

四种炮制方法对不同产地 杜仲的指示性成分的影响分析

刘育婷 齐武强* 滕薇 袁成代

(宝鸡市中医医院, 陕西 宝鸡 721001)

摘要:目的 探讨盐炙法、酒炙法、蜜炙法与姜炙方法对不同产地杜仲的指示性成分的影响进行分析,为中药材杜仲的临床应用和质量研究提供技术支持。方法 对比分析盐炙法、酒炙法、蜜炙法与姜炙方法对不同产地杜仲的损耗率、醇溶性浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量以及绿原酸含量的影响。结果 各类炮制杜仲与生品杜仲之间的损耗率、浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量以及绿原酸含量的差异均具有统计学意义($P < 0.001$)。四川产地杜仲损耗率由高到低依次为盐炙法、姜炙法、酒炙法和蜜炙法($P < 0.001$);湖南产地杜仲损耗率由高到低依次为姜炙法、盐炙法、蜜炙法和酒炙法($P < 0.001$)。四川产地杜仲在经过盐炙法和酒炙法之后,损耗率明显高于湖南产地杜仲($P < 0.001$),而蜜炙法和姜炙法与此相反($P < 0.001$)。四川和湖南产地杜仲浸膏得率由高到低依次为蜜炙法、酒炙法、盐炙法和姜炙法($P < 0.001$),且四川产地各类炮制杜仲的浸膏得率高于湖南产地杜仲($P < 0.001$)。四川和湖南产地杜仲松脂醇二葡萄糖苷含量由高到低依次为盐炙法、酒炙法、蜜炙法和姜炙法($P < 0.001$)。四川产地杜仲在经过盐炙法、蜜炙法和姜炙法之后,松脂醇二葡萄糖苷含量明显高于湖南产地杜仲($P < 0.001$),而经过酒炙法之后,其含量低于湖南产地杜仲($P < 0.001$)。四川产地杜仲绿原酸含量由高到低依次为姜炙法、蜜炙法、酒炙法和盐炙法($P < 0.001$),湖南产地杜仲绿原酸含量由高到低依次为蜜炙法、酒炙法、盐炙法和姜炙法($P < 0.001$)。四川产地的生品杜仲以及经过蜜炙法和姜炙法之后,绿原酸含量明显高于湖南产地杜仲($P < 0.001$),而经过盐炙法之后,其含量低于湖南产地杜仲($P < 0.05$)。结论 中药杜仲炮制品的品质与产地和炮制方法密切相关,为中药材杜仲的临床用药安全和质量研究提供技术支持。

关键词:杜仲;炮制;松脂醇二葡萄糖苷;损耗率;绿原酸;醇溶性浸出物

中图分类号:R277 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1340(2020)01-0076-04

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2020.01.019

中药材杜仲是中医临床常用的药物,为杜仲科植物杜仲的干燥树皮,是我国特有的贵重中药材^[1],它的环烯醚萜类及其糖苷是其具有补肝肾、强筋骨、安胎、降血压、止痛、镇静的作用药理活性的主要化合物^[2-3]。杜仲需要经过炮制,2015年版《中华人民共和国药典》一部所列杜仲的炮制方法为盐润后炒至表面焦黑色^[4]。杜仲炮制中的炙、炒主要是为了使杜仲“断丝”,有利于调配、煎煮和粉碎。不同的炮制方法,临床应用不一样,如清代《得配本草》载^[5]:“治泻痢酥炙,除寒湿酒炙,润肝肾蜜炙,补腰肾盐水炒,治酸疼姜汁炒。”不同的炮制方法对杜仲的环烯醚萜类及其糖苷的含量

影响也不一样。据此,该课题组对盐炙法、酒炙法、蜜炙法与姜炙方法对不同产地杜仲的损耗率、醇溶性浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量以及绿原酸含量进行比较分析,旨在为医院药剂部门选择中药材杜仲的炮制方法提供技术支持,也对不同产地的杜仲在不同炮制方法处理下对其品质进一步进行比较分析,旨在为杜仲的合理采购和临床应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料 不同产地的杜仲药材购于本市医药公司并经市药检所鉴定为杜仲科植物杜仲的干燥树皮。按产地的不同分为四川产,批号为:

