

多指标综合加权评分研究乌梅炭炮制工艺

刘先琼, 许腊英*

(湖北中医学院药学院, 湖北 武汉 430061)

摘要:目的 优选乌梅炭炮制工艺。方法 选择温度、翻炒频率、时间3个因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,以实验小鼠凝血时间、止血时间、水溶性浸出物、醇溶性浸出物为指标,结合成品性状、收得率及直径大小,综合分析优选乌梅炭的炮制工艺。结果 乌梅炭优选炮制工艺:235℃,翻炒频率80次/min,炒制7.5 min。结论 优选的炮制工艺可操作性强,工艺稳定,凝血作用增强,外观符合“表面焦黑色,内部焦黄色”的炒炭存性要求。

关键词:乌梅炭;凝血作用;多指标;炮制工艺;正交试验

中图分类号:R284.2;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)12-1898-03

Processing technology for *Prunus mume* carbon by comprehensive weighted of multi-index

LIU Xian-qiong, XU La-ying

(Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

Abstract: **Objective** To determine the best processing technology of *Prunus mume* carbon. **Methods** $L_9(3^4)$ Orthogonal design was used with three factors of processing temperature, stir-fry frequency, and time. The indicators of processing technology of *P. mume* carbon were the blood coagulation time, hemostasis time of mice, the contents of the water-solubility, the extract of alcohol-solubility, combined with product characters, yielding rate, and diameter size to optimize the processing technology of *P. mume* carbon. **Results** The optimized processing technology was as following: The processing temperature was 235℃, the stir-fry frequency was 80 times/min, and the processing time was 7.5 min. **Conclusion** The optimized processing technology is stable and operable, and meets the need to enhance the effect of blood coagulation, the carbonizing process of “the superficial burnt black, the internal burnt orange”.

Key words: *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. carbon; blood coagulation; multi-index; processing technology; orthogonal test

乌梅为一传统的收敛固涩药,始载于《神农本草经》,列为中品,为蔷薇科植物梅 *Prunus mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. 的干燥近成熟果实经熏制或烘制而成。具有敛肺、涩肠、生津、安蛔等功效,常用于肺虚久咳、虚热消渴、久痢滑肠、尿血、便血、崩漏、蛔厥呕吐、腹痛、胆道蛔虫症、胆囊炎等^[1]。演变至今只沿用其乌梅、乌梅肉、醋乌梅、乌梅炭等炮制品,对其炮制工艺研究甚少,对炮制温度、翻炒频率、时间均没有明确的量化指标,仅凭外观颜色控制其“炒炭存性”,缺乏客观、量化的质量评价标准。本实验对乌梅炭炮制工艺进行研究,以实验小鼠凝血时间、止血时间、水溶性浸出物、醇溶性浸出物为指标,结合成品性状、收得率及直径,综合分析优选出乌梅炭

的炮制工艺,为标准乌梅炭的制备提供了稳定的工艺参数。

1 材料与仪器

乌梅药材购于浙江长兴、四川大邑、湖北恩施等地,经笔者鉴定为蔷薇科植乌梅 *P. mume* (Sieb.) Sieb. et Zucc. 的干燥近成熟果实。昆明小鼠,体质量(20±2)g,雌雄不拘,由同济医科大学实验动物中心提供。

ST30 便携式红外非接触测温仪(上海自动化仪器三厂),节拍器(广州白云区龙归电子厂),三圈牌游标卡尺(125 mm×0.02 mm,上海),Sartorius BS 110S 电子天平,TCS-2000A 电子秤(武汉自动化仪表厂)。

收稿日期:2009-04-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30772787)

作者简介:刘先琼(1978—),女,湖北荆州人,讲师,硕士,博士在读,主要从事中药炮制学的教学及相关的研究。

Tel:13476194876 E-mail:liuxianqiong@tom.com

* 通讯作者 许腊英 Tel:(027)68889795 E-mail:xulaying@163.com

2 方法与结果

2.1 乌梅炭炮制样品的正交试验优选工艺的制备：以乌梅的传统炮制工艺为参照，对炮制过程中的温度、翻炒频率、时间 3 个因素各选取 3 个水平进行正交实验设计优选，因素水平见表 1。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A 温度/℃	B 翻炒频率/(次·min ⁻¹)	C 时间/min
1	210	40	7.5
2	235	60	9.5
3	260	80	11.5

按 L₉(3⁴) 正交表安排试验，并按正交表所示条件对药材进行炮制。称取每份药材 100 g，按实验条件分别炒制，放凉，置密闭容器内备用，采用红外非接触测温仪对温度进行控制，炮制过程中准确记录加热温度、时间、成品性状，并计算成品得率。随机取各炮制样品乌梅炭 20 粒，以游标卡尺测定每粒的直径（均选取乌梅核核缘平面，测定其短轴的长度），记录结果，计算平均值。结果见表 2。

