

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.15.020

正交试验优化酒黄芩炮制工艺研究

周霜¹,朱静^{2△}

(1.重庆市江北区中医院药剂科 400020;2.重庆市北碚区中医院药剂科 400700)

[摘要] 目的 优选酒黄芩炮制的最佳工艺。方法 以黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素获得率的综合评分为指标,采用正交试验考察黄酒质量分数、炒制温度、炒制时间对炮制工艺的影响。结果 优选黄酒质量分数为 10%、炒制温度为 140℃、炒制时间为 6 min,该工艺稳定可行。结论 正交设计法可用于酒黄芩炮制工艺的优化。

[关键词] 黄芩;正交试验;炮制

[中图分类号] R914

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)15-2070-02

Study on processing technology optimization of wine radix scutellariae by orthogonal design

Zhou Shuang¹, Zhu Jing^{2△}

(1. Department of Pharmacy, Jiangbei District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400020, China;

2. Department of Pharmacy, Beibei District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400700, China)

[Abstract] **Objective** To screen the optimized processing technology of wine radix Scutellariae. **Methods** With the the comprehensive score of the yield rates of baicalin, wogonoside and baicalein as the index, the orthogonal design was used to investigate the mass fractions of yellow wine quantity, stir-frying temperature and frying time of wine radix Scutellariae. **Results** The optimum yellow wine mass fraction was 10%, the stir-frying temperature was 120℃, the frying time was 6 min, and this processing technology was stable and feasible. **Conclusion** The orthogonal design can be used for the optimization of processing technology of wine radix Scutellariae.

[Key words] scutellariae baicalesis; orthogonal design; drug-processing

黄芩功能清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎,是中医临床常用药材之一,以黄酮类成分如黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、野黄芩苷等为主^[1-3]。由于其味苦性寒,临床应用前多需炮制,如炒制、酒炒、炒炭等。酒性偏热,酒炒后缓和了黄芩的苦寒之性,同时可以引药上行,增强其清肺热之功效^[4]。目前对酒黄芩炮制工艺的研究较多,但多以黄芩苷为观察指标^[5-7],具有一定的局限性。因此本研究拟以炮制后含量较高的主要黄酮类成分黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素为观察指标,采用正交设计综合评分法对酒黄芩的炮制工艺进行优化。

1 材料与方

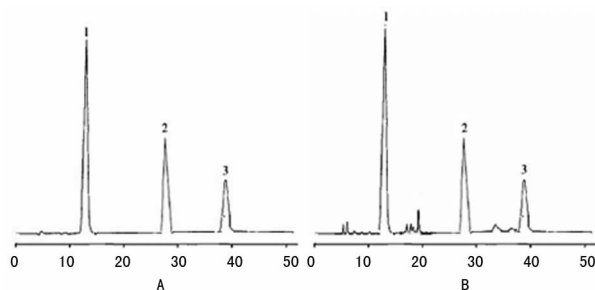
1.1 仪器与试剂 普通电炒锅,OS423-LS 型非接触式红外测温仪(美国 Omega 公司);HC-TPLL-10 型架盘药物天平(上海精科天平仪器厂);2695/2996 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)。黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素对照品(中国药品生物制品检定所);黄芩饮片(购自安徽亳州药材市场,经本科周霜药师鉴定为唇形科黄芩的干燥根所切的薄片);黄酒(浙江绍兴市古泉酿酒厂,乙醇含量 9%);甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamondsil C18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇:水:磷酸=47:53:0.2;流速:0.8 mL/min;柱温:30℃;检测波长:279 nm;进样体积:10 μL。

1.2.2 专属性考察 精密称定黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素对照品适量,用甲醇溶解,作为对照品溶液;精密称取炮制药材粉末

约 0.5 g,加入 50 mL 的 60%乙醇(V/V),置 100 mL 带塞锥形瓶中超声 30 min,超声结束后,加 60%乙醇补足超声可能损失的质量。精密量取上清液 0.5 mL,加甲醇定容至 5 mL,0.45 μm 有机微孔滤膜过滤即得供试品溶液。按上述色谱条件进样,所得色谱图如图 1 所示。各峰峰形及分离度良好。