20151023;湖南产,批号为:20171025。标准品松脂醇二葡萄糖苷和绿原酸来源于国家药品生物制品鉴定所。实验中提取和分析的试剂均为分析纯;水为蒸馏水。

1.2 仪器 紫外分光光度计(北京精密科学仪器厂,产品型号:UV717CART),电热鼓风干燥箱(北京生物医疗器械有限公司,产品型号:GZX-9023MBE),多功能药材粉碎机(北京恒奥德仪器仪表有限公司,产品型号:HX-FW-200),电子天平(美国梅特勒生产公司,产品型号:ME4002,精密度 0.1g),微波炉(格兰仕微波炉电器有限公司生产,产品型号:G90F25CSXLVⅢ-R6(G3))。

1.3 炮制方法 ①生杜仲前处理:清洗中药杜仲皮,将多余的粗皮处理干净,将其切成 0.5cm × 0.5cm 的杜仲丝,统一进行干燥,每种炮制方法进行 10 次平行实验,每次炮制实验均称取相同质量的杜仲皮 200g。②盐炙法:取 200g 杜仲丝,按照药典盐炙法^[4]炮制。即 200g 药材用 4g 食盐,适量水拌润,文火加热,炒至断丝,表面呈焦黑色。③酒炙法:取待 200g 杜仲丝,加黄酒 40g 拌匀,闷透,置炒制容器内,用文火炒至丝易断时,取出放凉。④蜜炙法:取 50g 炼蜜加适量的开水稀释后,加入 200g 杜仲丝拌匀,闷透,后置于炒制容器内,用文火炒至丝易断时,取出放凉。⑤姜炙法:取洗净的生姜 20g 捣烂,加水适量,压榨取汁,姜渣加水重复压榨一次,合并汁液,将姜汁与生姜(比列 1:1)与 200g 杜仲丝拌匀,置于炒制容器内,用文火炒至丝易断时,取出晾干。

1.4 损耗率、浸出物及有效成分测定方法

1.4.1 损耗率及浸出物测定 损耗率测定:对杜仲进行各种方法炮制前后重量之差即得损耗率。浸出物测定:取生品和 4 种炮制完成的杜仲 20g,剪成碎片或揉成絮状,精密称定约 10g,置于 250mL 锥形瓶中,精密加水 100mL,采用醇溶性浸出物测定法进行测定^[4],用 75% 的酒精作溶剂,以干燥品计算样品中醇溶性浸出物量。

1.4.2 有效成分测定方法 均采用紫外分光光度计法进行测定,(1)松脂醇二葡萄糖苷浸出物含量 ①以 60% 甲醇溶液作为参比溶液,在 342nm、320nm 处测定吸光度值 A₃₄₂、A₃₂₀ 值,求得 A =

A₃₂₀ - A₃₄₂,以样品浓度 C 作为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制 A - C 标准曲线:精密称取松脂醇二葡萄糖苷标准品适量,用 60% 的甲醇溶液稀释成每毫升含有标准品 6.05、12.10、18.15、24.20、30.25、36.30μg 的标准溶液,求得回归方程为: C = 66.014A - 0.5702。②样品的含量测定 精密称取经 4 种炮制后各平行样的杜仲炮制品和生杜仲各 10g,加入 200ml 60% 甲醇溶液,回流提取 3 次,每次 30min,过滤合并滤液,再次加入甲醇溶液定容至 500ml 容量瓶中,紫外可见分光光度仪器测定,按照回归方程求得松脂醇二葡萄糖苷的含量,其计算公式为松脂醇二葡萄糖苷的含量 = (松脂醇二葡萄糖苷(g)/10g) × 1000‰。(2)绿原酸含量测定^[7]。①以 50% 甲醇溶液作为参比溶液,在 345nm、325nm 处测定吸光度值 A₃₄₅、A₃₂₅ 值,求得 A = A₃₂₅ - A₃₄₅,以样品浓度 C 作为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制 A - C 标准曲线(精密称取松绿原酸标准品适量,用 50% 的甲醇溶液稀释成每毫升含有标准品 6.05、12.10、18.15、24.20、30.25、36.30μg 的标准溶液,求得回归方程为: C = 66.249A - 0.5818)。②样品的含量测定 精密称取经 4 种炮制后各平行样的杜仲炮制品各 10g,加入 100ml 50% 甲醇溶液,回流提取 2 次,每次 30min,过滤合并滤液,定容至 500ml 容量瓶中,紫外可见分光光度仪器测定,按照回归方程求得绿原酸的含量,其计算公式为绿原酸的含量 = (绿原酸(g)/10g) × 1000‰。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料采用 ($\bar{x} \pm s$) 进行描述。同一炮制方法下不同产地杜仲的损耗率、醇溶性浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量以及绿原酸含量比较采样 t 检验,同一产地不同炮制方法杜仲的损耗率、醇溶性浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量以及绿原酸含量采用 Kruskal - walls 检验分析,检验水准 α = 0.05。

