

· 药剂与炮制 ·

黄芩酒炙过程中化学成分含量变化及其与药效的相关性分析

熊优¹, 王雅琪^{1,2*}, 焦姣姣², 曹丽娟³, 姜恒丽³, 杨明^{1,2}

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 成都中医药大学, 成都 611137;
3. 盛实百草药业有限公司, 天津 300301)

[摘要] 目的:分析黄芩酒炙过程中主要指标性成分含量的动态变化规律,探讨含量变化与其药效活性间的相关性,优选黄芩酒炙的最佳炒制时间。方法:采用HPLC测定黄芩酒炙过程中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素4种主要化学成分的含量变化,流动相乙腈-0.1%磷酸水溶液梯度洗脱,检测波长278 nm;以脂多糖诱导小鼠腹腔巨噬细胞为炎症模型,检测黄芩酒炙过程中抗炎活性的变化情况,结合醇溶性浸出物含量、含水率等指标,采用聚类分析和线性回归对指标成分含量-药效活性数据进行相关性分析。结果:黄芩苷为黄芩中主要指标性成分,在酒炙过程中,黄芩苷质量分数、醇溶性浸出物含量及其抗炎活性均呈先上升再下降的趋势。在炒制18 min时,黄芩苷质量分数达到峰值14.33%,醇溶性浸出物质量分数达到最高点63.00%,此时抗炎活性达到最高值92.96%。结论:在黄芩酒炙过程中,炒制时间对其黄芩苷含量及药效活性均产生了显著性影响,黄酒闷润后最佳炒制时间为18 min。

[关键词] 黄芩; 相关性分析; 酒炙; 黄芩苷; 药效活性; 抗炎

[中图分类号] R22;R943.1;R283;R284;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0001-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181404

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180426.1134.004.html>

[网络出版时间] 2018-04-26 16:56

Correlation Between Chemical Composition and Pharmacological Activity of Scutellariae Radix During Its Stir-fried Process with Wine

XIONG You¹, WANG Ya-qi^{1,2*}, JIAO Jiao-jiao², CAO Li-juan³, JIANG Heng-li³, YANG Ming^{1,2}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China;
2. Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China;
3. China Medico Corporation, Tianjin 300301, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the dynamic change rule of main index components in Scutellariae Radix during its stir-fried process with wine, explore the correlation between change of chemical composition and its pharmacological activity, and optimize frying time of Scutellariae Radix processed with wine. **Method:** HPLC was employed to determine the contents of four chemical ingredients (baicalin, baicalein, wogonoside and wogonin) during the stir-fried process of Scutellariae Radix processed with wine, Lipopolysaccharide (LPS) was used to induce peritoneal macrophages in mice as the model of inflammation, the change of anti-inflammatory activity during stir-fried process with wine was determined, combined with alcohol-soluble extract content and water content, cluster analysis and linear regression were used to analyze the correlation between content of index components and pharmacological activity. **Result:** Baicalin was the main index ingredient in Scutellariae Radix, during its stir-fried process with wine, the contents of baicalin and alcohol-soluble extract, anti-inflammatory

[收稿日期] 20180123(023)

[基金项目] 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-TJ-43)

[第一作者] 熊优,在读硕士,从事中药质量分析与控制研究,Tel:0791-87118108,E-mail:xiongyouyou1@126.com

[通信作者] *王雅琪,讲师,从事中药新剂型与新技术研究,Tel:0791-87118108,E-mail:wangyaqi_3@163.com

activity all showed the trend of firstly rising and then decreasing. When frying of 18 min, the content of baicalin reached a peak value of 14.33%, and the content of alcohol-soluble extract reached the highest point of 63.00%, and the highest inhibition ratio of anti-inflammatory activity reached 92.96%. **Conclusion:** Stir-fried time has significant effect on the content of baicalin and pharmacological activity of *Scutellariae Radix* processed with wine during the stir-fried process, the best time for stir-frying is 18 min.

