

论 著

(药学研究)

炮制对硫熏白芍饮片检控指标的影响

丁 妍, 孔 铭, 徐亚运, 李松林

【摘要】 目的 探讨炮制对硫熏白芍检控指标的影响规律。 **方法** 采用《中国药典》SO₂残留量方法和 HPLC 方法分别测定比较炒制/酒制前后硫熏白芍饮片中 SO₂残留量和硫熏特征衍生物及芍药苷、芍药内酯苷、没食子酸、五没食子酰葡萄糖、苯甲酸 5 种活性成分含量。 **结果** 白芍饮片经硫熏后 SO₂残留显著增加。白芍饮片熏蒸 2 h 后, SO₂残留量达 861.08 mg/kg。经炒制/酒制后, SO₂残留量明显降低, 测得量分别为 323.59 mg/kg、364.46 mg/kg, 分别降低了 62.42%、57.67%。白芍饮片硫熏后活性成分转化, 产生磺酸化芍药苷, 含量为 3.93 mg/g, 而经炒制和酒炙后, 磺酸化芍药苷含量分别为 3.99 mg/g、3.92 mg/g, 含量未见明显变化; 5 种活性成分含量也未见明显变化。 **结论** SO₂残留结合硫熏特征标志物可作为硫熏白芍饮片的安全性评价指标。

【关键词】 白芍; 硫磺熏蒸; SO₂; 炮制; 检控指标; HPLC**【中图分类号】** R284.1**【文献标志码】** A**【文章编号】** 1672-271X(2022)01-0050-04**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2022.01.011Influence of processing on the inductive indexes of sulfur-fumigated *Paeoniae Radix Alba*DING Yan¹, KONG Ming², XU Ya-yun², LI Song-lin²

(1. Department of Pharmaceutical, Eastern Theater Command General Hospital Zhenjiang Medical Area, Zhenjiang 212001, Jiangsu, China; 2. Department of Pharmaceutical Analysis, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective To investigate the influence of processing on the inductive indexes of sulfur-fumigated *Paeoniae Radix Alba* (PRA). **Methods** Using SO₂ residue determination method documented in Chinese Pharmacopoeia and HPLC technique, we determined and compared the difference before and after processed by stir frying and wine system of sulfur-fumigated PRA in SO₂ residue, content of sulfur-fumigated characteristic derivatives and paeonin, paeonilacin, feutonic acid, pentazacyl glucose and benzoic acid. **Results** The residue of SO₂ was significantly increased after sulfur fumigation. In this experiment, after fumigation of 2 h, SO₂ residue reached 861.08 mg/kg. Stir frying and wine system could significantly reduce SO₂ residue in sulfur-fumigated PRA. The measured amount of 323.59 mg/kg, 364.46 mg/kg, decreased by 62.42% and 57.67%, respectively. Transformation of active ingredient after sulfur fumigation of PRA. Paeoniflorin sulfonate were produced, the measured amount of 3.93 mg/g. However, stir frying and wine system were no notable change of sulfur-fumigated characteristic derivatives. The measured amount of 3.99 mg/g, 3.92 mg/g, which was not significantly changed of the content of 5 active ingredients. **Conclusion** SO₂ residue combined with sulfur-fumigated characteristics markers can be used as safety evaluation indexes for sulfur-fumigated PRA.

【Key words】 *Paeoniae Radix Alba*; sulfur fumigation; SO₂; processing; inspection and control index; HPLC

0 引 言

硫磺熏蒸是中药材常用加工方法, 然而, 过度

硫熏会导致药材 SO₂ 等有害残留物增加^[1-2], 主要活性成分转化, 生成含硫衍生物^[3-5], 药效降低, 存在安全隐患^[6-7]。因此国内外以 SO₂ 残留量为检控指标用于控制硫熏药材质量, 其中现版《中国药典》规定白芍等 10 味中药材及其饮片 SO₂ 残留量不得超过 400 mg/kg^[8]。白芍为毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pal1.) 的干燥根, 临床常用大宗药材, 也是传统采用硫熏加工的药材。白芍的有效成分主要