2 结果

2.1 生品杜仲与炮制杜仲的比较 各类炮制杜仲与生品杜仲之间的损耗率、浸出物、松脂醇二葡萄糖苷含量以及绿原酸含量的差异均具有统计学意义(P < 0.001)。见表 1。

表 1 不同炮制方法对不同产地杜仲的成分的影响分析

炮制方法	产地	损耗率(%)	浸膏得率(%)	松脂醇二葡萄糖苷含量(%)	绿原酸含量(%)
生品	四川	0	15.23±0.089	1.37±0.010	3.87±0.11
	湖南	0	15.62±0.016	1.38±0.010	3.57±0.15
	t 值	—	—2.115	—1.197	4.969
	P 值	—	0.064	0.247	<0.001
盐炙法	四川	28.60±0.28	16.86±0.097	3.40±0.026	0.71±0.029
	湖南	26.76±0.15	16.36±0.021	3.36±0.025	0.74±0.021
	t 值	18.527	15.666	3.671	—2.316
	P 值	<0.001	<0.001	0.002	0.033
酒炙法	四川	26.72±1.60	16.90±0.098	2.18±0.083	0.78±0.056
	湖南	20.53±0.028	16.72±0.016	2.52±0.018	0.81±0.010
	t 值	12.215	5.828	—12.633	—1.44
	P 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.182
蜜炙法	四川	22.51±0.033	22.74±0.18	1.51±0.019	0.89±0.038
	湖南	23.51±0.033	21.88±0.013	1.37±0.010	0.81±0.023
	t 值	—67.902	15.514	21.571	6.15
	P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
姜炙法	四川	28.36±0.12	16.33±0.038	1.42±0.010	1.07±0.031
	湖南	29.36±0.12	15.31±0.011	1.08±0.012	0.73±0.013
	t 值	—18.627	81.006	18.691	31.75
	P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同产地各类炮制杜仲的损耗率、浸膏得率比较 四川产地杜仲损耗率为盐炙法>姜炙法>酒炙法>蜜炙法($H=30.37, P<0.001$);湖南产地杜仲损耗率为姜炙法>盐炙法>蜜炙法>酒炙法($H=36.72, P<0.001$)。四川和湖南产地杜仲浸膏得率均为蜜炙法>酒炙法>盐炙法>姜炙法($H=33.15, 36.77; P<0.001$)。四川产地的杜仲在经过盐炙法和酒炙法之后,杜仲耗损率明显高于湖南产地杜仲($P<0.001$),而在经过蜜炙法和姜炙法之后,杜仲的耗损率低于湖南产地杜仲。四川产地的杜仲在经过盐炙法、酒炙法、蜜炙法和姜炙法之后,杜仲浸膏得率明显高于湖南产地杜仲($P<0.001$),见表 1。

2.3 不同产地各类炮制杜仲的松脂醇二葡萄糖苷含量和绿原酸含量比较 四川和湖南产地杜仲松

脂醇二葡萄糖苷含量为盐炙法>酒炙法>蜜炙法>姜炙法($H=36.77, 36.75; P<0.001$)。四川产地杜仲绿原酸含量为姜炙法>蜜炙法>酒炙法>盐炙法($H=34.64; P<0.001$),湖南产地杜仲绿原酸含量为蜜炙法=酒炙法>盐炙法>姜炙法($H=29.66; P<0.001$)。四川产地的杜仲在经过盐炙法、蜜炙法和姜炙法之后,杜仲松脂醇二葡萄糖苷含量明显高于湖南产地杜仲($P<0.001$),而在经过酒炙法之后,杜仲的松脂醇二葡萄糖苷含量低于湖南产地杜仲,。四川产地的生品杜仲以及经过蜜炙法和姜炙法之后,杜仲绿原酸含量明显高于湖南产地杜仲($P<0.001$),而在经过盐炙法和酒炙法之后,杜仲的绿原酸含量低于湖南产地杜仲,见表 1。

