

熟地黄炮制的渊源及炮制终点判断依据研究进展

邱建国

兰州军区兰州总医院药材科, 全军高原环境损伤防治重点实验室, 甘肃 兰州 730050

摘要: 通过总结地黄炮制研究现状, 对熟地黄炮制的渊源及判断炮制终点时的成分和检测方法进行综述。通过分析存在的问题, 提出了以地黄寡糖作为熟地黄炮制终点的指标成分, 并采用高效液相色谱法测定, 能较好地地区别生地黄和熟地黄, 以及可作为熟地黄质量控制的检测方法的研究思路。

关键词: 地黄; 熟地黄; 炮制; 寡糖; 梓醇

中图分类号: R283.14

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)08-1656-05

Advances in studies on processing origin and finishing point of *Rehmanniae Radix Preparata*

QIU Jian-guo

Key Laboratory of the Prevention and Cure for the Plateau Environment Damage, Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA, Lanzhou 730050, China

Key words: *Rehmanniae Radix*; *Rehmanniae Radix Preparata*; processing; oligosaccharide; catalpol

自古至今, 有关地黄炮制的资料相当丰富, 同时, 在地黄炮制的理论、方法及检测手段上也遗留了不少悬而未决的问题。地黄经过不同的炮制方法加工成熟地黄后, 其化学成分、性味、药理作用均发生相应的改变, 其性由寒转温, 其味由苦转甘, 其功效由清转补, 生地黄具有清热凉血之功, 而熟地黄则以滋阴补血, 益精填髓为主。

地黄中的药效物质基础地黄寡糖可以改善脑缺血再灌注致痴呆大鼠的学习记忆能力^[1]; 对谷氨酸诱导的神经细胞损伤具有保护作用^[2]; 能够减轻 H_2O_2 所造成的氧化应激损伤^[3]; 对糖尿病大鼠空间学习记忆能力下降具有一定的改善作用^[4]; 并且可以改善糖尿病小鼠的体质量下降, 降低糖尿病小鼠血糖、血脂水平, 对糖尿病及其并发症有一定的作用^[5]; 地黄寡糖中的水苏糖、毛蕊花糖还是优良的双歧因子, 可促进短链脂肪酸增加, 使肠道酸性化, 有抑制腐败产物生成, 抑制胆固醇上升等排毒、解毒和提高钙、镁等微量元素吸收的功效^[6]。梓醇是地黄中环烯醚萜苷类的主要组成部分, 其能够降低糖尿病模型动物的血糖^[7], 改善小鼠学习记忆能力^[8-9]。毛蕊花

糖苷是地黄中苯乙醇苷类主要化合物, 具有显著的肝脏保护活性; 可以明显抑制去甲肾上腺素引起的大鼠胸主动脉的血管收缩^[10]。但是, 这些药效物质基础在地黄炮制成熟地黄后均发生了较大的改变, 地黄寡糖中的水苏糖量减少至无, 而甘露三糖从无到有; 梓醇量也减少至无, 毛蕊花糖苷也发生了一定的改变。可见, 地黄在炮制前后无论成分还是药效均发生了较大的变化, 因此, 历代均很重视地黄的炮制。

本文通过总结地黄炮制研究现状, 对熟地黄炮制的渊源及判断炮制终点时的成分和检测方法进行综述。通过分析存在的问题, 提出了以地黄寡糖作为熟地黄炮制终点的指标成分, 并采用高效液相色谱法测定, 能较好地地区别生地黄和熟地黄, 以及可作为熟地黄质量控制的检测方法的研究思路。

1 熟地黄炮制的渊源和存在的问题

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根, 始载于《神农本草经》, 列为上品。秋季采挖, 除去芦头、须根及泥沙, 鲜用; 或将地黄缓缓烘焙至约八成干。前者习称“鲜

收稿日期: 2011-11-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30672643, 30472186, 30772773); 甘肃省自然科学基金资助项目 (3ZS051-A25-078)

