

不同炮制工艺对乳香中5种乳香酸类成分的影响

夏磊^{1,2}, 宋志前², 李青², 曾林燕², 魏征^{1,2}, 曹玉娜^{1,2}, 刘振丽^{2*}

1. 天津中医药大学中药学院, 天津 300193

2. 中国中医科学院 中医基础理论研究所, 北京 100700

摘要: 目的 以5种乳香酸类成分(α -乳香酸、 β -乳香酸、3-乙酰- β -乳香酸、11-羰基- β -乳香酸、11-羰基- β -乙酰乳香酸)的质量分数为指标, 探讨不同炮制工艺对乳香中5种乳香酸类成分的影响。方法 采用HPLC法测定, 比较了炮制方法、炮制温度和炮制时间对5种乳香酸类成分的影响。结果 先加醋制、后加醋制和清炒3种方法比较, 5种乳香酸类成分的变化没有明显差异; 随炮制温度的升高或炮制时间的延长, 5种乳香酸类成分变化幅度增大; 炮制后, 乳香中 α -乳香酸、11-羰基- β -乳香酸和11-羰基- β -乙酰乳香酸的质量分数升高, β -乳香酸和3-乙酰- β -乳香酸的质量分数降低; 3批不同来源乳香炮制后5种乳香酸类成分的变化趋势一致, 但变化幅度不同。结论 乳香中5种乳香酸类成分随炮制工艺条件的变化而变化。

关键词: 乳香; 炮制; α -乳香酸; β -乳香酸; 3-乙酰- β -乳香酸; 11-羰基- β -乳香酸; 11-羰基- β -乙酰乳香酸

中图分类号: R283.1; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)06-1087-05

Influence of various processing technologies on five kinds of boswellic acids in *Olibanum*

XIA Lei^{1,2}, SONG Zhi-qian², LI Qing², ZENG Lin-yan², WEI Zheng^{1,2}, CAO Yu-na^{1,2}, LIU Zhen-li²

1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Institute of Basic Theory, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: **Objective** To evaluate the influence of different processing technologies on contents of five kinds of boswellic acids, α -boswellic acid, β -boswellic acid, 3-acetyl- β -boswellic acid, 11-keto- β -boswellic acid, and 11-keto- β -acetyl-boswellic acid, in *Olibanum*. **Methods** HPLC analysis was performed to determine the content of boswellic acids. Influences of processing methods, temperature, and time on five kinds of boswellic acids were compared. **Results** The contents of the five kinds of boswellic acids were almost the same in *Olibanum* processed by three different methods, adding vinegar before and after processing and simple stir-frying. The contents of five kinds of boswellic acids changed greatly with higher processing temperature and longer time. After being processed, the contents of α -boswellic acid, 11-keto- β -boswellic acid, and 11-keto- β -acetyl-boswellic acid increased, while those of β -boswellic acid and 3-acetyl- β -boswellic acid decreased. The content change trend of these five kinds of boswellic acids in three batches of *Olibanum* was the same but with different variations. **Conclusion** Contents of five kinds of boswellic acids in *Olibanum* varies with processing technology conditions.

Key words: *Olibanum*; processing; α -boswellic acid; β -boswellic acid; 3-acetyl- β -boswellic acid; 11-keto- β -boswellic acid; 11-keto- β -acetyl-boswellic acid

乳香为橄榄科植物乳香树 *Boswellia carterii* Birdw. 及同属植物鲍达乳香树 *Boswellia bhaw-dajiana* Birdw. 树皮渗出的树脂, 具有活血定痛, 消肿生肌的功效^[1]。乳香的现代炮制方法主要有3种, 《中国药典》2010年版采用先加醋制^[1], 《全国中药炮制规范》采用后加醋制和清炒^[2]。全国各地规范也大多采用这3种炮制方法^[3-4]。乳香的主要成分

包括挥发油、树脂、树胶等^[5]。目前仅见对其挥发油成分在炮制后的变化进行报道^[6-7]。乳香酸类为乳香中主要功效成分, 多种乳香酸类单体化合物如 α -乳香酸具有生物活性^[8-9], 而此类成分在炮制后的变化未见报道。