基金项目: 国家自然科学基金 (81503245)

作者单位: 212001 镇江, 东部战区总医院镇江医疗区药械科 (丁妍); 210028 南京, 南京中医药大学附属中西医结合医院中药质量研究室 (孔 铭、徐亚运、李松林)

通信作者: 孔 铭, E-mail: kongming1027@163.com

为芍药苷、羟基芍药苷、芍药内酯苷等,统称为白芍总苷(TGP),其作为联合用药和辅助用药,可增强其他药物的疗效^[9]。中药饮片是临床方剂和中成药的重要原料,其质量直接影响中医临床疗效。饮片经过不同炮制加工过程,不论外观性状还是内在品质、药性与药材相比均发生了明显变化。前期研究发现《中国药典》SO₂残留测定方法在测定硫熏白芍药材时存在假阴性和限量不客观的不足^[10],而白芍硫熏特征衍生生物限量检查可作为硫熏白芍药材检控的有效补充^[11-13],但硫熏特征衍生生物结合 SO₂残留能否作为硫熏白芍饮片的检控指标有待深入研究加以科学评估。本研究选择《中国药典》收载的白芍饮片法定品种炒白芍、酒白芍为研究对象,考察不同炮制方法对硫熏饮片 SO₂残留量、硫熏特征标志物及主要活性成分含量的影响,为硫熏白芍饮片检控指标的选择提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料 Waters 2695 高效液相色谱仪(美国 Waters); Waters 2996 紫外检测器(美国 Waters); METTLER 万分之一及百万分之一电子天平(瑞士梅特勒公司); KQ-250E 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); Millipore Milli-Q 超纯水制备仪(美国 Millipore 公司)。

对照品没食子酸(购自中国食品药品检定研究院,批号 110831-201605,纯度>98%); 磺酸化芍药苷自制,纯度>98%; 芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸(成都普菲德生物科技股份有限公司,批号分别为 140518、PS000826、140807,纯度均>98%); 五没食子酰葡萄糖(四川省维克奇生物科技有限公司,批号为 140611,纯度>98%); 甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂为分析纯。

生白芍饮片(批号 150921)购自亳州市万珍中药饮片公司,经李松林研究员鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia Lactiflora* Pall. 干燥根的切制干燥饮片。

1.2 方法

1.2.1 样品的制备 ①硫熏白芍饮片制备:取未硫熏白芍饮片 400 g,加水 40 mL,放置在自制硫熏装置中,硫磺用量 10 g/h,熏制 2 h,取出,于 50 ℃鼓风干燥后,室外晾晒 15 d,即为硫熏白芍饮片^[12]。②炒白芍和炒硫熏白芍饮片制备:取未硫熏白芍饮片和自制硫熏白芍饮片 200 g,置炒制容器内,文火炒制 18 min,至断面呈微黄色,偶有焦斑为止^[14],各平

行制备 2 份。③酒白芍和酒硫熏白芍饮片制备:取未硫熏白芍饮片和自制硫熏白芍饮片 200 g,置于托盘容器内,加入黄酒 20 g,然后平铺开来,密闭 2 h。取出,放于炒至容器内,用文火炒制 23 min,断面呈黄色,偶有焦斑,有酒香气^[14],即得酒炙硫熏白芍饮片样品,平行制备 2 份。

1.2.2 硫熏特征衍生生物和活性成分的含量测定

采用 HPLC 法测定硫熏特征衍生生物及芍药苷、芍药内酯苷、没食子酸、五没食子酰葡萄糖、苯甲酸 5 种活性成分含量。

色谱条件:根据文献报道确定色谱条件^[11], Altima C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相 A 为乙腈,流动相 B 为 0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱(0~20 min, 5%→10% A; 20~40 min, 10%→20% A; 40~90 min, 20%→30% A);流速 1.0 mL/min;检测波长 230 nm;柱温 35 ℃;进样体积 20 μL。

混合对照品溶液的制备:精密称取没食子酸、磺酸化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、五没食子酰葡萄糖对照品适量,加甲醇制备成 0.061、0.176、0.152、1.133、0.012、0.099 mg/mL 的混合对照品溶液。