[Key words] *Scutellariae Radix*; correlation analysis; stir-fried with wine; baicalin; pharmacological activity; anti-inflammatory

黄芩主产于河北、山西、辽宁等地,具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎的功效,现代临床主要用于治疗湿温、暑湿、湿热痞满、肺热咳嗽、高热烦渴、血热吐衄等证^[1]。现代研究表明黄芩中化学成分多样,以黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素等黄酮类成分为主要药效成分^[2],具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗过敏、抗肿瘤、心血管保护、镇痛、保肝等药理作用^[3-5]。

2015 年版《中国药典》中收录的黄芩饮片有黄芩片和酒黄芩 2 个品种。生黄芩性味苦寒,酒炙之后可缓和其苦寒之性,并借酒力引药上行,增强其清肺凉肝之功效^[6-7]。酒黄芩作为一味常用中药,广泛应用于中医临床,不同酒炙工艺易导致酒黄芩的质量差异,进而影响临床疗效。杨云等^[8]通过 HPLC 对黄芩炮制前后黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量变化进行研究,发现酒炙可使黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷含量明显下降,黄芩素、汉黄芩素含量明显上升。但目前针对黄芩酒炙过程的研究还不够深入,缺乏黄芩酒炙过程中有效成分含量及药效活性动态变化的相关研究,尚需细化并确定相应工艺参数,以完善黄芩的酒炙工艺^[9]。

前期调研发现,全国各产区酒黄芩质量参差不齐,而 2015 年版《中国药典》只规定黄芩片加黄酒拌匀,闷透,文火炒至规定的程度,未对炒制时间等进行规范。2016 年开展的国家中药标准化项目,强调饮片炮制对其药效成分群的变化,进行传统经验判别和现代质量评价策略之间的相关性研究,进一步完善质量标准。本实验着眼于黄芩炮制过程,对黄芩酒炙工艺中的炒制环节进行系统研究,考察主要指标性成分的含量变化,构建 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型,运用计量学方法将化学成分-药效活性进行相关性分析,探索酒黄芩传统经验判别和现代质量评价的相关性,明确最佳炒制时间,为后续构建该药材的饮片加工标准提供理论基础。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司,包

括 G1311C 型四元梯度泵,G1315D 型二极管阵列检测器,G1329B 型自动进样器,LC Solution 色谱工作站),BT25S 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司),XS3DU 型 1/100 万电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司),YF-111B 型高速中药粉碎机(瑞安市永历制药机械有限公司),Forma 3111 型二氧化碳恒温培养箱(美国 Thermo Electron 公司),TDZ4A-WS 型台式低速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),XW-80A 型漩涡混合器(上海青浦沪西仪器厂),YXQ-SG46-280S 型高压蒸汽灭菌锅(上海博迅实业有限公司),ELX800 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司),Eclipse TS100 型倒置显微镜(日本 Nikon 公司),AS842A 型高精度红外线测温仪(东莞万创电子制品有限公司)。

黄芩片(盛实百草药业有限公司,批号 2017050801)经江西中医药大学杨明教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 141120,150730,140729,151017,纯度均 $\geq 98\%$),胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号 1856032),脂多糖(LPS,美国 Sigma 公司,批号 L2880),小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7(中国科学院上海细胞生物所),黄酒(浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司,批号 20170426,酒精度 $\geq 15.0\%$);细胞计数试剂盒-8(CCK-8),青链霉素混合液,二甲基亚砜(DMSO),Hank's 缓冲液,DMEM 培养基(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为 609K011,20161201,520C0317,20170120,AB10201637);水为自制双蒸水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 酒黄芩的制备 参照 2015 年版《中国药典》(四部)0213 炮制通则项下酒炙法。取黄芩片 200 g,加入黄酒 40 g,拌匀,闷透,取样(以下简称炒制 0 min),于 120 °C 炒锅中炒制 30 min,分别在 3,6,9,12,15,18,21,24,27,30 min 时取样(以下分别

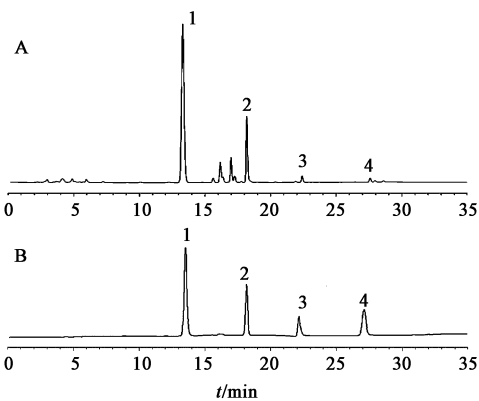
简称炒制 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 min), 放凉, 备用。

