计)
生品	1.078	10.75	1.21
加饭酒炙品	1.210	10.95	1.36
花雕酒炙品	1.207	11.10	1.36
河南黄酒炙品	1.192	10.50	1.33
白酒炙品	1.265	10.38	1.41
蒸馏水炙品	1.165	11.67	1.32

由表 3 可以看出,牛膝生品与不同种类、不同浓度酒炙品齐墩果酸的含量:白酒炙品 > 加饭酒炙品 > 花雕酒炙品 > 河南黄酒炙品 > 蒸馏水炙品 > 生品。含量测定的结果表明牛膝酒炙后齐墩果酸的含量有升高的趋势,且高乙醇浓度的白酒炮炙的牛膝中齐墩果酸含量最高。

3 讨论

齐墩果酸($C_{30}H_{48}O_3$)为五环三萜类化合物,广泛分布于自然界各种绿色植物中,以单体或皂苷形式存在。据文献报道,齐墩果酸具有消炎、增强免疫功能、降转氨酶、降浊,改善病状和肝功能,纠正体内异常蛋白代谢,防止肝硬化、降血脂、降血糖等多方面的临床药理作用;此外,齐墩果酸还具有强心、利尿和抑制 S180 瘤株生长等作用^[4-5],而这些药理作用则与牛膝“补肝肾、强筋骨”的传统药理作用相吻合。本研究含量测定结果表明,牛膝饮片酒炙品齐墩果酸的含量均高于生品,可以说明酒炙能提高牛

膝齐墩果酸含量。其原因可能是在炮炙过程中加入辅料用酒,拌匀闷润的过程促使溶解,使牛膝醇溶性成分从细胞中溶出到细胞外,增加了其溶出率。牛膝酒炙后齐墩果酸含量增高,这给牛膝酒制后增强“补肝肾、强筋骨”提供了理论依据。

实验结果中白酒炙品齐墩果酸的含量最高,而且牛膝几种酒炙品中齐墩果酸的含量与含醇量大致成正比关系,由此可以初步得出齐墩果酸的溶出与炮炙用酒的含醇量有关,总的趋势是含醇量越高齐墩果酸的溶出率越大的结论。为了比较酒炙过程中辅料中乙醇含量对牛膝中齐墩果酸含量的影响,特意安排蒸馏水作为辅料与牛膝饮片拌炒,结果蒸馏水拌炒后牛膝饮片中齐墩果酸含量相比生品也有一定升高。说明加热过程对其含量也有一定影响。在用酒炮制拌匀的过程中,可以明显地感觉到药材表面发粘;蒸馏水拌匀的过程中却不太明显。炒制的过程中,酒拌匀的饮片明显有些粘锅;白酒拌匀的药材在炒制过程中锅底发白,显然有成分溶出并粘附在锅壁,此现象是否与齐墩果酸含量的变化以及酒炙炮制作用有关,有待进一步研究。

牛膝所含化学成分比较复杂,不仅含齐墩果酸,还富含多糖,以及植物变态激素、三萜皂苷、甜菜碱等,因此,尚需要进行不同辅料对其他成分影响也进行比较研究,尚能综合得出酒炙炮制的作用。

[参考文献]

- [1] 彭百承. 砂烫怀牛膝与炒制怀牛膝中齐墩果酸的含量比较[J]. 广西中医学院学报, 2002, 5(3): 83.
- [2] 陈惠玲, 王建科. 高效液相色谱法测定怀牛膝不同炮制品中齐墩果酸的含量[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(5): 281.
- [3] 杨朝莲, 张运杰. 牛膝及其炮制品中齐墩果酸的含量测定研究[J]. 中医药导报, 2005, 11(6): 71.
- [4] 孙燕. 齐墩果酸的促进免疫作用[J]. 中国临床药理学杂志, 1988 (1): 26.
- [5] 唐春红. 木瓜营养保健作用研究动态[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(4): 10.

[责任编辑 仝燕]