

狗脊蒸后切与切后蒸工艺的比较

赵敏杰, 徐钢, 鞠成国, 赵文龙, 张凡, 林桂梅, 贾天柱*

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁大连 116600)

[摘要] **目的:**比较狗脊的不同炮制工艺并优选其蒸制工艺。**方法:**采用 HPLC 测定原儿茶酸、原儿茶醛含量, 流动相甲醇-1% 冰乙酸(5:95), 检测波长 280 nm。以原儿茶酸、原儿茶醛含量的综合评分为指标, 比较鲜药材蒸后切片、切片烘干润蒸、蒸制、放置氧化后蒸制等工艺, 确定合理的炮制方法; 通过正交试验考察浸润时间、蒸制时间、闷润时间对狗脊鲜片烘干润蒸工艺的影响。**结果:**选择鲜狗脊切片烘干后润蒸的炮制方法, 其最佳炮制工艺为生狗脊片室温浸润 1 h, 武火蒸制 4 h, 熄火闷润 4 h; 原儿茶酸、原儿茶醛质量分数分别为 1.561, 0.107 mg·g⁻¹。**结论:**优选的蒸制工艺节时、节能, 合理可行, 为狗脊的产地加工提供参考。

[关键词] 狗脊; 原儿茶酸; 原儿茶醛; 蒸切制工艺

[中图分类号] R283.6; R283.1; R283.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0008-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014190008

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140819.0925.010.html>

[网络出版时间] 2014-08-19 9:25

Comparison of Different Processing Technologies of Steamed Cibotii Rhizoma

ZHAO Min-jie, XU Gang, JU Cheng-guo, ZHAO Wen-long, ZHANG Fan, LIN Gui-mei, JIA Tian-zhu*

(School of Pharmacy, Chinese Materia Medica Processing Engineering Center of Liaoning Province, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To compare different processing technoligis of steamed Cibotii Rhizoma and optimize its steaming process. **Method:** HPLC was employed to determine contents of protocatechuic acid and protocatechuic aldehyde with mobile phase of methanol-1% acetic acid (5:95) and detection wavelength at 280 nm. Taking composite score of contents of protocatechuic acid and protocatechuic aldehyde as indicator, compare among processing technologies of cutting after whole steamed, steaming after freshly cut, steaming after drying the fresh slices, steaming after the fresh slices heavily oxidized and so on. Then orthogonal design was adopted to optimize steaming process with infiltration time, steaming time and moistening time as factors. **Result:** It is reasonable processing method to be steamed after drying the fresh slices, optimal processing technology was as following: infiltrated 1 h at ambient temperature, steamed by high-heat steam for 4 h and then moistened for 4 h; mass fractions of protocatechuic acid and protocatechuic aldehyde were 1.561, 0.107 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion:** This optimized processing technology is reasonable and practical, which can provide a reference for processing in produciton place of Cibotii Rhizoma.

[Key words] Cibotii Rhizoma; protocatechuic acid; protocatechuic aldehyde; steaming-cutting process

狗脊始载于《神农本草经》, 具有祛风湿、补肝肾、强腰膝的功效, 用于治疗风湿痹痛、腰膝酸软、下

[收稿日期] 20140314(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973938)

[第一作者] 赵敏杰, 在读硕士, 从事中药炮制原理研究, Tel:13478479869, E-mail:13478479869@163.com

[通讯作者] * 贾天柱, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制原理研究, Tel:0411-89856135, E-mail:jiatzh@126.com

肢无力^[1]。其炮制方法首见于《雷公炮炙论》^[2]，“凡修事，细剉了，酒拌，蒸，从巳至申，出，晒干用”，即切后酒拌蒸。2010年版《中国药典》和1988年版《全国中药炮制规范》均记载了生狗脊片和熟狗脊片，熟狗脊片的炮制方法为蒸后晒至六、七成干，切厚片，干燥，即蒸后切。1988年版《全国中药炮制规范》记载的蒸狗脊制法为生狗脊片置于蒸笼内，用武火加热，蒸4~6 h，停火，闷6~8 h，取出，干燥，即切后蒸。狗脊蒸制后，可增强其补肝肾、强腰膝的作用^[3]，但蒸制工艺有先蒸后切和先切后蒸之别，二者的区别尚未见报道。目前狗脊的主流炮制方法为砂烫，亦有关于酒蒸狗脊工艺的报道，前期研究发现砂烫狗脊和酒蒸狗脊均能通过促进成骨细胞增殖起到抗骨质疏松的作用^[4-7]。为弄清鲜狗脊蒸后切和切后蒸的区别，本实验以原儿茶酸和原儿茶醛含量为综合评价指标，通过比较不同狗脊样品的蒸制工艺以确立合理的炮制方法，利用正交试验优选蒸制狗脊的工艺参数，为该药材的质量控制提供参考。

