

醋艾炭炮制工艺优选

于凤蕊¹, 孙立立^{2*}, 戴衍朋², 周倩²

(1. 山东中医药大学, 济南 250014; 2. 山东省中医药研究院, 济南 250014)

[摘要] 目的: 优选醋艾炭饮片炮制工艺。方法: 以小鼠凝血、止血时间, 总黄酮下降率及外观性状为指标, 选取炒制温度、炒制时间、喷醋量为考察因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法对醋艾炭炮制工艺进行优选。结果: 醋艾炭最佳炮制工艺为炒制温度 360 °C, 炒制 16 min, 喷醋量 15%。结论: 优选的炮制工艺合理、稳定。

[关键词] 醋艾炭; 正交试验; 凝血时间; 止血时间; 总黄酮; 下降率

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)14-0023-04

Optimization of Processing Technology for *Artemisia argyi* Carbonisatus with Vinegar

YU Feng-rui¹, SUN Li-li^{2*}, DAI Yan-peng², ZHOU Qian²

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China;

2. Shandong Academy of Chinese medicine, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology for *Artemisia argyi* carbonisatus with vinegar. **Method:** With coagulation time and hemostasis time of mice, descent rate of total flavonoids and appearance as indexes, $L_9(3^4)$ orthogonal design was used to optimize processing technology with frying temperature, frying time and the amount of spray vinegar as factors. **Result:** Optimum processing technology was: frying 16 min at 360 °C with the amount of spray vinegar 15%. **Conclusion:** This optimized processing technology was stable and reasonable.

[Key words] *Artemisia argyi* carbonisatus with vinegar; orthogonal test; coagulation time; hemostasis time; descent rate of total flavonoids

艾叶来源于菊科植物艾的干燥叶, 具有温经止血、散寒止痛之功, 用于治疗吐血、衄血、官冷不孕等症。醋艾炭温经止血, 用于治疗虚寒性出血^[1]。艾叶炮炙方法最早记载于汉代《华氏中藏经》“艾叶, 炒”, 艾叶制炭在唐朝《备急千金要方》中有“(艾叶)烧作灰”的记载, 此后各时期均有制炭方法的记

载, 至明代时对制炭程度提出了“存性”的要求^[2]。现代对艾叶的炮制以醋制和制炭 2 种方法为主, 《中药大辞典》收载艾叶、醋艾叶、醋艾炭、艾叶炭 4 种饮片规格。2010 年版《中国药典》收载醋艾炭饮片, 并对醋艾炭炮制进行了“照炒炭法炒至表面焦黑色, 喷醋, 炒干。每 100 kg 艾叶, 用醋 15 kg”的规定。《山东省中药炮制规范》的制法为: “用中火炒至全部黑褐色时, 喷淋米醋, 灭尽火星, 炒干”, 均是以外观性状为指标, 没有具体工艺参数, 主观性强, 不同地区、不同厂家、甚至不同批次之间差异较大, 对临床疗效影响较大。

为了规范醋艾炭炮制工艺, 优选炮制参数, 本实验采用正交试验法, 以颜色、性状等为外在指标, 总黄酮含量为内在指标, 止血作用为药理活性指标, 考察不同加热温度、加热时间以及喷醋量对醋艾炭质

[收稿日期] 20120228(017)

[基金项目] 2008 年中医药行业科研专项 (200807039); 国家自然科学基金项目 (81173545)。

[第一作者] 于凤蕊, 硕士, 从事中药新药与中药炮制原理研究, Tel: 15863139353, E-mail: yufengrui888 @ 126.com

[通讯作者] * 孙立立, 研究员, 从事中药新药与中药炮制原理研究, Tel: 0531-82949829, E-mail: xingerx @ 163.com

量的影响,为规范中药饮片的生产加工提供参考。

1 材料

中药炮制控温炉(哈尔滨市测电器厂),ST80 型红外温度仪(北京雷泰光电技术有限公司),UV-265FM 型紫外分光光度计(日本岛津)。

艾叶(安徽沪谯中药饮片厂,产地安徽,经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为菊科植物 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. 的干燥叶),龙门米醋(北京王致和味滋康食品有限公司),芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100080-200306)。

昆明种小鼠 18 ~ 22 g,SPF 级,雌雄各半,购于山东大学实验动物中心,许可证号 SCXK(鲁)20090001。

2 方法与结果^[3]

