

白花丹炮制工艺考察

刘鼎¹, 钟鸣², 余胜民², 陈勇^{3*}

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023; 2. 广西民族医药研究院, 南宁 530001;
3. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的:优化白花丹炮制工艺,为该药材的临床安全应用提供参考。方法:以白花丹醌、香草酸含量的综合评分为指标,通过正交试验考察炮制时间、白酒用量、乙醇体积分数对白花丹炮制工艺的影响。采用HPLC测定白花丹醌及香草酸含量,流动相甲醇-0.15%磷酸梯度洗脱,检测波长260 nm。结果:最佳酒炙炮制工艺为白酒用量 $0.2\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$,炮制时间45 min,乙醇体积分数12%。白花丹醌、香草酸质量分数分别为0.013 0%,0.019 3%。结论:优选的工艺条件稳定可行、方法简便,可用于白花丹的质量控制与酒炙品制备。

[关键词] 白花丹; 白花丹醌; 香草酸; 酒炙工艺

[中图分类号] R283.3;R284.1;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)16-0019-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015160019

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150702.1012.007.html>

[网络出版时间] 2015-07-02 10:12

Optimization of Processing Technology of *Plumbago zeylanica* LIU Ding¹, ZHONG Ming², YU Sheng-min², CHEN Yong^{3*} (1. *The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China*; 2. *Guangxi Institute of Minority Medicine, Nanning 530001, China*; 3. *School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China*)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology of *Plumbago zeylanica*. **Method:** With composite score of content of plumbagin and vanillic acid as index, orthogonal test was adopted to optimize processing technology of *P. zeylanica* by taking processing time, the amount of liquor and ethanol concentration as factors. Contents of plumbagin and vanillic acid were determined by HPLC, mobile phase was methanol -0.15% phosphoric acid for gradient elution, detection wavelength was 260 nm. **Result:** The best processing technology of *P. zeylanica* was: processing time of 45 min, liquor dosage of $0.2\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, ethanol concentration of 12%. Contents of plumbagin and vanillic acid were 0.013 0% and 0.019 3%, respectively. **Conclusion:** This process is stable, feasible and suitable for quality control of *P. zeylanica* and preparation of its processed product with wine.

[Key words] *Plumbago zeylanica*; plumbagin; vanillic acid; wine processing technology

白花丹又名白雪花、山坡苘、白花岩陀等,广泛生长在东南亚及我国四川、福建、广东等地^[1-3]。其一般以全草入药,在民间有广泛的应用基础,是瑶族民间的常用特色药材,主要用于治疗皮肤病、风湿关节疼痛、骨质增生、跌打损伤、妇女痛经等。研究表

明白花丹的根、茎、叶、花均可入药使用^[4-6],化学成分包括 β -谷甾醇、香草酸、白花丹醌、白花丹酸等^[7-8]。但该药材有毒性,皮肤与其液汁接触会引起红肿、脱皮,误食后会出现麻痹、孕妇流产,家畜误食则会引起泻下^[9]。临床应用常通过久煎2~4 h

[收稿日期] 20141002(002)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI27B06-4);广西中药药效研究重点实验室自主研究课题(10-046-04-Z8);广西自然科学基金创新研究团队项目(2011GXNSFF018006)

[第一作者] 刘鼎,硕士,药师,从事药物质量控制方法研究,Tel:15878179007,E-mail:838201918@qq.com

[通讯作者] *陈勇,教授,硕士生导师,从事中药质量分析研究,Tel:18978947922,E-mail:ey6381@163.com

来达到减毒效果^[10],使用不方便且耗时过多。

白花丹醌为白花丹的主要成分,具有抗菌、抗白血病、抗癌(肝癌)等活性^[11-13],该成分在体内外均有毒性^[14],较高浓度的白花丹醌会造成严重皮肤灼伤和眼损伤。此外,香草酸有抗细菌和抗真菌作用,还具有抗炎活性^[10]。结合白花丹的药效和民间用药习惯,可确定香草酸和白花丹醌是该药材的主要药理活性成分,其中白花丹醌也是白花丹的毒性成分。根据中药炮制学方法与原理,选择酒炙法对白花丹进行炮制,以达到减毒增效的目的^[15]。本实验以白花丹醌和香草酸含量为综合评价指标,通过正交试验优化白花丹的炮制工艺,为该药材的合理使用提供参考。

