

多指标综合平衡法-正交试验优化九蒸九晒地黄炮制工艺

张 静^{1*}, 马 瑛^{2#}(1.天津中医药大学, 天津 300193; 2.天津中医药大学第一附属医院药剂科, 天津 300193)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0962-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.30

摘要 目的:对九蒸九晒地黄炮制工艺进行优选。方法:采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,以5-羟甲基糠醛、毛蕊花糖苷、还原性糖、水浸出物含量及性状评分为指标,考察加酒量、蒸制时间、干燥方式3个因素对炮制工艺的影响,采用综合平衡法进行结果评价并对优化工艺进行验证。结果:最优炮制工艺条件为加黄酒量40%,反复9次蒸制、每次蒸制6 h,70℃鼓风干燥。验证试验中各指标平均值分别为4.030 mg/g、0.117 mg/g、0.376 7 g/g、0.733 g/g、9.0分,RSD分别为1.78%、2.9%、1.54%、2.13%、0.1%($n=3$)。结论:优化工艺合理,成品质量具有可控性,可为九蒸九晒地黄质量控制研究提供参考。
关键词 九蒸九晒;地黄;炮制工艺;正交试验;综合平衡法;5-羟甲基糠醛;毛蕊花糖苷;还原性糖

Optimization of Processing Technology of Nine Steaming Nine Drying of *Rehmannia glutinosa* by Multiple Indexes Comprehensive Balance Method-Orthogonal Test
ZHANG Jing¹, MA Ying²(1.Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2.Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the processing technology of nine steaming nine drying of *Rehmannia glutinosa*. METHODS: $L_9(3^4)$ orthogonal experimental design was adopted to investigate the effects of the amount of added wine, steaming time and drying way on processing technology using the content and property of 5-hydroxymethyl furfural, acteoside, reducing sugar water extract, and character score as indexes. Comprehensive balance method was used for result evaluation, and optimized technology was validated. RESULTS: The optimized processing condition was as follows as the amount of added yellow wine 40%, steaming for 9 times, lasting for 6 h each time, blast drying at 70℃. Average value of each factor in validation test was 4.030 mg/g, 0.117 mg/g, 0.376 7 g/g, 0.733 g/g and 9.0 points, respectively. Their RSDs were 1.78%, 2.9%, 1.54%, 2.13% and 0.1% ($n=3$). CONCLUSIONS: Optimized technology is reasonable and controllable in product quality, and can provide reference for quality control study of nine steaming nine drying of *R. glutinosa*.
KEYWORDS Nine steaming nine drying; *Rehmannia glutinosa*; Processing technology; Orthogonal test; Comprehensive balance method; 5-hydroxymethyl furfural; Acteoside; Reducing sugar

于定量限,表明稠膏基本不含挥发油。挥发油类成分不是本方的药效物质,因此将玄归止痛滴丸改为分散片后挥发油的含量不会影响制剂的稳定性以及疗效。

参考文献

[1] 邱财荣,张琰,刘锋,等.玄归止痛滴丸治疗100例气滞血瘀型胃痛的疗效观察[J].药学服务与研究,2009,9(3):197.
[2] 邱财荣,逢帅,李新田,等.玄归止痛滴丸治疗气滞血瘀型偏头痛临床疗效[J].中国药师,2009,12(10):1427.
[3] 孙志明,李小娜,陈苹苹,等.山茱萸总苷分散片的处方工艺研究[J].中国药房,2011,22(3):219.
[4] 王宇,梁娜,韩旭,等.小儿清热止咳分散片的填充剂与崩解剂筛选[J].沈阳药科大学学报,2008,25(4):269.
[5] 代文婷,张毅,柏俊,等.山楂叶总黄酮分散片的处方研究

[J].中国药房,2013,24(7):613.

