

清半夏炮制工艺的优化

刘景玲¹, 位刚¹, 孙建钊¹, 杨峻¹, 周自云^{1*}, 梁宗锁²
(1. 西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100; 2. 浙江理工大学, 浙江 杭州 310018)

摘要:目的 优化清半夏炮制工艺。方法 在单因素试验基础上, 以浸泡温度、白矾浓度、浸泡时间为影响因素, 总有机酸含量(以琥珀酸计)为评价指标, Box-Behnken 响应面法优化炮制工艺。结果 最佳条件为浸泡温度 38.3 ℃, 白矾浓度 11%, 提取时间 72 h, 总有机酸含量 0.46%。结论 该方法简便可靠, 可用于优化清半夏炮制工艺。
关键词: 清半夏; 炮制工艺; Box-Behnken 响应面法
中图分类号: R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)09-1965-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.09.014

Processing technology optimization for *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Alumine*

LIU Jing-ling¹, WEI Gang¹, SUN Jian-zhao¹, YANG Jun¹, ZHOU Zi-yun^{1*}, LIANG Zong-suo²
(1. Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

KEY WORDS: *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Alumine*; processing technology; Box-Behnken response surface method

半夏为天南星科植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎, 具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结等功效。清半夏始载于《圣济总录》, 是半夏的炮制品种之一, 可降低其毒性和刺激性, 临床上长于化痰, 以燥湿化痰为主^[1], 《中国药典》规定其炮制方法为取净半夏适量, 大小分开, 8% 白矾溶液浸泡至内无干心, 口尝微有麻舌感, 取出, 洗净, 切厚片, 干燥, 每 100 kg 净半夏用白矾 20 kg^[2], 但该方法仅凭口尝控制炮制程度, 缺乏客观、量化的评价标准, 难以保证炮制品质量, 已有报道表明不同炮制方法下清半夏功效各异^[3-5]。因此, 本实验将通过 Box-Behnken 响应面法优化清半夏炮制工艺, 以规范并保证相关质量控制标准的统一。

1 材料

半夏由甘肃省清水县半夏规范化栽培基地提供, 经西北农林科技大学生命科学院舒志明副教

授鉴定为天南星科植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎。白矾(温州矾矿)由相关试剂公司购买, 经专家鉴定为硫酸盐类矿物明矾石的提炼加工品。电热恒温干燥箱(DHG-9011 A, 上海精宏实验设备有限公司); 数显恒温水浴锅(HH-S, 常州市万丰仪器制造有限公司); 箱式电阻炉(沈阳市节能电炉厂); 万分之一天平(BSA224S-CW, 赛多利斯科学仪器北京有限公司); 马弗炉(灰分测定用, 由西北农林科技大学生命科学院生物化学与分子生物学平台提供)。水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。根据 2015 版《中国药典》附录方法测定灰分, 半夏条目下的方法测定琥珀酸、白矾含量。

2 结果

2.1 单因素试验

2.1.1 浸泡温度 固定白矾浓度 10%, 处理时间 66 h, 选择浸泡温度 25、30、35、40、45 ℃进行

收稿日期: 2017-12-26
基金项目: 陕西省科技攻关项目(2015SF243); 西北农林科技大学教育教学改革研究项目(2017)
作者简介: 刘景玲(1979—), 女, 博士, 研究方向为药用植物栽培和炮制。E-mail: jinglingliu-sm@nwsuaf.edu.cn
* 通信作者: 周自云(1976—), 女, 博士, 研究方向为药用植物次生代谢调控。E-mail: xnzzy@nwsuaf.edu.cn

考察,结果见图1。由图可知,琥珀酸含有量先增加后减少,40℃时达到最大值3.46%,故选择其作为最优浸泡温度。

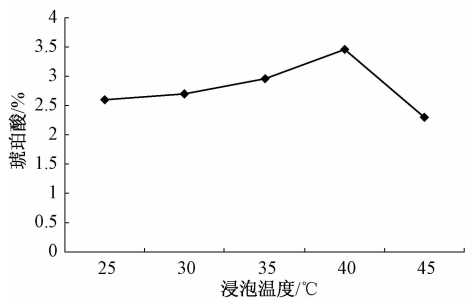


图1 浸泡温度对琥珀酸含有量的影响

Fig. 1 Effects of soaking temperature on succinic acid content

2.1.2 浸泡时间 固定白矾浓度10%,浸泡温度40℃,选择浸泡时间48、54、60、66、72h,考察其对琥珀酸含有量的影响,结果见图2。由图可知,66h时琥珀酸含有量达到最大值3.75%,故选择其作为最优浸泡时间。

