

川产丹参炒制工艺优选及其质量标准

郑黎花,张慧,张利*

(四川农业大学生命科学与理学院,四川 雅安 625014)

[摘要] 目的:对川产丹参炒制工艺进行优选并建立其质量标准。方法:通过 $L_9(3^4)$ 正交设计,以丹参中有效成分原儿茶醛、丹酚酸 B、丹酚酸 A、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的含量为指标,对川产丹参的炒制工艺进行优选;依据 2010 年版《中国药典》下质量标准对各指标进行检测。结果:温度和时间对丹参炒制均有显著影响,70 ~ 80 ℃ 炒制温度影响最大,炒制 5 min 影响最大。结论:炒丹参最佳工艺为炒制温度 70 ~ 80 ℃,炒制时间 5 min,炒丹参质量标准合理、可行。

[关键词] 丹参;正交试验;质量标准

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)05-0020-04

Optimization of Frying Process for *Salvia miltiorrhiza* in Sichuan and Its Quality Standard

ZHENG Li-hua, ZHANG Hui, ZHANG Li*

(College of Life and Basic Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize frying process of *Salvia miltiorrhiza* in Sichuan and establish its quality standard. **Method:** Using the content of effective components from *Salvia miltiorrhiza* as indexes, such as protocathechuic aldehyde, salvianolic acid A and B, cryptotanshinone, tanshinone I and II_A , frying process of *S. miltiorrhiza* in Sichuan was optimized by orthogonal test; These indexes were detected by quality standards method described in 2010 edition of 〈Chinese Pharmacopoeia〉. **Result:** Temperature (70-80 ℃ had greatest impact) and time (5 min had greatest impact) had significant effect on frying process of *S. miltiorrhiza*. **Conclusion:** Optimum frying technology was as follows: frying temperature 70-80 ℃, frying time 5 min. Quality standard of frying *S. miltiorrhiza* was reasonable and feasible.

[Key words] *Salvia miltiorrhiza*; orthogonal test; quality standard

丹参为常用中药,功能祛瘀止痛、活血通经、清心除烦。用于月经不调、经闭痛经、癥瘕积聚、胸腹刺痛、热痹疼痛、疮疡肿痛、心烦不眠、肝脾肿大、心绞痛^[1]。其主要活性成分为以丹酚酸 B 为代表的

水溶性成分和以丹参酮 II_A 为代表的脂溶性成分,通常采用乙醇和水分别提取^[2]这两类成分。现代丹参的炮制方法主要根据古法加以调整而来,其炮制方法主要有切片生用和酒炙法。2010 年版《中国药典》和 1988 年版《全国中药炮制规范》均收有生丹参和酒丹参 2 种炮制品。此外一些地方炮制规范中尚有炒、炒炭、米炒、麸炒、鳖血炙、醋炙及猪血制等炮制方法^[3]。其中炒制是丹参常用的炮制方法之一,研究表明炒制后的丹参性已转温,具有养血活血之功。四川为丹参道地产区之一,栽种方法比较规范,市场占有率大,质量比较稳定,随着培育方法的优化,质量在逐步提高^[4]。川丹参因色红、肉厚、有效成分含量高而驰名。目前对川丹参炒制的研究未见相关报道,且缺乏统一的质量标准,对临床用药

[收稿日期] 20111010(008)

[基金项目] 四川省科技厅科技支撑项目(2008FZ0148);四川省科技厅产学研创新联盟合作项目(2010Z00028);四川省青年科技基金项目(08ZQ026-034)

[第一作者] 郑黎花,在校本科, Tel: 15008318261, E-mail: 757172905@qq.com

[通讯作者] *张利,博士,从事药用植物资源利用与评价研究, Tel: 13981607669, E-mail: zhang8434@sina.com

安全有一定隐患。本文采用 $L_9(3^4)$ 正交设计试验,以炒制温度和炒制时间为因素,优选炮制工艺,并依据 2010 年版《中国药典》对其质量进行研究,为建立炒丹参的质量标准提供理论依据。

1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),AA-6300C 型原子吸收仪(日本岛津公司),BT-124s 型电子天平(sartorius 公司),索氏提取器(Buchi 公司),OLMPUS CX21 显微镜(北京普瑞赛司仪器有限公司塞塞)。