[6] 张定堃,韩丽,秦春风,等.微粉硅胶用于白芷提取物粉体改性及促进元胡止痛分散片崩解的原理研究[J].中草药,2012,43(12):2372.
[7] 韩丽,张定堃,秦春风,等.分散片常用辅料粉体学参数的测定及微粉硅胶对中药分散片崩解性能的影响[J].中国医院药学杂志,2013,33(11):844.
[8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录71.
[9] 王践玲,张雪菊.HPLC测定玄归止痛滴丸中延胡索乙素的含量[J].中成药,2006,28(8):1242.
[10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录85.
[11] 张艳琳,蒋学华,王凌.不同厂家盐酸伐昔洛韦片的体外溶出曲线比较[J].中国抗生素杂志,2012,37(3):227.

(收稿日期:2015-05-28 修回日期:2015-09-16)
(编辑:刘 萍)

* 硕士研究生。研究方向:中药临床药学。E-mail:916728733@qq.com
通信作者:主任药师。研究方向:中药临床药学与质量控制。E-mail:tjzyyfmayang@126.com

现代工艺炮制地黄多采用闷法一次性蒸制,普遍存在蒸不透、口味甜中发酸、疗效差、容易腻胃等缺陷^[1]。传统九蒸九晒地黄炮制品不仅具有“黑如漆,亮如油,甘之饴”的优点,而且在炮制中借黄酒行散之力以增强熟地黄通血脉、补血的功效;同时地黄通过反复的蒸晒,使其厚重之气得以散失,克服了湿腻之性,增强了补益的功效^[2-3]。早在清朝,禹州的九蒸九晒地黄就在柏林的“万国博览会”上获得金奖,但由于种种原因工艺失传没能得以流传,现在可参照的炮制工艺尚缺乏客观可控的参数。目前除了河南禹州青山药业的朱青山依据自己多年老药工的经验研究过九蒸九晒地黄炮制工艺外,关于地黄九蒸九晒炮制方法的研究很少。故笔者试图通过多个指标考察影响该工艺的主要因素,从而达到建立控制地黄九蒸九晒炮制工艺标准的目的。

1 材料

1.1 仪器

1200型高效液相色谱仪、工作站及紫外检测器(美国Agilent公司);UV-1601PC型紫外分光光度计(日本Shimadzu公司);AL204型电子分析天平[瑞士梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];JYC-21CS21型电磁炉(九阳股份有限公司)。

1.2 药材、药品与试剂

地黄(河北美德中药材有限公司,批号:20150321,经天津中医药大学第一附属医院马瑛主任中药师鉴定为玄参科植物地黄的干燥块根);5-羟甲基糠醛(5-HMF)、毛蕊花糖苷、无水葡萄糖(以下简称葡萄糖)对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111626-201509、111530-201411、110833-201205,纯度:99.5%、>99.8%、>99%);试验所用试剂均为分析纯,液相分析所用试剂均为色谱纯;黄酒(绍兴县第三酒厂,产品符合GB/T13662一级标准,批号:20150328,含糖量:40.0~100 g/L,酒精度:≥15%)。

2 方法与结果

2.1 有效成分指标的确定

前人研究发现,经过炮制,生地黄中苷类以及氨基酸类成分大幅度降解,颜色变黑,同时产生一些新成分,如5-HMF和还原性糖类,表明地黄炮制后成分会发生变化^[4]。而5-HMF可从抗氧化、提高神经细胞在病理损伤后的存活率、改善血液流变等多方面来改善亨廷顿病大鼠模型的记忆能力和运动能力,对老年痴呆病有良好的改善作用,还具有抗心肌缺血和保肝的作用^[5-6]。颜色变黑、口味变甜是最直观的判断熟地黄质量的标准,一般来说,随着颜色的加深,还原性糖的含量在逐渐升高。毛蕊花糖苷对神经系统和免疫系统具有明显的作用,特别是对老年性疾病(如老年痴呆)和免疫性疾病(如慢性肾炎)具有明显的治疗作用,同时还具有肝脏保护、补肾壮阳的功效^[7],一般也作为熟地黄质量控制的指标。同时,5-HMF、毛蕊花糖苷、还原性糖是熟地黄滋阴补血、益精填髓的药效物质基础^[8-9]。另外,水溶性浸出物作为模糊控制药材质量的指标同样具有一定的地位;而外观性状作为经验鉴别的手段,在判断炮制品质量上也有不可替代的地位,最直观也最为有效。故选取上述五者作为评价熟地黄质量的指标性成分。

