

正交试验优选酒白芍的炮制工艺

胡雨¹, 金传山^{1,2*}, 张伟¹, 沈肖晶¹

(1. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012; 2. 安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 合肥 230012)

[摘要] 目的: 优选酒白芍的炮制工艺, 为该药材的临床用药提供参考。方法: 采用 HPLC 测定芍药苷含量, 流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (14: 86), 检测波长 230 nm。以外观性状及芍药苷、水溶性浸出物含量为综合评价指标, 通过正交试验法考察黄酒用量、酒炙温度、酒炙时间对酒白芍炮制工艺的影响。结果: 最佳炮制工艺条件为黄酒用量 10%, 酒炙温度 90 ℃, 酒炙时间 15 min。酒白芍呈微黄色, 微有酒香味, 芍药苷及水溶性浸出物质量分数分别为 3.79%, 37.51%。结论: 外观性状是中药饮片质量标准评价的重要指标之一。通过综合评分法优选的炮制工艺稳定可行, 适用于酒白芍的工业化生产。

[关键词] 酒白芍; 芍药苷; 水溶性浸出物; 外观性状; 综合评分法

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0045-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010045

Optimization of Processing Technology of Wine Paeoniae Radix Alba by Orthogonal Test HU Yu¹, JIN Chuan-shan^{1,2*}, ZHANG Wei¹, SHEN Xiao-jing¹ (1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2. Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality, Hefei 230012, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology of wine Paeoniae Radix Alba and provide a reference for clinical medication of this herb. **Method:** HPLC was employed to determine the content of paeoniflorin with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (14: 86) and detection wavelength of 230 nm. Taking appearance, contents of paeoniflorin and water-soluble extract as comprehensive evaluation index, orthogonal test was adopted to investigate effects of the dosage of yellow rice wine, temperature and time on processing technology. **Result:** The best processing conditions were 10% dosage of yellow rice wine, processing temperature of 90 ℃ and processing time of 15 min. Wine Paeoniae Radix Alba was slightly yellowish with slightly wine aroma, mass fractions of paeoniflorin and water-soluble extract were 3.79% and 37.51%, respectively. **Conclusion:** Appearance is an important index for evaluation of quality criteria of Chinese medicine pieces. This optimized processing technology is stable, feasible and applicable to industrial production of wine Paeoniae Radix Alba through comprehensive scoring method.

[Key words] Paeoniae Radix Alba processed with wine; paeoniflorin; water-soluble extract; appearance; composite score

白芍为安徽省地道药材, 味苦、涩, 具有养血调经、平肝止痛、敛阴止汗等作用^[1-2], 临床多用于眩晕、头痛、腹痛、血虚萎黄、月经不调、自汗、盗汗等证^[1], 主要化学成分有芍药苷、芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷、苯甲酰羟基芍药苷、苯甲酸等^[3-4], 其中芍药苷具有扩张冠状动脉、抗急性心肌缺血、降低血

压、抑制血小板聚集等作用^[5-7]。白芍临床生用具有平肝止痛、养血敛阴的功效, 酒炙后, 酸寒之性降低, 常用于和中缓急、止痛, 产后腹痛尤须酒炙^[8-9]。2010年版《中国药典》对白芍酒炙工艺的描述较简单, 缺少可控的工艺参数, 以致酒白芍的质量参差不齐, 难于保证。关于酒白芍炮制工艺研究的文献多

[收稿日期] 20141011(013)

[基金项目] 国家科技部“十二五”支撑计划项目(2011BAI04B05); 国家国际科技合作专项项目(2011DFA31950)

[第一作者] 胡雨, 在读硕士, 从事中药加工工艺与中药质量控制研究, Tel: 15256001739, E-mail: 1101753876@qq.com

[通讯作者] * 金传山, 硕士, 教授, 从事中药加工工艺与中药质量控制, Tel: 13355512699, E-mail: jcs4@sohu.com

选择芍药苷为评价指标,缺少对炮制品外观性状的描述。本实验以外观性状、芍药苷、水溶性浸出物为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计考察黄酒用量、酒炙温度和时间对酒白芍炮制工艺的影响,为酒白芍饮片的标准化、产业化生产提供参考。