隐丹参酮(批号 110852-200305)、丹参酮 I(批号 0867-200205)、丹参酮 II_A(批号 110766-200518)、原儿茶醛(批号 110810-200506)、丹酚酸 B(批号 111562)对照品均由中国药品生物制品检定所提供,丹酚酸 A 对照品(成都曼思特生物科技有限公司,纯度≥98%)。甲醇、乙腈为色谱纯,G254 硅胶薄层板,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。丹参药材采自四川中江,由四川农业大学生命科学院张利教授鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge.。

2 方法与结果

2.1 丹参炮制工艺优选

2.1.1 正交试验设计 参照文献[5]和预试验结果,选取炒制温度(A)、炒制时间(B)2 个因素,每个因素分别设 3 个水平,不考虑交互作用,选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,因素水平见表 1。

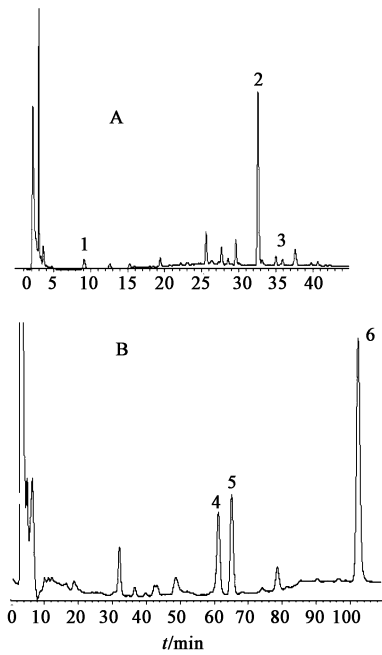
表 1 丹参炮制工艺正交试验因素水平

水平	A 炒制温度/℃	B 炒制时间/min
1	70 ~ 80	5
2	100 ~ 110	15
3	130 ~ 140	20

2.1.2 炒丹参的制备 取丹参原药材,除去杂质,洗净,每隔 1 h 均匀洒 1 次水,并翻匀,共洒水 4 ~ 6 次,药材软化后,切薄片,晾干,即得净丹参。取净丹参共 9 份,每份 30 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行炒制,放冷,即得炒丹参。将炒制后饮片粉碎,过 80 目筛,置干燥器中保存备用。

2.1.3 含量测定 按照本试验建立的色谱方法,测定各有效成分含量,HPLC 见图 1。

2.1.4 综合加权评分法分析 将测得的 6 个指标进行综合加权评分,经分析制定了各成分的加权系数为原儿茶醛 10%,丹酚酸 B 30%,丹酚酸 A 10%,隐丹参酮 10%,丹参酮 I 10%,丹参酮 II_A 30%,即



A. 水溶性成分;B. 脂溶性成分;1. 原儿茶醛;2. 丹酚酸 B;3. 丹酚酸 A;4. 隐丹参酮;5. 丹参酮 I;6. 丹参酮 II_A

图 1 丹参有效成分 HPLC

综合评分(Y) = $w_{\text{原儿茶醛}}/w_{\text{max原儿茶醛}} \times 10\% + w_{\text{丹酚酸B}}/w_{\text{max丹酚酸B}} \times 30\% + w_{\text{丹酚酸A}}/w_{\text{max丹酚酸A}} \times 10\% + w_{\text{隐丹参酮}}/w_{\text{max隐丹参酮}} \times 10\% + w_{\text{丹参酮I}}/w_{\text{max丹参酮I}} \times 10\% + w_{\text{丹参酮II}_A}/w_{\text{max丹参酮II}_A} \times 30\%$,根据综合评分的结果进行极差分析和方差分析,结果分别见表 2,3。

由结果可知,A,B 因素均对丹参炒制有显著影响。各因素的影响顺序为 $A > B$,A 因素中各水平评分高低顺序为 $A_1 > A_2 > A_3$,因素 B 各水平评分高低顺序为 $B_1 > B_2 > B_3$,因此最佳优选工艺为 A_1B_1 ,即炒制温度为 70 ~ 80 ℃,炒制时间 5 min。

2.1.5 验证试验 根据上述优选出的最佳炮制工艺生产 6 批炒丹参,分别测定各指标成分的含量,RSD < 3%,说明优选的工艺条件稳定可行。收集上述 6 批次验证试验丹参用以进行质量标准研究。

