

正交试验优选莪术微波炮制工艺

龚又明, 邓广海, 林华*, 林海
(广东省中医院药学部, 广州 510120)

[摘要] 目的: 优选醋制莪术的微波炮制工艺。方法: 以总挥发油、吉马酮和姜黄素含量的综合评分为指标, 采用正交试验考察醋用量、闷润时间、微波强度、炮制时间对微波炮制工艺的影响。结果: 最佳炮制工艺为加 15% 米醋闷润 45 min, 60% 微波热力炮制 3 min。结论: 该方法简单、可行且易于控制, 为莪术炮制工艺提供一种新方法。

[关键词] 莪术; 吉马酮; 姜黄素; 微波炮制; 正交设计

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)07-0056-03

[doi] 10.11653/zgsyfjxzz2013070056

Optimization of Microwave Processing Technology of *Curcuma Phaeocaulis* by Orthogonal Design

GONG You-ming, DENG Guang-hai, LIN Hua*, LIN Hai
(Department of Pharmacy, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize microwave processing technology of *Curcuma phaeocaulis* processed with vinegar. **Method:** With the content of volatile oil, germacrone and curcumin as comprehensive indexes, effects of the amount of vinegar, moistening time, microwave intensity and processing time on microwave processing technology of *C. phaeocaulis* were investigated by orthogonal design. **Result:** The best processing technology was as following: the amount of vinegar 15%, moistening time 45 min, microwave heating with 60%, processing time 3 min. **Conclusion:** This optimized technology was simple, feasible and easy to control, it could be used as a new processing method of *C. phaeocaulis* processed with vinegar.

[Key words] *Curcuma phaeocaulis*; germacrone; curcumin; microwave processing; orthogonal design

莪术具有行气破血、消积止痛的功效, 用于癥瘕痞块、瘀血经闭、食积胀痛、早期宫颈癌, 是临床较为常用的活血化瘀药^[1]。文献报道, 莪术的主要成分为挥发油(1%~2.5%)和姜黄素^[2], 其中挥发油为其抗肿瘤有效成分, 姜黄素则为降血脂、抗氧化、抗炎的主要有效成分^[3]。传统医学认为, 莪术生品行气止痛、破血祛瘀作用强, 醋制后引药入肝经血分, 散瘀止痛作用增强, 临床用于治疗肋下癥块、心腹冷

痛、肋下胀痛等症多用醋莪术^[4]。目前, 醋莪术的炮制方法以醋煮、醋炙为主, 该类炮制工艺报道较多^[5-8], 一般以总挥发油、莪术二酮、姜黄素或吉马酮为评价指标^[9-10]。微波炮制法具有方便可控、炮制品含水量低、提取率高等优点, 近年被广泛用于工业生产。本实验采用多指标正交试验优选莪术的微波炮制工艺, 并与传统醋炙法进行比较, 力求寻找醋制莪术的新型炮制方法。

1 材料

Agilent-1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司), WD800B 型格兰仕微波炉(广东格兰仕有限公司), HWS24 型电热恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂), BS210S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

[收稿日期] 20121109(020)

[第一作者] 龚又明, 主管中药师, 硕士, 从事中药质量鉴定研究, E-mail: ccyy@vip.sina.com

[通讯作者] *林华, 主任中药师, 硕士, 从事中药质量鉴定和品质评价研究, Tel: 020-81887233, E-mail: lh33895380@163.com

吉马酮、姜黄素对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为111873-200803,0924-1165),莪术(康美药业股份有限公司提供,经广东省中医院药学部林华主任中药师鉴定为姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Val. 的干燥根茎),乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 传统醋炙莪术 取大小均匀莪术片 500 g,加米醋 100 g 搅拌,闷润 30 min,待醋液被吸尽后,置于炒制容器内,用文火加热,炒至微黄色,略带焦斑时,取出晾凉,筛去碎屑,备用。

2.2 总挥发油的含量测定 精密称定莪术生品及其炮制品适量,按 2010 年版《中国药典》一部挥发油测定法(附录 X D)进行测定,读取挥发油量。

2.3 吉马酮的含量测定

2.3.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~25 min, 35%~60% A; 25~40 min, 60%~80% A; 40~60 min, 80%~90% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃,检测波长 214 nm,进样量 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取吉马酮对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得 0.502 4 g·L⁻¹对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 称取莪术药材粉末(50 目)0.5 g,精密称定,加入 10 mL 乙醚,25 ℃ 以下低温超声提取 15 min,滤过,反复操作 3 次,合并滤液,低温蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 10 mL,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

