

多指标综合评价麸炒白芍的炮制工艺

徐志伟¹, 曹 岗^{1,2*}, 杜伟锋¹, 蔡宝昌^{1,2}, 葛卫红¹

1. 浙江中医药大学 中药炮制技术研究中心, 浙江 杭州 311401

2. 南京中医药大学 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210029

摘要: 目的 优化出最佳麸炒白芍工艺。方法 采用正交试验和多指标综合加权评分法, 以白芍中芍药苷、氧化芍药苷、芍药内酯苷、没食子酸 4 个指标性成分质量分数和浸出物得率为考察指标, 对影响白芍麸炒工艺的因素进行考察。结果 最佳的白芍麸炒工艺是在白芍药材中加入其质量的 10% 的麸皮, 在 200 °C 下炒制 8 min。结论 该炮制工艺稳定可靠, 可为白芍的进一步研究提供参考。

关键词: 白芍; 正交试验; 多指标; 麸炒; 芍药苷; 氧化芍药苷; 芍药内酯苷; 没食子酸

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)13-1867-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.13.011

Evaluation on processing technology for bran-fried *Paeoniae Alba Radix* by multi-index comprehensive weighted mark method

XU Zhi-wei¹, CAO Gang^{1,2}, DU Wei-feng¹, CAI Bao-chang^{1,2}, GE Wei-hong¹

1. Research Center of Processing Technology for Chinese Materia Medica, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311401, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Materia Medica Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Objective To optimize the best processing technology for bran-fried *Paeoniae Alba Radix* (PAR). **Methods** Taking the contents and extract yields of paeoniflorin, oxypaeoniflorin, albiflorin, and gallic acid in PAR as the indexes, the affecting factors on the processing technology of bran-fried PAR was investigated by orthogonal design test and multi-index comprehensive weighted mark method. **Results** The best processing technology was to add 10% bran and fry for 8 min at 200 °C. **Conclusion** The optimal processing technology is stable, and could provide the references for the further study of PAR.

Key words: *Paeoniae Alba Radix*; orthogonal test; multi-index; bran-fried; paeoniflorin; oxypaeoniflorin; albiflorin; gallic acid

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,“浙八味”之一,经典名方白术芍药散中的臣药,具有平肝止痛、养血调经、敛阴收汗之功效,其主要成分有芍药苷、芍药内酯苷、氧化芍药苷和没食子酸等。白芍性微寒,麸炒后其寒性减弱,此外麸炒白芍养血、敛阴效果更佳^[1]。近年来,鲜有对白芍某一炮制方法系统性研究的报道,且多以芍药苷做为单一指标进行工艺优选,难以全面地反映白芍炮制前后有效成分的变化,也不符合多靶点多成分共同作用的中医用药理论。本实验以芍药苷、

芍药内酯苷、氧化芍药苷和没食子酸 4 种成分质量分数以及浸出物得率为评价指标,运用正交试验设计法对白芍的传统麸炒方法进行优选,获取最佳工艺参数,以期得到更为科学的白芍麸炒工艺,为进一步研究利用白芍提供参考,为指导生产提供科学依据^[2-11]。

1 仪器与材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司;电热恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司;梅特勒 XS—105 电子分析天平 (0.01 mg)、梅

收稿日期: 2014-01-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202918); 杭州市重大科技创新项目 (20131813A23); 杭州市科技计划项目 (20130533B68); 校级重点基金项目 (2013ZZ12), 浙江省中医药科技计划 (2014ZQ008)

作者简介: 徐志伟 (1988—), 男, 研究生在读, 从事中药炮制及质量标准研究。Tel: (0571)87195895 18814857922 E-mail: lang2433@163.com

*通信作者 曹 岗, 助理研究员, 主要研究方向为中药制剂及中药代谢。Tel: (0571)87195895 E-mail: caogang33@163.com

特勒 AL—204 电子分析天平 (0.01 g), 瑞士 Mettler Toledo; TGL—16B 高速台式离心机, 江苏联创医药技术有限公司; SHB—III 循环水式多用真空泵、DLSB—5/20 低温冷却液循环泵, 郑州长城科工贸有限公司; W202B 型旋转蒸发仪, 上海申胜生物科技有限公司。

生品白芍药材产地为浙江潘安, 经浙江中医药大学中药饮片有限公司沈立军主管中药师鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。芍药苷 (批号 110736-201337)、没食子酸 (批号 110831-200803), 购自中国食品药品检定研究院; 氧化芍药苷 (批号 39011-91-1)、芍药内酯苷 (批号 39011-90-0), 购自鼎瑞化工 (上海) 有限公司; 对

照品质量分数均 $\geq 98\%$; 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为娃哈哈纯净水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 指标成分的测定