2.2 5-HMF含量测定方法

2.2.1 色谱条件 色谱柱为Agilent C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(10:90),流速为1.0 ml/min,检测波长为284 nm,柱温为25℃,进样量为10 μl。

2.2.2 线性关系试验 精密称取5-HMF对照品7 mg,用甲醇定容于10 ml量瓶中制成质量浓度为0.70 mg/ml的母液;精密

移取母液0.2、0.6、0.8、1.6、3.2 ml,用甲醇定容于5 ml量瓶中,连同母液分别进样分析。将峰面积(y)与质量浓度(x)进行回归得标准曲线方程 $y=1.0\times10^5x+1\ 202.6$ ($r=0.999\ 0$),结果表明5-HMF检测质量浓度线性范围为0.024~0.7 mg/ml。

2.2.3 供试品溶液制备 精密称取炮制品2.0 g,置于圆底烧瓶中,用25 ml甲醇回流提取30 min,过滤;量取续滤液6 ml,减压挥干甲醇,再用色谱纯甲醇定容于5 ml量瓶中,0.45 μm微孔滤膜滤过,滤液作为供试品溶液。

2.2.4 精密度、重复性、稳定性、准确度、灵敏度、专属性试验

按相关方法操作,精密度、重复性和稳定性试验中检测指标的RSD分别为1.62%($n=6$)、1.63%($n=6$)、1.19%($n=6$),供试品溶液在10 h内稳定;平均方法回收率为97.4%(RSD=2.37%, $n=6$);定量限为0.01 mg/ml;5-HMF峰纯度因子为0.999,该检测方法专属性强。

2.3 毛蕊花糖苷含量测定方法

参照2015年版《中国药典》(一部)熟地黄项下含量测定方法^[10]。

2.4 还原性糖含量测定方法

2.4.1 对照品溶液的制备 精密称取0.1 g葡萄糖对照品,加水定容于100 ml量瓶中,即得1 mg/ml的对照品溶液。

2.4.2 线性关系试验 分别精密吸取对照品溶液0(空白对照)、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、1.8 ml置于25 ml具塞试管中,分别补足水至2 ml,摇匀后加入DNS试剂(一种含酒石酸钾钠、苯酚等的试剂)2 ml,在沸水浴中显色5 min,冷却后补水至20 ml。室温放置20 min,于540 nm波长处测定吸光度。以质量浓度(x)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标计算得标准曲线方程为 $y=0.419\ 1x-0.013\ 7$ ($r=0.999\ 1$),表明葡萄糖检测质量浓度线性范围为0.01~0.09 mg/ml。

2.4.3 精密度、准确度试验 按相关方法操作,精密度试验中吸光度的RSD=0.87%($n=6$);平均方法回收率为98.5%(RSD=1.04%, $n=6$)。

2.4.4 供试品溶液的制备及含量测定 精密称取熟地黄粉末2.0 g,量取80%甲醇60 ml置于圆底烧瓶中,80℃水浴回流提取3 h,趁热过滤洗涤药渣3次,转移并定容至100 ml量瓶中,摇匀;精密量取50 ml,挥干甲醇,用水溶解转移定容至50 ml量瓶中;取溶液10 ml离心(3 000 r/min,离心半径为13.5 cm)5 min后作为供试品溶液。精密量取0.08 ml供试品溶液按“2.4.2”项下方法处理,测定吸光度,计算含量。

2.5 水溶性浸出物含量测定

参照2015年版《中国药典》(四部)附录V X项下水溶性浸出物含量测定方法测定^[11]。

2.6 性状评分

参照2015年版《中国药典》(一部)熟地黄项下^[10]规定确定评分方法:(1)乌黑发亮计2.0分;黑色计1.0分;黑棕色计0.5分。(2)味甜、醇厚计2.0分;味甜略带酸计1.0分;甜带酸0.5分。(3)断面黏性足计2.0分;有黏性计1.0分;无黏性计0.5分。(4)断面黑油亮计2.0分;断面棕黑色计1.0分;断面黄棕色计0.5分。(5)外表皮微发干略黏计2.0分;外表皮粘手1.0分;外表皮发干无黏性计0.5分。评分结果由2名实验员分别评分后取均值所得(有小数时四舍五入取整)。

