

茯苓最佳炮制工艺的综合评分法研究

王海燕 杨俊杰 梁利香

(信阳农林学院生物与制药工程学院,河南信阳 464000)

摘要 目的:考察不同加工方法对茯苓中茯苓酸和茯苓多糖含量的影响,优化茯苓饮片的最佳炮制工艺。方法:以茯苓酸和茯苓多糖含量的综合作用为指标,采用正交试验设计综合评分法,对发汗次数、饮片规格和烘干温度进行考察。结果:优选出茯苓饮片最佳炮制工艺为:趁鲜,去皮,切制成厚片或丁,70℃烘干。结论:优选出的最佳炮制工艺对茯苓饮片的生产有一定指导作用。

关键词 茯苓 炮制工艺 茯苓酸 茯苓多糖 正交试验设计

中图分类号 R282.710.2 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2015)09-0064-03

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria Cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,具有利水渗湿、健脾、宁心之功效,可用于水肿尿少、痰饮眩悸、脾虚食少、便溏泄泻、心神不安、惊悸失眠^[1]。茯苓为常用中药,是多种方药及中成药的原料,有“十药九茯苓”之说。茯苓中主要含有茯苓聚糖、三萜、树胶、蛋白质以及脂肪酸等^[2]。《中国药典》^[3](2010年版一部)茯苓项下记载的加工方法为:“挖出后除去泥沙,堆置‘发汗’后,摊开晾至表面干燥,再‘发汗’,反复数次至现皱纹,内部水分大部散失后,阴干”;炮制方法为:“取茯苓个,浸泡,洗净,润后稍蒸,及时削去外皮,切制成块或切厚片,晒干”。此方法加工生产流程繁琐,影响有效成分含量,“阴干”后再“浸泡”、“润蒸”,造成能源浪费。故我们在调查了多个茯苓产地和加工企业的加工方法后,将其生产工艺简化为:发汗→去皮→切制→干燥,并采用正交试验设计法,首次以茯苓酸和茯苓多糖的综合作用为指标,对茯苓的炮制方法进行研究,以期为茯苓饮片的生产提供技术指导。

1 材料、试剂和仪器

1.1 材料与试剂 茯苓药材购于信阳市药材站,经信阳农林学院周巍教授鉴定为 *Poria Cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核;茯苓酸对照品为本实验室自制,经面积归一化法测定其纯度大于 98%;D-无水葡萄糖对照品由中国药品生物制品检验所提供,供含量测定用,批号 110833-200503;纯化水自制;乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器 L600-DP6 高效液相色谱仪(北京普析

通用仪器有限责任公司);TU-1810 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);梅特勒 AB135-S 电子分析天平(上海树信仪器仪表有限公司);SCQ-8201E 超声清洗仪(上海声彦超声波仪器设备有限公司);水循环恒温水箱(上海智城分析仪器制造有限公司);微型提取罐(上海雅程实验设备有限公司);60-A 多功能中药切片机(潍坊市北方制药设备制造有限公司)。

2 方法与结果

2.1 茯苓酸的含量测定 参考文献[3]的方法。

2.1.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-0.2%甲酸水溶液(80:20)为流动相;检测波长为 242nm。

2.1.2 对照品溶液的制备 取茯苓酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1mL 含 0.25mg 的溶液,即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 称取茯苓粉末(过 60 目筛)约 0.5g,精密称定,置 50mL 具塞锥形瓶中,精密加甲醇 25mL,称定,浸泡 25min,超声 90min,放置,称重,用甲醇补足减失的重量,滤过,弃初滤液,准确量取续滤液 5mL,置于蒸发皿中,水浴蒸干,残留物用甲醇定容至 2mL 容量瓶中,即得。

2.1.4 测定法 分别精密吸取对照品溶液 10 μ L 与供试品溶液 5~10 μ L,注入液相色谱仪,测定,即得。

2.2 茯苓多糖的含量测定 参考文献[4]的方法。

2.2.1 粗多糖的提取与精制 称取茯苓药材 20g,加水煎煮提取 2 次,合并提取液,提取液以纱布滤过,放冷,离心 5min(2000r/min),分取上清液,滤液

基金项目:河南省科技厅 2014 年度科技计划项目(142102310213)

加乙醇使含醇量达 80%，静置过夜。过滤，残渣先后用无水乙醇、丙酮、乙醚多次洗涤，于 60℃减压干燥，即得。

2.2.2 多糖的含量测定

2.2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 105℃干燥至恒重的 D-无水葡萄糖 103mg，置 100mL 量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，即得。