2.1 正交试验 根据预试验结果,选择炒制温度、炒制时间及喷醋量作为考察因素,选用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,因素水平表见表 1。取 9 份净制艾叶药材各 50 g,按表 1 正交试验设计,投入热锅中炒制,锅底温度以数字式红外线测温仪测定,不断翻炒,出锅前喷洒米醋,炒干,取出,放凉。共炒制得 9 份醋艾炭样品,计算各样品得率,对外观性状进行描述。

表 1 醋艾炭炮制工艺优选正交试验因素水平

水平	A 炒制温度 /°C	B 炒制时间 /min	C 喷醋量 /%
1	330	12	10
2	360	16	20
3	390	20	15

2.2 总黄酮含量测定^[4]

2.2.1 线性关系考察 精密称取于 120 °C 干燥至恒重的芦丁对照品适量,加乙醇使溶解,摇匀,配成 0.225 g·L⁻¹ 的芦丁对照品溶液。精密吸取芦丁对照品溶液 1,2,3,4,5,6 mL,分别置于 25 mL 量瓶中,加入 40% 乙醇至 6 mL,加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加入 10% 硝酸铝溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,加入 1 mol·L⁻¹ 氢氧化钠溶液 10 mL,用 40% 乙醇定容至刻度,摇匀,放置 15 min,以相应试剂为空白,立即照紫外-可见分光光度法(2010 年版《中国药典》一部附录 V A)于 504 nm 处测定吸光度(A)。以 A 为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标。得回归方程 $A = 9.514 3C + 0.038 1$ ($R^2 = 0.999 8$),芦丁在 0.009 ~ 0.054 g·L⁻¹ 线性关系良好。

2.2.2 供试品溶液制备 取艾叶粉末 0.5 g,精密

称定,置 100 mL 圆底烧瓶中,精密加入 40% 乙醇 50 mL,称重,分别回流提取 1 h,放凉,称重,用 40% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 样品测定 精密吸取生艾叶供试品溶液 1 mL,供试品溶液 2 mL,分别置 25 mL 量瓶中,照 2.2.1 项下,自“加 40% 乙醇至 6 mL”起依法测定 A,计算,即得。

2.3 止血、凝血时间测定^[5]

2.3.1 供试品溶液的制备 称取各炮制品约 28.0 g,加 20 倍量蒸馏水回流提取 2 次,第 1 次 1.5 h,第 2 次 1.0 h,过滤,合并滤液并浓缩至 60 mL,得供试样品。

2.3.2 小鼠凝血时间的测定 取昆明种小鼠 100 只,体重 18 ~ 22 g,雌雄各半,随机分为 10 组,每组 10 只。第 1 ~ 9 组分别给予正交样品 1 ~ 9 号供试品溶液,第 10 组(空白组)给予蒸馏水,每天灌胃 1 次,连续 7 d,并于第 7 d 给药后 1 h,按照《中药药理实验方法学》^[6]测定。数据以 SPSS 17.0 统计软件进行组间 t 检验比较,结果及剂量见表 2。

表 2 醋艾炭对小鼠凝血、止血时间的影响

($\bar{x} \pm s, n = 10$)

No.	剂量 /g·kg ⁻¹	凝血时间 /s	凝血时间 缩短率/%	止血时间 /s	止血时间 缩短率/%
1	9.36	99.5 ± 43.47	7.44	216.1 ± 85.89	0.00
2	9.36	110.1 ± 69.01	0.00	150.9 ± 68.42	26.32
3	9.36	96.3 ± 34.90	10.42	149.3 ± 102.03	27.10
4	9.36	112.2 ± 51.98	0.00	200.3 ± 69.89	21.97
5	9.36	64.1 ± 27.81 ¹⁾	40.37	113.4 ± 54.57 ¹⁾	44.63
6	9.36	89.0 ± 37.72	17.21	145.8 ± 98.94	28.81
7	9.36	88.7 ± 51.56	17.49	156.1 ± 37.64	23.78
8	9.36	86.0 ± 29.02	20.00	131.6 ± 60.63	35.74
9	9.36	104.3 ± 39.89	2.98	199.0 ± 55.91	2.83
10	0.2 mL/10 g	107.5 ± 35.64		204.8 ± 93.28	