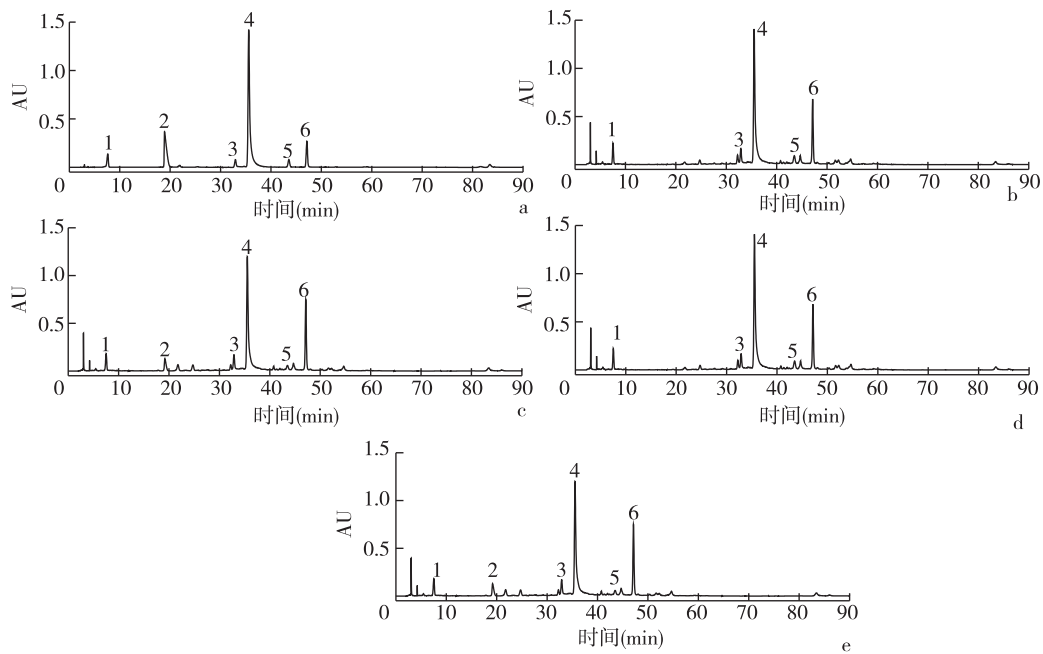
供试品溶液的制备:取白芍饮片粉末 0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%乙醇溶液 50 mL,超声提取(250 W, 50 kHz) 30 min,用 50%乙醇补足溶液,静置,取上清液,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤上清液^[11],即得炒白芍、炒硫熏白芍、酒白芍和酒硫熏白芍供试品溶液。

1.2.3 SO₂残留量测定 采用《中国药典》2015 年版(四部)“二氧化硫残留量测定法(酸碱滴定法)”测定硫熏白芍饮片^[14],炒硫熏白芍饮片及酒硫熏白芍饮片的 SO₂残留量。

2 结果

2.1 HPLC 法测定硫熏特征衍生生物和活性成分的含量 HPLC 色谱图见图 1。硫熏特征衍生生物及芍药苷、芍药内酯苷、没食子酸、五没食子酰葡萄糖、苯甲酸 5 种活性成分测定结果显示,炒硫熏白芍中芍药苷含量略低于炒白芍,分别为 28.00 mg/g 和 30.18 mg/g。白芍饮片硫熏后活性成分转化,产生磺酸化芍药苷,含量为 3.93 mg/g,而经炒制和酒炙后,磺酸化芍药苷含量分别为 3.99 mg/g、3.92 mg/g,含量未见明显变化。见图 2。

2.2 SO₂残留量测定法测定白芍不同炮制品中



1: 没食子酸; 2: 磺酸化芍药苷; 3: 芍药内酯苷; 4: 芍药苷; 5: 苯甲酸; 6: 五没食子酰葡萄糖
a: 混合对照品; b: 炒白芍; c: 炒硫熏白芍; d: 酒白芍; e: 酒硫熏白芍