1 材料

e2695-2998型高效液相色谱仪(美国Waters公司),AE240型1/10万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FA1004B型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),DFT-100型高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司)。

鲜狗脊采自广西河池,经辽宁中医药大学王冰教授鉴定为蚌壳蕨科植物金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的根茎;原儿茶酸、原儿茶醛对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110809-200604,110810-201007),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 狗脊炮制品的制备 取3根新鲜采挖的狗脊,去除残留须根、叶柄残基、泥沙等杂质^[8]。将每根狗脊药材趁鲜切成两段,其中一段用于制备样品a;另外一段鲜狗脊切成0.3 cm的片^[9](鲜狗脊片),以保证每次整体试验的比较均来自同一根狗脊。取其中一段鲜狗脊整个蒸制24 h至黑透为宜,闷润12 h后晒至六、七成干,切厚片,50℃干燥,得样品a;取鲜狗脊片100 g,置于50℃烘箱内烘干,取出,室温放置2 h,加水30 mL浸润,润透后置适宜容器内武火蒸制4 h,取出后放入烘箱内50℃烘干,得样品b;取鲜狗脊片100 g,置适宜容器内,武火蒸制4 h,闷润4 h,放入烘箱内50℃烘干,得样品c;取鲜狗脊片100 g,置空气中放置12 h,武火蒸制4 h,闷

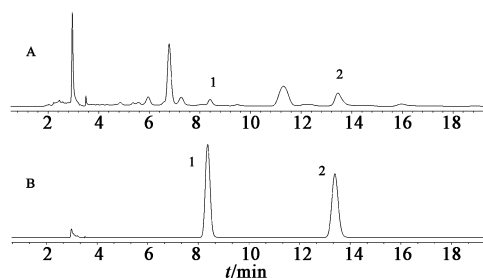
润4 h,放入烘箱内50℃烘干,得样品d;取鲜狗脊片100 g,50℃烘干后加水30 mL润透,放入50℃烘箱内烘干,得样品e;取鲜狗脊片100 g,放入50℃烘箱内烘干,得样品f,即生片。烘干过程均是每隔1 h称定质量,直至恒重,以减小误差。

2.2 原儿茶酸和原儿茶醛的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取原儿茶酸、原儿茶醛对照品12.18,15.49 mg,分别置于100 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,依次精密吸取15,1 mL置于100 mL和50 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,混匀,即得。精密吸取等量原儿茶醛和原儿茶酸对照品溶液,制成质量浓度分别为1.549,9.135 mg·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 称取各样品50 g,粉碎,过60目筛,各精密称取粉末约1 g,分别置具塞锥形瓶中,各精密加入甲醇-1%冰乙酸(70:30)混合液25 mL,称重,超声提取30 min,取出,放凉,称定质量,加上述混合液补足减失的质量,滤过,取续滤液过0.22 μm微孔滤膜,即得。

2.2.3 色谱条件 Agilent TC-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-1%冰乙酸(5:95),检测波长280 nm,流速1.0 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量10 μL,见图1。



A. 供试品;B. 对照品;1. 原儿茶酸;2. 原儿茶醛

图1 狗脊提取液 HPLC

2.2.4 线性范围考察 分别精密称取原儿茶酸、原儿茶醛对照品溶液0.5,1,4,8,10,12,14 μL,按2.2.3项下方法测定,以进样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,得回归方程依次为 $Y = 7.65 \times 10^5 X - 3.87 \times 10^3$ ($r = 0.9998$), $Y = 1.30 \times 10^7 X - 5.91 \times 10^3$ ($r = 0.9999$),线性范围分别为0.009135~0.25578,0.001549~0.04338 μg。

2.2.5 精密度试验 精密吸取对照品混合溶液,连续重复进样6次,按2.2.3项下方法测定,结果原儿茶酸和原儿茶醛峰面积积分值的RSD分别为0.61%,1.17%,说明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取同一批样品 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下方法测得原儿茶酸和原儿茶醛平均质量分数分别为 1.562, 0.109 mg·g⁻¹, RSD 分别为 2.17%, 1.29%, 说明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 20 h 进样,按 2.2.3 项下方法测定,结果原儿茶酸和原儿茶醛的峰面积积分值的 RSD 分别为 1.49%, 1.56%, 说明供试品溶液在 20 h 内基本稳定。