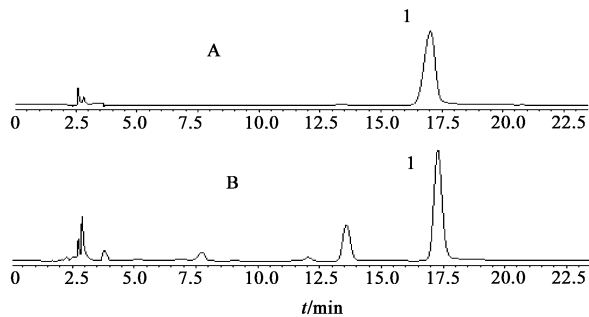
1 材料

LC-15C型高效液相色谱仪(日本岛津公司),FA2004型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),202-2型电热恒温干燥箱(上海实验仪器有限公司),HL-200A型打粉机(上海塞耐机械有限公司),Milli-Q Advantage A10型一体式超纯水器(美国密理博公司)。白芍饮片购自安徽协和成药业饮片有限公司,经安徽中医药大学刘守金教授鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* 的干燥根;黄酒(海神黄酒集团有限公司),芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号110736-201136)。甲醇、乙腈为色谱纯,水为自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 芍药苷的含量测定^[2]

2.1.1 色谱条件及系统适用性试验 Diamonsil C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m),流动相乙腈-0.1%磷酸水溶液(14:86),检测波长230 nm,流速1.0 mL · min⁻¹,柱温30 $^{\circ}$ C,进样量20 μ L。理论塔板数按照芍药苷峰计算 >3 000,见图1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 芍药苷

图1 白芍 HPLC

Fig. 1 HPLC of *Paeoniae Radix Alba*

2.1.2 对照品溶液的制备 精密取芍药苷对照品3.95 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀;精密量取1 mL至5 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取白芍粉末(过4号筛)0.1 g,置于50 mL量瓶中,加入稀乙醇35 mL,于45 Hz,240 W超声处理30 min,放冷,加稀乙醇定容至刻度,摇匀、滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密称取芍药苷对照品

3.95 mg至25 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,得储备液。精密量取储备液1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,按2.1.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标^[10],得回归方程 $Y = 2.3 \times 10^7 X + 40\ 098$ ($r = 0.999\ 6$),线性范围0.316 ~ 3.16 μ g。

2.1.5 精密度试验 精密吸取芍药苷对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件连续进样6次,计算芍药苷峰面积的RSD 1.2%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 精密称取白芍粉末6份,每份约0.1 g,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件测定,计算芍药苷峰面积的RSD 1.1%,表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于0,3,6,9,12,15 h按2.1.1项下色谱条件进样,计算芍药苷峰面积的RSD 0.4%,表明供试品溶液在15 h内稳定性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取酒白芍粉末6份,每份样品中芍药苷质量约1.72 mg,各精密加入芍药苷对照品1.579 mg,按2.1.3项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件测定,计算平均加样回收率99.94%,RSD 0.2%,表明该方法准确度良好。

2.2 水溶性浸出物的测定 精密称取白芍样品粉末约3 g,按《中国药典》2010年版(一部)附录XA热浸法测定水溶性浸出物的含量。

2.3 正交试验 在单因素试验及参考有关文献^[6,11]的基础上,选择黄酒用量、酒炙温度及时间为考察因素,称取生白芍9份,每份1 kg,以酒白芍外观性状及芍药苷、水溶性浸出物含量为综合评价指标^[12],采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选酒白芍的炮制工艺。2010年版《中国药典》及2005年版《安徽省中药饮片炮制规范》酒白芍性状项下描述为酒白芍形如白芍片,表面微黄色,有的可见焦斑,微有酒香气。按正交设计炒制白芍,发现处于温度及时间低水平组制得的酒白芍颜色多较淡,而处于温度及时间中、高水平组制得的酒白芍颜色多较深。确定评分:类白色,计0.4分;焦黄色,计0.6分;黄色,计0.8分;微黄色,计1.0分。无酒香味,计0.6分;有酒香味,计0.8分;微有酒香味,计1.0分。芍药苷是白芍中主要有效成分,权重系数拟定0.6;外观性状是传统意义上中药饮片的质量标准,是影响中药饮片质量的重要因素,故将其列为指标之一^[13];中药常通过水煎煮服用,主要用其水溶性部位,且酒白芍水溶性

