

HPLC 指纹图谱研究五倍子发酵百药煎化学成分变化

王瑞生, 史莲莲, 张振凌*, 李柯柯

河南中医药大学, 河南 郑州 450008

摘要:目的 建立百药煎 HPLC 指纹图谱, 比较五倍子发酵百药煎化学成分变化, 为百药煎的质量评价提供方法。方法 采用反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 法, Waters Symmetry Shield™ RP₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) C₁₈ 色谱柱, 乙腈-0.1% 三氟乙酸水溶液梯度洗脱, 体积流量 0.8 mL/min, 检测波长 280 nm, “Chromap Chromafinger 2005 beta 0.1” 色谱软件生成百药煎标准指纹图谱, 对 10 批不同批次的百药煎化学成分指纹图谱进行相似度计算, 并且通过对照品比对及高效液相色谱与质谱联用技术 (HPLC-MS) 对主要共有峰进行指认。结果 10 批百药煎指纹图谱中有 10 个共有峰, HPLC 指纹图谱各峰分离度良好, 各批次间共有峰的相对保留时间 RSD 均<1.0%, 样品间相似度均>0.9, 共指认出 7 个共有峰, 即没食子酸 (1 号峰)、表没食子儿茶素 (2 号峰)、没食子酸甲酯 (3 号峰)、没食子酸乙酯 (5 号峰)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (6 号峰)、2,4,6-三-*O*-没食子酰- α -*D*-葡萄糖 (7 号峰)、2,4,6-三-*O*-没食子酰- β -*D*-葡萄糖 (9 号峰); 五倍子发酵百药煎后没食子酸、2,4,6-三-*O*-没食子酰- α -*D*-葡萄糖的量升高, 没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、表没食子儿茶素没食子酸酯的量明显降低; 表没食子儿茶素、2,4,6-三-*O*-没食子酰- β -*D*-葡萄糖为新生成成分。结论 百药煎炮制作用机制与发酵过程使五倍子化学成分发生变化和产生新的化学成分有关。指纹图谱法可用于监控百药煎发酵炮制的质量控制。

关键词: 百药煎; HPLC-MS; 指纹图谱; 五倍子; 发酵; 炮制机制; 质量评价; 相似度; 没食子酸; 表没食子儿茶素; 没食子酸甲酯; 没食子酸乙酯; 表没食子儿茶素没食子酸酯; 2,4,6-三-*O*-没食子酰- α -*D*-葡萄糖; 2,4,6-三-*O*-没食子酰- β -*D*-葡萄糖
中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)18-3734-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.18.011

Comparison on chemical constituent changes of gallnut fermented Chinese gall leaven by HPLC fingerprint

WANG Rui-sheng, SHI Lian-lian, ZHANG Zhen-ling, LI Ke-ke

Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China

Abstract: **Objective** To study and establish the HPLC fingerprint standard for the quality analysis and compare effects on the chemical composition of gallnut by ferment of Chinese gall leaven. **Methods** The fingerprint of Chinese gall leaven was built by Waters Symmetry Shield™ RP₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) C₁₈ column, and acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid aqueous in gradient as mobile phase, the flow rate was 0.8 mL/min, and the detecting wavelength was set at 280 nm. The chemical fingerprint similarity of 10 batches of Chinese gall leaven was calculated with the Chromap Chromafinger 2005 beta 0.1 standard substance comparison and HPLC-MS were adopted to identify the common peaks. **Results** The fingerprint chromatography for the 10 batches of Chinese gall leaven included 10 common peaks, with a good separation at each peak. The relative retention time for common peaks of each batch was less than 1.0%, and the similarities among 10 samples were greater than 0.90. Gallic acid (peak 1), (–)-epigallocatechin (EGC, peak 2), methyl gallate (peak 3), ethyl gallate (peak 5), epigallocatechin gallate (EGCG, peak 6), 2,4,6-tri-*O*-galloyl- β -*D*-glucose (peak 7), and 2,4,6-tri-*O*-galloyl- α -*D*-glucose (peak 9) were identified. The gallnut fermented made the content of gallic acid and 2,4,6-tri-*O*-galloyl- α -*D*-glucose increased and the contents of methyl gallate, ethyl gallate, and (–)-epigallocatechin gallate decreased. It was found that (–)-epigallocatechin and 2,4,6-tri-*O*-galloyl- β -*D*-glucose had formed in the process for the first time. **Conclusion** The processing mechanism of Chinese gall leaven is related to gallnut fermentation process