*通讯作者 邱建国 Tel: (0931)8994676 E-mail: qjianguo@163.com

地黄”，后者习称“生地黄”^[1]。

熟地黄 *Rehmanniae Radix Preparata* 为取生地黄，按照《中国药典》2010年版一部附录 IID 酒炖法，炖至酒吸尽，取出，晾晒至外皮黏液稍干时，切厚片或块，干燥，即得熟地黄；或取生地黄，按照《中国药典》2010年版一部附录 IID 蒸法，蒸至黑润，取出，晒至约八成干时，切厚片或块，干燥，即得熟地黄^[1]。

最早记载地黄蒸制方法的医书是张仲景的《金匮要略》：“生地黄二斤，蒸之如斗米饭久”。可见，当时蒸制地黄已经具有现在熟地黄的雏形，只不过当时先加工成粗颗粒后再蒸，而现在是蒸后再切制成饮片。另外，最早记载酒蒸地黄的医书是南北朝刘宋所撰的《雷公炮炙论》：“采生地黄，去白皮，瓷锅上柳木甑蒸之，摊令气歇，拌酒再蒸，又出令干”。宋《普济本事方》首次记载地黄“酒酒九蒸九曝，焙干”。唐、宋时期地黄的炮制方法以清蒸和酒蒸为主流，还出现了酒浸、酒洗、炒制、制炭、醋制、姜制等炮制方法。元、明、清时期，地黄的炮制由简单的蒸制（清蒸、酒蒸）及加少数辅料共制（如醋制、姜制）发展到和许多药物共制，包括砂仁制、黄连制、乳制、童便制、红花制及蛤粉制，其中，砂仁制为《本草纲目》首次记载。

建国以来，随着现代科学技术的发展和应用，地黄的炮制方法有所改进。如蒸制地黄，传统采用常压下长时间加热的方法，既费时费工，又消耗大量能源；而现在采用加压的方法短时间蒸制，且炮制品的质量和传统工艺无显著差别。另一方面，传统炮制熟地黄采用鲜地黄或生地黄，也没有说明酒的种类（黄酒或白酒）和比例。而《中国药典》2010年版一部规定：“每 100 kg 生地黄，用黄酒 30~50 kg”^[1]。熟地黄因其炮制加工时间较长，工艺复杂，又没有操作性强的检测手段，但是其市场需求量大，市场行情看涨，所以部分药材销售商在利益的趋使下偷工减料，或是炮制时间不够，或是所加黄酒数量不足或质量较差，更有投机取巧者甚至以红糖代替黄酒，造成目前市场上熟地黄质量不合格的情况发生^[12]。

通过分析可以看出，自张仲景首载地黄蒸法以来，蒸制始终是各个时期地黄炮制的主流，而且被《中国药典》2010年版定为法定方法，这种方法的特点就是长时间蒸晒。但是，在一些细节问题上并未作详细说明，如蒸多长时间为好？常压蒸还是加压蒸？蒸后的成品以感官定性判断合格是否准确？

不同炮制方法对熟地黄的临床使用的影响？这些问题在《中国药典》2010年版均没有相应的规定，所以值得进一步研究。

2 熟地黄炮制终点判断依据研究及存在的问题

传统确定熟地黄炮制终点方法主要靠手摸、目测、品尝等感官分析，这种宽范围的感官标准给具体操作带来困难，导致熟地黄的质量参差不齐，严重影响临床疗效，且不利于炮制中药的现代化与标准化。因此，建立一个科学的、客观的评价熟地黄炮制终点的方法迫在眉睫，并成为地黄研究的热点。