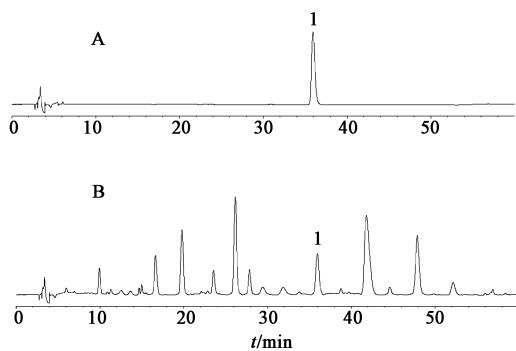
2.3.4 标准曲线的制备 分别精密吸取吉马酮对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL,按 2.3.1 项下方法测定。以峰面积为纵坐标,质量为横坐标,得吉马酮标准曲线 $Y = 698.27X - 56.12$ ($R^2 = 0.9998$),线性范围 0.502 4~5.024 μg。

2.3.5 样品测定 分别称取莪术药材及其炮制品粉末(40 目)0.5 g,精密称定,按上述方法测定吉马酮含量,见图 1。

2.4 姜黄素的含量测定

2.4.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 冰乙酸(50:50),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 ℃,检测波长 420 nm,进样量 10 μL。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称定姜黄素对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得 0.406 4 g·L⁻¹对照品溶液。



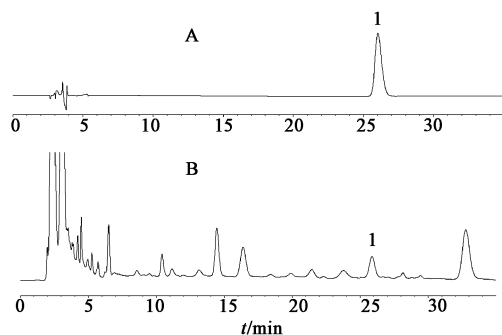
A. 对照品; B. 供试品; 1. 吉马酮

图 1 莪术中吉马酮 HPLC

2.4.3 供试品溶液的制备 称取样品粉末(50 目) 2.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 20 mL,密塞,超声处理 30 min(300 W, 50 kHz),过滤,重复操作 2 次,合并滤液,蒸干,残渣再加入甲醇定容至 5 mL,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.4.4 标准曲线的制备 分别精密吸取姜黄素对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL,按 2.4.1 项下色谱条件进行测定,以峰面积对姜黄素进样量进行线性回归,得回归方程 $Y = 847.06X + 1.34$ ($R^2 = 0.9996$),线性范围 0.406 4~4.064 μg。

2.4.5 样品测定 分别称取莪术药材及其炮制品粉末(40 目)0.2 g,精密称定,按上述色谱条件对姜黄素进行含量测定,见图 2。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 姜黄素

图 2 莪术中姜黄素 HPLC

2.5 微波炮制工艺优选 选取醋用量、闷润时间、微波强度、炮制时间为考察因素,每个因素选择 3 个水平,因素水平见表 1。称取莪术薄片 500 g,加入适量米醋,闷润,待辅料被吸尽后,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验,以总挥发油、吉马酮和姜黄素提取量为指标,采用综合加权评分法。各指标进行“隶属度”计算,指标隶属度 = (测定值 - 最小测定值) / (最大测定值 - 最小测定值), 0 ≤ 指标隶属度 ≤ 1; 具体权重为总挥发油 40%, 吉马酮 20%, 姜黄素 40%, 综合

评分 = 总挥发油含量的隶属度 × 40% + 吉马酮含量的隶属度 × 20% + 姜黄素含量的隶属度 × 40%，满分 1.00。试验安排及结果见表 2，方差分析见表 3。

表 1 醋制莪术的微波炮制工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平

水平	A 醋用量 /%	B 闷润时间 /min	C 微波强度 /%	D 炮制时间 /min
1	15	30	40	2
2	20	45	60	3
3	25	60	80	4