2.2 黄芩中各指标成分的含量测定

2.2.1 供试品溶液的制备 精密称取黄芩样品粉末(过 65 目筛) 2.0 g, 加入 70% 乙醇 50 mL, 加热冷凝回流提取 3 h, 放冷, 过滤, 滤液置 100 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 2.5 mL 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液, 平行 3 份, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品 20.7, 14.7, 5.4, 4.5 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容, 摇匀, 配成质量浓度分别为 207, 147, 54, 45 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.2.3 色谱条件 采用 Gemini C₁₈ 110A 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 8 min, 25% A; 8 ~ 18 min, 25% ~ 42% A; 18 ~ 28 min, 42% ~ 60% A; 28 ~ 35 min, 60% ~ 20% A), 流速 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 检测波长 278 nm, 柱温 28 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL 。理论板数按黄芩苷峰计算 > 6 000。见图 1。



A. 供试品; B. 对照品; 1. 黄芩苷; 2. 汉黄芩苷; 3. 黄芩素; 4. 汉黄芩素

图1 酒黄芩的 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of Scutellariae Radix processed with wine

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取 2.2.2 项下对照品溶液适量, 置于 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 得系列质量浓度的混合对照品溶液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 得黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素及汉

黄芩素的回归方程分别为 $Y = 27.138X - 76.814$ ($R^2 = 0.9997$), $Y = 33.844X - 47.266$ ($R^2 = 0.9999$), $Y = 43.94X - 55.514$ ($R^2 = 0.9993$), $Y = 68.093X - 0.027$ ($R^2 = 0.9999$), 线性范围分别为 20.7 ~ 207, 8.82 ~ 35.28, 1.08 ~ 54, 0.45 ~ 9 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液适量, 按 2.2.3 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰面积的 RSD 均 < 0.5%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液适量, 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 当日每 3 h 测定 1 次, 进样 6 次, 记录峰面积, 结果黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰面积的 RSD 均 < 2.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 分别称取 6 份黄芩样品, 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 计算黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均质量分数分别为 87.13, 18.33, 7.71, 2.83 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 分别为 2.5%, 2.4%, 2.7%, 2.7%, 表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取 6 份已知指标成分含量的样品适量, 分别加入一定量的黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品, 按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 计算黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均加样回收率分别为 99.06%, 99.01%, 100.46%, 100.47%, RSD 分别为 1.7%, 2.4%, 2.7%, 2.7%, 表明该方法准确可靠。

2.2.9 样品测定 精密吸取 2.2.1 项下黄芩供试品溶液适量, 按 2.2.3 项下色谱条件测定, 不同炒制时间的供试品溶液中 4 种指标成分的含量变化情况见图 2。结果发现在黄芩酒炙过程中, 随着炒制时间的增加会造成指标成分质量分数的波动, 且 4 种指标成分中含量最高、波动最明显的是黄芩苷, 其他指标成分趋势变化不明显; 随着炒制时间的延长, 黄芩苷质量分数从闷制后的 12.02% 上升到炒制 18 min 的 14.33%, 再下降至 13.20%, 整体呈逐步上升再下降的趋势。

2.3 醇溶性浸出物含量的测定 参照 2015 年版《中国药典》(四部) 通则 2201 浸出物测定法项下的热浸法(稀乙醇为溶剂)进行含量测定, 见图 3。结果发现黄芩酒炙过程样品的醇溶性浸出物测定结果均符合 2015 年版《中国药典》的规定(醇溶性浸出

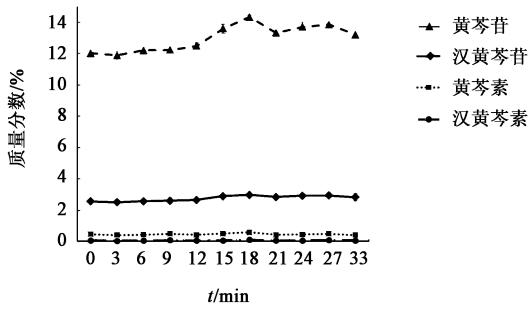


图 2 黄芩酒炙过程中指标成分的质量分数变化 (n=3)
Fig. 2 Content changes of index components in stir-fried process of Scutellariae Radix processed with wine (n=3)