本实验研究了不同炮制方法对乳香中乳香酸类成分的影响, 考察其质量分数随炮制温度和炮制时

收稿日期: 2011-11-04

基金项目: 国家重大科技专项课题 (2009ZX09103-314)

作者简介: 夏磊 (1986—), 男, 内蒙古呼伦贝尔人, 硕士研究生, 从事中药分析。E-mail: xialei1986527@163.com

*通讯作者 刘振丽 Tel: (010)64014411-2503 E-mail: zhenli_liu@sina.com.cn

网络出版时间: 2012-05-16 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120516.1425.006.html>

间的变化,并且对不同批次乳香中乳香酸类成分在同一炮制条件下的变化进行了研究,为控制药材质量提供依据。

1 仪器与材料

Agilent HP1100 高效液相色谱仪,包括 G1379A 脱气机、G1311A 四元泵、G1316A 恒温箱、G1313A 自动进样器、G1315B DAD 检测器、HP 化学工作站(美国 Agilent 公司);TCQ—250 超声波清洗器(北京医疗设备二厂);Sartorius CP 225D 电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司);DHG—9140A 电热恒温鼓风干燥箱(上海大恒科技有限公司);A1—F2112E 爱仕达电磁炉(浙江爱仕达电器股份有限公司)。

所收集的 3 批乳香样品分别购自北京崇光药业有限公司(批号 0808185)、北京仟草中药饮片有限公司(批号 090227005)和北京燕京中药饮片厂(批号 0902115),经北京中医药大学刘春生教授鉴定均为橄榄科植物乳香树 *Boswellia carterii* Birdw. 或同属植物 *Boswellia bhaw-dijiana* Birdw. 树皮渗出的树脂。GC-MS 分析结果显示,3 批乳香样品挥发油中的主要成分为乙酸辛酯,鉴定其均为埃塞俄比亚乳香^[1]。制乳香为实验室按照《中国药典》2010 年版和《全国中药炮制规范》自制。 α -乳香酸(批号 00002550-T9K)、 β -乳香酸(批号 00002555-T9A)、3-乙酰- β -乳香酸(批号 00002565-T9E)和 11-羧基- β -乳香酸(批号 00002575-T8K)对照品购于 Chromadex (Irvine, 美国),质量分数均 $\geq 99.8\%$ 。11-羧基- β -乙酰乳香酸(批号 111710-200601)购于中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司);磷酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 乳香的炮制

2.1.1 先加醋制 取净乳香,加醋拌匀,闷透,至炒制容器内,用文火炒制规定程度时,取出放凉。乳香每 100 kg 用米醋 5 kg^[1]。

2.1.2 后加醋制 取净乳香置锅内,用文火加热,炒至冒烟,表面微熔,喷淋米醋,再炒至表面显油亮光泽,取出放凉。乳香每 100 kg 用米醋 5 kg^[2]。

2.1.3 清炒 取净乳香置锅内,用文火加热,炒至冒烟,表面黑褐色显油亮光泽,取出放凉^[2]。

2.2 乳香酸类成分的测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent SB-C₁₈ 柱(150

mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),流动相为 0.1%磷酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱程序:0~7 min, 70% B; 7~15 min, 80% B; 15~20 min, 85% B; 20~25 min, 90% B; 25~35 min, 100% B; 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 210、250 nm,柱温 30 $^{\circ}$ C。在此色谱条件下样品中 5 种乳香酸类成分均能达到基线分离。结果见图 1。