3 讨论

本研究通过对四种炮制方法对四川和湖南产

地杜仲的有效成分的进行比较分析发现杜仲炮制过程中加入不同的辅料,即本研究中加入盐、黄酒、蜂蜜和姜汁,对杜仲的炮制品的松脂醇二葡萄糖苷含量、绿原酸含量、损耗率以及浸出物等指标均有较大的影响,这与朱星宇等^[8]采用 HPLC 法对杜仲的不同炮制品的水提液进行了指纹图谱对比研究的结果一致。炮制杜仲的松脂醇二葡萄糖苷含量变化以盐炙法炮制品含量最高,其次是酒炙法,最低是姜炙法炮制品。炮制品杜仲的绿原酸含量与生品杜仲比较发生较大的变化,耗损的绿原酸含量比较多。以上结论可以得出炮制过程中加入盐、黄酒、蜂蜜和姜汁辅料后药效成分的含量变化比较明显,不存在明显的规律,可能是由于炮制辅料的影响导致其不同的炮制品临床应用不一样,即药理作用是否符合“除寒湿酒炙,润肝肾蜜炙,补腰肾盐水炒,治酸疼姜汁炒”的论述还需进一步进行药理作用研究,这与肖娟等^[9]学者报道是一致的。本研究系统分析了不同杜仲炮制品的有效成分的含量情况,即杜仲松脂醇二葡萄糖苷含量以盐炙法为最高,而杜仲绿原酸含量因产地不同,含量高低也不同,这对进一步研究不同杜仲炮制品的药理作用提供了技术参数,同时结合本研究结果我们建议药剂部门根据临床上杜仲炮制品的用法的不同,选用不同的炮制方法,更好的为临床用药服务。

四川产地杜仲损耗率由高到低依次为盐炙法、姜炙法、酒炙法和蜜炙法;湖南产地杜仲损耗率由高到低依次为姜炙法、盐炙法、蜜炙法和酒炙法。四川产地杜仲在经过盐炙法和酒炙法之后,杜仲损耗率明显高于湖南产地杜仲,而在经过蜜炙法和姜炙法之后,杜仲的损耗率低于湖南产地杜仲。四川和湖南产地杜仲浸膏得率由高到低依次均为蜜炙法、酒炙法、盐炙法和姜炙法,且四川产地各类炮制

杜仲的浸膏得率高于湖南产地。以上结论建议药剂部门应考虑到损耗率,结合自己使用的炮制方法,采购不同产地的杜仲,使炮制杜仲更好更有效的服务于临床用药。

综上所述,中药杜仲炮制品的品质与产地和炮制方法密切相关,为中药材杜仲的临床用药安全和质量研究提供技术支持。

参考文献

- [1] 赵东霞,刘志庆,李钦. 杜仲几种不同炮制方法的比较[J]. 河南大学学报(医学版),2011,30(4):245-246.
- [2] 王娟娟,秦雪梅,高晓霞,等. 杜仲化学成分、药理活性和质量控制现状研究进展[J]. 中草药,2017,48(15):3228-3237
- [3] Koh W S J, Lee J, Lee lh, et al. Anti-inflammatory effect of Cortex Eucommiae via modulation of the toll-like receptor 4 pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages [J]. J Ethnopharmacol,2017,20(9):255-263.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:165
- [5] 夏和生. 杜仲炮制研究概述[J]. 云南中医学院学报,1992,15(3):11-13.
- [6] 陈睿. 不同炮制方法对杜仲指示性成分的影响研究[J]. 现代中医药,2018,38(6):149-151.
- [7] 孙波,彭密军. 紫外可见分光光度法测定杜仲绿原酸含量的方法研究[J]. 中国野生植物资源,1999,18(3):54-55.
- [8] 朱星宇,周燕萍,陆金兰,等. 杜仲不同炮制品的水提液指纹图谱对比研究[J]. 世界中医药,2019,14(2):274-277.
- [9] 肖娟,严瑞娟,张水寒,等. 不同炮制方式对杜仲品质的影响[J]. 现代药物与临床,2013,28(6):874-878.

(收稿日期:2019-08-19 编辑:方亚利)