2.2 质量标准

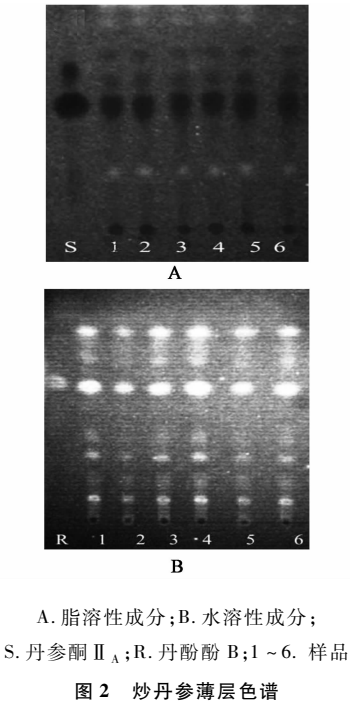
2.2.1 薄层层析鉴别 按照 2010 年版《中国药典》一部^[1]“丹参”鉴别项下方法分别对丹参脂溶性成分和水溶性成分进行薄层色谱鉴别,见图 2。

2.2.2 检查 按照 2010 年版《中国药典》一部“丹参”检查项下要求(附录 IX),分别对原药材和 6 批炒制丹参样品中的水分、总灰分、酸不溶性灰分,浸出物含量进行测定,平行测定 3 次,结果见表 4。

从表 4 可知,丹参各项指标检测均符合《中国药典》一部规定。丹参水溶性和醇溶性浸出物含量

表 2 丹参炮制工艺正交试验安排

样品	A	B	原儿茶醛	丹酚酸 B	丹酚酸 A	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮Ⅱ _A	综合评分
1	1	1	0.027	1.690	0.019	0.036	0.011	0.070	0.848
2	1	2	0.030	1.390	0.024	0.039	0.010	0.054	0.741
3	1	3	0.030	1.480	0.041	0.023	0.010	0.041	0.671
4	2	1	0.049	1.150	0.115	0.029	0.012	0.045	0.765
5	2	2	0.026	0.703	0.048	0.016	0.010	0.019	0.419
6	2	3	0.030	0.701	0.063	0.012	0.009	0.013	0.397
7	3	1	0.030	0.656	0.057	0.022	0.013	0.032	0.518
8	3	2	0.027	0.274	0.028	0.007	0.009	0.007	0.245
9	3	3	0.025	0.462	0.012	0.006	0.009	0.009	0.216
K ₁	0.753	0.710							
K ₂	0.527	0.468							
K ₃	0.326	0.428							
R	0.427	0.282							



A. 脂溶性成分;B. 水溶性成分;
S. 丹参酮Ⅱ_A;R. 丹酚酸 B;1~6. 样品

图 2 炒丹参薄层色谱

明显高于《中国药典》一部规定的 35% ,15% ,测得的总灰分、酸不溶性灰分、水分分别为 6.05% ,1.30% ,11.4% ,低于《中国药典》一部的规定。

表 3 丹参炮制工艺正交试验综合评分方差分析

变异来源	SS	f	MS	F	P
A	0.274	2	0.091 3	61.9	<0.05
B	0.140	2	0.046 2	31.6	<0.05
误差	0.009	4	0.003 3		

注: $F_{0.05}(2,4) = 19.3$, $F_{0.01}(2,4) = 99.3$ 。

表 4 总灰分、酸不溶性灰分、水溶性浸出物、醇溶性浸出物及水分检验 (n = 3) %

项目	总灰分	酸不溶性灰分	水溶性浸出物	醇溶性浸出物	水分
原药材	5.04	0.565	56.5	43.1	11.3
样品平均值	6.05	1.30	58.0	44.5	11.4
《中国药典》规定	<10.0	<3.00	>35.0	>15.0	<13.0

2.2.3 重金属及有害元素 按照 2010 年版《中国药典》一部“丹参”项下铅、镉、砷、汞、铜测定法(附录 IX B 原子吸收分光光度法)分别对原药材和 6 批炒制丹参样品进行测定,平行测定 3 次,结果见表 5。