2.7 正交试验优化炮制工艺

2.7.1 因素与水平的选取 首先采用单因素试验并结合相关文献研究^[1]来选择考察的因素与水平。通过预试验发现当控制总加酒量为40%不变时,毛蕊花糖苷、还原性糖及水浸出物

含量皆达到峰值,故选总加酒量为40%左右。反复蒸晒9次、每次蒸晒8 h以上时,5-HMF的含量不再发生变化,而毛蕊花糖苷及还原性糖含量在蒸制4 h以上含量逐渐下降,故选蒸制时间为4~8 h。采用鼓风干燥温度80 ℃时毛蕊花糖苷含量较70 ℃也有所下降,毛蕊花糖苷、还原性糖及水浸出物含量在鼓风干燥60 ℃时均达到峰值,同时考虑自然条件干燥和鼓风干燥的差异。选择相关因素与水平见表1。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels				
水平	因素			
	A(总加酒量),%	B(蒸制时间),h	C(干燥方式)	D(空列)
1	30	4	自然干燥	1
2	40	6	鼓风干燥60 ℃	2
3	50	8	鼓风干燥70 ℃	3

2.7.2 正交试验设计 取9份200 g生地黄药材,按设计量加黄酒拌匀,闷润至透,其中总加酒量分9次加入,即每次蒸晒过程均以黄酒浸润地黄(比如以总加酒量30%为例,此30%即为所取地黄质量的30%,即总加酒量为200 g×30%=60 g,分9次加入即每次加酒量为6.67 g)。将浸润好的生地黄置于锅内,按设计的温度、干燥方式反复蒸晒9次,取出,干燥粉碎过40目筛,备用。按前述方法检测各样品中的5种指标。正交试验的设计、结果及方差分析见表2、表3。

表2 正交试验设计与结果(n=5)

Tab 2 Design and results of orthogonal test(<i>n</i> =5)									
因素					指标				
编号	A	B	C	D	5-HMF, mg/g	毛蕊花糖苷,mg/g	还原性糖,g/g	水溶性浸出物,g/g	性状评分
1	1	1	1	1	2.292	0.09	0.38	0.672	5.0
2	1	2	2	2	3.115	0.12	0.32	0.682	8.0
3	1	3	3	3	5.344	0.047 7	0.29	0.669	9.0
4	2	1	2	3	2.542	0.17	0.45	0.72	6.0
5	2	2	3	1	3.969	0.102	0.38	0.7346	9.0
6	2	3	1	2	4.260	0.05	0.30	0.705	8.0
7	3	1	3	2	3.688	0.135	0.42	0.704	7.0
8	3	2	1	3	3.458	0.096 9	0.39	0.718	8.0
9	3	3	2	1	3.948	0.047 7	0.31	0.74	8.0
5-HMF	<i>K</i> ₁	10.751	8.522	10.010	10.209				
	<i>K</i> ₂	10.771	11.542	9.605	11.063				
	<i>K</i> ₃	11.094	13.552	13.001	11.344				
	<i>R</i>	0.114	1.676	1.132	0.378				
毛蕊花糖苷	<i>K</i> ₁	0.237 7	0.395 0	0.236 9	0.239 7				
	<i>K</i> ₂	0.322 0	0.298 9	0.317 7	0.285 0				
	<i>K</i> ₃	0.279 6	0.145 4	0.284 7	0.314 6				
	<i>R</i>	0.028 1	0.083 0	0.026 9	0.025 0				
还原性糖	<i>K</i> ₁	1.01	1.20	1.08	1.07				
	<i>K</i> ₂	1.13	1.12	1.10	1.06				
	<i>K</i> ₃	1.10	0.90	1.09	1.14				
	<i>R</i>	0.04	0.10	0.007	0.02				
水溶性浸出物	<i>K</i> ₁	2.033	2.096	2.095	2.137				
	<i>K</i> ₂	2.150	2.135	2.142	2.091				
	<i>K</i> ₃	2.162	2.114	2.098	2.107				
	<i>R</i>	0.043	0.013	0.016	0.015				
性状评分	<i>K</i> ₁	22	18	21	22				
	<i>K</i> ₂	23	25	22	23				
	<i>K</i> ₃	23	25	25	23				
	<i>R</i>	0.333	2.333	1.333	0.333				