1 材料

1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),SPQ 型电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。白花丹醌、香草酸对照品(美国 Sigma 公司,批号分别为 081M1635V, BCBF7869V, 纯度均为 97%),白酒(南宁军正酒厂,乙醇体积分数 52%),水为超纯水,甲醇、磷酸为色谱纯。白花丹药材购于广西金秀,经广西中医药大学蔡毅教授鉴定为蓝雪科植物白花丹 *Plumbago zeylanica* 的全草。

2 方法与结果

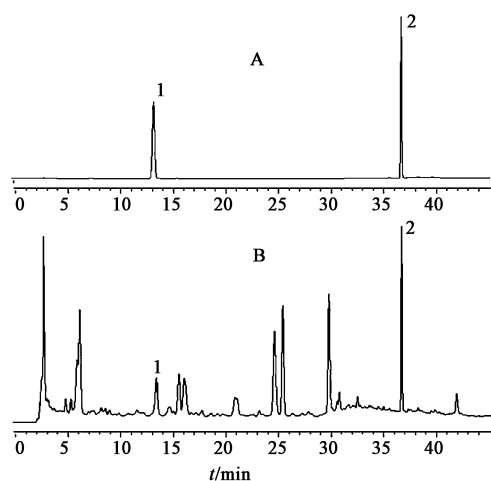
2.1 白花丹醌及香草酸的含量测定

2.1.1 色谱条件 Diamonsil-2 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-0.15% 磷酸(B)梯度洗脱(0 ~ 25 min, 20% ~ 45% A; 25 ~ 37 min, 45% ~ 80% A),柱温 35 °C,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 10 μL,检测波长 260 nm,见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取白花丹醌对照品约 2.0 mg,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,作为母液;精密量取母液 1 mL,用甲醇定容至 10 mL 量瓶中,得 20.2 mg·L⁻¹ 对照品溶液。精密称取香草酸对照品约 2.0 mg,加甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中,作为母液;精密量取母液 1 mL,用甲醇定容至 10 mL,得 19.9 mg·L⁻¹ 对照品溶液。精密量取白花丹醌、香草酸对照品母液各 0.5 mL,置于 1 mL 量瓶中,混匀,得混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取白花丹粗粉 2.0 g,精密加入甲醇 25 mL,于 70 °C 回流提取 1 h,放冷,用甲醇补足减失的质量,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密量取 2.1.2 项下白花



A. 对照品; B. 供试品; 1. 香草酸; 2. 白花丹醌

图 1 白花丹 HPLC

Fig. 1 HPLC of *Plumbago zeylanica*

丹醌对照品母液 0.05, 0.2, 0.4, 0.5, 1.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得系列对照品溶液,按 2.1.1 项下方法测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 39.63X + 13.51$ ($r = 0.9998$),线性范围 10.1 ~ 202.0 μg。精密量取 2.1.2 项下香草酸对照品母液,按上述方法制备系列对照品溶液,按 2.1.1 项下方法测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 38.54X - 13.85$ ($r = 0.9998$),线性范围 9.95 ~ 199.00 μg。

2.1.5 精密度试验 精密吸取混合对照品适量,按 2.1.1 项下方法连续进样 6 次,计算白花丹醌、香草酸峰面积的 RSD 分别为 0.9%, 1.2%。表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取 2.1.2 项下混合对照品溶液,按 2.1.1 项下方法分别于 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 进样,计算白花丹醌、香草酸含量的 RSD 分别为 1.2%, 0.5%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 精密称取白花丹干药材粗粉 5 份,每份 2 g,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下方法测定,计算白花丹醌、香草酸平均质量分数分别为 0.0307%, 0.0124%, RSD 依次为 1.7%, 1.9%。表明本方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 5 份,每份约 1 g,分别加入一定量白花丹醌对照品和香草酸对照品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下方法测定,计算白花丹醌平均回收率分别为 99.25%, 99.73%, RSD 依次为 1.0%, 1.4%。