浸出物是 2010 年版《中国药典》要求的测定项,故将其作为酒白芍工艺优选的评价指标是十分合理

的,外观性状及水溶性浸出物的权重系数均为 0.2。试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。

表 1 酒白芍炮制工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of processing technology of *Paoniae Radix Alba* by wine

No.	A 黄酒用量/%	B 温度/℃	C 时间/min	D (空白)	外观性状	外观性状 评分	芍药苷 /%	水溶性浸 出物/%	综合 评分
1	5	60	5	1	类白色,无酒香味	1.000	3.17	21.38	7.114
2	5	90	10	2	微黄色,无酒香味	1.600	3.62	29.78	8.867
3	5	120	15	3	焦黄色,无酒香味	1.200	3.55	25.74	8.142
4	10	60	10	3	微黄色,有酒香味	1.800	3.52	31.59	9.006
5	10	90	15	1	微黄色,微有酒香味	2.000	3.82	37.68	10.000
6	10	120	5	2	焦黄色,微有酒香味	1.600	3.35	24.76	8.176
7	15	60	15	2	微黄色,有酒香味	1.800	3.55	28.58	8.893
8	15	90	5	3	类白色,有酒香味	1.200	3.48	27.97	8.151
9	15	120	10	1	黄色,有酒香味	1.600	3.56	26.81	8.615

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

因素	SS	MS	F	P
A	1.56	0.78	22.29	<0.05
B	0.93	0.47	13.29	>0.05
C	2.50	1.25	35.71	<0.05
D(误差)	0.07	0.04	1.00	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素对酒白芍炮制工艺的影响顺序为 $C > A > B$ 。方差分析表明因素 A, C 对炮制工艺具有显著性影响, B 因素则无显著性影响。另芍药苷受热不稳定^[14], 酒炙温度不易过高, 故选择酒白芍的最佳炮制工艺为 $A_2B_2C_3$, 即取净生白芍片 1 kg, 用 10% 黄酒拌匀, 闷润, 待黄酒被吸尽后, 置热锅内, 于 90 ℃ 炒 15 min, 取出晾凉即可, 制得样品呈微黄色, 微有酒香味。

2.4 验证试验 取净生白芍片 1 kg, 按优选的炮制工艺制备酒白芍样品 3 份, 结果样品均为微黄色, 微有酒香味。芍药苷质量分数分别为 3.84%, 3.75%, 3.78%; 水溶性浸出物质量分数分别为 37.65%, 37.03%, 37.84%, 表明该工艺稳定、重复性良好。

3 讨论

研究过程中发现, 酒白芍炒至微黄色、黄色、焦黄色时, 芍药苷的平均质量分数分别为 3.63%, 3.56%, 3.45%, 水溶性浸出物的平均质量分数分别为 31.91%, 26.81%, 25.25%。表明酒白芍中芍药

苷和水溶性浸出物质量分数均随饮片颜色变深而显著降低。可能是因为酒白芍在炒制过程中, 随着炒制温度的不断升高与炒制时间的延长, 饮片颜色变深的同时, 芍药苷受热不稳定^[14]而被破坏, 导致其含量呈降低趋势。

酒白芍炒至微黄色, 微有酒香味时, 其芍药苷和水溶性浸出物质量分数均较高, 质量相对较好, 与酒白芍传统的外观性状表述相一致, 说明外观性状评价是中药饮片质量标准之一的重要性, 是单一化学成分及化学部位不能代替的评价标准^[13]。

邹红等^[6]通过试验筛选出酒白芍的最佳炮制条件为加酒量 5%, 温度控制 90 ℃, 炒制时间 10 min。许志等^[15]以微波强度和加热时间为考察因素, 优选的酒白芍微波炮制工艺为用中低火加热 3 min。本文以综合评价指标代替以往的单一指标优选酒白芍的炮制工艺, 其结果更具客观性和适用性。