2.2.8 回收率试验 精密称取已知含量样品 0.5 g, 分别精密加入原儿茶酸对照品 0.78 mg 和原儿茶醛对照品 0.05 mg, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下方法测定,计算原儿茶酸、原儿茶醛平均加样回收率分别为 100.9%, 101.2%, RSD 依次为 1.48%, 2.05%, 说明本方法符合测定规定。

2.2.9 样品测定 以原儿茶酸 (Y) 和原儿茶醛 (Z) 为综合评价指标 (overall desirability, OD)^[10], 权重系数依次为 0.6, 0.4, OD = (0.6Y_i/Y_{max} + 0.4Z_i/Z_{max}) × 100。取 2.1 项下各样品,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.3 项下方法测定 ($\bar{x} \pm s$, n = 3), 结果样品 a, b, c, d, e, f 中原儿茶酸质量分数分别为 (1 371.9 ± 0.666 4), (1 445.8 ± 0.128 0), (1 235.7 ± 0.138 9), (891.8 ± 0.156 6), (150.4 ± 0.025 2), (154.0 ± 0.042 5) μg·g⁻¹, 原儿茶醛质量分数依次为 (96.74 ± 0.046 4), (95.90 ± 0.094 8), (92.88 ± 0.006 7), (81.56 ± 0.010 3), (56.61 ± 0.009 5), (6.82 ± 0.017 9) μg·g⁻¹。结果发现与样品 f 相比, 样品 a, b, c, d 中 2 个指标成分质量分数的综合评分均具有显著性差异, 而样品 e 则无显著性差异, 各样品的综合评分排序为样品 b > 样品 a > 样品 c > 样品 d > 样品 e > 样品 f, 即狗脊鲜片烘干后润蒸优于其他蒸制方法。

2.3 正交试验优选狗脊蒸制工艺 选择浸润时间、蒸制时间、停火后的闷润时间为考察因素^[3], 以 OD 为评价指标^[10], 取趁鲜切片后烘干的净狗脊片共 9 份, 每份 50 g, 置于适宜容器内, 加水 40 mL 浸润一定时间后, 放入蒸锅内武火蒸制, 停火后闷润, 取出放入烘箱内干燥, 按 L₉(3⁴) 正交表进行操作, 试验安排及结果见表 1, 方差分析见表 2。

由直观分析可知, 各因素对蒸制工艺的影响顺序为 A > C > B。方差分析表明因素 A, C 均具有统计学意义, 因素 B 则无统计学意义, 结合生产实际

考虑, 确定蒸狗脊的最佳炮制工艺为 A₂B₁C₂, 即室温浸润 1 h, 蒸制 4 h, 停火闷润 4 h。

表 1 狗脊蒸制工艺正交试验安排及直观分析

No.	A 浸润 时间 /h	B 蒸制 时间 /h	C 停火 闷润时间 /h	原儿茶酸 /mg·g ⁻¹	原儿茶醛 /mg·g ⁻¹	OD
1	0.5	4	0	1.031	0.132	72.22
2	0.5	5	4	1.268	0.110	88.68
3	0.5	6	8	0.986	0.083	67.84
4	1	4	4	1.563	0.110	99.92
5	1	5	8	1.388	0.096	87.99
6	1	6	0	1.149	0.107	82.76
7	2	4	8	1.088	0.086	72.87
8	2	5	0	0.918	0.097	70.35
9	2	6	4	1.073	0.095	75.72
K ₁	0.762	0.817	0.786			
K ₂	0.902	0.823	0.814			
K ₃	0.703	0.754	0.794			
R	0.172	0.069	0.130			

表 2 综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	503.351	251.675	39.943	<0.05
B	86.872	43.436	6.894	>0.05
C	311.151	155.576	24.691	<0.05
D(误差)	12.60			

注: F_{0.05}(2, 2) = 19。

2.4 验证试验 取 3 批生狗脊饮片样品, 每份 50 g, 按最佳炮制工艺进行验证试验, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.3 项下方法测得样品中原儿茶酸质量分数分别为 1.563, 1.561, 1.558 mg·g⁻¹, 原儿茶醛的质量分数依次为 0.110, 0.107, 0.105 mg·g⁻¹, 说明优选的炮制工艺稳定可行。