2.2 炮制工艺优选 通过单因素试验对炮制工艺影响较大的白酒用量、炒制时间、乙醇体积分数等因素进行考察,发现当白酒用量 5 ~ 15 mL,炒制时间 10 ~ 40 min,乙醇体积分数 12% ~ 40% 时,白花丹药材指标成分含量变化较大。取干药材 9 份,每份 50 g,边加药材边均匀喷洒白酒(用喷雾瓶均匀喷洒),盖好,闷润 60 min。选取白酒用量、炒制时间、乙醇体积分数为考察因素,文火翻炒,炒至药材微黄,关火,放凉,筛除杂质,剩余的药材存储备用。采

用综合加权评分法确定最佳炮制工艺^[16-17],白花丹醌、香草酸质量分数的权重系数分别为 60% 和 40%,打分方法是白花丹醌含量越少越好,香草酸含量越高越好。试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。由直观分析可知,各因素对炮制工艺的影响顺序为 $B > C > A$ 。方差分析表明因素 B 对炮制工艺具有显著性影响,因素 A 和 C 则均无显著性影响,确定最佳工艺组合 $A_2B_3C_1$,即炒制乙醇用量 10 mL,炮制时间 45 min,乙醇体积分数 12%。

表 1 白花丹炮制工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis for processing technology of *Plumbago zeylanica*

No.	A 白酒用量/mL	B 炒制时间/min	C 乙醇体积分数/%	D(空白)	白花丹醌/%	香草酸/%	综合评分/分
1	5	15	12	1	0.028 0	0.012 1	47.80
2	5	30	27	2	0.019 2	0.015 5	65.94
3	5	45	40	3	0.014 4	0.021 2	88.86
4	10	15	27	3	0.031 2	0.014 4	49.11
5	10	30	40	1	0.023 0	0.016 9	62.00
6	10	45	12	2	0.012 4	0.019 9	94.91
7	15	15	40	2	0.026 7	0.013 6	52.04
8	15	30	12	3	0.020 5	0.016 2	64.71
9	15	45	27	1	0.015 1	0.022 8	89.27

表 2 综合评分方差分析

Table 2 ANOVA of comprehensive score

方差来源	SS	F	P
A	2.60	0.076	>0.05
B	2 641.17	77.110	<0.05
C	3.56	0.104	>0.05
D(误差)	34.25		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

2.3 验证试验 取药材 9 份,每份 50 g,分别编号 1 ~ 9,1 ~ 3 号不进行炮制,4 ~ 6 号按综合评分最低方法处理,7 ~ 9 号按综合评分最高方法处理。按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下方法测定白花丹醌及香草酸含量。结果不炮制组的白花丹醌、香草酸平均质量分数分别为 0.031 0%, 0.012 4%,综合评分最高组的白花丹醌、香草酸平均质量分数分别为 0.013 0%, 0.019 3%,综合评分最低组的白花丹醌、香草酸平均质量分数分别为 0.027 5%, 0.012 4%。相对于不炮制组,综合评分最高组样品中白花丹醌有较大幅度降低,同时香草酸含量有一定程度增加,达到了减毒增效的目的,说明优选的炮制工艺稳定可行。

3 讨论

传统炮制中酒炙一般采用黄酒和白酒,且以黄酒居多^[18-19]。考虑到市场上黄酒无统一标准,不同厂家生产工艺、乙醇含量、辅料都有一定差别,实验初期对黄酒、相应度数的白酒炮制品进行对比,以白花丹醌及香草酸含量为考察指标,发现不同酒对炮制品的影响无显著性差异,为了减少变量及其他一些未知因素的影响,本文全部使用白酒,按要求配制乙醇至相应体积分数。

白花丹有毒性,主要毒性成分为白花丹醌,传统久煎及酒制都是通过降低白花丹醌的含量以达到减毒目的,本文以降低白花丹醌含量较大的炮制方法作为最优工艺,但药材的药效与毒性强弱还需结合药理学和毒性学试验进行综合评价。通过引入白花丹醌及香草酸含量指标来评价白花丹的炮制工艺,相对单个成分的评价更为合理。很多药材需通过久煎来达到减毒目的,如白附片、雷公藤等,这样既浪费时间精力,而且药效也无法统一,给药物的使用造成了一定限制,通过研究中药材的炮制工艺,使炮制工艺规范化,同时对指标成分的检测以评价药材的药效稳定性和安全性,保证药材使用更安全、有效和方便,这也是未来毒性中药的研究方向之一。