注:与空白组比较¹⁾P < 0.05。

2.3.3 小鼠止血时间测定 动物分组和给药同 2.4 项下方法,于第 7 d 给药后 1 h,按文献[7]方法测定。数据处理同 2.3.2 项下方法,给药剂量及结果见表 2。

2.4 加权法综合评价优选醋艾炭炮制工艺

2.4.1 传统质量评价指标的选择 根据 2010 年版《中国药典》对醋艾炭饮片的描述,确定醋艾炭外观达到“呈不规则碎片,表面黑褐色,具醋香气”时为

最佳品定为 100 分,炮制后的饮片请有经验的药工按照炒炭后颜色及片形完整度分为 5 等:100,80,60,40,20 分,结果见表 3。

表 3 醋艾炭炮制工艺优选正交试验得率及各指标评分

No.	得率 /%	外观性状	外观性状 /分	总黄酮 含量/%	总黄酮下 降率/分	凝血时间 缩短率/分	止血时间 缩短率/分
1	82.5	显叶形,焦黄色,醋香气	20	10.64	8.07	67.07	55.37
2	80.5	显叶形,焦黄色,醋香气	20	8.43	46.82	59.63	81.69
3	77.5	显叶形,焦褐色,醋香气	40	6.74	76.41	71.05	82.47
4	75.0	显叶形,焦褐色,醋香气	40	7.42	64.50	59.63	57.57
5	70.0	碎片,黑褐色,醋香气	100	5.73	93.97	100.00	100.00
6	57.2	碎片,黑褐色较深,醋香气	80	2.76	53.73	76.84	84.18
7	60.0	显叶形及少量粉末,黑色,醋香气	40	1.90	38.77	77.12	79.05
8	52.5	碎片及少量粉末,黑色,醋香气	60	1.35	29.09	79.63	91.11
9	42.5	碎片及粉末多,黑色有灰化,醋香气	20	0.31	10.91	62.61	58.20

2.4.2 内在质量评价指标的选择 艾叶炒炭后温经止血作用力强,故以小鼠凝血时间和止血时间缩短率为指标,对醋艾炭的正交试验结果进行评分。小鼠凝血、止血时间缩短率 = (空白组均值 - 试验组均值) / 空白组均值 × 100%,评分标准按各项指标最大值为 100 分,其他每项指标值均以最大值为基准,加上 $100 - Y_{\max}^{[7]}$,结果见表 3。黄酮是艾叶的有效成分之一,具有抗菌、消炎、抗过敏、止血、抗凝血等多种生物活性,故总黄酮含量作为醋艾炭“存性”的指标,按 2.2 项下方法测定总黄酮含量,结果表明醋艾炭黄酮含量较生品下降,下降率在 44% ~ 81%,结合传统外观性状对测定结果进行分析认为,醋艾炭总黄酮下降率为 65% 者为佳品。故将下降 65% 者定为 100 分,正交表中 9 份样品与其比较,总黄酮下降率每增加或减少 0.37% 减 1 分。评分结果见表 3。

2.4.3 综合评分标准 采用加权综合评分法对醋艾炭炮制工艺进行优选,外观性状、总黄酮下降率、小鼠凝血、止血时间缩短率均按 25% 系数进行计分,结果见表 4。方差分析见表 5。

由极差结果可知,各因素对炮制品止血作用的影响程度大小依次为 $C > A > B$,确定醋艾炭优选炮制工艺组合为 $A_2B_2C_3$ 。以极差最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果表明炒制时间、炒制温度、喷醋量均对醋艾炭质量影响显著。故最终确定醋艾炭炮制工艺条件为 $A_2B_2C_3$,即取净艾叶适量,揉散,360 °C 翻炒 16 min,喷洒 15% 米醋翻炒,灭尽火星,取出,放凉。

表 4 醋艾炭炮制工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	综合评分
1	1	1	1	1	37.63
2	1	2	2	2	52.04
3	1	3	3	3	67.48
4	2	1	2	3	55.43
5	2	2	3	1	98.50
6	2	3	1	2	73.69
7	3	1	3	2	58.74
8	3	2	1	3	64.96
9	3	3	2	1	37.93
K_1	52.383	50.600	58.760	58.020	
K_2	75.873	71.833	48.467	61.490	
K_3	53.877	59.700	74.907	62.623	
R	23.490	21.233	26.440	4.603	