3 讨论

2010 年版《中国药典》收录的熟狗脊片是鲜狗脊药材蒸后切片, 1988 年版《全国中药炮制规范》中蒸狗脊片是用片润蒸而成的, 本文中样品 a 前者, 样品 b 相当于后者。结果发现鲜狗脊蒸后切片时饮片中原儿茶酸和原儿茶醛含量并不高, 且由于药材体积大, 不易蒸透, 费工又费时; 样品 b 即鲜片烘干后再润蒸的效果最好, 相当于市售饮片的润蒸, 可能与干燥加热时间有关, 因为加热利于原儿茶酸苷、原儿茶醛苷的转化; 结合测定结果和加工成本考虑, 狗脊切片后烘干蒸优于先蒸后切片者。预试验考察了狗脊药材的产地加工情况, 发现大多采用鲜片蒸制工艺 (样品 c), 但通过本文研究显示鲜片蒸制并不是最佳工艺。

在鲜药材切制过程中发现狗脊趁鲜切片后短时间内饮片的颜色由乳白色变为黑褐色,担心这可能会影响饮片的质量,故本文制备了样品 d。结果显示狗脊鲜片放置后原儿茶酸和原儿茶醛含量均有所降低,这可能与狗脊中酚类物质可发生酶促褐变反应有关,狗脊中含有的原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸等酚类化合物可经多酚氧化酶(PPO)氧化成醌类,醌类经聚合形成有色物质致使原儿茶酸和原儿茶醛的含量降低。代丽等^[11]研究发现通常 PPO 与底物被区域化分开,在质体中常以潜伏的状态存在,而 PPO 的底物存在于液泡中,只有当植物体内发生生理紊乱或组织受到损伤时,PPO 与底物的亚细胞区域化才被打破,底物被激活而产生黑色或褐色的沉积物,鲜片的细胞组织受到损伤,在空气中放置会发生酶促褐变反应,导致表面变为黑褐色。酶的活性随着温度的增高而增高,温度在 30~40℃ 时酶活性稳定,温度 >45℃ 后活性迅速下降,而鲜切片置 50℃ 烘干使 OPP 活性显著降低,使得生狗脊片保持原色。为了考察蒸制与否的差别,样品 e 和 f 均设计无蒸制过程,结果显示狗脊软化和 50℃ 烘干的过程中,指标性成分增长不及蒸制品,提示加热是主要因素。

前期试验考察了样品 a,b,c,d,e,f 干燥后的回收率,发现差别不大,均约 35%,只有冷冻干燥时狗脊的回收率仅约 25%。可能是由于 50℃ 的烘干方式仅可以去除鲜狗脊中自由水,而冷冻干燥方式同时还可以去除狗脊中结合水,并且干燥时每个样品均为每隔 1 h 进行称量直至恒重以减小误差,因此样品的回收率情况差别不大。

熟狗脊片加工方法成本高、质量差,且产地也鲜用此法,故建议《中国药典》去掉该工艺。而优化的鲜狗脊片烘干再润蒸工艺相当于市售干片润蒸,可使原儿茶酸和原儿茶醛含量相对增高,同时降低成

本,提高效率,保证质量,是值得推广的实用炮制工艺。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:95.
- [2] 雷敦. 雷公炮制论[M]. 尚志钧重辑. 合肥:安徽科技出版社,1991:46.
- [3] 国家药政管理局. 全国中药炮制规范[M]. 北京:人民卫生出版社,1988:71.
- [4] 鞠成国,曹翠香,史琳,等. 狗脊及其炮制品和狗脊毛的镇痛、止血作用研究[J]. 中成药,2005,27(11):1279.
- [5] 李军,王振海,王春田,等. 狗脊及其炮制品对佐剂性关节炎大鼠血液流变学的影响[J]. 中国中药杂志,2008,33(17):2170.
- [6] 王振海. 中药狗脊治疗肾虚佐剂性关节炎的实验研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2005.
- [7] 徐钢,裴启洋,鞠成国,等. CCK-8 法检测狗脊不同炮制品对成骨细胞的影响[J]. 中国中药杂志,2013,38(24):4319.
- [8] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2008:107.
- [9] 于海涛,章其,李慧,等. 狗脊切制工艺的考察[A]. 中华中医药学会中药炮制分会. 中华中医药学会中药炮制分会 2011 年学术年会论文集[C]. 中华中医药学会中药炮制分会,2011:5.
- [10] 解世全,鞠成国,贾天柱. 正交实验优选狗脊炮制工艺[A]. 中华中医药学会中药炮制分会、山东鼎立中药材科技有限公司. 中华中医药学会第六届中药炮制学术会议论文集[C]. 中华中医药学会中药炮制分会、山东鼎立中药材科技有限公司,2006:3.
- [11] 代丽,宫长荣,史霖,等. 植物多酚氧化酶研究综述[J]. 中国农学通报,2007,23(6):312.

[责任编辑 刘德文]

欢迎投稿

欢迎订阅