温学森等^[13]考察地黄在加工炮制的 4 个不同阶段（65℃烘焙 0、1 和 6 d，以及烘干样品切片后常压蒸制 4 h）中糖类成分的变化，采用热水提取，Sugar-pak-1 型阳离子凝胶柱（柱温 80℃），水为流动相（体积流量 0.7 mL/min），示差折光检测器检测。结果显示，鲜地黄中有 3 种主要成分，分别为水苏糖（11%~15%）、蔗糖（0.30%~0.92%）和梓醇（0.27%~0.88%）；经过加工炮制，不同阶段的 HPLC 色谱图发生了显著变化。烘焙 1 d 后出现 1 个显著的单糖峰（保留时间为 10.2 min，推定为半乳糖），生地黄中该峰更加显著，同时出现了棉子糖的色谱峰。熟地黄中果糖和葡萄糖的色谱峰十分显著。研究认为在烘焙阶段，鲜地黄中水苏糖发生了脱半乳糖反应，而在炮制熟地黄时，由于蒸制又发生了脱果糖反应。李更生等^[14]采用高效液相色谱法，测定不同炮制阶段样品中梓醇、地黄苷 A 和地黄苷 D 3 种主要环烯醚萜苷类成分的量，结果表明地黄炮制过程中 3 种环烯醚萜苷类成分呈现不同程度的降低，但仍维持一定的量，尤其地黄苷 A、D 的量相对稳定，其中单糖苷易于水解，而双糖苷、三糖苷则相对稳定。王宏等^[15]利用 HPLC 法对地黄中的 3 种具有代表性的活性成分：毛蕊花糖苷（苯乙醇苷类）、梓醇（环烯醚萜苷类）、5-羟甲基糠醛（5-HMF，美拉德反应物）进行了比较，通过成分量的变化规律的研究，结果显示，毛蕊花糖苷及梓醇在鲜地黄加工过程中均被破坏，毛蕊花糖苷在地黄中的平均量依次为鲜地黄（0.243%）>生地黄（0.053 1%）>熟地黄（0.025 7%）；梓醇在地黄中的平均量依次为鲜地黄（4.07%）>生地黄（1.53%）>熟地黄（0.267%）；5-羟甲基糠醛在地黄中的平均量依次为熟地黄（0.034 0%）>生地黄（0.004 2%）>鲜地黄（未检出）。曹建军等^[16]采用 HPLC 指纹图谱技术检测生地黄炮制成熟地黄过程中主要活性成分梓醇、5-HMF、

麦角甾苷等指纹的变化,并通过与标准熟地黄指纹图谱的比较寻找最佳加工时间。结果显示,在炮制过程中梓醇快速下降至几乎消失,5-HMF呈直线上升趋势,而麦角甾苷变化不明显,生地黄在蒸制26 h后所制样品与标准熟地黄相似性最大,因此26 h是熟地黄清蒸的最佳时间。

樊克锋等^[17]利用FT-IR红外光谱法结合变温附件对梓醇热稳定性进行了考察,并利用HPLC法,检测酒制熟地黄整个炮制加工过程梓醇量的变化,通过分析指标成分的变化趋势和规律,寻求熟地黄炮制加工的最佳“炮制终点”。结果表明,酒制熟地黄炮制过程中,梓醇的量整体呈下降趋势,但不同时间段梓醇量的下降率不同。梓醇量下降的原因是其热稳定性较低,在90~100℃,其结构就发生变化。因此,生地黄产地加工焙干时,温度不能太高,以免梓醇的量下降;熟地黄炮制过程中,时间不能太短,以免“火候”不到。张西安等^[18-19]基于红外光谱-小波变换-核独立成分分析(IR-CWT-KICA)法确定地黄炮制过程的终点,在地黄炮制过程中采集样品进行IR测试,利用连续CWT对原始IR数据进行噪音滤除与背景扣除,再对混合信号进行KICA分析,提取其中能够体现纯组分光谱特征轮廓的独立组分(IC)信息,根据独立组分及其相对强度变化趋势表征地黄炮制过程,建立了地黄炮制过程的终点判断的新方法。商玉宽等^[20]基于多元曲线分辨-交替最小二乘-紫外光谱(MCR-ALS-UV)法监控地黄炮制过程,采用多元曲线分辨-交替最小二乘法分析测定的UV光谱数据,提取出3种组分的UV光谱,并计算混合体系中其相对浓度,结果表明,从混合组分中提取的UV光谱可以用来将炮制过程中混合组分简单地定性,根据这些组分相对浓度升降的变化趋势监控地黄炮制过程,确定炮制终点。贾永等^[21]对近红外漫反射光谱分析技术在熟地黄饮片质量控制中的应用进行了探讨。研究过程中与TLC、HPLC色谱指纹图谱及常规定量分析等方法的实验结果进行了比较。借助化学计量学方法和OPUS软件对熟地黄饮片进行了聚类分析,不仅生地黄和熟地黄可以明显地被区别开来,而且同样可以将由不同贮存年限生地黄、不同炮制工艺、不同炮制时间加工的熟地黄饮片分别进行了鉴别、区分,弥补了常规鉴别分析方法的不足。