2.1.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5.0 μ m) 柱, 二极管阵列检测器 (DAD), 以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱: 0~20 min, 5%~10%乙腈; 20~35 min, 10%~15%乙腈; 35~50 min, 15%~18%乙腈, 体积流量 1 mL/min, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 检测波长 255 nm; 进样量为 10 μ L。对照品、白芍生品以及炮制品的色谱图见图 1。

2.1.2 线性关系考察 精密称取芍药苷、芍药内酯

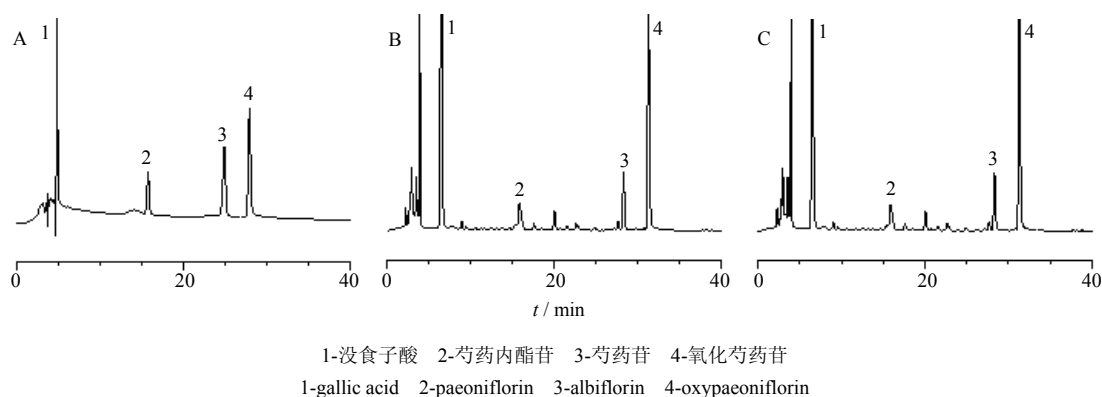


图 1 混合对照品溶液 (A)、生品白芍样品 (B) 以及麸炒白芍样品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference solution (A), raw PAR samples (B), and bran-fried PAR samples (C)

苷、没食子酸、氧化芍药苷对照品适量, 以甲醇溶解制成混合对照品母液, 并将母液逐级稀释, 制成各成分质量浓度分别为 5.7~57、33.6~336、2.56~25.6、46.8~468 μ g/mL 的混合对照品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定峰面积, 以对照品质量 (μ g) 和峰面积分别为横坐标 (X)、纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 计算回归方程, 结果可得芍药苷、芍药内酯苷、没食子酸、氧化芍药苷的回归线方程分别为 $Y=0.012\ 5\ X+0.352\ 4$ 、 $Y=0.002\ 6\ X+0.265$ 、 $Y=0.138\ 0\ X+1.166$ 、 $Y=0.001\ 2\ X+0.161\ 3$; r 值分别为 0.999 6、0.999 7、0.999 8、0.999 5。该结果表明, 以上 4 种成分在各自的线性范围内线性关系良好。

2.1.3 供试品溶液的制备 平行取洁净白芍饮片 9 份, 每份 50 g, 按表 1 安排进行正交试验。精密称取过 65 目的白芍炮制品粉末 2 g, 置锥形瓶中, 加入 70% 甲醇溶液 20 mL, 80 $^{\circ}$ C 水浴回流提取 2 次, 滤过, 合并 2 次滤液, 回收溶剂。再用 70% 甲醇溶

解残留物, 并定容至 25 mL 量瓶, 摇匀, 高速离心, 取上清液即得实验所需供试品。

2.1.4 方法学考察 精密吸取混合对照品溶液 10 μ L, 连续 6 次进样, 记录 HPLC 色谱图。结果显示, 芍药苷等 4 种物质的色谱峰面积的 RSD 均小于 1.3%, 表明仪器精密度良好。

平行称取某一炮制条件下白芍炮制品粉末 6 份, 每份 1 g, 按“2.1.3”项下方法制备供试液, 以“2.1.1”项下色谱条件进样, 重复进样 6 次, 记录 HPLC 色谱图。芍药苷等主要成分质量分数的 RSD 均小于 1.5%, 证明重复性良好。

取同一供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10、12、24 h 进行 HPLC 色谱分析。芍药苷等的色谱峰峰面积的 RSD 均小于 1.5%, 显示供试品溶液在 24 h 内稳定。

精密移取以“2.1.3”项下方法制备的已测定的供试品溶液, 平行取样 6 份, 每份 1 mL, 分别精密加入混合对照品溶液适量, 测定加样回收率, 结果

没食子酸、氧化芍药苷、芍药苷、芍药内酯苷的平均加样回收率分别为 100.92%、99.43%、100.04%、100.07%，RSD 分别为 0.47%、2.14%、0.17%、0.10%。