[参考文献]

- [1] 川赵辉,常新军. 白花丹治疗体、股癣 62 例[J]. 中医外治杂志,2003,12(3):47.
- [2] 苏伟人. 白花丹治疗皮肤瘙痒 50 例疗效观察[J]. 中国民族民间医药杂志,1996,19(4):27.
- [3] 韦金育,李延,韦涛,等. 50 种广西常用中草药、壮药抗肿瘤作用的筛选研究[J]. 广西中医学学报,2003,6(4):3-7.
- [4] 杜泽乡. 白花丹鲜茎与干茎中白花丹醌含量测定[J]. 安徽农业科学,2009,37(33):16363-16364.
- [5] 杜泽乡. HPLC 测定不同方法提取白花丹叶中白花丹醌的含量[J]. 安徽农业科学,2012,40(7):4063-4064.
- [6] 韦国丽,朱明丽,罗朝晖,等. 白花丹花和果实中白花丹醌含量的分析[J]. 安徽农业科学,2007,41(7):2903-2904.
- [7] 张倩睿,梅之南,杨光忠,等. 白花丹化学成分的研究[J]. 中药材,2007,30(5):558-560.
- [8] 霍仕霞,闫明. 白花丹的研究进展[J]. 中国医药导报,2008,5(28):17-18.
- [9] 邓家刚. 桂药原色图鉴[M]. 上海:上海科学出版社,2008:158-160.
- [10] 赵佳涛,毛晓键,赵杰,等. 傣药比比蒿(白花丹)的研究概况[J]. 中国民族医药杂志,2008,10(10):43-44.
- [11] 王希斌,黄慧学,刘华钢,等. 白花丹素和白花丹素-铜配合物体外抗肿瘤活性研究[J]. 广西中医药,2008,31(4):50-52.
- [12] 谭明雄,王恒山,陈振锋,等. 白花丹化学成分和药理活性研究进展[J]. 中草药,2007,38(2):289-293.
- [13] 赵铁建,方卓. 白花丹药理学研究与临床应用概述[J]. 中医文献杂志,2006,14(4):51-54.
- [14] 王玖恒,李景强,彭岳,等. 白花丹醌的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2012,30(7):1626-1628.
- [15] 王丽芳,王孝敏. 2010 年版《中国药典》中中药饮片不同炮制方法归类与分析[J]. 中国药房,2012,23(19):1821-1824.
- [16] 张萍,张南平,林瑞超,等. 多指标正交试验法优选杜仲药材最佳炮制工艺[J]. 药物分析杂志,2009,29(1):1817-1820.
- [17] 钟凌云,龚千锋,段启,等. 多指标正交试验法优选泻盐炙炮制工艺[J]. 中成药,2006,28(1):45-47.
- [18] 王维皓,王孝涛,王智民. 中药炮制用酒的研究[J]. 中国中药杂志,2006,31(3):259-262.
- [19] 章仲懿,边崇安. 酒的类别对黄芩炮制的影响[J]. 中药材,1994,16(6):28-29.

[责任编辑 刘德文]

《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)

经过中国科学院“中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database,简称 CSCD)”定量遴选、专家定性评估,《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)。

2015—2016 年度 CSCD 收录来源期刊 1200 种,其中中国出版的英文期刊 194 种,中文期刊 1006 种。CSCD 来源期刊分为核心库和扩展库两部分,其中核心库 872 种(以备注栏中 C 为标记);扩展库 328 种(以备注栏中 E 为标记)。

CSCD 具有建库历史最为悠久、专业性强、数据准确规范、检索方式多样、完整、方便等特点,自提供使用以来,深受用户好评,被誉为“中国的 SCI”。CSCD 是我国第一个引文数据库,曾获中国科学院科技进步二等奖。该数据库已在我国科研院所、高等学校的课题查新、基金资助、项目评估、成果申报、人才选拔以及文献计量与评价研究等多方面作为权威文献检索工具获得广泛应用。