表 5 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	1 037.863	2	30.069	<0.05
B	680.882	2	19.727	<0.05
C	1 065.741	2	30.877	<0.05
D(误差)	34.52	2	1.00	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

3 讨论

中药炭药的作用机制复杂,炮制工艺对炭药的临床疗效有直接关系,艾叶炒炭后化学成分发生显著变化,已无法再沿用《中国药典》中含量测定方法来控制其炭品质量,现代对炭药的疗效评价多以凝

星点设计-效应面法优化酸枣仁黄酮滴丸处方

张婷^{1,2}, 张华¹, 沈宇燕³, 解军波¹, 张彦青^{1*}, 陈大为^{2*}

(1. 天津商业大学制药工程系, 天津 300134; 2. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016;
3. 天津同仁堂股份有限公司, 天津 300132)

[摘要] 目的: 优选酸枣仁黄酮滴丸处方。方法: 以药物基质比、泊洛沙姆 188 和吐温 80 的质量分数为自变量, 溶出 T_{50} 、圆整度和溶散时限为因变量, 采用星点设计-效应面法优化法优选酸枣仁黄酮滴丸处方。运用 SPSS 软件对试验数据进行多元线性模型和二次多项式模型拟合, 得出最佳数学模型, Origin 软件绘制效应图和等高线图, 根据效应图确定最佳提取条件。结果: 二次多项式模型相关系数优于多元线性模型, 复相关系数为 0.941 9, 为最终拟合模型; 拟合模型的理论预测值与实测值偏差较小, 具有良好的预测性。结论: 通过星点设计-效应面法建立的模型预测性良好, 可用于对酸枣仁黄酮滴丸处方的优化。

[关键词] 酸枣仁黄酮; 滴丸; 固体分散体; 星点设计-效应面优化法; 处方

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0026-06

Optimization of Formulation for Flavonoids from *Ziziphus jujuba* Dripping Pill by Central Composite Design-Response Surface Methodology

ZHANG Ting^{1,2}, ZHANG Hua¹, SHEN Yu-yan³, XIE Jun-bo¹, ZHANG Yan-qing^{1*}, CHEN Da-wei^{2*}

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China;
2. School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;
3. Tianjin Tongrentang Pharmaceutical Co. Ltd, Tianjin 300132, China)

[收稿日期] 20120109(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(1101235, 31000749)

[第一作者] 张婷, 硕士, 从事中药制剂研究, Tel: 13602196583, E-mail: zhangting19860511@126.com

[通讯作者] * 张彦青, 副教授, 博士, 从事中药新剂型与药代研究, Tel: 13752524378, E-mail: zhyanqing@yahoo.com.cn

* 陈大为, 教授, 博士, 从事药物新剂型的研究, Tel: 024-23986308, E-mail: chendawei@syphu.edu.cn

血、止血时间作为指标, 本试验采用综合评分法, 将醋艾炭传统质量标准与药理学指标相结合, 同时考虑炒炭“存性”的要求, 可比较客观地反映各个因素水平对醋艾炭质量的影响, 从而优选其炮制工艺。

黄酮类化合物是艾叶有效成分之一, 有文献报道黄酮中化合物 5,7-二羟基-6,3',4'-三甲氧基黄酮对血小板聚集有显著的抑制作用^[8], 炒炭后其含量较生品降低, 这与传统中医理论中艾叶止血不留痕而炒炭则重于止血相一致, 但对于炮制后黄酮类化合物之间是否存在相互转化需进一步研究。

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 201;83.

[2] 吴惠时, 麻兵继, 单小兵. 艾叶炮制历史沿革的研究

[J]. 中药材, 1998, 21(10):511.

[3] 李媛, 张丽, 单鸣秋, 等. 正交试验优选甘遂醋制最佳工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):4.

[4] 任淑娟, 考玉萍, 陈世虎, 等. 艾叶炒炭炮制品中总黄酮的含量测定[J]. 陕西中医学院学报, 2009, 32(4):70.

[5] 贺卫和, 蒋孟良, 曾婷, 等. 炮制对胶艾汤止血作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16):164.

[6] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993:480.

[7] 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.

[8] 梅全喜. 艾叶的药理作用研究概况[J]. 中草药, 1996, 27(5):311.

[责任编辑 仝燕]