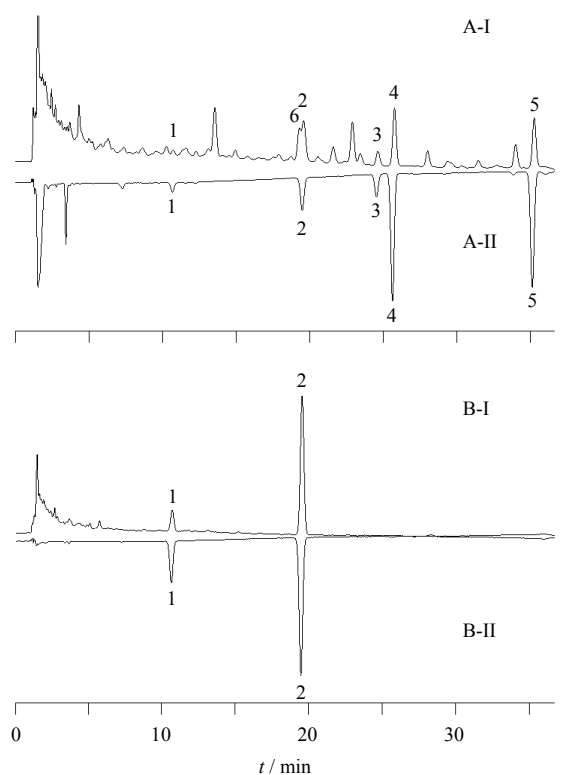


图 1 乳香供试品 (I) 和混合对照品 (II) 在 210 nm (A) 和 250 nm (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Olibabum* (I) and mixed reference substances (II) at 210 (A) and 250 nm (B)

2.2.2 对照品溶液的制备和线性关系考察 分别取 α -乳香酸、 β -乳香酸、3-乙酰- β -乳香酸、11-羧基- β -乳香酸、11-羧基- β -乙酰乳香酸对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并制成质量浓度分别为 0.089、0.288、0.242、0.074、0.302 mg/mL 对照品溶液,低温、避光保存。

分别精密吸取 α -乳香酸、11-羧基- β -乳香酸和

11-羧基-β-乙酰乳香酸对照品溶液 1、2、3、4、5 μL, β-乳香酸和 3-乙酰-β-乳香酸对照品溶液 2、4、8、16、24 μL 注入液相色谱仪, 以测得的峰面积积分为纵坐标, 进样量为横坐标进行线性回归, 得回归方程分别为: α-乳香酸 $Y=536.5 X-7.07$, $r=0.999 8$; β-乳香酸 $Y=323.4 X+0.984$, $r=0.999 9$; 3-乙酰-β-乳香酸 $Y=377.8 X-5.05$, $r=0.999 8$; 11-羧基-β-乳香酸 $Y=1 047 X+17.9$, $r=0.999 9$; 11-羧基-β-乙酰乳香酸 $Y=1 216 X-0.400$, $r=0.999 8$; 表明 α-乳香酸在 0.089~0.445 μg、β-乳香酸在 0.576~6.912 μg、3-乙酰-β-乳香酸在 0.484~5.808 μg、11-羧基-β-乳香酸在 0.074~0.370 μg、11-羧基-β-乙酰乳香酸在 0.302~1.510 μg 线性关系良好。

2.2.3 供试品溶液的制备 取乳香和制乳香粉末各 0.1 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入丙酮 25 mL, 称定质量, 超声处理 20 min, 放冷, 再称定质量, 用丙酮补足减失的质量, 摇匀。精密吸取上清液 10 mL, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 并定容于 5 mL 量瓶中, 摇匀, 0.45 μm 膜滤过, 即得。

2.2.4 精密度试验 精密吸取北京仟草乳香供试品溶液重复进样 6 次, α-乳香酸、β-乳香酸、3-乙酰-β-乳香酸、11-羧基-β-乳香酸、11-羧基-β-乙酰乳香酸峰面积积分值的 RSD 分别为 1.3%、1.1%、0.88%、0.51%、0.45%。

2.2.5 稳定性试验 取北京仟草乳香供试品溶液, 分别在制备后 0、2、4、6、8、24 h 进样测定 1 次, α-乳香酸、β-乳香酸、3-乙酰-β-乳香酸、11-羧基-β-