表 2 正交试验优化炮制的结果

Table 2 Results of orthogonal test

样品	A 温度 /℃	B 翻炒频率/ (次·min ⁻¹)	C 时间 /min	成品性状	收得率 /%	直径 /cm
1	210	40	7.5	外棕褐，内黄棕	90.2	1.864 3
2	210	60	9.5	外棕褐，内棕黄	86.3	1.922 5
3	210	80	11.5	外深棕，内深黄	84.7	1.941 9
4	235	40	9.5	外焦黑，内黄褐	82.7	1.882 5
5	235	60	11.5	外黑褐，内棕褐	78.3	1.867 5
6	235	80	7.5	外焦黑，内焦褐	86.5	1.932 0
7	260	40	11.5	外黑色，内深褐	72.4	1.909 7
8	260	60	7.5	外黑色，内深棕	84.2	1.932 6
9	260	80	9.5	外黑色，内黑褐	82.0	1.918 4
生品	0	0	0.0	外棕黄，内黄色	100.0	1.753 4

2.2 药理实验指标的测定

2.2.1 样品液的制备：取各炮制品饮片 25 g，加入 200 mL 冷水浸 1 h，水煎煮，煮沸 30 min，滤过，药渣加 100 mL 水继续煎沸 20 min，滤过，合并滤液，浓缩至 50 mL（每毫升相当于原药材 0.5 g），用时摇匀。

2.2.2 止血时间的测定：采用剪尾法^[2]。取小鼠 110 只，随机分成 11 组，每组 10 只。禁食不禁水 12 h 后，用电子秤分别称定质量，用苦味酸标记。将各样品液以 15 g/kg（即 0.6 mL/20 g）的剂量 ig，阴性对照组给予同体积的生理盐水，连续喂养 3 d。第 4 天，ig 后记录时间，30 min 后固定小鼠，分别以利剪横断距小鼠尾巴尖 3 mm 处，待血液自行溢出开始记录时间，每隔 30 s 用滤纸吸去血滴一次，直至血液自然停止（滤纸吸时无血）为止，计算止血时间。

止血时间缩短率为各炮制品止血时间与阴性对照组比较的结果。结果见表 3。

2.2.3 凝血时间的测定：采用玻片法^[3]。按前面分组重新称定质量，相同剂量再次 ig 给药，喂养 3 d。第 4 天，ig 后记录时间，30 min 后自小鼠左眼内眦球后静脉丛取血（用眼科弯镊迅速摘取一侧眼球，即有血液流出），于载玻片的两端各滴一滴血，血滴直径约 5 mm，立即用秒表计时。每隔 30 s 用清洁大头针自血滴边缘向里轻轻拨动一次，并观察有无血丝挑起。从采血开始至挑起血丝为止，所用时间即为凝血时间，另一滴血供最后复验，记录凝血时间。凝血时间缩短率为各炮制品凝血时间与阴性对照组比较的结果。结果见表 3。

表 3 乌梅炮制样品水煎液对小鼠凝血时间和止血时间的影响 (n=10)

Table 3 Effects of water decoction processed by *P. mume* on blood coagulation time and hemostasis time (n=10)

样品	凝血时间/min	止血时间/min
1	3.50±0.85	14.81±1.70
2	3.07±0.80	21.69±0.86
3	1.75±0.45	19.06±0.97
4	2.00±0.72	12.89±0.81
5	2.39±0.58	15.83±1.24
6	1.88±0.71	16.22±1.50
7	2.17±0.64	18.94±0.41
8	2.88±0.28	14.22±1.16
9	2.50±0.30	12.88±0.64
阴性对照	3.61±0.66	25.29±1.77

2.3 浸出物的测定：取各炮制品及生品粉末（40 目），按炭品得率折算称取与生品等量的乌梅炭品，按《中国药典》2005 年版一部附录 XA 冷浸法测定其水溶性浸出物和醇溶性浸出物，计算其浸出物的得率。

2.4 加权法综合评价乌梅炭炮制工艺^[4]：优选乌梅炒炭工艺条件，要满足炮制目的止血作用强，临床疗效好，故测定了小鼠凝血时间和止血时间、水溶性浸出及醇溶性浸出物 4 个指标，从不同角度优选炒炭工艺。采用加权综合评分法考察乌梅炭优选炮制工艺，因凝血、止血两个指标同等重要，分别按 35%、35% 的系数计分。醇溶性浸出物比水溶性浸出物更能反映乌梅中总有效成分的量，故分别按 20%、10% 的系数计分。评分标准为：各项指标的最大值为 100 分，其他每项指标值均以最大值为基准，加上 100-Y_{max}，并乘以各自的系数后合计为最后得分。加权评分结果及方差分析见表 4、5。

以乌梅凝血时间、止血时间、水溶性浸出物、醇

表 4 乌梅炭正交试验药理凝血、止血、浸出物结果及计算
Table 4 Results and caculations of orthogonal test by *P. mume* carbon for coagulation, hemostasis, and extracts