收稿日期: 2017-04-24

基金项目: 公益性行业专项: 六神曲等 7 种中药发酵技术及规范化应用研究——百药煎 (201507004-03)

作者简介: 王瑞生 (1990—), 男, 在读博士, 研究方向为中药饮片炮制质量及作用机制研究。Tel: 15286803079 E-mail: wrsh900226@163.com

*通信作者 张振凌 (1957—), 女, 博士生导师, 研究方向为中药饮片炮制质量及作用机制研究。

Tel: (0371)65680970 E-mail: zhangzl6758@163.com

change and create new chemical composition and fingerprint can be used to monitor the quality of fermentation processing of Chinese gall leaven.

Key words: Chinese gall leaven; HPLC-MS; fingerprint; gallnut; fermentation; processing mechanism; quality evaluation; similarity; gallic acid; (-)-epigallocatechin; methyl gallate; ethyl gallate; epigallocatechin gallate; 2,4,6-tri-*O*-galloyl- β -*D*-glucose; 2,4,6-tri-*O*-galloyl- α -*D*-glucose

百药煎始载于《丹溪心法》^[1]；百药煎由五倍子发酵而成，其制备方法为取净五倍子，粉碎过筛；取茶叶，分次加水煎煮，滤过，合并滤液。将五倍子粉末与相应量的酒曲混匀，加茶渣和适量茶汁制成软材，置于恒温恒湿箱中发酵，待遍布“白毛”时，取出，切成小方块，低温干燥。目前，关于百药煎质量控制多以外观形状及没食子酸和鞣花酸量为指标^[2]，而对百药煎中其他化学成分研究的文献较少，也未见有关百药煎 HPLC 指纹图谱的研究报道。指纹图谱技术作为一种多组分复杂样品的有效质量控制方法，能够反映出待测样品的整体性、特征性，已被广泛用于中药及其各种制剂的质量控制^[3-8]。本实验参照《中国药典》2015 年版^[9]及相关文献报道^[10-16]，采用 HPLC 以及高效液相色谱-质谱联用技术（HPLC-MS），研究化学成分量的变化以及鉴定新生成化学成分的结构，建立中药百药煎的 HPLC 指纹图谱，并与五倍子药材进行对比，以期探讨五倍子发酵百药煎炮制作用机制，为建立百药煎质量控制方法及其临床用药提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

高效液相色谱分析仪，岛津 LC-2010AHT，PDA 检测器，CLASS-VP 数据处理系统，UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS 系统，美国赛默飞世尔科技公司；KQ-500DV 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；BS210S 万分之一电子天平，北京赛多利斯天平有限公司；FW-100 高速万能粉碎机，北京中兴伟业仪器有限公司；8002 型温控水浴锅，北京永光明医疗仪器厂；SZ-93 自动双重纯水蒸馏器，上海亚荣生化仪器厂；恒温恒湿箱，上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 试剂

没食子酸对照品（批号 110831-200803，质量分数 $\geq 99.0\%$ ），中国食品药品检定研究院；没食子酸甲酯对照品（批号 20150825，质量分数 $\geq 99.0\%$ ），自制；表没食子儿茶素对照品（批号 PS0230-0025，质量分数 $\geq 99.0\%$ ）成都普斯生物技术股份有限公司；2,4,6-三-*O*-没食子酰-*D*-葡萄糖对照品（批号

20150824，质量分数 $\geq 98.0\%$ ），自制；没食子酸乙酯对照品（批号 20170216，质量分数 $\geq 98.0\%$ ），自制；表没食子儿茶素没食子酸酯对照品（批号 20170017，质量分数 $\geq 98.0\%$ ），自制；三氟乙酸（批号 201424，分析纯），上海麦克林生化科技有限公司；乙腈（批号 20150915，一级色谱纯），天津四有精细化学品有限公司；甲醇（批号 140112，分析纯），迪马科技有限公司；双蒸水，自制；安琪酿酒曲（批号 20130528），湖北宜昌安琪有限公司；绿茶，中国农业科学院茶叶专业市场。