白芍苦、酸, 性微寒, 酒炙后降低了生品的酸寒之性, 擅长于和中缓急、止痛, 产后腹痛尤须酒炙^[8]。此外, 中医临床认为白芍酒炙后偏于养血活血, 血虚兼寒凝血瘀之症最宜。通过比较白芍酒炙前后的药效变化发现^[16], 白芍生品与黄酒炙品均能明显延长小鼠出血时间, 且黄酒炙品较生品作用更强, 黄酒炙品的抗凝血作用强于生品; 生品与酒炙品均有镇痛作用, 但镇痛作用黄酒炙品 > 生品; 与中医临床应用相一致。然而, 白芍酒炙后, 止痛的活性成分——芍药苷含量降低^[17], 可能原因是白芍酒炙后产生了新的具有止痛活性的成分, 或通过酒炙, 可能

使白芍的其他止痛活性成分易于溶出有关;另外,中医临床用白芍止痛,多通过辨证用药与复方配伍用药,达止痛效果,有关白芍酒炙后的止痛物质基础还需进一步深入研究证实。

[参考文献]

[1] 高学敏. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2010:463-464.
[2] 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,2010:96-97.
[3] 王巧,刘荣霞,毕开顺,等. HPLC法测定白芍总苷胶囊中芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷[J]. 中草药,2005,36(11):1630-1632.
[4] 刘鹰翔,马玉卓. 白芍的化学成分与药理研究进展[J]. 中草药,1995,26(8):437-440.
[5] 王甫成,时维静,汪翠妮. 不同加工方法对亳白芍中芍药苷及水溶性浸出物含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):75-78.
[6] 邹红,许腊英,杨帆,等. HPLC法筛选酒炙白芍的最佳炮制条件[J]. 湖北中医杂志,2009,31(4):58-59.
[7] 吴菡子. 白芍的药理研究与临床应用[J]. 中国医院药学杂志,1998,18(4):172-173.
[8] 丁安伟. 中药炮制学[M]. 北京:高等教育出版社,2007:181-182.

[9] 刘思静,金传山,吴德玲,等. 白芍不同炮制品化学成分含量比较[J]. 亚太传统医药,2013,9(5):41-43.
[10] 金传山,蔡一杰,吴德玲. 不同采收期亳白芍中芍药苷与白芍总苷的含量变化[J]. 中药材,2010,33(10):1548-1550.
[11] 安徽省食品药品监督管理局. 安徽省中药饮片炮制规范[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2006:113-114.
[12] 张婕,金传山,吴德玲,等. 正交试验法优选黄精加压酒蒸工艺研究[J]. 安徽中医药大学学报,2014,33(1):72-74.
[13] 李群,王瑾,张会敏. 正交试验法优选桑白皮蜜炙工艺[J]. 中草药,2013,44(3):286-290.
[14] 黄夏敏,彭中芳. 白芍在中成药生产过程中芍药苷含量变化的研究[J]. 中药新药与临床药理,1998,9(4):236-237.
[15] 许志,孟凡胜. 微波法炮制酒白芍工艺的实验研究[J]. 时珍国医国药,2002,13(2):82-83.
[16] 杨帆,许腊英. 酒白芍的炮制工艺、质量控制及其药效学研究[D]. 武汉:湖北中医学院,2008.
[17] 刘素香,黎阳,丰晶,等. 不同炮制方法对白芍质量的影响[J]. 药物评价研究,2010,33(2):125-128.

[责任编辑 刘德文]

《中国中药杂志》2015年征订启事

《中国中药杂志》创刊于1955年7月,是由中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中医药学术期刊,在国际国内医药学领域内具有广泛影响。位居中国中文核心期刊、中国科技核心期刊“双核心”首位。曾荣获第三届国家期刊奖百种重点期刊、国家新闻出版广电总局“中国百强报刊”,以及历届国家中医药管理局全国优秀中医药期刊评比一等奖、百种中国杰出学术期刊、中国精品科技期刊等奖项。在国际上被 Medline, Scopus 等国外十余家著名数据库收录。全面反映我国中药与天然药物学科领域最新进展与研究动态。主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、临床等专业。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、民族药、学术探讨、药事管理等栏目。主要读者对象为各级管理部门、科研院所、大专院校、工厂企业以及医院等从事中医药科研、管理、生产、医院制剂及临床等方面的人员。

2015年本刊每期定价为50元,208页,全年定价1200元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。欢迎广大读者到本编辑部或当地邮局订阅,邮发代号2-45。本刊地址:北京东直门内南小街16号;邮政编码100700;电子信箱 cjcmm2006@188.com;联系方式详见中国中药杂志网站 www. cjcmm. com. cn