综合以上结果,炒丹参质量标准暂定如下:炒丹参水溶性浸出物和酸不溶性浸出物分别不得低于 45% ,35% ;总灰分,酸不溶性灰分,水分分别不得高于 7% ,2% ,12% ;原儿茶醛不得少于 0.05% ,丹酚酸 B 不得少于 2.0% ,丹酚酸 A 不得少于 0.04% ,隐丹参酮不得少于 0.03% ,丹参酮 I 不得少于 0.015% ,丹参酮Ⅱ_A 不得少于 0.1% 。

2.2.4 样品含量测定 对上述 6 批丹参有效成分含量进行测定,平行测定 3 次,结果原儿茶醛、丹酚酸 B、丹酚酸 A、隐丹参酮、丹参酮 I 、丹参酮Ⅱ_A RSD 分别为 2.8% ,3.2% ,2.9% ,3.2% ,3.5% ,2.3% 。6 批炒丹参各成分的质量分数原儿茶醛 0.480 ~0.520% ,丹酚酸 B 1.90% ~2.10% ,丹酚酸

表 5 炒丹参重金属及有害元素测定 (n=3)

μg · L⁻¹

项目	铅	铬	砷	汞	铜
原药材	5.00 × 10 ⁻²	1.00 × 10 ⁻⁴	未检出	6.00 × 10 ⁻⁶	2.13 × 10 ⁻⁵
样品平均值	6.41 × 10 ⁻²	2.00 × 10 ⁻⁴	未检出	6.01 × 10 ⁻⁶	2.23 × 10 ⁻⁵
《中国药典》规定	<5.00	<0.300	<2.00	<0.200	<20.0

A 0.039 0% ~ 0.042 0% , 隐丹参酮 0.033 0% ~ 0.037 0% , 丹参酮 I 0.016 0% ~ 0.018 0% , 丹参酮 II_A 0.077 0% ~ 0.082 0% 。研究发现丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 的质量分数均分别低于《中国药典》一部中规定的 3% 和 0.2% 。

3 讨论

炒制是中药重要的传统炮制方法,《全国中药炮制规范》中关于炒制火候的规定为文火(炒制至紫褐色,有焦炭)^[6],实际操作靠经验和操作人员的主观视觉,导致各炮制品的质量差别很大。本文以炒制温度和时间为因素,采用正交设计,优选最佳炒制火候为 70 ~ 80 ℃,与宋平顺^[7]等人的研究结果相一致。丹参有效活性成分可分为脂溶性丹参酮类和水溶性丹酚酸类^[8]。本文以 6 个(3 个水溶性成分和 3 个脂溶性成分)有效成分为筛选指标,弥补单一质量评价对药材信息表征不足的缺点。

丹参经炒制后,丹酚酸 A 与丹酚酸 B 含量均有提高,这与张瑞芬等人^[9]的研究结果相一致;而其余 4 种成分含量均下降,可能的原因为原儿茶醛炮制后转化为原儿茶酸,故导致其含量下降;丹参酮类受热不稳定,炮制过程中高温引起丹参酮类物质降解,故导致其含量下降;丹参酮 II_A 主要存在与丹参药材的外部皮层,在加工炮制过程中,由于药材之间的相互碰撞摩擦等使外皮脱落而被弃之,导致其含

量下降^[10]。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010;52.

[2] 李绍林,张建军. 丹参提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):45.

[3] 李惠芬,张学兰. 丹参炮制历史沿革研究[J]. 中医药学刊,2006,24(11):2058.

[4] 郭宝林,林生,冯毓秀,等. 丹参主要居群的遗传关系及药材道地性的初步研究[J]. 中草药,2002,33(12):1113.

[5] 程立方,崔秀君. 多指标综合评分法优选丹参炮制工艺[J]. 中国现代中药,2009,11(10):41.

[6] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范[G]. 北京:人民卫生出版社,1988.

[7] 宋平顺,杨树声,马真金. 酒制甘肃丹参的炮制工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(5):49.

[8] 刘长青,何百寅,冯峰,等. 正交试验优选水提后丹参药渣中丹参酮 II_A 的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):32.

[9] 张瑞芬,冯文军,李伟光,等. 炒制对丹参中丹参素及总酚性成分的影响[J]. 中医药学报,2002,30(2):40.

[10] 周春红. 32 批丹参饮片的质量考察[J]. 中国药师,2009,12(11):16723.

[责任编辑 仝燕]