图 1 不同白芍饮片代表性 HPLC 图

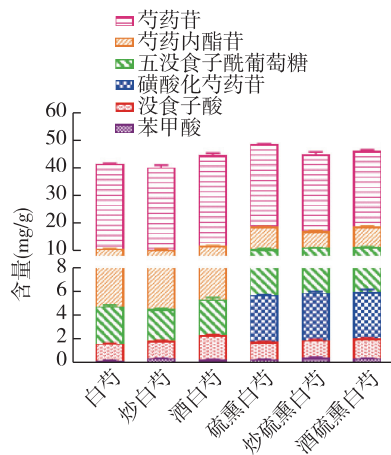


图 2 不同白芍饮片中硫熏特征衍生物和活性成分的含量

SO₂含量结果 硫熏白芍饮片、炒硫熏白芍饮片及酒硫熏白芍饮片的 SO₂残留量测定结果显示,白芍饮片经硫熏后 SO₂残留显著增加,本实验中白芍饮片熏蒸 2 h 后,SO₂残留量达 861.08 mg/kg,远远超过了《中国药典》规定的 400 mg/kg 的限量标准,应判为不合格白芍饮片。然而经炒制后,SO₂残留量明显降低,测得量为 323.59 mg/kg,降低了 62.42%,按《中国药典》炒白芍的 SO₂残留量限量要求,则属于合格饮片。同样,硫熏白芍酒炙后,SO₂残留量为 364.46 mg/kg,降低了 57.67%,也可判断为合格饮片。见图 3。

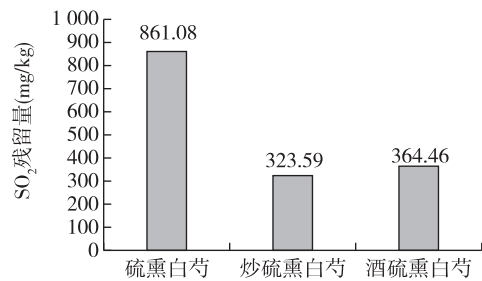


图 3 硫熏白芍饮片 SO₂残留量

3 讨 论

3.1 炮制对硫熏白芍饮片 SO₂残留量的影响 本研究表明,炮制可降低硫熏白芍 SO₂残留量,但不能完全去除 SO₂残留,不合格的硫熏饮片经炮制后可使 SO₂残留达到饮片标准。因此,SO₂残留无法体现饮片实际的硫熏程度,单一的 SO₂检控指标对硫熏饮片的检控可能存在不足。

3.2 炮制对硫熏白芍饮片含硫衍生物的影响 白芍饮片硫熏后活性成分转化,产生磺酸化芍药苷,而经炒制和酒炙后,含量未见明显变化,表明炮制过程对硫熏白芍特征衍生物影响较小。研究显示白芍药材中磺酸化芍药苷的含量与硫熏程度呈正相关^[13],是白芍药材硫熏程度的真实反映。因此,我们认为磺酸化芍药苷同样真实反映了白芍饮片

的硫熏程度,可作为白芍饮片的硫熏检控指标。

3.3 炮制对硫熏白芍饮片整体质量的影响 未硫熏白芍饮片炒制后,芍药苷和五没食子酰葡萄糖含量稍有下降,苯甲酸含量升高,化合物总量降低;而酒炙后,没食子酸、氧化芍药苷,芍药苷和五没食子酰葡萄糖含量则均有所增加,化合物总量增加。炒硫熏白芍相比于炒白芍,化合物总量增加,化学成分组成及比例明显改变;酒硫熏白芍相比于酒白芍,与炒硫熏白芍相比于炒白芍含量变化趋势相同。硫熏白芍饮片炮制前后与未硫熏白芍饮片炮制前后含量变化趋势相同,炒制后化合物总量略有下降,而酒炙后化合物总量略有升高,但差异无统计学意义。总之,白芍炮制前后化合物整体质量变化较小,硫熏导致的化学成分转化是导致饮片质量改变的主要因素。