1.3 药材

五倍子购于安徽亳州中药饮片厂，批号 20130812，经河南中医药大学张振凌教授鉴定为漆树科植物盐肤木 *Rhus chinensis* Mill. 树上寄生倍蚜科昆虫角倍蚜或倍蛋蚜后形成的虫瘿，符合《中国药典》2015 年版五倍子项下的各项规定。百药煎为本实验室炮制所得，批号分别为 20141101、20141102、20141103、20141104、20141105、20141106、20141107、20141108、20141109、20141110，分别编号为 S1~S10。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters Symmetry ShieldTM RP₁₈ 柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μ m）；流动相为乙腈-0.1%三氟乙酸水溶液，梯度洗脱：0~40 min，10%~16%乙腈；40~41 min，16%~18%乙腈；41~50 min，18%~19%乙腈；50.01~75 min，28%~33%乙腈；75.01~85 min，10%乙腈（此条件为梯度洗脱，50 min 和 75 min 为突变）；体积流量 0.8 mL/min；检测波长 280 nm；柱温 30 $^{\circ}$ C；进样量 5 μ L；理论板数按没食子酸峰计算不低于 3 000。

2.2 质谱条件

ESI 离子源，正负离子检测，全离子扫描范围 100~2 000 nm；归一化碰撞能量（normalized collision energy）30.0%；毛细管电压 31.00 V；毛细管温度 300 $^{\circ}$ C；电喷雾电压 4.2 kV；鞘气（N₂）体积流量 40 arb（1 arb=0.3 L/min）；辅助气（N₂）体积流量 10 arb；锥孔电压 115.00 V。

2.3 对照溶液制备

2.3.1 参照峰溶液制备 精密称取没食子酸对照品 2.0 mg, 精密称定于 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解, 定容至刻度, 得 80 $\mu\text{g/mL}$ 没食子酸对照品溶液。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 精密称取没食子酸、表没食子儿茶素、没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、2,4,6-三-*O*-没食子酰-*D*-葡萄糖对照品适量, 加甲醇制成没食子酸甲酯、表没食子儿茶素、没食子酸乙酯、表没食子儿茶素没食子酸酯各 20 $\mu\text{g/mL}$, 2,4,6-三-*O*-没食子酰-*D*-葡萄糖 30 $\mu\text{g/mL}$, 没食子酸 80 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

分别取各批次百药煎粉末及五倍子粉末(过 4

号筛)约 0.2 g, 精密称定, 加入甲醇 50 mL, 称定质量, 放置过夜, 超声提取 40 min, 放至室温, 补足质量, 滤过, 取续滤液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.5 百药煎指纹图谱的建立

按照“2.4”项下方法制备 10 批百药煎供试品溶液, 依“2.1”项下色谱条件测定并记录 85 min 色谱图, 将 10 批样品的图谱用“Chromap Chromafinger 2005 beta 0.1”色谱软件进行数据处理, 取 0~75 min 的色谱图, 进行色谱峰匹配, 设百药煎样品 S10 的指纹图谱为参照图谱, 采用平均数法, 进行多点校正和色谱峰匹配, 结果匹配出 10 个共有峰, 得到百药煎饮片指纹图谱 2D 叠加图, 见图 1。