2.2.2.2 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6mL，分别置 25mL 刻度试管中，加入 5% 苯酚溶液 1.00mL，摇匀，迅速滴加浓硫酸 5.00mL，加水至总体积 10mL，摇匀，静置 5min，置沸水浴中加热 15min，再置冷水浴中 10min，补充失去的水分至刻度。以 2mL 蒸馏水同法操作作为空白对照，在 490nm 处，测吸光度，以葡萄糖浓度对吸收度进行线性回归，得回归方程： $A=0.0693C+0.0009$ ($r=0.9992$)。试验结果表明，多糖含量以葡萄糖计在 20.6~61.8μg/mL 与吸收度线性关系良好。

2.2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取多糖 10.0mg，置 100mL 量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，摇匀，作贮备液。

2.2.2.4 含量测定 精密吸取贮备液 2mL，按“2.2.2.2”项下方法测定吸收度，从回归方程中求出供试液中葡萄糖的浓度，再根据粗多糖的提取、精制和供试品溶液的制备方法，计算样品中茯苓多糖以葡萄糖计的含。

2.3 炮制工艺的正交试验设计

2.3.1 因素-水平表 根据简化的炮制方法，以茯苓酸、茯苓多糖含量为指标，以 $L_9(3^4)$ 正交表进行设计，对发汗次数、饮片规格和烘干温度进行考察。因素-水平见表 1。

表 1 因素-水平表

水平	发汗次数 A	饮片规格 B	烘干温度 (°C) C
1	2	厚片 (2mm)	60
2	1	厚片 (4mm)	70
3	0	块 (1cm×1cm×1cm)	80

注：发汗次数取“0”，指趁鲜去皮；发汗次数取“1”，指堆置 24h 后，去皮；发汗次数取“2”，指堆置 24h 后，摊开晾至表面干燥后，再堆置 24h，去皮。

2.3.2 正交试验结果 见表 2。对正交设计实验结果进行直观分析，可知各因素影响的主次顺序为：发汗次数>烘干温度>饮片规格。在考察范围内，炮制工艺的最佳条件可选择为： $A_3B_2C_2$ 。表 3 为方差分析结果，由 F 值可知发汗次数有极显著性影响，烘干温度有显著性影响。结合实际，确定炮制方法为：趁鲜，去皮，切制成厚片或丁，70℃烘干。

表 2 正交设计试验结果

实验号	A	B	C	D	茯苓酸(mg/g)	茯苓多糖(%)	综合分
1	1	1	1	1	1.11	9.80	0.60
2	1	2	2	2	2.36	10.65	0.85
3	1	3	3	3	1.30	9.30	0.61
4	2	1	2	3	2.25	10.90	0.84
5	2	2	3	1	1.88	7.35	0.63
6	2	3	1	2	1.85	8.45	0.67
7	3	1	3	2	2.58	10.95	0.90
8	3	2	1	3	2.87	11.45	0.97
9	3	3	2	1	2.91	12.00	1.00
k_1	2.06	2.34	2.24	2.23			
k_2	2.14	2.45	2.69	2.42			
k_3	2.87	2.28	2.14	2.42			
k_1^-	0.69	0.78	0.75	0.74			
k_2^-	0.71	0.82	0.90	0.81			
k_3^-	0.96	0.76	0.71	0.81			
R	0.27	0.06	0.19	0.07			

注：综合分=(X/Xmax)×50%+(Y/Ymax)×50%。X：茯苓酸含量；Y：茯苓多糖含量。

表 3 方差分析表

方差来源	SS	γ	MS	F	显著性
因素 A	0.1328	2	0.0664	20.75	**
因素 B	0.0049	2	0.0025		
因素 C	0.0572	2	0.0286	8.94	*
误差 E	0.0080	2	0.0040		
误差 E*	0.0129	4	0.0032		

注： $F_{0.05(2,4)}=6.94$ ， $F_{0.01(2,4)}=18.00$ 。

2.4 对照实验 按照《中国药典》(2010 年版一部)茯苓加工方法和本实验确定的加工方法对茯苓药材进行处理，并分别测定茯苓酸和茯苓多糖的含量 ($n=3$)，结果见表 4。从表 4 可见，按实验方法中测得的茯苓酸、茯苓多糖分别是药典方法的 136.70%、146.92%。

表 4 对照实验考察结果

加工方法	茯苓酸含量(mg/g)	茯苓多糖含量(%)
药典方法	2.18	8.27
实验方法	2.98	12.15

3 讨论

到目前为止，关于茯苓炮制工艺的研究并不多。许腊英等^[5]曾以茯苓多糖为指标对茯苓炮制工艺进行研究。本研究首次以茯苓酸和茯苓多糖的综合作用对加工方法进行考察，填补这方面的空白。《中国药典》^[1](2010 年版一部)茯苓质量标准项下下载以稀乙醇为溶剂，测定茯苓醇溶性浸出物，考虑到临床中药茯苓入中成药的应用因素，是否应增加醇溶性浸出物为指标，有待进一步考察。

(下转第 68 页)