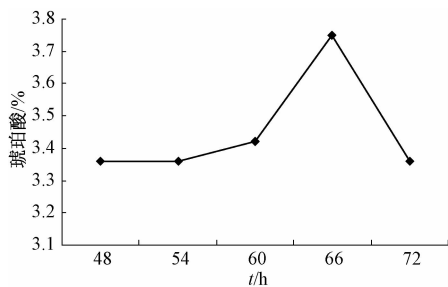


图2 浸泡时间对琥珀酸含有量的影响

Fig. 2 Effects of soaking time on succinic acid content

2.1.3 白矾浓度 固定浸泡时间66h,浸泡温度40℃,选择白矾浓度4%、6%、8%、10%、12%,考察其对琥珀酸含有量的影响,结果见图3。由图可知,10%时琥珀酸含有量达到最大值3.68%,故选择其作为最优白矾浓度。

2.2 工艺优化 在单因素试验基础上,选择浸泡温度(A)、白矾浓度(B)、浸泡时间(C)作为影响因素,总有机酸含有量(以琥珀酸计)作为评价指标(Y),Box-Behnken响应面法优化炮制工艺。因素水平见表1,结果见表2。

表1 因素水平

Tab. 1 Factors and levels

水平	A 浸泡温度/℃	B 白矾/%	C 浸泡时间/h
-1	35	8	60
0	40	10	66
1	45	12	72

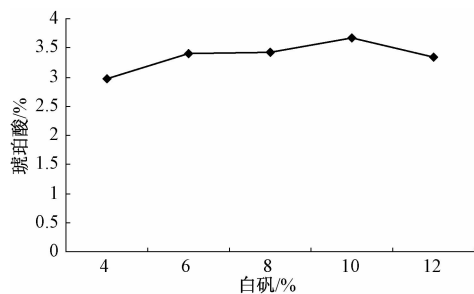


图3 白矾浓度对琥珀酸含有量的影响

Fig. 3 Effects of alumen concentration on succinic acid content

表2 试验设计及结果

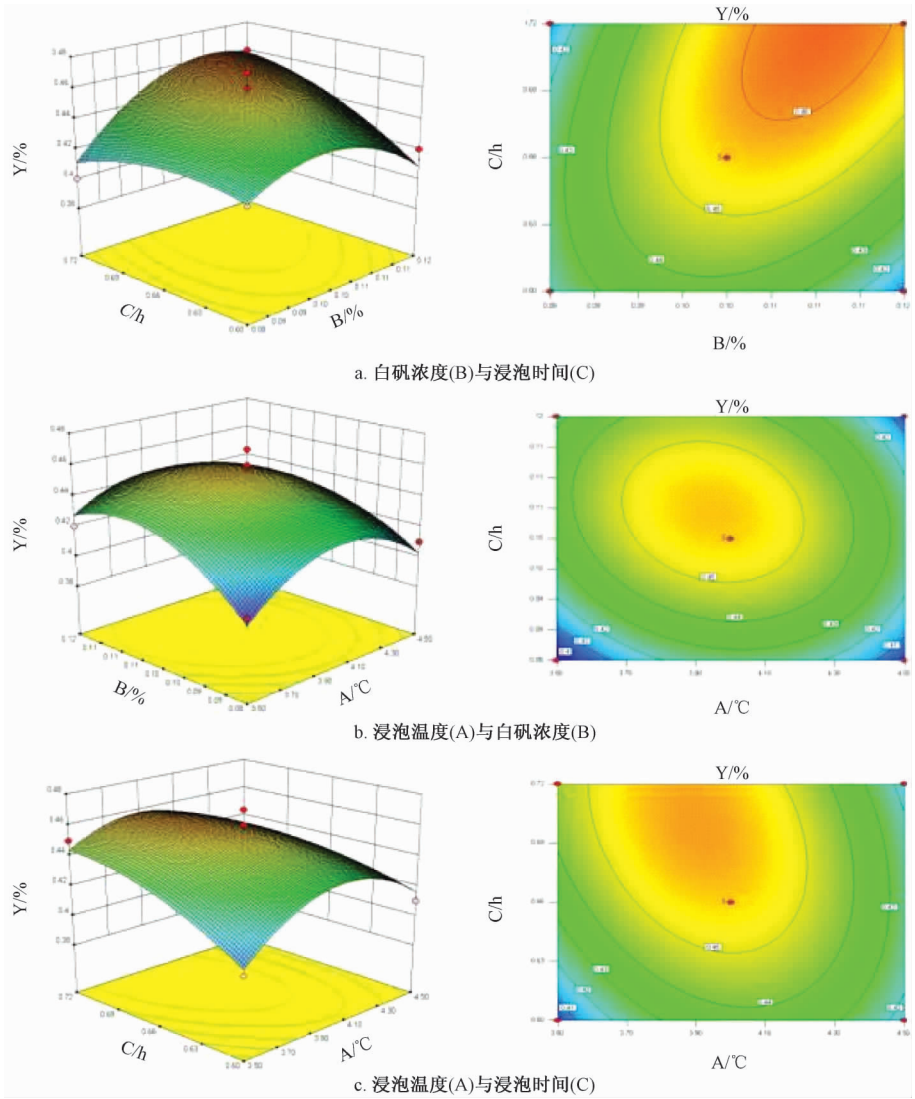
Tab. 2 Design and results of tests

试验号	A	B	C	Y 总有机酸/%
1	-1	1	0	0.42
2	0	0	0	0.45
3	0	1	1	0.46
4	0	-1	-1	0.42
5	1	0	-1	0.41
6	-1	0	-1	0.40
7	-1	0	1	0.45
8	0	0	0	0.47
9	0	1	-1	0.42
10	0	-1	1	0.40
11	1	-1	0	0.41
12	0	0	0	0.46
13	0	0	0	0.45
14	0	0	0	0.45
15	-1	-1	0	0.40
16	1	1	0	0.40
17	1	0	1	0.42

然后,通过Design-Expert 8.0.6.1软件进行二次多项式回归拟合,得到方程为 $Y=0.456-3.750\times 10^{-3}A+8.750\times 10^{-3}B+0.010C-7.500\times 10^{-3}AB-0.010AC+0.015BC-0.027A^2-0.022B^2-0.009C^2$,方差分析见表3。由表可知,各因素影响程度依次为 $C>B>A$,其中C、BC、 A^2 、 B^2 对琥珀酸含有量有显著影响($P<0.05$);模型 $P<0.01$,表明模型具有极显著意义;失拟项 $P>0.05$,表明实验误差较小; $R^2=0.9136$, $R^2_{Adj}=0.8024$,表明模型可解释80.24%响应值的变化,拟合度较好。

响应面分析^[6-7]见图4。由此可知,清半夏最优炮制工艺为浸泡温度38.3℃,白矾浓度11%、浸泡时间72h,总有机酸含有量为0.47%。