A: 对照品; B: 样品(1 黄芩苷, 2 汉黄芩苷, 3 黄芩素)。

图 1 HPLC 色谱图

1.2.3 标准曲线的制备 精密吸取定量混合对照品溶液,流动相稀释,制成 6 种不同浓度的对照品溶液,每种浓度进样 2 次,取各成分峰面积的平均值,记录峰面积 A。以峰面积 A 对药物浓度 C 间进行线性回归,所得黄芩苷标准曲线方程 $A=3142C+66192(r=0.9997)(n=6)$,线性范围为 41~820 μg/mL;汉黄芩苷标准曲线方程 $A=5809C-15220(r=0.9994)(n=6)$,线性范围为 13~260 μg/mL;黄芩素标准曲线方程 $A=4410C+11202(r=0.9995)(n=6)$,线性范围为 2.2~44 μg/mL。

1.2.4 回收率试验 分别精密称取炮制后,已知黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素含量的酒黄芩粉末样品适量约 0.25 g,加入 50 mL 的 60%乙醇(V/V),置 100 mL 带塞锥形瓶中超声 30 min,超声结束后,加 60%乙醇补足超声可能损失的质量。按已知各样品成分,分别精密称取已知含量的 80%、100%、120%的黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素对照品,加入已知含量的各样品中,制备成回收率考察用低、中、高 3 个浓度样品溶液各 3 份。分别测定含量,测得的含量减去已知含量,即为对照品加入量回收率测得的含量,所测得含量与精密加入的对照品的比值即为加入量的回收率,计算所得黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素平均回收率分别为 100.5%、99.6%和 99.8%,RSD 分别为 1.75%、1.63%和 2.08%(n=9)。

1.2.5 精密度试验 精密量取“1.2.3”中混合对照品溶液,连续重复进样 6 次,以峰面积计算黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素 RSD 分别为 0.79%、0.88%和 0.52%(n=6)。

1.2.6 稳定性试验 精密量取“1.2.3”中混合对照品溶液,分别于 0、1、2、4、8、12 h 进样,记录色谱图,以峰面积计算黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素 RSD 分别为 1.27%、2.80%和 1.84%(n=6),表明本品溶液在 12 h 内稳定。

1.2.7 重复性试验 取酒黄芩粉末,精密称取细粉适量,按“1.2.2”制备供试品溶液后进样,测得黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素平均质量分数分别为(14.56±0.30)%、(3.71±0.05)%、(1.02±0.03)%,以含量计算 RSD 分别为 2.06%、1.35%和 2.94%(n=6)。

1.2.8 酒黄芩炒制过程 取黄芩饮片适量,加入黄酒拌匀,待黄酒吸尽后,迅速放入升温的炒锅内(测温仪测定炒锅温度),不断拌炒至所需时间后,迅速倒入晾盘内摊开、晾凉。

2 结 果

2.1 正交试验 根据炮制经验以及前期预试验发现,对炮制后 3 种黄酮类成分的含量影响因素很多,包括酒的种类、酒中乙醇含量、加酒量、炒制温度、炒制时间等,尤以后 3 种因素最为显著,故在单因素考察的基础上,确定以黄酒占炮制药材量的质量分数(A)、炒制温度(B)、炒制时间(C)为考察对象,运用正交设计法对方进行优化。试验因素及水平安排见表 1。

表 1 酒黄芩炒制过程中因素水平

| 因素水平 | A 黄酒质量分数(%) | B 炒制温度(℃) | C 炒制时间(min) |
|------|-------------|-----------|-------------|
| 1 | 8 | 140 | 3 |
| 2 | 10 | 160 | 6 |
| 3 | 12 | 180 | 9 |

对于酒黄芩而言,其所含黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素均为重要的活性物质,因此采用多指标综合加权评分法对试验结果进行综合评价^[8-9],三者中黄芩苷含量最多,其余两个成分较少,所以权重系数按黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素排列分别为 60%、20%和 20%。各次实验结果见表 2。从结果看,黄芩苷含量在 5%~20%之间,设定 20%为满分 60 分,按(实测值/20%)×60 计算黄芩苷得分;汉黄芩苷含量在 0.5%~5%之间,设定 5%为满分 20 分,按(实测值/5%)×20 计算汉黄芩苷得分;黄芩素含量在 0.1%~2%之间,设定 2%为满分 20 分,按(实测