李卫先等^[22-23]曾尝试用还原糖定量测定或红外光谱指纹确定熟地黄炮制终点。邱建国等^[24-26]对生

地黄和熟地黄中的地黄寡糖成分类型、定量测定、提取影响因素、产地等进行了一系列研究,发现产地不同,生地黄中的寡糖成分类型没有显著性差异,但其量变化较大;熟地黄中寡糖成分类型、量均有显著性差异,梓醇的量也不同。因此,研究认为以地黄寡糖作为指标成分,采用高效液相色谱法测定,能较好地地区分生地黄和熟地黄,以及定量地判断熟地黄的终点。

熟地黄炮制终点时的成分类型及其量究竟怎样?究竟以什么成分作为指标成分,限量范围是多少?目前所采用的以梓醇、毛蕊花糖苷、5-HMF、麦角甾苷、地黄苷A和D作为熟地黄的指标性成分,以及采用红外漫反射光谱分析技术、IR-CWT-KICA、MCR-ALS-UV等方法作为终点的判断均存在一定的缺陷。众多资料显示,地黄中梓醇、毛蕊花糖苷等成分稳定性差,在加工成熟地黄过程中这些成分降解,同时糖衍生物5-HMF大量产生^[27-30],而5-HMF对人体横纹肌及内脏有损害,具有神经毒性,能与人体蛋白质结合产生蓄积毒性^[31]。麦角甾苷、地黄苷A和D在生地黄、熟地黄中的量均较高,为其主要有效成分,具有滋阴补血的作用,其在炮制过程中比较稳定,变化不明显^[28,32-33]。在测定方法方面,双波长薄层扫描法定量检测准确度不够好,HPLC法虽然可以检测梓醇^[11]、毛蕊花糖苷^[11]及5-HMF^[28,34]等成分,但是这些成分炮制过程中降解或有不良反应,所以作为熟地黄的指标性成分并不妥当。熟地黄在《中国药典》2005年版只有性状鉴别和5-HMF的TLC法鉴别;在2010年版将5-HMF的TLC法鉴别修订为毛蕊花糖苷的TLC法鉴别,并且增加了HPLC法测定毛蕊花糖苷的量;同时,在生地黄中也增加了毛蕊花糖苷的定量检测,且含量限度和熟地黄规定一样,即“按干燥品计算,含毛蕊花糖苷($C_{29}H_{36}O_{15}$)不得少于0.020%”。而根据王宏等^[5]的研究结果,毛蕊花糖苷在熟地黄中的量很少,所以以毛蕊花糖苷作为熟地黄的标志性化合物及质量标准的定量指标不太理想。目前最新报道,采用近红外漫反射光谱分析技术、IR-CWT-KICA法、MCR-ALS-UV法作为熟地黄炮制终点判断的新途径,但是只能作为定性判断,不能作为定量检测,且这些方法的结论都局限于实验室理论研究,脱离了工业化生产。