2.2 浸出物得率的测定

精密称取经正交试验方法炮制的白芍 4 g，置 250 mL 的锥形瓶中，精密加水 100 mL，密塞，称定质量，静置 1 h 后，加热回流，并保持微沸 1 h，放冷后，称定质量，用水补足减失的质量，摇匀，滤过，精密量取滤液 25 mL，置已干燥至恒定质量的蒸发皿中，在水浴上蒸干后，于 105 ℃干燥 3 h，置干燥器中冷却 30 min，迅速精密称定质量，并记录数值。

2.3 正交试验优选白芍麸炒工艺

2.3.1 试验设计 以预试验中单因素考察的结果为依据，设计正交试验对白芍的麸炒工艺进行优选。选用炒制温度 (A)、加麸量 (B)、炒制时间 (C) 为考察因素，每个因素设 3 个水平，以芍药苷等 4 个指标性成分质量分数和浸出物得率为评价指标，以 $L_9(3^4)$ 安排试验，因素水平见表 1。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A / ℃	B / %	C / min	D (空白)	综合评分
1	160 (1)	10 (1)	8 (1)	(1)	98.704 4
2	160 (1)	20 (2)	10 (2)	(2)	90.750 6
3	160 (1)	30 (3)	12 (3)	(3)	90.554 7
4	200 (2)	10 (1)	10 (2)	(3)	98.535 0
5	200 (2)	20 (2)	12 (3)	(1)	98.112 1
6	200 (2)	30 (3)	8 (1)	(2)	98.675 9
7	240 (3)	10 (1)	12 (3)	(2)	94.670 6
8	240 (3)	20 (2)	8 (1)	(3)	94.452 6
9	240 (3)	30 (3)	10 (2)	(1)	90.281 7
K_1	280.01	291.91	291.83	287.10	
K_2	295.32	283.32	279.57	284.10	
K_3	279.40	279.51	283.34	283.54	
R	15.92	12.40	12.27	3.56	

2.3.2 正交试验结果 本实验以白芍中 4 种成分质量分数为指标同时结合浸出物得率共 5 项考察指标，运用综合加权评分法对正交试验结果进行方差分析。以 100 分为满分，其中芍药苷、芍药内酯苷、氧化芍药苷是芍药总苷的重要组成部分，设它们的权重系数分别为 20；没食子酸的权重系数为 10；浸出物得率能够较全面反映炮制方法的优劣，同时能

够反映中医用药的整体观，故设定浸出物得率的权重系数为 30。以此为基础进行总加权评分，利用综合评分值 (P_i) 对试验结果进行方差分析： M_{ij} 指代第 i 次实验时芍药苷等 3 个指标成分中第 j 个指标成分的测定值 (M_{ij} 指代正交试验第 i 次实验的色谱图中第 j 个色谱峰峰面积)，以其中的最大值作为参照对同一指标下的数据进行标准化处理， D_{ij} 指代第 j 个指标成分下的第 i 个测定值的标准化数据， $D_{ij}=M_{ij}/(M_{ij})_{\max}$ ； Q_i 指代第 i 次实验中没食子酸的质量分数，以质量分数的最大值作为参照对没食子酸数据进行标准化处理， $F_i=Q_i/(Q_i)_{\max}$ ； N_i 指代第 i 次实验中浸出物得率，以得率的最大值作为参照对浸出物数据进行标准化处理， $E_i=N_i/(N_i)_{\max}$ ，其中 $i=1, 2, \dots, 9$ ； $j=1, 2, \dots, 4$ 。综合评分 $P_i=20 \times \sum D_{ij} + 30 \times \sum E_i + 10 \times \sum F_i$ ，将总分结果带入正交试验结果中，即得。

在所选因素水平范围内，通过综合加权评分法判定，影响白芍麸炒工艺的因素依次为 $A > C > B$ ，即炒制温度 > 炒制时间 > 加麸量，且炒制温度对炮制工艺的影响更为显著 ($P < 0.05$)，见表 2。最终选择 $A_2B_1C_1$ 为麸炒白芍的最佳炮制工艺，即加入药材质量 10% 的麸皮，在 200 ℃下炒制 8 min。