乳香酸、11-羧基-β-乙酰乳香酸峰面积积分值的 RSD 分别为 1.4%、0.88%、0.75%、0.95%、0.84%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.6 重复性试验 取北京仟草乳香样品粉末 6 份, 按供试品溶液制备方法处理, 进样测定。α-乳香酸、β-乳香酸、3-乙酰-β-乳香酸、11-羧基-β-乳香酸、11-羧基-β-乙酰乳香酸质量分数的 RSD 分别为 2.4%、1.1%、0.84%、2.5%、1.1%。

2.2.7 加样回收率试验 取北京仟草乳香样品粉末 0.05 g, 共 6 份, 精密称定, 分别精密加入 5 种乳香酸对照品, 按供试品溶液处理, 进样测定, 计算得 α-乳香酸、β-乳香酸、3-乙酰-β-乳香酸、11-羧基-β-乳香酸、11-羧基-β-乙酰乳香酸的平均回收率分别为 95.7%、101.2%、99.7%、104.3%、100.1%, RSD 分别为 2.4%、1.5%、2.9%、0.53%、1.4%。

2.3 不同炮制方法对乳香酸类成分的影响

取同一来源乳香(北京仟草) 100 g, 分别采用先加醋制、后加醋制、清炒 3 种炮制方法制备各炮制品, 炮制温度 100 °C、炮制时间 4 min, 每种炮制方法平行 3 份。依法测定, 计算平均值。3 种炮制方法之间采用 *t* 检验计算差异显著性。结果见表 1。结果显示, 乳香采用先加醋制、后加醋制和清炒后, 乳香酸的量变化趋势相同。不同炮制方法之间同种乳香酸的量无显著差异。炮制后 5 种乳香酸类成分的变化趋势为 α-乳香酸、11-羧基-β-乳香酸和 11-羧基-β-乙酰乳香酸的量升高, 而 β-乳香酸和 3-乙酰-β-乳香酸的量降低。

表 1 不同方法炮制后 5 种乳香酸类成分的质量分数 ($n=3$)

Table 1 Contents of five kinds of boswellic acids processed by different methods ($n=3$)

炮制方法	质量分数 / (mg·g ⁻¹)				
	α-乳香酸	β-乳香酸	3-乙酰-β-乳香酸	11-羧基-β-乳香酸	11-羧基-β-乙酰乳香酸
生品	21.50	386.44	214.15	6.67	47.70
先加醋炒	21.67	362.56	205.64	7.09	50.70
清炒	22.25	357.93	190.34	7.87	53.98
后加醋炒	21.70	349.15	189.80	7.67	47.99

2.4 不同炮制温度和时间对乳香酸类成分的影响

取同一来源乳香生品(北京仟草) 100 g, 采用先加醋制的方法炮制, 考察不同温度 and 不同时间炮制条件下 5 种乳香酸类成分的变化, 每种炮制条件平行 3 份。依法测定, 计算各成分的质量分数和变化率。结果见表 2。在同一炮制温度下, 随着炮制时间的延长, α-乳香酸、11-羧基-β-乳香酸和 11-羧

基-β-乙酰乳香酸的量升高, 而 β-乳香酸和 3-乙酰-β-乳香酸的量降低, 并且 5 种成分的量变化幅度增大; 相同炮制时间 (3、5 min), 随炮制温度的升高, 5 种成分的量变化幅度也增大。

变化率=(制品量-生品量)/生品量

2.5 不同批次乳香中乳香酸质量分数的变化

取 3 个不同来源乳香生品各 100 g, 采用先加醋

制的方法,在相同温度和时间条件下炮制,每种炮制条件平行 3 份。依法测定,计算各成分的质量分数和变化率,结果见表 3。结果显示,3 个批次乳香采用先加醋制后,5 种乳香酸类成分的量变化趋势

相同,但变化幅度不同。来源于北京崇光的乳香中 5 种乳香酸类成分在炮制前后质量分数差别比较大,而北京仟草中 5 种乳香酸类成分在炮制前后质量分数差别比较小,这可能与它们的内在成分不同有关。