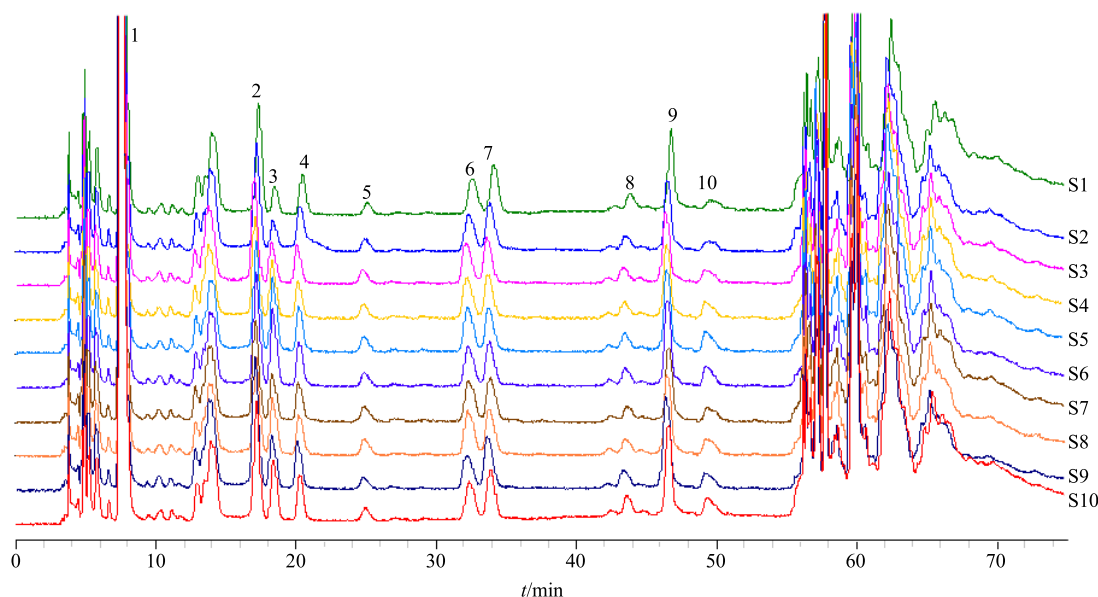


图1 10批百药煎指纹图谱2D叠加图

Fig. 1 2D overlay chart of fingerprint of 10 batches of Chinese gall leaven

2.6 方法学考察

2.6.1 精密度试验 取 S1 百药煎粉末(过 4 号筛)约 0.2 g, 精密称定, 按“2.4”项下供试品溶液的制备方法操作, 进样量 5 μL , 连续进样 5 次, 记录其指纹图谱。用“Chromap Chromafinger 2005 beta 0.1”色谱软件处理数据, 结果表明, 各色谱峰的相对保留时间 $\text{RSD} < 3\%$ 、相对峰面积 $\text{RSD} < 5\%$, 说明在该条件下百药煎指纹图谱的精密度良好。

2.6.2 稳定性试验 取 S1 百药煎粉末(过 4 号筛)约 0.2 g, 精密称定, 按“2.4”项下供试品溶液的制备方法操作, 分别在 0、3、6、9、12 h 检测, 记录其指纹图谱。采用“Chromap Chromafinger 2005 beta

0.1”色谱软件处理数据, 结果表明, 各色谱峰的相对保留时间 $\text{RSD} < 3\%$ 、相对峰面积 $\text{RSD} < 5\%$, 说明在该条件下供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.6.3 重复性试验 取 5 份 S1 百药煎粉末(过 4 号筛)约 0.2 g, 精密称定, 按“2.4”项下供试品溶液的制备方法操作, 分别进样 5 μL , 记录其指纹图谱。用“Chromap Chromafinger 2005 beta 0.1”色谱软件处理数据, 结果表明, 各色谱峰的相对保留时间 $\text{RSD} < 3\%$ 、相对峰面积 $\text{RSD} < 5\%$, 说明在该条件下, 百药煎指纹图谱重复性良好。

2.7 指纹图谱共有峰的标定和相似度评价

2.7.1 共有峰相对保留时间 以图谱中没食子酸为

参照峰 (S), 将各色谱峰保留时间与同一图谱中参照峰的保留时间比较, 其比值为各色谱峰的相对保留时间, 计算 10 批样品指纹图谱中各色谱峰的相对保留时间, RSD 均 < 1%, 见表 1。

2.7.2 共有峰的相对峰面积 以图谱中没食子酸为参照峰 (S), 将共有峰的色谱峰峰面积与同一图谱中参照峰的峰面积比较, 其比值为各色谱峰的相对峰面积, 其 RSD 均 < 1%, 符合指纹图谱的要求; 其中 3、5、8 号峰相对峰面积不同批次之间差异较大, 说明在发酵过程中这 3 种成分不稳定, 其量不易控制。见表 2。

2.7.3 指纹图谱相似度的计算 用 “Chromap

Chromafinger 2005 beta 0.1” 色谱软件对 10 批样品指纹图谱相似度进行计算, 相关系数法和夹角余弦法得到的相似度较接近, 均大于 0.9, 表明各批次指纹图谱与参照指纹图谱差异较小, 见表 3。

2.7.4 指纹图谱中主要共有峰的指认 采用对照品比对, 结合质谱图中化合物的质荷比及相关参考文献数据^[16-18]共指认出 7 个共有峰。质谱结果与对照品比对结果一致, 结果见图 2 和表 4。

