

正交试验法优选醋炙独一味炮制工艺

唐坤, 王文全, 李标*

(中国医学科学院·北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的: 优选醋炙独一味的炮制工艺。方法: 以总黄酮含量为指标, 通过单因素试验选取炮制方法, 采用正交试验法对加醋量、闷润时间、温度、炒制时间 4 个因素进行考察, 优选醋炙独一味的炮制工艺。结果: 选择醋炙法对独一味进行炮制, 其最佳工艺为加 30% 醋闷润 5 min, 调节温度至 200 ℃, 炮制 15 min。结论: 醋炙独一味与生品相比, 总黄酮含量提高了 21%, 为有效利用独一味资源提供实验依据。

[关键词] 醋炙; 独一味; 总黄酮; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0010-03

[doi] 10.11653/syjf2013080010

Optimization of Processing Technology for *Lamiophlomis rotata* Frying with Vinegar by Orthogonal Test

TANG Kun, WANG Wen-quan, LI Biao*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology of *Lamiophlomis rotata* frying with vinegar. **Method:** With the content of total flavonoids as index, processing method was selected by single factor test, orthogonal test was adopted to optimize processing technology with moistening time, frying temperature, frying time

[收稿日期] 20121108(024)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31170314)

[第一作者] 唐坤, 在读博士, 副教授, 从事中药质量控制研究, Tel:18911917812, E-mail: tktangkun@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 李标, 博士, 副教授, 从事药用植物学研究, Tel:010-57833195, E-mail: libiao@126.com

显升高的现象。

[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] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008:107.
- [3] 陈镇, 夏泉, 黄赵刚, 等. 白术挥发油对小鼠胃肠功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):66.
- [4] 贾天柱, 王延年, 许明. 白术炮制前后挥发油的薄层及气质联用对比[J]. 辽宁中医杂志, 1998, 25(9):431.
- [5] 黄艳萍, 袁萍. 白术不同炒制品 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7):74.

- [6] 文红梅, 张爱华, 王莉, 等. 炮制对白术中白术内酯Ⅰ含量的影响[J]. 中药材, 1999, 22(3):125.
- [7] 王小芳, 王芳, 张亚环, 等. 白术挥发油中苍术酮氧化反应的动力学[J]. 应用化学, 2007, 24(3):301.
- [8] 李伟, 吴皓, 文红梅, 等. 炮制对白术中白术内酯Ⅲ含量的影响[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(11):662.
- [9] Li C Q, He L C, Jin J Q. Atractylenolide I and atractylenolide III inhibit lipopolysaccharide-induced TNF-alpha and NO production in macrophages [J]. Phytother Res, 2007, 21(4):347.
- [10] Wang C, Duan H, He L. Absorption kinetics of atractylenolide I in intestines of rats [J]. Chin Materia Medica, 2009, 34(11):1430.

[责任编辑 全燕]

and the amount of vinegar as factors. **Result:** Stir-baking with vinegar was adopted, the best processing technology was as following: moistened 5 min with 30% vinegar, adjusted temperature to 200 °C, processing time 15 min. **Conclusion:** The content of total flavonoids from *L. rotate* processing with vinegar increased 21% by comparing with unprocessed. It provided experimental basis for effective utilization of resources of *L. rotate*.

[**Key words**] processing with vinegar; *Lamiophlomis rotata*; total flavonoids; orthogonal test

独一味全草入药,具有活血止血、祛风止痛等功效,藏族常用其治疗跌打损伤、外伤出血、风湿痹痛^[1]。近年独一味的制剂已广泛流通于市场,主治急性软组织损伤、风湿痹痛^[2]、瘀血性头痛^[3]等。其有效部位主要包括黄酮类^[4]、环烯醚萜类^[5]和三萜皂苷类^[6]。根据独一味的化学和临床性质,本实验以总黄酮含量为指标(芦丁为对照成分),比较炒黄法、醋炙法和酒炙法对独一味的炮制效果,确定最佳炮制方法,并对该炮制方法进行正交试验优化,为独一味的合理利用提供实验依据。

1 材料

UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津),DHG-101 型烘干箱(巩义市英峪予华仪器厂),PB-203 型电子天平(上海新芝),BX51 型显微镜(日本 Olympus)。

独一味(购自四川阿坝,经重庆邮电大学生物信息学院刘毅副教授鉴定为唇形科植物独一味 *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo 的干燥全草),芦丁对照品(中国药物生物制品检定所,批号 100080-200306),独一味对照药材(中国药物生物制品检定所,批号 121026-200503),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总黄酮的含量测定

2.1.1 检测波长的确定 称取芦丁对照品及独一味提取液适量,分别用 70% 乙醇稀释至一定浓度,以 70% 乙醇为空白,于 300 ~ 550 nm 扫描,结果芦丁对照品溶液和样品溶液均在 505 nm 处有最大吸收。

2.1.2 线性关系考察 精密称取干燥至恒重的芦丁对照品适量,加 70% 乙醇配制成 0.2 g·L⁻¹ 储备液。精密吸取储备液 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL 分别置于 25 mL 量瓶中,加水至 6 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,混匀,放置 6 min,加 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加氢氧化钠试液 10 mL,用水定容至刻度,摇匀,放置 15 min。于 505 nm 处测定吸收度(A)^[5],以零管为空白对照,以 A 为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,得回归方程 $A = 13.874C + 0.0357$ ($R^2 = 0.9998$),表明在 0.0086 ~