表 2 先加醋炒制不同温度 and 不同时间乳香酸类成分质量分数变化 ($n=3$)

Table 2 Contents of boswellic acids processed after adding vinegar under different temperature and time ($n=3$)

处理条件	α -乳香酸		β -乳香酸		3-乙酰- β -乳香酸		11-羧基- β -乳香酸		11-羧基- β -乙酰乳香酸	
	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %
不处理 (生品)	21.50	—	386.44	—	214.15	—	6.68	—	47.70	—
120 °C 2 min	21.90	1.9	361.54	-6.4	204.58	-4.5	7.07	5.8	50.20	5.2
3 min	22.24	3.4	347.27	-10.1	191.99	-10.3	7.37	10.3	51.84	8.7
5 min	22.54	4.8	332.09	-14.1	190.98	-10.8	7.40	10.8	53.65	12.5
100 °C 3 min	21.60	0.5	371.83	-3.8	208.04	-2.9	6.91	3.4	48.85	2.4
4 min	21.67	0.8	362.56	-6.2	205.64	-4.0	7.09	6.1	50.70	6.3
5 min	22.26	3.5	349.63	-9.5	189.15	-11.7	7.35	10.0	52.04	9.1
6 min	22.17	3.1	341.87	-11.5	185.62	-13.3	7.41	10.9	50.70	6.3
7 min	22.33	3.9	341.44	-11.6	185.80	-13.2	7.35	10.0	52.02	9.1
8 min	22.27	3.6	339.88	-12.0	183.83	-14.2	7.74	15.9	55.39	16.1
80 °C 10 min	21.57	0.3	369.33	-4.4	209.05	-2.4	7.09	6.1	48.37	1.4
15 min	21.80	1.4	362.77	-6.1	203.05	-5.2	7.11	6.4	49.61	4.0
20 min	21.98	2.2	346.22	-10.4	189.63	-11.4	7.31	9.4	53.01	11.1
25 min	22.64	5.3	342.43	-11.4	188.99	-11.7	7.25	8.5	52.85	10.8
30 min	22.67	5.4	338.72	-12.3	183.68	-14.2	7.37	10.3	52.01	9.0

表 3 不同来源乳香炮制前后 5 种乳香酸类成分的质量分数 ($n=3$)

Table 3 Contents of five kinds of boswellic acids in *Olibanum* from different sources before and after processes ($n=3$)

来源	处理条件	α -乳香酸		β -乳香酸		3-乙酰- β -乳香酸		11-羧基- β -乳香酸		11-羧基- β -乙酰乳香酸	
		质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %	质量分数 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	变化 率 / %
仟草	生品	21.50	—	386.44	—	214.15	—	6.67	—	47.70	—
	100 °C 4 min	21.67	0.8	362.56	-6.2	205.64	-4.0	7.09	6.1	50.70	6.3
	5 min	22.26	3.5	349.63	-9.5	189.15	-11.7	7.35	10.0	52.04	9.1
崇光	生品	18.34	—	315.55	—	431.50	—	7.07	—	50.90	—
	100 °C 4 min	21.27	16.0	302.07	-4.3	371.98	-13.8	7.57	7.1	52.99	4.1
	5 min	22.04	20.2	293.83	-6.9	355.45	-17.6	7.84	10.9	55.39	8.8
燕京	生品	12.58	—	119.72	—	120.96	—	8.03	—	42.57	—
	100 °C 4 min	13.35	6.1	116.60	-2.6	81.10	-33.0	9.63	19.9	47.08	10.6
	5 min	13.55	7.7	116.41	-2.8	71.38	-41.0	10.91	35.9	51.19	20.2

3 讨论

乳香炮制是以“文火炒至表面显油亮光泽”为参考标准^[2]。本实验选择炮制温度为 80、100、120 °C。预试验结果显示,80 °C 炒制 20 min,100 °C