表 2 醋制莪术的微波炮制工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验安排

No.	A	B	C	D	总挥发油 /%	吉马酮 /mg·g ⁻¹	姜黄素 /mg·g ⁻¹	综合 评分
1	1	1	1	1	1.74	0.940	0.087	0.628
2	1	2	2	2	1.61	1.033	0.115	0.900
3	1	3	3	3	1.48	0.731	0.080	0
4	2	1	2	3	1.52	0.802	0.101	0.415
5	2	2	3	1	1.56	0.824	0.097	0.421
6	2	3	1	2	1.67	0.962	0.091	0.602
7	3	1	3	2	1.49	0.960	0.090	0.310
8	3	2	1	3	1.54	0.952	0.091	0.390
9	3	3	2	1	1.68	0.991	0.093	0.659
K_1	0.509	0.451	0.540	0.569				
K_2	0.479	0.571	0.658	0.604				
K_3	0.453	0.420	0.244	0.268				
R	0.056	0.150	0.414	0.336				

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A(误差)	0.005	2	0.002	1.00	
B	0.038	2	0.019	8.044	>0.05
C	0.273	2	0.137	58.116	<0.05
D	0.205	2	0.102	43.510	<0.05

注： $F_{0.01}(2,2) = 99, F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由极差大小可知，影响莪术微波品的程度依次为微波强度 > 炮制时间 > 闷润时间 > 醋用量，以极值最小的 A 因素为误差项进行方差分析，结果表明 C、D 因素对炮制工艺有显著影响，因素 B 则无明显差异，确定最佳炮制工艺为 $A_1B_2C_2D_2$ ，即每 100 kg 药材加 15 kg 米醋，闷润 45 min，60% 微波热力炮制 3 min。

2.6 验证试验 按优选的微波炮制工艺进行 3 次验证试验，并与生品和醋制品有效成分含量进行比较，结果莪术片、醋炙莪术、微波炮制品中总挥发油

提取率分别为 2.38%、1.62%、1.79%；吉马酮提取量依次为 0.941、0.852、1.065 mg·g⁻¹；姜黄素提取量依次为 0.083、0.076、0.116 mg·g⁻¹。说明莪术微波炮制后，总挥发油含量有所降低，而吉马酮和姜黄素含量则有不同程度增加，醋炙莪术 3 种成分含量均有所降低。

3 讨论

莪术为癌症治疗的常用药，经醋制后，其散瘀止痛作用增强，临床也常醋制后入药。现代研究表明，挥发油和姜黄素是其主要有效成分，其中挥发油种类较多，文献常以吉马酮作为评价指标。本实验以总挥发油、吉马酮和姜黄素提取量的综合评分为指标，对主要影响因素进行考察，优选出莪术微波炮制的工艺具有一定科学性，且简单、可控，所得炮制品外观完整，焦化糊化现象较少，完全符合莪术炮制品的要求。从化学成分指标看，微波炮制品中吉马酮和姜黄素均高于生品与醋炙品，其主要色谱峰数与醋炙品基本一致，说明微波火力对莪术的成分结构破坏较少。但能否能代替传统的炮制工艺，还需结合药理、毒理试验进行研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 257.
- [2] 聂小华, 敖宗华, 尹光耀, 等. 提取技术对温莪术挥发油化学成分及其体外抗肿瘤活性的影响[J]. 药物生物技术, 2003, 10(3): 152.
- [3] 朱善岚, 黄品芳. HPLC 法测定莪术不同炮制品中姜黄素含量[J]. 海峡药学, 2007, 19(3): 52.
- [4] 龚千峰. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 187.
- [5] 韦相忠, 蔡卓, 李耀华, 等. 广西莪术微波炮制品中牻牛儿酮含量的研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(5): 1073.
- [6] 陆兔林, 毛春芹, 宋坤, 等. 正交法优选莪术醋处理工艺[J]. 中成药, 2006, 28(9): 1306.
- [7] 潘莹, 江海燕. 正交实验法改进广西莪术醋制炮制工艺的初探[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(9): 2265.
- [8] 李萍, 谢金鲜, 江海燕, 等. 广西莪术 5 种不同炮制品抗肿瘤作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 155.
- [9] 李成网, 王唯红. 高效液相色谱法测定莪术油中莪术二酮和牻牛儿酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(3): 12.
- [10] 覃葆, 谢金鲜, 杨海玲, 等. 不同炮制方法对广西莪术姜黄素成分及镇痛抗炎的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 35.

[责任编辑 全燕]