物质质量分数 $\geq 40\%$), 整体呈现先上升再下降的趋势, 与黄芩苷含量变化趋势一致, 表明黄芩苷作为黄芩中主要指标性成分, 能基本代表黄芩药材整体质量情况。

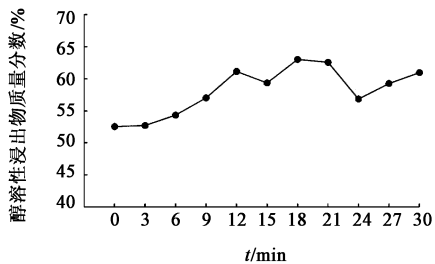


图 3 黄芩酒炙过程中醇溶性浸出物质量分数的变化 (n=3)
Fig. 3 Content changes of alcohol-soluble extract in stir-fried process of Scutellariae Radix processed with wine (n=3)

2.4 含水率的测定 参照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 0832 水分测定法项下烘干法进行含水率测定。结果显示黄芩酒炙过程中样品的含水率测定结果呈现逐步下降的趋势, 从炒制 15 min 样品起均符合 2015 年版《中国药典》的规定 (含水率 $\leq 12\%$), 且以传统经验判别, 炒制 15 min 样品质硬而脆、断面成色均一, 已达终点, 与含水率的终点判断结果一致。

2.5 聚类分析 以黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量为变量, 应用 SPSS 21.0 统计软件, 采用组间连接法, 以欧氏距离为测度, 运用系统聚类分析方法对黄芩酒炙过程中供试品进行聚类分析, 见图 4。结果发现当欧氏距离为 10 时, 可将黄芩酒炙过程分为 2 类, 炒制时间 0 ~ 12 min 聚为一类, 炒制时间 15 ~ 30 min 聚为一类; 当欧氏距离为 5 时, 可将黄芩酒炙过程分为 3 类, 炒制时间 0 ~ 12 min 聚为一类, 炒制时间 15, 21 ~ 30 min 聚为一类, 炒制时间 18 min 单独为一类。聚类分析结果与酒炙过程中化学成分含量测定结果一致, 提示炒制时间对酒黄芩

质量影响显著, 炒制 18 min 结果最优, 可与酒炙过程其他时间段进行差异化分析。

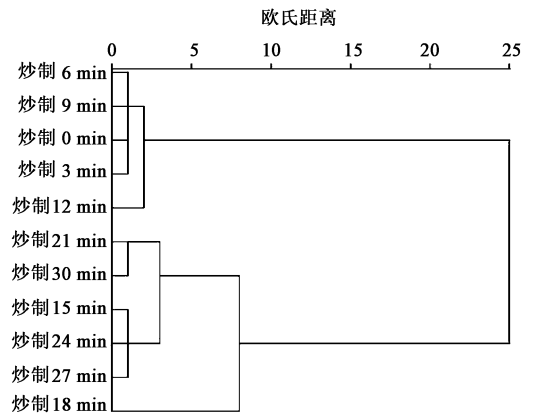


图 4 酒炙过程中黄芩苷含量聚类分析树状
Fig. 4 Hierarchical cluster dendrogram of content of baicalin in stir-fried process with wine

2.6 抗炎活性分析

2.6.1 细胞培养 小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 培养于含 10% 胎牛血清, 1% 非必需氨基酸, 1% 青-链霉素混合液, 1% L-谷氨酰胺的 DMEM 高糖培养基中, 置于 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中培养。