2.3 验证试验 在“2.2”项优化工艺下进行3



注：左图均为响应面图，右图均为等高线图

图 4 各因素响应面图

Fig. 4 Response surface plots for various factors

表 3 方差分析

Tab. 3 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.008 931	9	0.000 992	8.220 946	0.005 5
A	0.000 113	1	0.000 113	0.931 953	0.366 5
B	0.000 613	1	0.000 613	5.073 964	0.059 0
C	0.000 8	1	0.000 8	6.627 219	0.036 8
AB	0.000 225	1	0.000 225	1.863 905	0.214 4
AC	0.000 4	1	0.000 4	3.313 609	0.111 5
BC	0.000 9	1	0.000 9	7.455 621	0.029 3
A ²	0.003 013	1	0.003 013	24.958 89	0.001 6
B ²	0.001 992	1	0.001 992	16.500 47	0.004 8
C ²	0.000 36	1	0.000 36	2.984 429	0.127 7
残差	0.000 845	7	0.000 121	—	—
失拟项	0.000 525	3	0.000 175	2.187 5	0.232 1
纯误差	0.000 32	4	0.000 08	—	—
总和	0.009 776	16	—	—	—

批验证试验, 结果见表 4, 可知总有机酸平均含有量为 0.46%, 与预测值 0.47% 非常接近, 表明模型拟合度良好, 工艺稳定可靠。同时, 根据 2015 版《中国药典》方法测得灰分含有量和白矾残留量均在规定范围内 (分别不得超过 4% 和 10%), 而且总有机酸含有量也符合相关要求 (>0.3%)。

表 4 验证试验结果 (n=3)

Tab. 4 Results of verification tests (n=3)

试验号	称样量/g	滴定量/mL	总有机酸/%
1	5.00	3.00	0.48
2	5.00	3.13	0.45
3	5.00	3.12	0.46

3 讨论

研究表明, 半夏毒性集中在使用该药材时出现的刺激性反应和炎症反应上, 主要毒性成分有草酸钙针晶、半夏蛋白类物质、生物碱^[8-10]。虽然白矾、石灰、生姜、甘草等都是半夏炮制中常用的辅料, 但真正具有解毒作用的只有白矾和石灰^[11], 其中前者相关机制主要表现在 2 个方面^[12]: 一是铝离子可与毒针晶中草酸钙的草酸结合, 生成草酸铝络合物, 促使针晶结构破坏, 刘逊等^[13]也证实白矾解半夏毒的主要机制可能是生成的 Al (OH)₃ 胶体将毒性物质吸附凝集; 二是浸泡在白矾溶液中的半夏凝集素蛋白可能发生了溶解, 其肽序列有所改变, 蛋白质结构被破坏, 从而降低了毒性。