2.8 百药煎指纹图谱和五倍子图谱的比较

取五倍子粉末, 按 “2.4” 项下方法制备供试品溶液, 测定并记录 85 min 色谱图。利用 “Chromap Chromafinger 2005 beta 0.1” 色谱软件对五倍子、百

表 1 百药煎共有峰相对保留时间

Table 1 Relative retention time of common peaks of Chinese gall leaven

编号	相对保留时间									
	1 号峰 (S)	2 号峰	3 号峰	4 号峰	5 号峰	6 号峰	7 号峰	8 号峰	9 号峰	10 号峰
S1	1.000	2.285	2.441	2.696	3.316	4.304	4.509	5.804	6.196	6.563
S2	1.000	2.295	2.450	2.704	3.326	4.522	4.522	5.818	6.210	6.575
S3	1.000	2.288	2.443	2.691	3.324	4.507	4.507	5.814	6.220	6.610
S4	1.000	2.299	2.449	2.707	3.333	4.509	4.509	5.813	6.208	6.615
S5	1.000	2.285	2.446	2.398	3.312	4.509	4.509	5.808	6.208	6.587
S6	1.000	2.291	2.444	2.701	3.321	4.507	4.507	5.803	6.211	6.583
S7	1.000	2.288	2.447	2.703	3.323	4.514	4.514	5.810	6.214	6.580
S8	1.000	2.292	2.453	2.705	3.335	4.524	4.524	5.834	6.238	6.601
S9	1.000	2.290	2.445	2.699	3.331	4.511	4.511	5.818	6.217	6.597
S10	1.000	2.283	2.444	2.694	3.329	4.511	4.511	5.807	6.218	6.590
RSD/%	0.00	0.22	0.15	0.18	0.22	0.17	0.13	0.16	0.17	0.24

表 2 百药煎共有峰相对峰面积

Table 2 Relative peak areas of common peaks of Chinese gall leaven

编号	相对峰面积									
	1 号峰 (S)	2 号峰	3 号峰	4 号峰	5 号峰	6 号峰	7 号峰	8 号峰	9 号峰	10 号峰
S1	1.000	0.059	0.032	0.025	0.009	0.030	0.034	0.016	0.053	0.016
S2	1.000	0.057	0.019	0.023	0.010	0.029	0.033	0.013	0.044	0.016
S3	1.000	0.058	0.021	0.022	0.010	0.030	0.035	0.012	0.044	0.017
S4	1.000	0.053	0.024	0.022	0.011	0.033	0.033	0.011	0.042	0.015
S5	1.000	0.059	0.039	0.025	0.013	0.036	0.034	0.015	0.051	0.018
S6	1.000	0.057	0.040	0.025	0.011	0.034	0.032	0.013	0.048	0.018
S7	1.000	0.059	0.041	0.025	0.010	0.032	0.032	0.012	0.052	0.017
S8	1.000	0.059	0.033	0.025	0.012	0.036	0.034	0.014	0.051	0.017
S9	1.000	0.061	0.040	0.027	0.011	0.038	0.037	0.014	0.054	0.017
S10	1.000	0.066	0.029	0.026	0.008	0.026	0.034	0.014	0.055	0.015
RSD/%	0.00	0.05	0.25	0.07	0.13	0.12	0.05	0.12	0.09	0.07