值/2%)×20 计算黄芩素得分;三者之和为总分。总分越高,表明各成分含量越高,炒制效果越好。

表 2 正交试验设计结果

| 编号 | A | B | C | 含量 | | | 总分 |
|----|---|---|---|---------|----------|---------|------|
| | | | | 黄芩苷 (%) | 汉黄芩苷 (%) | 黄芩素 (%) | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 12.4 | 1.3 | 0.4 | 46.4 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 9.3 | 0.9 | 0.9 | 40.5 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 6.7 | 0.6 | 0.8 | 30.5 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 14.5 | 2.1 | 0.5 | 56.9 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 5.9 | 0.6 | 1.1 | 31.1 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 8.3 | 0.8 | 0.6 | 34.1 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 9.1 | 1.4 | 0.3 | 35.9 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 14.2 | 1.9 | 0.3 | 53.2 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 7.1 | 2.5 | 0.2 | 33.3 |

根据表 2 结果,由极差大小顺序排列,对炒制后酒黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素 3 个指标的影响作用大小次序为: B>C>A,最好的炮制条件为 A2B1C2,即黄酒质量分数为 10%、炒制温度为 140℃、炒制时间 6 min。

2.2 验证试验结果 为进一步验证炮制工艺的可行性和稳定性,以此工艺炒制了 6 批酒黄芩样品,测得黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素含量分别为(16.1±1.8)%、(2.9±0.3)%和(1.4±0.2)%,均优于正交设计中各次试验结果,表明优化成功。

3 讨 论

2010 年版《中国药典》记载的酒黄芩的炮制方法为“取黄芩片,加黄酒拌匀,闷透,置锅内用文火炒干,取出放凉。每 100 kg 药材加 10 kg 黄酒”,没有炒制温度、炒制时间等指标的量化标准,导致酒黄芩的炮制工艺可能因人而异,难以保证质量。虽有少量报道采用正交试验等方法进行炮制工艺的优化,但均仅以黄芩苷为指标^[5-6],不能全面反映炮制后的药材品质。

黄芩素是黄芩苷的苷元,黄芩素、黄芩苷具有较强抗菌功能,且能抗病毒、抗氧化、解热、镇痛、抗炎、抗肿瘤、降糖等,黄芩素还具有扩张血管、保护脑神经等作用^[10-13];汉黄芩苷具有抗炎、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤等活性^[14-15],因此本研究以这 3 种成分为指标,采用正交设计综合评分法优化其酒制工艺。影响酒黄芩黄酮类成分含量的因素很多,包括酒的种类、酒中乙醇含量、加酒量、炒制温度、炒制时间等,前期预试验发现,后 3 种因素对炮制后 3 种黄酮类成分的含量影响最显著。本文是在单因素考察的基础上,选用乙醇含量 9%的绍兴黄酒,运用正交设计法对炮制工艺进行优化,确定了相对最佳的组合,即黄酒质量分数为 10%、炒制温度为 140℃、炒制时间 6 min,可以得到黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素含量较高的酒制黄芩。

参考文献

[1] Li C, Lin G, Zuo Z. Pharmacological effects and pharmacokinetics properties of Radix Scutellariae and its bioactive flavones [J]. Biopharm Drug Dispos, 2011, 32(8): 427-445.