2.7.3 多指标的综合平衡法分析 在多指标正交试验结果分析的时候需要统筹兼顾,在使每个指标尽可能达到最优时,重

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis								
指标	变异来源	离均差平方和	自由度	均差	F	显著水平	F检验临界值	
5-HMF	A	0.024 7	2	0.012 4	0.19		F _{0.05} (2,4)=18.000	
	B	4.271 3	2	2.135 6	33.161	***	F _{0.05} (2,4)=6.944	
	C	2.293 7	2	1.146 8	17.802	**	F _{0.1} (2,4)=4.325	
	D(误差)	0.233	2	0.116 5				
	修正误差	0.257 7	4	0.064 4				
毛蕊花糖苷	A	0.001 2	2	0.000 6	1.2		F _{0.05} (2,6)=10.925	
	B	0.010 6	2	0.005 3	10.6	**	F _{0.05} (2,6)=5.143	
	C	0.001 1	2	0.000 6	1.2		F _{0.1} (2,6)=3.463	
	D(误差)	0.000 9	2	0.000 5				
	修正误差	0.003 2	6	0.000 5				
还原性糖	A	0.003 2	2	0.001 6	4.801	*	F _{0.05} (2,4)=18.000	
	B	0.020 9	2	0.011 04	31.3	***	F _{0.05} (2,4)=6.944	
	C	0.000 1	2	0.000 05	0.16		F _{0.1} (2,4)=4.325	
	D(误差)	0.001 3	2	0.000 6				
	修正误差	0.001 3	4	0.000 3				
水溶性浸出物	A	0.003 9	2	0.001 95	10.63	**	F _{0.05} (2,6)=10.925	
	B	0.000 1	2	0.000 1	0.625		F _{0.05} (2,6)=5.143	
	C	0.000 5	2	0.000 2	1.25		F _{0.1} (2,6)=3.463	
	D(误差)	0.000 4	2	0.000 2				
	修正误差	0.001	6	0.000 16				
性状评分	A	0.222 2	2	0.111 1	1		F _{0.05} (2,4)=18.000	
	B	10.888 9	2	5.444 4	48.999	***	F _{0.05} (2,4)=6.944	
	C	2.888 9	2	1.444 4	13	**	F _{0.1} (2,4)=4.325	
	D(误差)	0.222 2	2	0.111 1				
	修正误差	0.444 5	4	0.111 1				

注:“***”表示P<0.01,极显著;“**”表示P<0.05,非常显著;“*”表示P<0.1,一般显著

Note:“***” means P<0.01, extremely significant; “**” means P<0.05, very significant; “*” means P<0.1, significant

点考虑使发挥药效作用的指标达到最优^[12]。有研究发现,毛蕊花糖苷随着温度的升高会转化成异毛蕊花糖苷而含量下降,而《中国药典》对熟地黄中毛蕊花糖苷的含量限度要求与生地黄相同,均为0.02%^[10],这与炮制中毛蕊花糖苷含量明显减少的事实不符^[8],所以在评定熟地黄时含量限度应低于生地黄。故在评定熟地黄时不应一味追求毛蕊花糖苷含量,而应该结合《韩国药典》^[13]规定的指标性成分5-HMF一同考虑,两者占有同等重要的地位。故在选择因素的最优水平时要尽量使2个指标都靠近最优解,同时还要兼顾试验所选的其他指标,综合得出相对最优解。结合相关药理学实验^[4-9]及相关文献^[14]研究,确定本试验指标按重要程度排序为毛蕊花糖苷=5-HMF>还原性糖>性状评分=水溶性浸出物。笔者采用综合平衡法的统计学分析方法,直观分析并结合方差分析确定各因素的最优水平,首先在各个指标单独作为评价指标时因素选择的水平结果见表4。