目前, 国内大多采用正交设计优化半夏炮制工艺, 虽然该方法简便, 但精度不高, 难以优选出各因素最佳组合^[14-16]。本实验选择文献报道的对半夏炮制影响显著的 3 个因素, 即白矾浓度、浸泡温度、浸泡时间^[14,17], 以总有机酸含有量 (以琥珀酸计) 为评价指标, 通过 Box-Behnken 响应面法进行优化, 发现灰分、白矾、琥珀酸含有量均符合 2015 版《中国药典》规定, 表明该方法稳定可靠, 实际应用价值较高。但本实验仍存在一些缺陷, 例如, 半夏炮制后对黏膜的刺激性明显下降, 但对胚胎仍然有一定毒性, 故在临床用药时对孕妇和儿童仍需慎重^[18]; 白矾残留 (铝离子各种单体形态) 对人体造成新伤害的风险也正引起关注^[19]; 高浓度白矾溶液反而会诱发半夏新的毒性反应, 陶文婷等^[20]提出了醇制半夏具有与矾制半夏类似的解毒效果, 而且可避免铝残留问题, 具体尚需进一步研究。

参考文献:

[1] 熊 玥, 吴 皓, 刘福燕. 清半夏饮片质量标准研究[J]. 中成药, 2010, 32(5): 883-886.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 120.

[3] 张跃进, 孟祥海, 许 玲, 等. 不同炮制方法对半夏化学成分含量的影响研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12): 21-23.

[4] 白宗利, 任玉珍, 陈彦琳, 等. 清半夏炮制研究进展[J]. 中国现代中药, 2014, 16(5): 423-427.

[5] 骆 霞, 黄开云. 半夏及不同炮制品中总游离有机酸含量比较[J]. 中国医药导刊, 2014, 16(4): 734, 736.

[6] 王心怡, 方璐玲, 陈 琪, 等. 响应面法优化马铃薯皮花青素的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(2): 37-41.

[7] 公 云, 杨 平. 响应面法优化紫茄子皮原花青素提取工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(2): 70-73.

[8] 吴 皓, 钟凌云, 李 伟, 等. 半夏炮制解毒机制的研究 I [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1402-1406.

[9] 梁 君, 张振凌, 王桁杰, 等. 不同半夏炮制品麻辣毒性与草酸钙针晶含量关系的研究[J]. 中医学报, 2016, 31(10): 1563-1565.

[10] 梁 君, 王桁杰, 张振凌. 产地加工炮制一体化新工艺对半夏生物碱类成分的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(2): 357-359.

[11] 佟 欣. 半夏毒性及其解毒方法研究[J]. 中医药信息, 2009, 26(3): 12-15.

[12] Yu H L, Pan Y Z, Wu H, et al. The alum-processing mechanism attenuating toxicity of Araceae *Pinellia ternate* and *Pinellia pedatisecta* [J]. Arch Pharm Res, 2015, 38(10): 1810-1821.

[13] 刘 逊, 吴 皓. 姜半夏炮制辅料研究概况[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(3): 103-105.

[14] 王世华, 付 靖, 刘少琴, 等. 正交试验优选清半夏的炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 25-28.

[15] 汤华清, 肖 锦, 王耀登, 等. 清半夏的炮制工艺研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14(5): 39-41.

[16] 张 琳, 吴 皓, 朱 涛, 等. 多指标正交试验优化清半夏炮制工艺[J]. 中成药, 2008, 30(5): 704-706.

[17] 黄文青, 高 明, 刘 松, 等. 响应面法优化蒸制姜半夏的炮制工艺[J]. 中药材, 2015, 38(7): 1403-1407.

[18] 袁海建, 贾晓斌, 印文静, 等. 炮制对半夏毒性成分影响及解毒机制研究报道分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23): 4462-4468.

[19] 马 莎, 杨晓梅, 赵荣华. 明矾炮制前后半夏中铝形态分析[J]. 光谱实验室, 2011, 28(6): 2983-2986.

[20] 陶文婷, 郁红礼, 吴 皓, 等. 半夏、醇制半夏和清半夏的刺激性毒性及液相指纹图谱研究[J]. 中成药, 2012, 34(5): 899-904.