炒 4 min,120 °C 炒 3 min,与北京市售制乳香的外观色泽大致相近,南方市售制乳香的颜色多较深。

本研究考察了 3 种炮制方法对乳香中 5 种乳香酸类成分的影响。乳香采用先加醋制的方法炮制时,

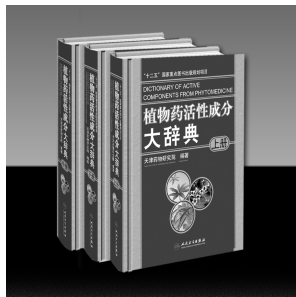
在清炒过程中容易结块,不容易翻炒。因《中国药典》2010年版采用先加醋的方法,本实验乳香均采用先加醋制的方法。研究表明,乳香中5种乳香酸类成分随炮制工艺条件的变化而变化,应规范其炮制工艺。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988.
- [3] 浙江省食品药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2005.
- [4] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区中药饮片炮制规范 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2007.
- [5] 王 勇, 潘国梁, 陈 彦, 等. 4 种方法提取乳香化学成分及其 GC-MS 研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(14): 1054-1056.
- [6] 蒋孟良, 蒋晓煌, 周孟辉. 不同炮制方法对乳香挥发油等影响的研究 [A]. 中华中医药学会. 2010 中药炮制技术、学术交流暨产业发展高峰论坛论文集 [C]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [7] 孙亦群, 魏 刚, 周莉玲. 乳香、没药炮制前后挥发油化学成分及含量变化 [J]. 中药材, 2001, 24(8): 566-567.
- [8] 常允平, 韩英梅, 张俊艳. 乳香的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(1): 52-59.
- [9] 张 勇, 齐振华. α -乳香酸对 HL-60 细胞株 VEGF 分泌及其 Flt-1 受体表达的影响 [J]. 医学临床研究, 2009, 26(2): 202-205.

“十二五”国家重点图书出版规划项目

《植物药活性成分大辞典》(上、中、下册)



植物中的活性成分是植物药发挥疗效的物质基础,植物活性成分研究是阐释植物药的生物活性、临床疗效和毒性的必要手段,也是新药发现和创制的可行途径,更是中药药效物质基础研究、质量控制以及配伍合理性及作用规律研究的前提和基础。近些年来,随着国际上植物化学以及天然药物化学学科的迅速发展,大量的植物活性成分被研究和报道,形成大量、丰富的植物活性成分研究的信息源。但是,这些资料作为原始文献散在于成千上万的中外学术期刊上,不能满足读者对植物活性成分的系统了解、方便查阅和迅速掌握的需要。

天津药物研究院在国家科技部和原国家医药管理局新药管理办公室支持下,在建立“植物活性成分数据库”的基础上,组织科研人员经过几年的艰苦努力编纂了大型工具书《植物药活性成分大辞典》。本套书分上、中、下共三册,共收载植物活性成分 8 719 个,共约 700 万字。正文中每个活性成分包含英文正名、中文正名、异名(异名之间用分号隔开)、化学名、结构式、分子式和分子量、理化性状(晶型、熔点、溶解性、旋光、紫外、红外、质谱、氢谱和碳谱)、植物来源、生物活性等项内容。并于下册正文后附有三种索引——植物药活性成分中文名、植物药活性成分英文名和植物拉丁名索引。全书涵盖大量国内外专业期刊的翔实数据,内容丰富、信息量大,具有反映和体现信息趋时、简便实用的特色;作者在注重数据科学性、系统性的同时,着眼于全球药物研发前沿需求与我国市场实际应用的结合,为新药研究人员选题、立项、准确评价成果提供快速、简便、有效的检索途径,为植物药的开发生、利用提供疗效优异、结构独特的活性分子或先导化合物。

本套书的出版必将为我国“十二五”医药事业发展和天然药物产业发展提供翔实而可靠的科学数据和技术支撑,为促进植物药资源的利用,重大创新药物的研究以及促进特色产业的可持续发展提供趋时的数据资源和检索途径。

该书已批准列入“十二五”国家重点图书出版规划项目,于 2011 年 11 月由人民卫生出版社出版发行,大 16 开精装本,每套定价 588 元。