3.4 硫熏白芍饮片安全性检控指标评估 研究发现白芍硫熏后化学成分改变,且已在硫熏白芍中发现 6 个含硫衍生物^[15],同时硫熏导致白芍活性和体内吸收代谢改变,存在肾毒性的隐患^[16],需加强对硫熏白芍的质量控制。当前单一的 SO₂ 残留指标在检控硫熏白芍药材存在不足。综合本研究结果发现,炮制可降低饮片 SO₂ 残留量,但磺酸化芍药苷受炮制影响较小。单一 SO₂ 残留指标不能客观体现硫熏白芍饮片内在质量变化,磺酸化芍药苷可直接反映硫熏白芍饮片内在质量,因此,SO₂ 残留量结合磺酸化芍药苷可以作为硫熏白芍饮片的安全性检控指标。

【参考文献】

- [1] Duan SM, Xu J, Bai YJ, *et al.* Sulfur dioxide residue in sulfur-fumigated edible herbs: The fewer, the safer? [J] *Food Chem*, 2016, 192: 119-124.
- [2] Kan WL, Ma B, Lin G. Sulfur fumigation processing of traditional Chinese medicinal herbs: beneficial or detrimental? [J] *Front Pharmacol*, 2011, 2: 84.
- [3] Wu CY, Kong M, Zhang W, *et al.* Impacts of sulfur-fumigation on the chemistry of ginger [J]. *Food Chem*, 2018, 239: 953-963.
- [4] Bai YJ, Xu JD, Kong M, *et al.* Discovery of characteristic chemical markers for inspecting sulfur-fumigated *Radix Angelicae Sinensis* by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry based metabolomics and chemical profiling approach [J]. *Food Res Int*, 2015, 76(Pt 3): 387-394.
- [5] Li SL, Shen H, Zhu LY, *et al.* Ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole/time of flight mass spectrometry based chemical profiling approach to rapidly reveal chemical transformation of sulfur-fumigated medicinal herbs, a case study on white ginseng [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1231: 31-45.
- [6] Zhou SS, Hu JW, Kong M, *et al.* Less SO₂ residue may not indicate higher quality, better efficacy and weaker toxicity of sulfur-fumigated herbs: Ginseng, a pilot study [J]. *J Hazardous Materials*, 2019, 364: 376-387.
- [7] Kang CZ, Lai CJS, Zhao D, *et al.* A practical protocol for comprehensive evaluation of sulfur-fumigation of *Gastrodia Rhizoma* using metabolome and health risk assessment analysis [J]. *J Hazardous Materials*, 2017, 340: 221-230.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 105.
- [9] 宋琳毅, 周乃慧, 王森森, 等. 白芍总苷胶囊联合阿维 A 和复方氟米松治疗银屑病的临床效果 [J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(8): 854-857.
- [10] 刘欢欢, 孔 铭, 李秀杨, 等. 《中国药典》二氧化硫测定法应用于白芍药材检测的探讨 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(23): 4615-4619.
- [11] Kong M, Liu HH, Xu J, *et al.* Quantitative evaluation of *Radix Paeoniae Alba* sulfur-fumigated with different durations and purchased from herbal markets: simultaneous determination of twelve components belonging to three chemical types by improved high performance liquid chromatography-diode array detector [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 98: 424-433.
- [12] 李秀杨, 段素敏, 刘欢欢, 等. 特征含硫衍生物对硫熏牡丹皮检控的意义 [J]. *药学报*, 2016, 51(6): 972-978.
- [13] 孔 铭, 徐亚运, 李松林. 硫熏药材检控方法评述和创新研究策略探讨 [J]. *药物分析杂志*, 2017, 37(10): 1739-1746.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 31, 208.
- [15] Li SL, Song JZ, Choi FF, *et al.* Chemical profiling of *Radix Paeoniae* evaluated by ultra performance liquid chromatography/photo diode array/ quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(2): 253-266.
- [16] Kong M, Liu HH, Wu J, *et al.* Effects of sulfur-fumigation on the pharmacokinetics, metabolites and analgesic activity of *Radix Paeoniae Alba* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 212: 95-105.

(收稿日期: 2021-04-27; 修回日期: 2021-06-02)

(责任编辑: 叶华珍; 英文编辑: 朱一超)