表 3 百药煎指纹图谱相似度分析结果

Table 3 Similarity analysis of fingerprint of Chinese gall leaven

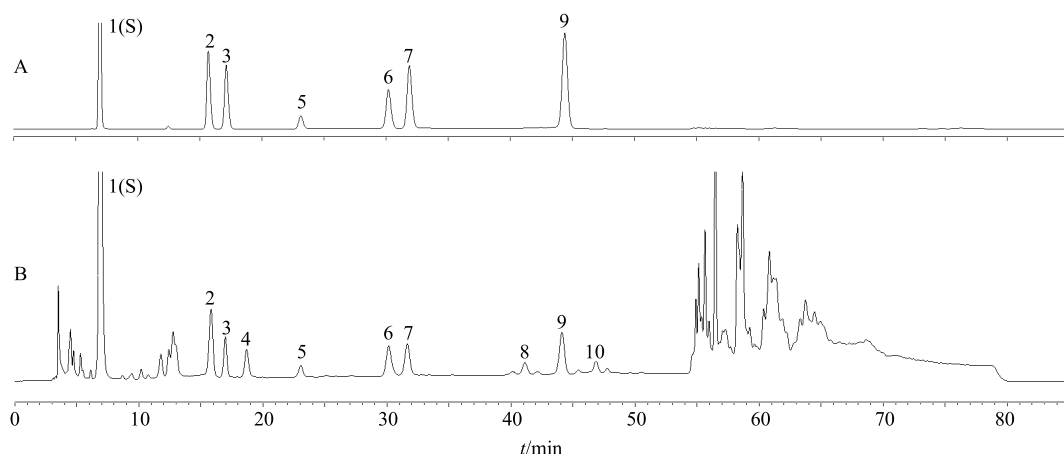
样品	相似度		样品	相似度	
	相关系数法	夹角余弦法		相关系数法	夹角余弦法
S1	0.974 3	0.973 1	S6	0.999 0	0.999 0
S2	0.998 0	0.997 9	S7	0.997 2	0.997 2
S3	0.999 0	0.999 0	S8	0.990 6	0.990 8
S4	0.998 4	0.998 3	S9	0.995 1	0.995 2
S5	0.996 4	0.996 4	S10	0.998 2	0.998 2

药煎指纹图谱共有模式图比较, 结果见图 3。

由图 3 可以看出, 百药煎 50 min 后的峰系鞣质类成分^[19], 与五倍子相比其量明显降低; 1、4、9 号峰的量升高, 2、7、8 号峰为新增加的峰, 3、5、6、10 号峰的量均有所降低, 说明五倍子在发酵过程中化学成分种类及其量均发生显著变化。

2.9 茶叶对百药煎成分的影响

分别取茶叶、不加茶叶发酵样品 0.2 g, 精密称定, 按“2.4”项下供试品溶液的制备方法操作, 分别进样 5 μ L, 记录其指纹图谱。用“Chromap



1-没食子酸 (S) 2-表没食子儿茶素 3-没食子酸甲酯 5-没食子酸乙酯 6-表没食子儿茶素没食子酸酯 7-2,4,6-三-O-没食子酰- β -D-葡萄糖 9-2,4,6-三-O-没食子酰- α -D-葡萄糖
1-gallic acid (S) 2-EGC 3-methyl gallate 5-ethyl gallate 6-EGCG 7-2,4,6-tri-O-galloyl- β -D-glucose 9-2,4,6-tri-O-galloyl- α -D-glucose

图 2 混合对照品溶液 HPLC 图 (A) 及百药煎样品指纹图谱共有模式图 (B)

Fig. 2 HPLC of hybrid reference substance (A) and fingerprint of Chinese gall leaven (B)

表 4 百药煎主要共有峰 LC-MS 分析

Table 4 Mainly common peak LC-MS analysis of Chinese gall leaven

峰号	t_R /min	相对分子质量	测定值 (m/z)	选择离子	化合物名称
1	7.48	170.12	171.542 3	$[M+H]^+$	没食子酸
2	17.14	306.27	337.053 0	$[M+Cl]^-$	表没食子儿茶素
3	18.31	184.15	185.044 0	$[M+H]^+$	没食子酸甲酯
5	24.89	198.17	199.009 0	$[M+H]^+$	没食子酸乙酯
6	32.25	458.38	481.091 2	$[M+Na]^+$	表没食子儿茶素没食子酸酯
7	33.77	636.08	659.083 9	$[M+Na]^+$	2,4,6-三-O-没食子酰- β -D-葡萄糖
9	46.51	636.08	635.102 4	$[M+H]^+$	2,4,6-三-O-没食子酰- α -D-葡萄糖

Chromafinger 2005 beta 0.1” 色谱软件处理数据, 对比百药煎指纹图谱, 结果见图 4。由图 4 可以看出, 不加茶叶发酵的样品出峰时间与百药煎基本一致, 茶叶与百药煎相比, 在 7.5 min 处与百药煎没食子酸峰重叠, 但其量很低, 对于百药煎中没食子酸的量影响很小, 在其余 9 个共有峰处均无色谱峰出现,