- [3] Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine; the uber marker[J]. *Circulation*, 2004, 109(15):1813-1813.
- [4] Ivanova M, Artusi C, Boffa GM, et al. HPLC determination of plasma dimethylarginines: method validation and preliminary clinical application[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(21/22):1632-1636.
- [5] Salvatore S, Angelo Z. A new selective pre-column ninhydrin-based derivatization for a RP-HPLC determination of plasma ADMA by fluorescence detection[J]. *Amino Acids*, 2008(34):677-682.
- [6] Tom T. HPLC analysis of ADMA and other methylated L-arginine analogs in biological fluids[J]. *J Chromatography B*, 2007(851):21-29.
- [7] 邹放君, 唐斌, 何芳, 等. eNOS 基因 27bpVNTR 多态性与新疆汉族原发性高血压的相关性研究[J]. *石河子大学学报:自然科学版*, 2011, 29(3):309-313.
- [8] Boger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor[J]. *Cardio Res*, 2003, 59(4):824-833.
- [9] Elesber AA, Solomon H, Lennon RJ, et al. Coronary endothelial dysfunction is associated with erectile dysfunction and elevated asymmetric dimethylarginine in patients with early atherosclerosis[J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(7):824-831.
- [10] 王洪巨, 刘俊, 史晓俊, 等. 原发性高血压患者血浆非对称性二甲基精氨酸浓度升高[J]. *中华高血压杂志*, 2007, 15(11):930-932.
- [11] Juonala M, Viikari JS, Alftan G, et al. Brachial artery flow-mediated dilation and asymmetric dimethylarginine in the cardiovascular risk in young finns study[J]. *Circulation*, 2007, 116(12):1367-1373.
- [12] 崔璐华, 王庸晋. 不对称二甲基精氨酸与动脉粥样硬化[J]. *国际心血管病杂志*, 2010, 37(2):78-81.
- [13] 谷杨, 马雅静, 程江, 等. 435 例哈萨克族、汉族牧区与市区居民血脂调查分析[J]. *检验医学*, 2005, 20(4):342-343.
- [14] 李娜, 郭淑霞, 张翼华, 等. 新疆哈萨克族居民高血压知识、态度、行为调查分析[J]. *石河子大学学报*, 2007, 25(2):435-438.
- [15] Xiao HB, Yang ZC, Jia SJ, et al. Effect of asymmetric dimethylarginine on atherogenesis and erythrocyte formability in apolipoprotein E deficient mice[J]. *Life Sci*, 2007, 81(1):1-7.
- [16] 杨建峰, 石晓鹏, 赵丹, 等. TGF- β_1 rs1800469 基因多态性与新疆汉族原发性高血压的相关性研究[J]. *石河子大学学报:自然科学版*, 2010, 28(5):576-581.
- [17] Pizzarelli F, Mass R, Dattolo P, et al. Asymmetric dimethylarginine predicts survival in the elderly[J]. *AGE*, 2013, 35(6):2465-2475.
- [18] Strobe J, Müller F, Zolk O, et al. Transport of asymmetric dimethylarginine (ADMA) by cationic amino acid transporter 2 (CAT2), organic cation transporter-2 (OCT2) and multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE1) [J]. *Amino Acids*, 2013, 45(4):989-1002.

(收稿日期:2014-10-08 修回日期:2015-01-16)

(上接第 2071 页)

- [2] 杨欣文, 吴德康, 李俊松, 等. 黄芩炮制前后 6 种黄酮类成分含量的比较[J]. *广东药学院学报*, 2012, 28(3):282-286.
- [3] Deng YX, Shi QZ, Chen B, et al. Comparative pharmacokinetics of baicalin in normal and the type 2 diabetic rats after oral administration of the *Radix scutellariae* extract[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(8):1435-1442.
- [4] Huang P, Tan S, Zhang YX, et al. The effects of wine-processing on ascending and descending: The distribution of flavonoids in rat tissues after oral administration of crude and wine-processed *Radix scutellariae*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1):649-664.
- [5] 杨庆, 许膜英, 杨帆, 等. 正交试验筛选酒黄芩最佳炮制工艺[J]. *湖北中医学院学报*, 2008, 10(2):48-49.
- [6] 贾艳萍, 林松竹, 周璇. 黄芩酒炮制工艺的研究[J]. *中国酿造*, 2009(1):178-179.
- [7] 黄琪, 张村, 吴德玲, 等. 酒黄芩炮制研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(10):364-369.
- [8] 徐雯宇. 尼莫地平鼻用亚微粒凝胶的制备及质量评价[J]. *中国药师*, 2011, 14(5):662-663.
- [9] 王玮, 廖维, 朱少璇, 等. 综合评分法在阿德福韦酯分散片处方筛选中的应用[J]. *中国医院药学杂志*, 2011, 31(12):1001-1003.
- [10] Srinivas NR. Baicalin an emerging multi-therapeutic agent: pharmacodynamics, pharmacokinetics, and considerations from drug development perspectives[J]. *Xenobiotica*, 2010, 40(5):357-367.
- [11] 辛文好, 宋俊科, 何国荣, 等. 黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(6):647-653.
- [12] Chen J, Li Z, Chen AY, et al. Inhibitory effect of baicalin and baicalein on ovarian cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3):6012-6025.
- [13] Moghaddam E, Teoh BT, Sam SS, et al. Baicalin, a metabolite of baicalein with antiviral activity against dengue virus[J]. *Sci Rep*, 2014, 4:5452.
- [14] 任晓东, 符伟, 张晓芸, 等. 天然产物汉黄芩素的研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(9):777-784.
- [15] Yang YZ, Tang YZ, Liu YH. Wogonoside displays anti-inflammatory effects through modulating inflammatory mediator expression using RAW264.7 cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(1):271-276.

(收稿日期:2014-12-18 修回日期:2015-02-16)