试验号	A	B	C	D	凝血时间 缩短率/%	止血时间 缩短率/%	水溶性浸 出物/%	醇溶性浸 出物/%	综合 评分
1	1	1	1	1	3.05	41.44	19.87	19.97	77.57
2	1	2	2	2	14.96	14.23	26.60	14.41	71.77
3	1	3	3	3	51.52	24.63	21.07	8.13	86.40
4	2	1	2	3	44.60	49.03	21.71	13.19	93.59
5	2	2	3	1	33.80	37.41	12.57	16.07	85.41
6	2	3	1	2	47.92	45.86	24.43	30.63	97.40
7	3	1	3	2	39.89	25.11	11.65	6.17	81.16
8	3	2	1	3	20.22	43.77	25.19	16.83	84.30
9	3	3	2	1	30.75	49.07	18.32	12.58	88.29
Σ I	235.74	252.32	259.27	251.27					
Σ II	276.40	241.48	253.65	250.33					
Σ III	253.75	272.09	252.97	264.29					
R	40.66	30.61	6.30	13.96					

表 5 方差分析
Table 5 Analysis of variance

误差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	276.73	2	138.37	11.40	$P < 0.05$
B	160.59	2	80.30	6.61	
C	7.97	2			
D(空列)	40.58	2			
误差(C+D)	48.55	4	12.14		

$F_{0.05}(2,4)=7.71$

溶性浸出物的指标综合评分考察,对其炮制工艺进行优选。极差分析显示,各因素对炮制品止血作用的影响程度主次为 A>B>C;方差分析结果表明:A(温度)因素的影响具有显著性意义,B(翻炒频率)和 C(炒制时间)均无显著性差异,以 A₂B₃C₁ 组合(样品 6)为佳,即温度 235℃,翻炒频率为 80 次/min,炒制 7.5 min。样品 6 的成品性状为外焦黑,内焦褐,具特有的焦香气,味酸涩,符合传统的外观标准,且凝血止血作用最强。

2.5 验证试验:按上述乌梅炭优选炮制工艺结果进行 3 份平行试验,分别按上述方法测定各项的结果,见表 6。结果显示,优选工艺经 3 次验证试验表明,各项指标稳定,达到预期结果,因此,乌梅炭优选炮制工艺合理。

3 讨论

结合乌梅炭的宏观特性的传统经验判别,笔者进行正交设计的乌梅炭外观评价判别,对 9 个炭品打分,样品 1、2、3 炒制程度不及,样品 4、6 较好,样

表 6 优选炒炭工艺各指标验证结果
Table 6 Verification of every index for optimizing fried carbon

编号	凝血时间缩 短率/%	止血时间缩 短率/%	水溶性浸 出物/%	醇溶性浸 出物/%
1	47.94	45.89	24.33	30.77
2	47.97	45.78	24.41	30.68
3	47.93	45.92	24.46	30.71

品 7 太过,样品 8、9 稍有点过,判定样品 6 最佳,口尝有酸味,外观符合传统标准。进一步证明了经验判别和工艺筛选结果的一致性。

中药炭药的作用机制极为复杂,炮制工艺对炭药的临床疗效有直接影响。现代对炭药的疗效评价多是以炭药的凝血和止血时间作为指标进行探讨,优选工艺。作为筛选乌梅炒炭炮制工艺的指标应能准确代表药材的炮制意义并且稳定可靠,而不宜用有机酸的量做方差分析优选工艺,因乌梅药材炒炭过程中受高温长时间炒制,有效成分遭到一定程度的破坏,导致有机酸的量降低,其量的高低并不是与其凝血作用的强弱呈平行关系。乌梅经过炮制后,理化性质发生了较大的变化,有机酸的量不能作为炭药的评价指标。因此在工艺条件的优选中,测定炭品中水和醇溶性浸出物,作为筛选乌梅炒炭炮制工艺的指标,间接地反映其炮制程度对总有效成分的变化,最终评价制炭效果及存性与否,以乌梅炭凝血和止血时间及水溶性浸出物、醇溶性浸出物多项指标综合加权评分确定乌梅炭的优选工艺。

从正交试验的数据处理中可看出,各因素对乌梅的影响大小为:温度>翻炒频率>时间。综合考虑总有效成分和凝血止血试验结果,样品 6 为最佳炭品,故乌梅炭的优选炮制工艺为温度 235℃,每分钟翻炒 80 次,炮制 7.5 min。乌梅炭的优选工艺为标准乌梅炭的制备提供了稳定的工艺参数,为乌梅炭凝血机制研究提供稳定的标准炭样品。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986.
[2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1991.
[3] 陈奇. 中药药理实验方法[M]. 北京:人民卫生出版社,1994.
[4] 刘明芝. 中医药统计学[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1999.