说明茶叶对百药煎的指纹图谱基本无影响, 新增成分确实是由五倍子发酵过程转化而来。

3 讨论

因鞣质类成分易溶于甲醇、乙醇、水、丙酮, 故本实验分别比较了甲醇、50%甲醇、丙酮、乙醇、水为提取溶剂, 结果以甲醇提取的样品峰数目较多,

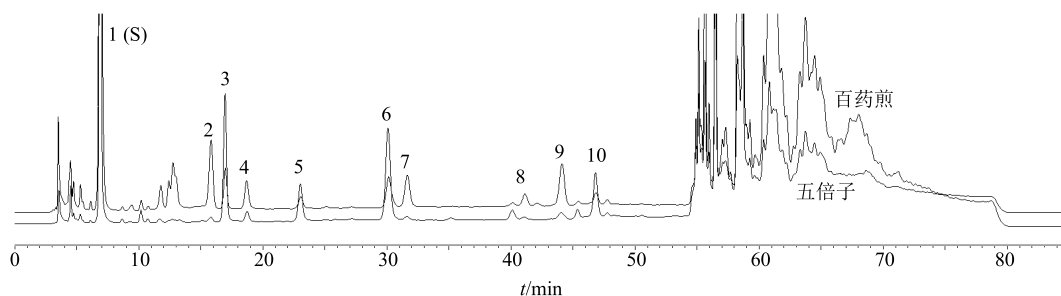


图 3 百药煎指纹图谱共有模式图与五倍子 HPLC 指纹图谱的比较

Fig. 3 Comparison on fingerprint of gallnut and Chinese gall leaven

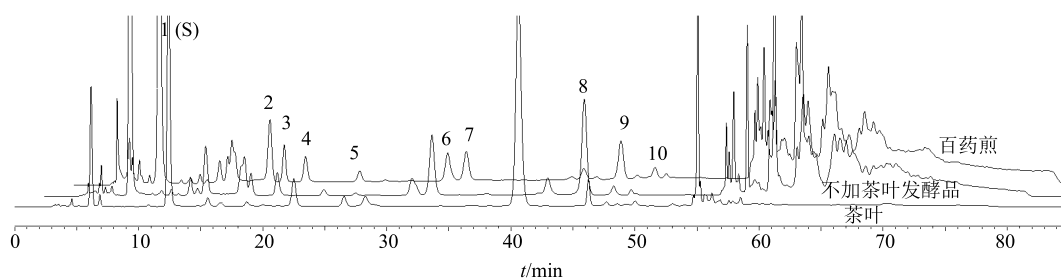


图 4 茶叶、不加茶叶发酵品、百药煎对比 HPLC 图

Fig. 4 HPLC of tea, fermentation without tea, and Chinese gall leaven

峰形好, 故选择甲醇为提取溶剂; 使用二极管阵列检测器, 在流动相、梯度、体积流量及柱温等条件不变的情况下, 进行全波长扫描, 结果在 280 nm 检测条件下, 色谱峰较多, 各峰吸收均匀; 比较了甲醇-冰醋酸、甲醇-三氟乙酸、乙腈-冰醋酸、乙腈-三氟乙酸等洗脱系统, 乙腈与 0.1% 三氟乙酸梯度洗脱, 能较好地使样品中各色谱峰分离且出峰较多, 分析时间 75 min 后无特征峰出现。

本研究通过对五倍子和百药煎样品进行谱图对比, 证明炮制后百药煎的化学成分发生较大的变化, 化学成分种类及其量均有明显的改变, 峰位对比确定发生改变的成分为没食子酸、表没食子儿茶素、没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、2,4,6-三-*O*-没食子酰- β -*D*-葡萄糖。其中 2,4,6-三-*O*-没食子酰- β -*D*-葡萄糖结构由于具有半缩醛, 因此始终有 α 和 β 2 个互变异构体存在, 即图谱对应的 7 号峰和 9 号峰; 发酵过程使五倍子中没食子酸、2,4,6-三-*O*-没食子酰- α -*D*-葡萄糖等 3 种成分量升高, 而没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、表没食子儿茶素没食子酸酯等 4 种成分量呈现下降趋势; 同时还有新的化学成分, 如表没食子儿茶素、2,4,6-三-*O*-没食子酰- β -*D*-葡萄糖等 3 种成分生成, 提示以上成分的变化可能是百药煎功效发生改变的内在物质基础。

百药煎由五倍子发酵而成, 五倍子酸涩寒, 敛肺降火、涩肠止泻、敛汗止血、收湿敛疮^[8]; 百药煎酸涩, 微甘、平, 润肺化痰、止血止泻、解热生津^[20]。发酵后百药煎性味功效发生变化, 同时有文献指出百药煎药理作用^[10]发生改变。通过谱图对比, 发酵后百药煎鞣质的量大幅降低, 而没食子酸的量显著增加, 文献显示百药煎中没食子酸是由鞣质转化而来^[10], 而其他成分的改变是否是鞣质转化, 尚未见报道。