析,可知老年瘙痒症的发病部位在肌肤,与肝、肾关系密切,与表、经络相关。肝藏血,肾藏精,老年人肝肾不足,精血不充,水不涵木,肝风内动而致痒;若情志怫郁,肝郁气滞,血瘀生风则瘙痒更甚;气郁久生微热,化热动风,而瘙痒更甚。故本病症状虽表现于肌肤,但责之于肝肾,治疗当从补益肝血、柔肝疏肝、补肾益精入手,必要时肝肾同治。

3.3 病性证素的分布特点 本次研究中提取同类病性证素 21 个,依出现频次前四位为血虚、内风、阴虚、气虚,虚性证素占总数的 55.9%。可见,老年瘙痒症以血虚、阴虚、气虚为病机关键,可伴见精亏、阳虚、津伤等候。肝血亏虚,肌肤失养而化燥生风,燥胜则干,风胜则痒;气血不足,瘀血内生,阻滞经络,营卫失畅,肌肤失润;血瘀生风或体虚外邪入侵亦致瘙痒加重。因虚而致实,实性证素以内风为主,可伴见外风、瘀血、湿、热等病理因素。

3.4 常见证型用药规律 将频次排位前两位的血虚风燥证、气血两虚证分别与所用药物进行关联分析,以支持度、药物对证型的置信度高低排序,前 11 位药物均为当归、白芍、防风、刺蒺藜、生地黄、何首乌、熟地黄、黄芪、川芎、荆芥、甘草,仅排序上略有差异,药物基本功效为养血益气、滋阴填精、活血祛风。11 种药物除熟地黄外,其余药物构成外科常用方当归饮子。该方在《外科正宗》中用于“血燥皮肤作痒,及风热疮疥瘙痒,或作疼痛”,临床使用时常加用熟地黄以增强补精养血之功。可见,老年瘙痒

症的血虚风燥证、气血两虚证均可以此方为基础方,随证加减,以达到养血滋阴,益气固表不留邪,疏风散邪不伤正,补散结合,标本兼顾之目的。

4 结语

通过本次研究可见,老年瘙痒症的临床文献报道中的证型,病位证素、病性证素多而复杂,一方面体现了本病病机的复杂性;同时说明中医证候命名不规范,辨证标准不一,临床证型分类缺乏统一性,这为规范临床辨证治疗带来了困难^[9]。本研究借鉴统计学方法,对近年来中医药治疗的文献进行整理统计,提取关键病位证素及病性证素,加强辨证的规范性,完善辨证体系,有利于证候标准化的深入研究,为中医治疗的规范化提供依据。

参考文献

- [1] 范瑞强,邓丙戌,杨志波.中医皮肤性病学.北京:科学技术文献出版社,2010:429
- [2] 唐亚平,姜瑞雪,樊新荣.证素及证素辨证的研究近况.时珍国医国药,2008,19(10):2543
- [3] 朱震,张世勤,汪悦,等.类风湿性关节炎中医证素分布.南京中医药大学学报,2012,28(6):531

第一作者:朱震(1976—),女,副教授,研究方向为风湿性疾病、老年病的诊断和治疗。

通讯作者:张世勤,硕士,讲师。nzyzsq@163.com

收稿日期:2015-04-07

编辑:傅如海

(上接第 65 页)

“发汗”是中药材传统加工处理方法之一,是将药材采收后堆置,使其中水分溢出的方法。发汗法操作耗时长,无量化指标,多凭经验判断。现今社会对中药饮片炮制品的生产要求规模化、自动化,对生产的各过程均要严格控制。发汗法能否有合适的现代干燥方法替代,有待进一步研究。

在多指标的优化实验中,综合指标的计算需对各个指标进行综合考虑和权衡,因茯苓酸和茯苓多糖的重要性一样,故在综合评分法中各占 50%。如果茯苓饮片的干燥温度过高,不仅会影响饮片中茯苓酸和茯苓多糖含量,而且会使饮片颜色加深,影响外观性状。

本研究确定的茯苓加工方法,操作简单,茯苓饮片质量重现性好,可为国家有关部门制定茯苓饮片炮制品标准提供可靠依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中国药典(一部).北京:人民卫生出版社,2010:224
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草(上册).上海:上海科学技术出版社,1999:554
- [3] 管俊峰,徐斌,於小波,等.全国 20 个主要产地茯苓质量分析比较研究.中国中医药信息杂志,2010,17(8):34
- [4] 李俊艳,魏学军,石朝珊,等.茯苓皮与茯苓块中多糖的含量测定.黔南民族医学报,2009,22(4):243
- [5] 许腊英,付文强,万芳,等.茯苓炮制工艺的研究.湖南中医学院学报,2007,9(1):44

第一作者:王海燕(1982—),女,硕士,讲师,从事中药制剂新剂型与新技术研究。

通讯作者:梁利香,讲师。916912572@qq.com

收稿日期:2015-03-22

编辑:吴宁