2.6.2 黄芩酒炙样品对 RAW264.7 细胞的毒性检测 取对数生长期 RAW264.7 巨噬细胞制成 2×10^5 个/mL 的单细胞悬液, 接种于 96 孔细胞培养板, 每孔 150 μ L; 空白孔加完全培养基 150 μ L, 以排除培养基的影响; 边缘孔用 Hank's 液 200 μ L 填充, 以防止培养基的挥发对细胞的生长产生影响。在 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。待细胞贴壁后, 吸弃旧培养液, 用 Hank's 液润洗 1 次, 实验组 (巨噬细胞 + 供试品溶液 + 培养液) 加入黄芩生药质量浓度分别为 25.00, 31.25, 50.00, 62.50, 100.00, 125.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的黄芩酒炙供试品溶液 100 μ L, 正常组 (巨噬细胞 + 培养液 + 溶剂) 和空白组 (培养液 + 溶剂) 均加入等量 Hank's 液。每组设 6 个复孔, 继续培养 24 h 后吸弃孔内液体, 用 Hank's 液清洗 2 次, 每孔加入 Hank's 液 100 μ L 和 CCK-8 试剂 10 μ L, 继续培养 50 min 后于 450 nm 处测定各孔吸光度 A, 计算细胞抑制率, 细胞抑制率 = $(A_{\text{正常组}} - A_{\text{实验组}}) / (A_{\text{正常组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$, 经 SPSS 21.0 软件分析, 计算黄芩酒炙供试品溶液半抑制浓度 (IC₅₀) 0.074 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.6.3 Griess 法测定 LPS 诱导 RAW264.7 细胞的 NO 水平 以 5×10^5 个/mL 单细胞悬液接种于 96 孔板, 每孔 200 μ L, 培养 24 h 待细胞贴壁, 实验组分

别加入生药质量浓度为 $2 \sim 12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 等梯度黄芩酒炙供试品溶液 $150 \mu\text{L}$; 正常组加入 Hank's 液 $50 \mu\text{L}$ 与高糖培养基 $100 \mu\text{L}$, 空白组孔内无细胞, 加入 Hank's 液 $50 \mu\text{L}$ 与高糖培养基 $100 \mu\text{L}$ 。于温度 $37 \text{ }^\circ\text{C}$, $5\% \text{ CO}_2$ 培养箱孵化培育 4 h , 加入 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ LPS 溶液 $50 \mu\text{L}$ 激活细胞, 继续培养 24 h , 取上清液 $100 \mu\text{L}$, 同时加入 Griess 试剂 $100 \mu\text{L}$, 避光振摇 10 min , 于 540 nm 处测定 A 。根据 NaNO_2 标准曲线计算 NO 释放量, 线性方程为 $Y = 0.009 9X + 0.038 1 (R^2 = 0.999 9)$, 其中 X, Y 分别为 NO 释放量及其对应 A 。

2.6.4 黄芩酒炙供试品溶液对 LPS 诱导巨噬细胞炎症因子的影响 根据 2.6.2 项下方法, 实验组每孔加入不同炒制时间黄芩酒炙供试品溶液 $150 \mu\text{L}$ (终质量浓度均为 $0.074 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ LPS 溶液 $50 \mu\text{L}$, 模型组加入 DMEM 高糖培养基 $150 \mu\text{L}$ 和 LPS 溶液 $50 \mu\text{L}$, 空白组加入 DMEM 高糖培养基 $200 \mu\text{L}$ 。根据 2.6.3 项下方法对黄芩酒炙供试品溶液 A 进行测定, 根据 NaNO_2 标准曲线计算细胞培养上清液中 NO_2^- 浓度及 NO 抑制率, NO 抑制率计算公式为抑制率 = $(\text{NO}_2^- \text{ 浓度}_{\text{模型组}} - \text{NO}_2^- \text{ 浓度}_{\text{实验组}}) / (\text{NO}_2^- \text{ 浓度}_{\text{模型组}} - \text{NO}_2^- \text{ 浓度}_{\text{空白组}}) \times 100\%$, 见图 5。结果发现在黄芩酒炙过程中, 随着炒制时间的延长, 黄芩供试品溶液对 LPS 诱导巨噬细胞释放 NO 的抑制率呈先上升再下降的趋势, 由最初的 86.15% 上升至炒制 18 min 供试品的 92.96% , 再下降至 88.73% , 说明黄芩的抗炎活性在酒炙过程中随炒制时间的延长呈现先增强再减弱的趋势, 且抗炎作用在炒制 18 min 时达到峰值, 黄芩酒炙供试品抗炎作用结果与黄芩苷含量变化趋势总体一致。