0.0516 g·L⁻¹ 呈良好线性关系。

2.1.3 样品测定^[7] 准确称取独一味样品 10 g,加 20 倍量 60% 乙醇回流提取 25 min,滤过,补加水至原体积。精密吸取滤液 1 mL,按 2.1.2 项下方法自“分别置于 25 mL 量瓶中”至“用水定容至刻度”操作,摇匀,放置 15 min,精密量取 1 mL,用水稀释 10 倍,以相应溶液为空白,于 505 nm 处测定 A,计算总黄酮含量。

2.2 炮制方法的选择

2.2.1 炒黄法 分别取独一味饮片 3 份,每份 25 g,分别置铁锅内,电炉调节温度至 120 °C,不断翻动,使全草变黄褐色,有炒香气后,取出放凉。

2.2.2 酒炙法 分别取独一味饮片 3 份,每份 25 g,分别置铁锅内,用 20% 黄酒拌匀,闷润 8 min,电炉调节温度至 120 °C,使全草变深黄褐色,有酒香气后,取出放凉。

2.2.3 醋炙法 分别取独一味饮片 3 份,每份 25 g,分别置铁锅内,加 20% 米醋拌匀,闷润 8 min,电炉调节温度至 120 °C,使全草变深黄褐色,有醋香气后,取出放凉。

参照 2.1.2 项下方法测定生独一味与不同方法炮制品中总黄酮含量,结果总黄酮含量分别为 43.17, 45.88, 49.66, 54.89 mg·g⁻¹,说明炮制品中总黄酮含量均 > 生品,醋炙法优于酒炙和炒黄法,与生品相比,总黄酮含量提高了 9.53%。故选取醋炙法炮制独一味。

2.3 正交试验优化 在单因素试验基础上,以总黄酮含量为指标,选取加醋量、闷润时间、炮制温度及炮制时间为考察因素,采用 L₉(3⁴) 正交试验对醋炙工艺进行优选,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2。

表 1 醋炙独一味炮制工艺正交试验因素水平

水平	A 加醋量 /%	B 闷润 时间/min	C 炮制 温度/°C	D 炮制 时间/min
1	20	5	60	15
2	25	10	120	10
3	30	15	200	5

表 2 醋炙独一味炮制工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	总黄酮 /mg·g ⁻¹
1	1	1	1	1	50.08
2	1	2	2	2	41.74
3	1	3	3	3	32.54
4	2	1	2	3	31.64
5	2	2	3	1	70.74
6	2	3	1	2	25.52
7	3	1	3	2	64.08
8	3	2	1	3	24.44
9	3	3	2	1	63
K ₁	41.72	48.87	33.61	61.54	
K ₂	42.63	45.64	45.46	43.78	
K ₃	50.51	40.35	55.79	29.54	
R	0.88	8.51	22.17	32.00	

直观分析表明各因素对醋炙独一味炮制工艺的影响顺序为 D > C > A > B, 确定最佳提取工艺条件为 A₃B₁C₃D₁, 即加 30% 米醋闷润 5 min, 调节温度至 200 ℃ 炒 15 min, 待全草变深黄褐色, 有醋香气后, 取出放凉。

2.4 验证试验 取独一味药材 3 份, 每份 25 g, 按优选的炮制工艺进行 3 次验证试验。结果总黄酮含量分别比生品提高了 20.25%, 21.78%, 23.27%, 说明优选的炮制工艺稳定可行。

3 讨论

本实验选用的独一味用药部位为地上部分, 以茎叶为主, 质地很轻且疏松, 考虑到试验用具的容量, 因此药材用量仅 25 g。而独一味药材因资源匮乏, 求取比较困难, 若放大做中试试验药材量有限。因此仅对独一味炮制工艺进行了初步探索。

独一味具有很好的镇痛效果, 研究发现独一味总黄酮部分具有明显的镇痛作用^[8], 其黄酮类成分

主要含有芦丁、槲皮素、木犀草素、木犀草苷等。芦丁因稳定性好、活性显著、代表性强, 故被选为测定药材中总黄酮含量的指标成分^[9]。

独一味炮制后, 总黄酮含量较生品有所提高, 提示药材所含的活性物质通过适当炮制工艺处理后, 可能会使其溶出率提高、溶出物易于吸收, 从而增强药物的疗效^[10]。醋味酸、苦, 性温, 主入肝经血分, 具有收敛解毒、散瘀止痛、矫味的作用, 可增强药物活血止痛的作用, 故醋炙法多用于散瘀止痛、疏肝解郁的药材。醋炙独一味可能在性味、功效、作用趋向、归经和理化性质方面均会发生某些变化, 这还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 郝延军, 桑育黎. 独一味镇痛止血有效部位的富集方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 20.

[2] 李茂星, 贾正平, 张汝学. 镇痛止血药独一味的研究概况[J]. 中药材, 2004, 27(3): 222.

[3] 戴莉玲, 孟德宝, 黎朝晖. 藏药独一味的临床应用[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(6): 855.

[4] 王瑞冬, 孙连娜, 陶朝阳, 等. 独一味化学成分的研究[J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(10): 1171.

[5] 李茂星, 贾正平, 胡之德, 等. 大孔树脂富集纯化藏药独一味总环烯醚萜苷[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(17): 1743.

[6] 刘长余, 姚雪. 独一味化学成分与临床应用研究概况[J]. 海峡医药, 2005, 17(1): 82.

[7] 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: 333.

[8] 林天慕, 顾宜, 方坤泉, 等. 藏药独一味两种方法提取组分对小鼠镇痛作用的影响[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(5): 444.

[9] 林天慕, 管清香, 张三奇, 等. 大孔吸附树脂分离纯化独一味总黄酮的研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(4): 264.

[10] 孙建丽. 浅谈中药炮制与药效的关系[J]. 光明中医, 2011, 26(3): 607.

[责任编辑 全燕]