表4 各指标因素与水平分析结果

Tab 4 Factors and levels analysis of each index					
评价指标	5-HMF	毛蕊花糖苷	还原性糖	水溶性浸出物	性状评分
因素显著情况	B、C有统计学意义	B有统计学意义	A、B有统计学意义	A有统计学意义	B、C有统计学意义
最优水平	A、B、C ₃	A、B、C ₂	A、B、C ₂	A、B、C ₂	A、B、C ₃
					A、B、C ₃
					A、B、C ₃
					A、B、C ₃

以5-HMF为例,以其作为评价指标时,因素B、C具有统计学意义,因素A无统计学意义,结合直观分析极差R值,主次因

素顺序为 $B>C>A$, A因素: $K_3>K_2>K_1$, B因素: $K_3>K_2>K_1$, C因素: $K_3>K_1>K_2$ 。故优选工艺为 $A_3B_3C_3$ 。

由表3可以看出,因素A只对还原性糖和水溶性浸出物含量有影响,这2个指标分别以 A_2 、 A_3 为最优,但后一指标中 $K_2\approx K_3$,考虑到 A_2 更节约用量,故A因素选择 A_2 。同理,因素B除了对水溶性浸出物影响不显著之外对于其余指标都有显著性影响,其中以还原性糖及毛蕊花糖苷作为评价指标时优选 B_1 ,以性状评分为评价指标时优选 B_2 ,以5-HMF作为评价指标时优选 B_3 。根据试验指标的重要程度排序为毛蕊花糖苷=5-HMF>还原性糖>性状评分=水溶性浸出物,若选择水平 B_1 ,5-HMF含量与最优水平相差太大;若选择水平 B_3 ,毛蕊花糖苷含量与 B_1 相差太大;若选择 B_2 水平,可以兼顾2个指标,同时选择 B_2 时还原性糖含量也与选择 B_1 时相差不大。故综合平衡后B因素选择 B_2 水平。因素C对5-HMF和性状评分有显著性影响,且2个指标最优时均为 C_3 ,故C因素选择 C_3 。综上所述,综合平衡后最优组合为 $A_2B_2C_3$,即表2中5号样品。

2.7.4 验证试验 取3份同一批生地药材200 g,总加酒量40%,蒸制时间6 h,70℃鼓风干燥,反复9次蒸晒,得到样品。分别对其5-HMF、毛蕊花糖苷、还原性糖、水溶性浸出物含量进行测定并对成品进行性状评分,各指标的平均值分别为4.030 mg/g、0.117 mg/g、0.376 7 g/g、0.733 g/g、9.0分,RSD分别为1.78%、2.9%、1.54%、2.13%、0.1%($n=3$),说明优化工艺合理,成品质量具有可控性。

3 讨论

在正交试验前,对蒸制时间进行了单因素考察,结果生地黄所含5-HMF的平均含量为0.048 mg/g($n=3$),反复9次蒸晒8 h含量可达4.03 mg/g($n=3$);与之对应的另一个指标毛蕊花糖苷,在生地黄中含量为0.193 mg/g($n=3$),反复9次蒸晒6 h含量降至0.117 mg/g($n=3$)。结合文献研究及试验结果发现,蒸制时间对5-HMF和毛蕊花糖苷含量的影响较为显著,5-HMF随着温度的升高含量会不断增加,地黄在炮制的过程中变黑即与5-HMF含量的不断增加有密切关系,这种反应称之为美拉德反应^[4,15],在《韩国药典》中也将5-HMF作为指标性成分来控制熟地黄炮制品质量^[13]。毛蕊花糖苷在炮制中随着温度的升高会转化成异毛蕊花糖苷而含量有所下降。因此,如何平衡二者的含量是一个较复杂的问题。文献研究还发现还原性糖含量与蒸制次数也有密切的关系,九蒸九晒地黄还原性糖含量在蒸制第7次时达到峰值,而后逐渐呈下降趋势(蒸制1次含量为20%左右,蒸制7次高达50%,蒸制9次又降至35%)^[16]。故5-HMF、毛蕊花糖苷和还原性糖在地黄炮制工艺的考究中具有同等重要的地位。地黄经过九蒸九晒后,外观性状上也发生了很大改变,外表皮油亮黑润,不易折断有韧性,味甜而不腻,笔者考虑是在反复蒸晒过程中地黄发生了脱果糖反应所致^[17]。