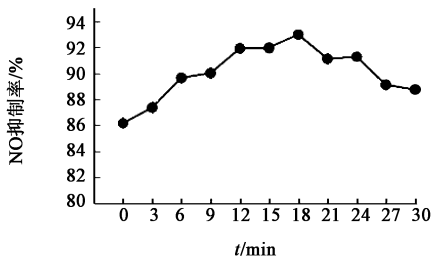
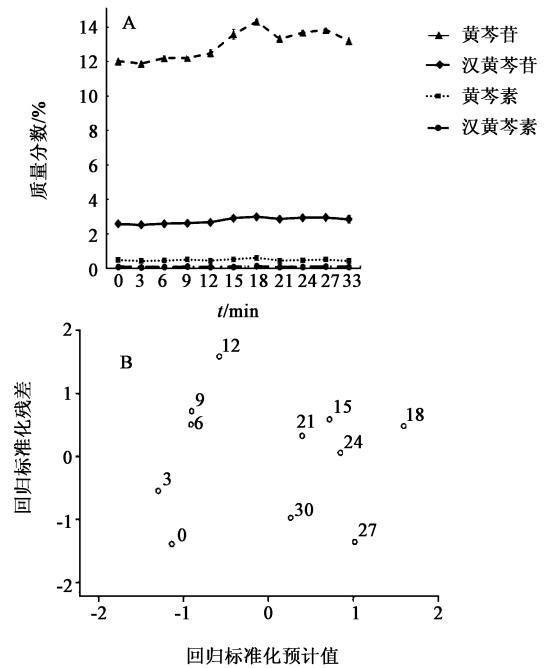


图 5 黄芩酒炙过程中供试品溶液对 LPS 诱导巨噬细胞释放 NO 的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Inhibitory effect of samples from in stir-fried process of Scutellariae Radix processed with wine on NO production in RAW 264.7 cell induced by LPS ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

2.7 化学成分-药效活性相关性 运用 SPSS 21.0 软件对黄芩苷含量-药效活性数据进行多元线性回

归, 将黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的质量分数分别记为自变量 X_1, X_2, X_3, X_4 , NO 抑制率为因变量 Y , 构建黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素质量分数-抗炎活性多元回归方程, 回归方程的方差分析得 $F = 1.440, P = 0.328$, 4 个系数的 P 均 > 0.05 , 说明拟合的回归方程无统计学意义, 需要对 4 个自变量作进一步筛选, 继续进行逐步回归。由逐步回归对方程的方差分析检验得 $F = 6.418, P = 0.032 < 0.05$, 说明逐步回归方程均有统计学意义, 最终得回归方程 $Y = 1.591X_1 + 0.694$ 。见图 6。



A. 残差; B. 散点

图 6 黄芩酒炙过程中指标成分含量与其药效活性多元线性回归标准化的残差与散点分析

Fig. 6 Regression standardized residual plots and scatter diagrams between contents of index components in stir-fried process of Scutellariae Radix processed with wine and its pharmacological activity

由残差图可知, 在正态分布中, 数据沿对角线和对角线方向分布, 回归模型满足正态性假设。由散点图可知, 数据均在 $(-2, 2)$ 区间内, 具有正态性和方差齐性。根据化学成分-药效活性相关性分析可认为黄芩苷与黄芩酒炙过程供试品抗炎药效活性呈正相关, 而黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素与黄芩抗炎作用相关性不强, 提示黄芩苷是其发挥抗炎活性的药效物质基础, 是黄芩发挥抗炎活性的主要表征性成分。

3 讨论

中药饮片是中医临床主要用药形式, 其质量优

劣直接影响着临床疗效。精细化、标准化的质量控制模式是确保中药饮片质量的关键^[10]。传统经验判别方法是中医药工作者长期生产实践经验的结晶,为保证中药饮片的临床疗效,炮制工艺过程中“三看”,即看水性、看火候、看色气,可判断黄芩酒炙终点^[11]。但是传统经验判别存在模糊、不易量化等缺点,且2015年版《中国药典》又未对黄芩酒炙环节进行细化,导致黄芩的酒炙终点判断模糊不清,不同厂家生产的酒黄芩质量差异较大。