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源	离均差平方和	自由度	F 值	显著性
A	54.250 2	2	22.235 2	$P < 0.05$
B	24.998 9	2	10.246 1	
C	26.751 4	2	10.964 4	
D (误差)	2.439 8	2		

$$F_{0.05}(2, 2)=19.00 \quad F_{0.01}(2, 2)=99.00$$

2.4 工艺验证试验

选取 3 批白芍生品，以正交试验结果筛选的工艺条件进行验证试验，结果没食子酸的质量分数分别为 0.119 7%、0.123 1%、0.121 9%；芍药苷的质量分数分别为 1.725 1%、1.722 2%、1.730 4%；氧化芍药苷的质量分数分别为 0.239 4%、0.239 7%、0.250 2%；芍药内酯苷的质量分数分别为 1.401 8%、1.392 4%、1.410 3%；浸出物的得率分别为 28.57%、29.04%、29.07%。结果显示以最佳工艺进行炮制的白芍制品的供试品溶液中，芍药苷等成分的量均较高。正交试验所得结论符合实际炮制结果，稳定性好，可靠性强。

3 讨论

3.1 评价指标的选择

浸出物作为白芍质量评价的主要指标之一,也是白芍主要的药效的物质基础,其得率的高低不仅代表药物中有效成分量的高低,同时也反映了中药临床治疗效果的高低。临床上常以白芍治疗头痛眩晕、胁痛、腹痛、四肢挛痛、血虚萎黄、月经不调、自汗、盗汗,其主要成分芍药苷可扩张血管、镇痛镇静、抗炎、抗溃疡、解热解痉,同时还有利尿的作用;氧化芍药苷可以抗氧化;没食子酸有收敛、止泻的功效;芍药内酯苷除了有镇痛、镇静、抗炎、抗惊厥和抗病原微生物的作用外,还具有护肝的作用,同时对免疫系统和平滑肌也有一定的作用。综上所述,本实验选用浸出物、芍药苷、芍药内酯苷、氧化芍药苷和没食子酸作为主要指标,对白芍麸炒工艺进行综合评定,可以全面地反映炮制工艺的优劣,也更切合中医用药的整体观理论。

3.2 正交因素与水平的选择

通过实验前期的预试验,考察了影响白芍麸炒工艺的各因素和水平,并对其进行了筛选。麸炒白芍是临床较为常用的白芍炮制品,常用以治疗脾虚或肝脾不和引起的泄泻腹痛等症。麸皮作为炮制过程中惟一的辅料,在对其加入量进行单因素考察时,发现加麸量的不同对炮制结果有着不同程度的影响,为了更准确地设定麸皮的量,实验参考《中国药典》2010年版以及《浙江省中药炮制规范》(2005版)中的相关要求,同时结合相关研究报道,初步设定了麸皮的加入量为白芍药材量的10%、20%和30%。另外,在对炒制温度和炒制时间进行单因素考察时发现,随着炒制温度的升高,炒制时间的延长,白芍中的苷类成分的量会发生不同程度的变化,其中芍药苷量下降明显,而芍药内酯苷则变化不大,因此实验中对炮制时间和温度也做了设定,炒制时

间分别控制在8、10、12 min;炒制温度则控制在160、200、240℃下。

3.3 结果分析

本实验以白芍中的芍药苷、芍药内酯苷、氧化芍药苷、没食子酸和浸出物作为检测指标,对麸炒白芍的炮制工艺进行优化,既兼顾各检测指标的协同性,又符合中药多靶点起效的用药特点,较之以芍药苷为惟一指标进行的优化炮制工艺实验,设计思路更具科学性和合理性。此外,优化后的炮制工艺结果稳定可靠,可为进一步开发和利用白芍提供重要依据。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2010.
- [2] 马家骅,杨明,徐润春,等.醋延胡索炮制工艺的研究[J].中草药,2005,36(11):1657-1659.
- [3] 刘先琼,许腊英.多指标综合加权评分研究乌梅炭炮制工艺[J].中草药,2009,40(12):1898-1900.
- [4] 段启,马兴田,李彩萍,等.麸炒白术炮制工艺优选[J].中草药,2008,39(10):1504-1506.
- [5] 钟凌云,杨金梅,龚千锋,等.正交试验法优选胆黄连炮制工艺的研究[J].中草药,2010,41(8):1296-1298.
- [6] 陆小云,楚楚,颜继忠.超高效液相色谱法同时测定白芍中芍药苷和芍药内酯苷的含量[J].中南药学,2012,10(2):98-100.
- [7] 李雪莲,来平凡.白芍炮制本草学研究及现代研究进展[J].亚太传统医药,2008,4(6):42-44.
- [8] 赫炎,孙杰,赫北湘,等.白芍炮制历史沿革研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(3):68-72.
- [9] 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.
- [10] 晋霞,张家富.正交试验优选麸炒白芍的炮制工艺[J].安徽医药,2006,10(11):817-818.
- [11] 由会玲,严玉平,高艳芝,等.芍药及不同炮制品中芍药苷含量的比较研究[J].四川中医,2009,27(6):54-56.