综合平衡法是指在正交试验结果分析中先分别考察每个因素对各指标的影响,然后进行分析比较,确定出最好的水平,从而得到最好的试验方案^[18]。其原理同加权法一样,都是综合方差分析、因素贡献率和同一因素下不同水平效应差异显著性检验结果来确定试验最优组合。但不同的是,综合平衡法分别考察了每个因素对各指标的影响,更能发现每个因素与指标之间的关系及各因素对指标的重要性。本文采用综合平衡法,在兼顾5项指标的同时以药效物质为基础确定因素的主次关系,综合分析后得到该条件下的最优解。但由于条件局限,无法将熟地黄中其他发挥药效作用的物质全部纳入

其中考察,在参考了中国和韩国两个国家的药典后选择出这5个评价指标,只能得出以这5个指标进行评价时的最优炮制工艺。

在中药炮制品中一个或几个成分无法全面探究炮制规律及进行质量控制,这就需要结合更多的先进技术来综合研究炮制规律、炮制终点及炮制品的质量,例如借助中药指纹图谱技术和化学计量法精确显示炮制过程中化学成分的变化、控制加工的过程^[19]、添加辅料炮制的必要性,从而更有效地控制炮制品质量。本研究在这些方面还有待进一步的探索。

参考文献

- [1] 朱清山.九蒸九晒熟地黄的制作方法:中国,101518590[P].2009-09-02.
- [2] 于彩媛.熟地黄功效与临床运用源流考证[J].中国中医基础医学杂志,2015,21(8):1 009.
- [3] 张丽萍,李军,张振杰,等.熟地黄炮制方法的历史沿革[J].河南中医学院学报,2005,20(2):69.
- [4] 郭艳霞.美拉德反应与地黄炮制机理的关系研究[D].济南:山东大学,2012.
- [5] 曲欣楠,郑毅男,刘文丛,等.中药活性小分子5-羟甲基糠醛生物活性研究进展[J].特产研究,2014(1):72.
- [6] 傅紫琴,王明艳,蔡宝昌.5-羟甲基糠醛(5-HMF)在中药中的研究现状探讨[J].中华中医药学刊,2008,26(3):509.
- [7] 高莉,彭晓明,霍仕霞,等.毛蕊花糖苷改善D-半乳糖致亚急性衰老小鼠脑损伤的作用[J].中草药,2014,45(1):81.
- [8] 周倩.地黄标准物质及熟地黄质量评价标准的研究[D].开封:河南大学,2014:4.
- [9] 丁霞,王明艳,余宗亮,等.山茱萸中5-羟甲基糠醛的分离鉴定及生物活性研究[J].中国中药杂志,2008,33(4):392.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:115-117.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:202.
- [12] 胡建军,周冀衡,柴家荣,等.多指标正交试验数据的优化分析及应用[J].中国烟草学报,2008,14(2):9.
- [13] The Korean Institution of Pharmacy, Department of Korean Pharmacopiea. *The Korean Pharmacopiea*[S]. 10th edition. Seoul: XinRiShangShe, 2012:1 069.
- [14] 尚伟庆,贺清辉,张建军.地黄炮制过程中毛蕊花糖苷变化的研究[J].新中医,2014,46(5):209.
- [15] 王超,王淳,李青,等. Maillard反应在中药领域的研究进展[J].中国药房,2011,22(11):1 038.
- [16] 徐定华.地黄的加工炮制工艺及质量评价研究[D].洛阳:河南科技大学,2011.
- [17] 温学森,杨世林,马小军,等.地黄在加工炮制过程中HPLC谱图的变化[J].中草药,2004,35(2):154.
- [18] 王万中.试验的设计与分析[M].4版.北京:高等教育出版社,2004:82-109,162-168.
- [19] 曹建军,梁宗锁,杨东风,等.应用HPLC指纹图谱技术确定熟地黄炮制终点[J].中国中药杂志,2010,35(19):2 556.

(收稿日期:2015-08-17 修回日期:2015-12-09)

(编辑:刘 萍)