黄芩苷因其邻二酚羟基结构,易随温度的升高而加速氧化降解进程。本研究结果表明炒制时间是酒黄芩制备过程的关键环节,直接影响着酒黄芩的品质,其对黄芩苷含量影响显著,对黄芩素、汉黄芩苷及汉黄芩素含量影响不明显,推测与后3种指标成分含量较少有关。在对其化学成分-药效活性相关性分析中发现,在选择4种指标成分中,黄芩苷为黄芩发挥抗炎活性的关键物质基础,能基本代表酒黄芩整体质量情况。黄芩酒炙过程中,黄芩苷含量呈先上升再下降的趋势,醇溶性浸出物含量和抗炎作用与之一致,表明炒制初期是黄芩渗透、黄芩苷积累的过程,黄芩片经黄酒闷后炒制体积膨胀,黄酒迅速、均匀地渗入黄芩片,使得有效成分的溶出度增加,从而提高黄芩中有效成分含量,但长时间炒制将导致黄芩苷含量下降,醇溶性浸出物含量、抗炎活性也随之下降,进而造成酒黄芩质量下降。

文火主要适用于酒炙、醋炙、蜜炙等中药炮制工艺^[12],2015年版《中国药典》将黄芩酒炙工艺规范为文火,本研究通过量化并控制黄芩酒炙过程温度为文火120℃,达到了酒炙过程质量可控的目的。研究发现炒制时间作为黄芩酒炙过程的关键环节,目前普遍依据传统经验判断其终点,炒制过程中发现炒制至传统判别终点时,质硬而脆、断面成色均一、气微香,略有焦斑,此时黄芩苷含量、醇溶性浸出物含量及含水率均已达到2015年版《中国药典》的标准,但酒黄芩此时尚未达到其有效成分含量、醇溶性浸出物含量和抗炎活性的最大值,表明传统经验判别与现代质量评价之间存在略微差异。针对黄芩酒炙,目前鲜有关于酒炙过程中有效成分含量及药效活性动态变化规律方面的研究。黄芩酒炙过程中质量动态变化的影响因素众多,而本研究深入探究炒制时间对黄芩酒炙过程的影响,其他因素对黄芩酒炙过程中有效成分含量及药效活性影响的动态变

化规律还有待深入研究。

中药质量控制要在继承传统中医药理论的基础上,实行多指标综合评价,多环节过程控制,形成中药饮片生产全过程可控、质量信息可追溯的中药饮片标准和评价体系,全面控制中药饮片质量。本研究着眼于黄芩炮制过程,对黄芩酒炙工艺中的炒制环节进行系统研究,考察主要指标性成分含量变化,构建RAW264.7细胞炎症模型,运用计量学方法将化学成分-药效活性进行相关性分析,探索黄芩酒炙炮制的传统经验判别和现代质量评价之间的相关性,明确最佳炒制时间,为酒黄芩加工的规范化、标准化提供示范和参考。

[参考文献]

- [1] 李琦,章军,崔文金,等. 黄芩饮片标准汤剂的制备和质量标准评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(7):36-40.
- [2] 郑勇凤,王佳婧,傅超美,等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药,2016,38(1):141-147.
- [3] 王沛明,陈文,孟宪丽. 黄芩有效成分在炎症通路中的作用靶点研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(17):193-197.
- [4] 宁宏. 黄芩黄酮类化学成分药理研究新进展[J]. 内蒙古中医药,2013,32(15):142-143.
- [5] 祝双来,黄洪林. 黄芩黄酮类化合物抗炎作用机制研究进展[J]. 江西中医药大学学报,2010,22(3):97-100.
- [6] 苏慧,霍雨佳,扶垭东,等. 基于HPLC和HSGC结合的黄芩酒制前后饮片特征图谱表征[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(2):14-18.
- [7] 郑学威. 黄芩的炮制与临床效用分析[J]. 上海中医药杂志,2013,47(9):65-73.
- [8] 杨云,万焱,闻永举,等. 黄芩及其炮制品的HPLC图谱对比研究[J]. 化学世界,2007,48(1):14-15.
- [9] 黄琪,张村,吴德玲,等. 酒黄芩炮制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(10):364-369.
- [10] 伍振峰,郑琴,杨明,等. 中药制剂质量控制的方法模式分析与研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(9):1332-1336.
- [11] 单镇. 谈中药炮制传统经验“三看”[J]. 微创医学,1991(1):55-58.
- [12] 陈楚明. 非接触在线式红外测温技术在中药炒制中的应用研究[D]. 成都:成都中医药大学,2008.

[责任编辑 刘德文]