笔者根据对地黄的成分、药效学、定量测定、提取影响因素等系列研究^[24-26]认为以地黄寡糖作为

指标成分,采用高效液相色谱法测定,能较好地地区分生地黄和熟地黄,以及定量地判断熟地黄的终点。

3 结语

地黄炮制是中药炮制的典型,中药炮制具有“不及则功效难求,过之则性味反失”的说法,由此可见熟地黄加工过程终点控制十分关键,既要保证生地黄充分熟化,又要使加工时间最短以减少不良反应、节约能源。因此,究竟以什么成分作为检测指标,以什么仪器作为检测手段,以什么方法检测可以达到科学性且大众化,熟地黄化学成分的特性使之变得困难,但是熟地黄临床上的广泛应用使之变得至关重要。本文通过分析,认为以地黄寡糖作为指标成分,采用高效液相色谱法测定,能较好地地区分生地黄和熟地黄,以及定量地判断熟地黄的终点。

参考文献

- [1] 杨菁,石海燕,李莹,等.地黄寡糖对脑缺血再灌注所致痴呆大鼠学习记忆功能的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,2008,22(3):165-169.
- [2] 史佳琳,杨菁,徐新利.地黄寡糖对谷氨酸诱导海马神经元损伤的影响[J].中国药理学通报,2009,25(3):421-425.
- [3] 樊森,杨菁,白剑,等.地黄寡糖及其主要成分对大鼠脑片氧化应激损伤保护作用研究[J].中药药理与临床,2009,25(5):64-67.
- [4] 于涛,宋扬,杨菁,等.地黄寡糖对糖尿病大鼠空间学习记忆的影响[J].中国医学工程,2011,19(1):5-8.
- [5] 国辉,张懿,谭壮生.地黄寡糖对实验性高血糖小鼠糖脂代谢的影响[J].毒理学杂志,2011,25(2):117-119.
- [6] 王红梅,张鹏,赵超英,等.水苏糖干粉对大鼠的亚慢性试验[J].首都公共卫生,2011,5(11):37-38.
- [7] 赵素容,卢究伟,袁丽珍,等.地黄梓醇降糖作用的实验研究[J].时珍国医国药,2009,20(1):171-172.
- [8] 王金红,孙启祥,夏宗勤,等.地黄活性成分梓醇对转基因CHO细胞M2受体的调节作用[J].中国药理学通报,2006,22(12):1462-1466.
- [9] Wang J, Liu Q, Zhang R, et al. Catalpol ameliorates beta amyloid-induced degeneration of cholinergic neurons by elevating brain-derived neurotrophic factors[J]. *Neuroscience*, 2009, 163(4): 1363-1372.
- [10] 宋光西,马玲云,魏锋,等.苯乙醇苷的分布及药理活性研究进展[J].亚太传统医药,2011,7(4):169-171.
- [11] 中国药典[S].一部.2010.
- [12] 邓寒霜,王新军.熟地黄加工炮制方法研究[J].商洛师范专科学校学报,2005,19(3):116-118.
- [13] 温学森,杨世林,马小军,等.地黄在炮制过程中HPLC谱图的变化[J].中草药,2004,35(2):153-155.
- [14] 李更生,刘明,王慧森,等.地黄药材炮制过程中环烯醚萜苷类成分动态变化的研究[J].中国中医药科技,2008,15(6):440-442.
- [15] 王宏,金亚红,李鹏跃,等.鲜、生、熟地黄药材中3种活性成分含量的比较[J].中国中药杂志,2008,33(15):1923-1925.
- [16] 曹建军,梁宗锁,杨东风,等.应用HPLC指纹图谱技术确定熟地黄炮制终点[J].中国中药杂志,2010,35(19):2556-2560.
- [17] 樊克锋,汤法银,孙素琴,等.酒制熟地黄炮制过程中梓醇的变化趋势及变化机理[J].中国兽药杂志,2007,41(10):22-24.
- [18] 张西安,董春红,孙晓丽,等.基于红外光谱-小波变换-核独立成分分析的地黄炮制过程终点确定[J].河南师范大学学报:自然科学版,2009,37(3):179.
- [19] Wang G Q, Dong C H, Shang Y K, et al. Characterization of *Radix Rehmanniae* processing procedure using FT-IR spectroscopy through nonnegative independent component analysis[J]. *Anal Biochem*, 2009, 394(3): 827-832.
- [20] 商玉宽,董春红,孙雨安,等.基于多元曲线分辨-交替最小二乘-紫外光谱监控地黄炮制过程[J].计算机与应用化学,2009,26(3):272.
- [21] 贾永.近红外光谱技术在熟地黄饮片质量控制中的应用研究[D].郑州:河南中医学院,2008.
- [22] 李卫先.用不同方法炮制的熟地黄还原糖含量的比较[J].中医药导报,2008,14(11):79-80.
- [23] Yu L, Sun S Q, Fan K F, et al. Research on processing medicinal herbs with mult steps in frared macro fingerprint method[J]. *Spectrochim Acta A*, 2005, 62(1/3): 22-23.
- [24] 邱建国,贾正平,张汝学,等.生地与熟地中糖类和梓醇的比较研究[J].中草药,2010,41(7):1117-1119.
- [25] 邱建国,张汝学,贾正平,等.HPLC法测定地黄及含地黄成药中寡糖[J].中草药,2010,41(12):585-587.
- [26] 邱建国,张汝学,贾正平,等.地黄不同炮制阶段寡糖和梓醇的变化研究[J].中草药,2011,42(12):2434-2437.
- [27] 杨雨.地黄炮制品成分分析的研究进展[J].药物分析杂志,2010,30(7):1332-1335.
- [28] 蔡瑞利,刘高胜,龚千锋.地黄炮制的历史沿革及现代