五倍子中的鞣质成分在进入体内后, 会发生水解, 产生的水解型鞣质对肝脏有毒害作用, 造成肝损伤^[21]。而没食子酸具有抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒等多种生物活性, 对心血管系统疾病、神经系统疾病、糖尿病、肝纤维化和肿瘤等均具有防治作用^[19]; 表没食子儿茶素具有抗突变、抗肿瘤形成、抗炎抗病毒及清除自由基和抗氧化等作用^[22]。因此, 百药煎发酵炮制减毒缓性增效的作用机制与显著降低鞣质量的同时提高没食子酸等小分子成分的量, 产生表没食子儿茶素、2,4,6-三-*O*-没食子酰- β -*D*-葡萄糖等成分有关, 此结论尚需通过药理活性研究进一步证实。

参考文献

- [1] 元·朱震亨. 丹溪心法 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1963.

- [2] 韩小敏, 禹玉洪, 向晓玲, 等. 百药煎发酵过程中关键菌株的确定 [A] // 全国中药创新与研究论坛论文集 [C]. 运城: 中华中医药学会中药制剂分会和世界中医药学会联合会中药药剂专业委员会, 2009.
- [3] 董秋菊, 王鑫国, 牛丽颖, 等. 五子衍宗方制剂-药材谱峰匹配指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1153-1158.
- [4] 秦建平, 吴建雄, 郎悦, 等. 痛宁凝胶的 HPLC-MS 指纹图谱研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(4): 427-430.
- [5] 姜勇, 张娜, 崔振, 等. 远志药材的 HPLC 指纹图谱 [J]. 药学学报, 2006, 41(2): 179-183.
- [6] 李明月, 周立红, 章顺楠, 等. 加味逍遥提取物超高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 230-236.
- [7] 刘东方, 赵丽娜, 李银峰, 等. 中药指纹图谱技术的研究进展及应用 [J]. 中草药, 2016, 47(22): 4085-4094.
- [8] Xie R F, Zhao Q H, Li Z C, *et al.* Comparison on HPLC fingerprints between *Fraxini Cortex* and its eye drop [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(4): 301-306.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [10] 陈红, 龙远德, 张丹. 五倍子的指纹图谱研究 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(3): 373-374.
- [11] 胡昌江, 瞿燕. 五倍子发酵工艺及药理实验研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2002.
- [12] 史莲莲, 邓德英, 张振凌, 等. 绿茶对五倍子发酵品的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(4): 836-839.
- [13] 王瑞生, 张振凌, 王胜超, 等. HPLC 法同时测定五倍子发酵百药煎中没食子酸及鞣花酸含量 [J]. 中国现代中药, 2016, 18(7): 831-836.
- [14] 彭璐, 龚千锋, 李小宁, 等. RP-HPLC 测定五倍子 3 个炮制品中没食子酸和鞣花酸的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(18): 76-79.
- [15] 孙翼飞, 张振凌, 李柯柯, 等. 百药煎发酵过程中没食子酸含量动态变化的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(7): 1630-1633.
- [16] 彭璐, 张志杰, 龚千锋, 等. 基于成分分析及抗菌活性的百药煎炮制工艺研究 [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3805-3809.
- [17] 乔彩云, 李建科. 五倍子及五倍子单宁的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2011, 32(7): 458-462.
- [18] Nishizawa K, Nakata I, Kishida A, *et al.* Some biologically active tannins of *Nuphar variegatum* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(8): 2491-2494.
- [19] Hussein S A M, Barakat H H, Merforta I, *et al.* Tannins from the leaves of *Punica granatum* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(4): 819-823.
- [20] 郑雪花, 杨君, 杨跃辉. 没食子酸药理作用的研究进展 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(1): 94-98.
- [21] 李春远, 丁唯嘉, 渠桂荣. 五倍子化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1129-1132.
- [22] 谭晓华, 张亚历, 姜泊, 等. 表没食子儿茶素对 LoVo 细胞生长周期的影响和诱导其凋亡的研究 [J]. 中国药理学通报, 1999, 15(1): 56-59.