- 研究 [J]. 江西中医学院学报, 2006, 18(3): 41-43.
- [29] 刘 方, 余绍玲. 地黄不同炮制品中梓醇含量比较 [J]. 中国药房, 2003, 14(6): 378-380.
- [30] 罗燕燕, 张绍青, 索建政, 等. 高效液相色谱法测定地黄中梓醇的含量 [J]. 中国药学杂志, 1994, 29(1): 38-40.
- [31] 赵新峰, 孙毓庆. 毛细管区带电泳法测定地黄中梓醇的含量 [J]. 药物分析杂志, 2002, 22(6): 471-473.
- [32] 李更生, 刘 明, 王惠森, 等. 生地黄与熟地黄中地黄苷 A、D 的比较分析 [J]. 中成药, 2008, 30(1): 93-95.
- [33] 边宝林, 王宏洁, 倪慕云. 地黄及其炮制品中总糖及几种主要糖的含量测定 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(8): 469-470.
- [34] 朱梅芬, 刘向前, 吴柱熹, 等. 地黄的炮制对梓醇和 5-羟甲基糠醛含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(12): 1155-1157.

《中草药》杂志最新佳绩

《中草药》杂志 2011 年荣获**第二届中国出版政府奖**, 中国出版政府奖是国家新闻出版行业的最高奖, 第二届中国出版政府奖首次设立期刊奖, 《中草药》等 10 种科技期刊获此殊荣。2011 年 3 月 18 日于北京举行了盛大的颁奖典礼。

《中国科技期刊引证报告》2011 年 12 月 2 日发布: 《中草药》杂志 2010 年总被引频次 6 178, 名列我国科技期刊第 14 名, 中医学与中药类期刊**第 1 名**; **影响因子 0.904**, 基金论文比 0.680, 权威因子 2 269.200; 综合评价总分 76.6, 位列中医学与中药学类期刊第 1 名。连续 7 年 (2005—2011 年) 荣获“百种中国杰出版学术刊”, 再次荣获“中国精品科技期刊” (2008 年首次设立, 每 3 年一届), 荣获天津市第十届优秀期刊评选特别奖。

中国知网 (CNKI) 《中国学术期刊影响因子年报》2011 年 12 月 22 日发布: 《中草药》杂志总被引频次 16 359, 影响因子 1.453, 位列中医学与中药学期刊第 1 名, 基金论文比 0.74, WEB 下载量 39.1 万次。

注册商标“**中草药**”2011 年被评为天津市著名商标。