

冬瓜皮炭的炮制工艺优选及体外吸附尿毒素活性考察

王一硕,张娟,张振凌*
(河南中医学院,郑州 450008)

[摘要] 目的:优选烘法制备冬瓜皮炭的炮制工艺并考察其体外吸附尿毒素活性。方法:以冬瓜皮炭对尿素的吸附力和尿素收率为综合评价指标,采用正交试验考察制炭温度与制炭时间对冬瓜皮炭炮制工艺的影响。结果:冬瓜皮炭的最佳炮制工艺为制炭温度 280 ℃,制炭时间 15 min,平均吸附力 20.85 mg·g⁻¹,RSD 2.83%。结论:冬瓜皮炭体外具有吸附尿素氮、肌酐、尿酸等尿毒素的活性,可用于药品、保健品的制备,提高了冬瓜皮的药用价值,为新型、价廉、安全的治疗肾衰中药制剂的开发提供了新来源。

[关键词] 冬瓜皮炭;炮制工艺;吸附毒素活性;吸附力

[中图分类号] R283.3;R283.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0009-03

[doi] 10.11653/syfy2013220009

Optimization of Processing Technology and Investigation of *in vitro* Adsorption Activity for Urotoxin of Carbonized Benincasae Exocarpium by Baking

WANG Yi-shuo, ZHANG Juan, ZHANG Zhen-ling*
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize processing technology of carbonized Benincasae Exocarpium by baking and investigate its *in vitro* adsorption activity of urotoxin. **Method:** With adsorption force of carbonized Benincasae Exocarpium on urea and urea yield as indicators, orthogonal test was adopted to investigate effects of processing temperature and time on processing technology of carbonized Benincasae Exocarpium by baking. **Result:** Optimum processing technology was as following: processing time 15 min, processing temperature 280 ℃; Under these conditions, average adsorption force of carbonized Benincasae Exocarpium on urea was 20.85 mg·g⁻¹ with RSD of 2.83%. **Conclusion:** Carbonized Benincasae Exocarpium by baking had *in vitro* adsorption activities for urea nitrogen, creatinine and uric acid. It could be used for preparation of medicines and health products, and increase medicinal value of Benincasae Exocarpium as a new source in development of Chinese medicine preparations for treatment of renal failure with advantages of inexpensive and safe.

[Key words] carbonized Benincasae Exocarpium by baking; processing technology; adsorption activity for toxin; adsorption force

冬瓜皮味甘性凉,归脾、小肠经,具有利尿消肿的功效,用于治疗水肿胀满、小便不利、暑热口渴、小

便短赤等症^[1]。其主要化学成分包括挥发性成分、三萜类化合物、胆甾醇衍生物,另含有烟酸、胡萝卜素、无机元素等^[2]。冬瓜皮经高温炮炙制炭后,会产生部分炭素(活性炭),炭素具有一定吸附作用。在慢性肾功能不全非透析治疗阶段,临床常采用活性炭经肠道给药吸附毒素的方法。本实验采用正交试验法优选冬瓜皮制炭工艺,为新吸附制剂的开发提供参考。

1 材料

DHG-9076A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏

[收稿日期] 20130423(010)

[基金项目] 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2010A360031)

[第一作者] 王一硕,硕士,讲师,从事新药开发研究,Tel:0371-65676656,E-mail:wangyishuo@163.com

[通讯作者] *张振凌,学士,教授,从事中药炮制学教学与研究,Tel:0371-65680970,E-mail:zhangzhenling@163.com

实验设备有限公司), FW-100 型高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司), BS2241 型 1/万电子天平、PB-10 型 pH 计(北京赛多利斯公司), UV-3200S 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司), HNY-III B 型振荡器(天津市欧诺仪器有限公司)。

冬瓜皮饮片(购于郑州天泽医药连锁有限公司东升医药商店,经河南中医学院鉴定教研室董诚明教授鉴定为葫芦科植物冬瓜 *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn. 的干燥果皮), 尿素(含水量 3.596%, 天津市北方方正试剂厂), 胰蛋白酶(上海尚宝生物科技有限公司), 对二甲氨基苯甲醛(天津市凯通化学试剂有限公司), 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 显色剂的制备 称取二甲氨基苯甲醛 4 g, 用无水乙醇 200 mL 溶解, 加入浓盐酸 20 mL 混匀, 即得。

2.2 人工肠液的制备 称取 KH_2PO_4 6.8 g, 加水 500 mL 溶解, 用 0.4% NaOH 溶液调 pH 6.8; 取胰蛋白酶 10 g, 加水溶解, 混合, 加水定溶至 1 L, 即得。

2.3 肾毒证患者模拟肠液的制备 每 1 L 人工肠液中加入尿素 1.3 g, 即得。

2.4 正交试验设计^[3] 采用烘箱加热制炭。预试验发现在一定时间内吸附力随加热温度的升高呈先升高后下降的趋势, 在一定温度下吸附力随加热时间的延长而先升高后下降。选取制炭温度与制炭时间为考察因素, 因素水平见表 1。取冬瓜皮饮片置托盘中, 铺 1 cm 厚, 置烘箱中, 按 $L_9(3^4)$ 正交表制备 9 个样品, 制炭后粉碎, 取 <80 目和 >100 目的细粉备用。

表 1 冬瓜皮炭炮制工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平

水平	A 制炭温度/℃	B 制炭时间/min
1	260	5
2	280	15
3	300	25

2.5 吸附力的测定

2.5.1 最大吸收波长的考察 在酸性介质中, 尿素与对二甲氨基苯甲醛反应生成黄色络合物, 颜色深浅与尿素含量成正比。取肾毒症患者模拟肠液 3 mL, 加入显色剂 10 mL, 反应 20 min 后过滤。以空白人工肠液代替肾毒证患者模拟肠液, 按上述步骤重复操作, 作为空白对照, 于 190~900 nm 进行全波长扫描, 测定吸光度(A), 确定最大吸收波长 417.5 nm。

2.5.2 最大吸附时间的考察 取冬瓜皮炭样品(260℃, 15 min)6 份, 每份 0.03 g, 置于锥形瓶中,

编号 1~6。1~5 号为样品, 各加入肾毒症患者模拟肠液 10 mL, 分别在 37℃ 水浴锅中加热 60, 90, 120, 150, 180 min, 过滤, 精密量取滤液 4 mL 于 25 mL 量瓶中, 加入显色剂 10 mL, 振摇, 加人工肠液定容, 放置 20 min, 过滤, 于 417.5 nm 处测定 A; 6 号为空白对照, 以空白人工肠液代替肾毒证患者模拟肠液, 按上述步骤重复操作, 结果测得吸附力分别为 10.43, 13.69, 21.16, 19.63, 17.90 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 故确定最大吸附时间 2 h。

2.5.3 供试品溶液的制备 精密称取冬瓜皮炭粉 0.03 g 置锥形瓶中, 按 2.5.2 项下自“加入肾毒症患者模拟肠液 10 mL”至“放置 20 min, 过滤”操作, 即得。

2.5.4 标准曲线的绘制 准确量取肾毒症患者模拟肠液 1, 2, 3, 4, 5 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 各加入显色剂 10 mL, 用空白人工肠液稀释至刻度, 摇匀, 静置 20 min 后过滤, 用空白人工肠液重复操作为空白对照, 于 417.5 nm 处测定 A, 以 A 为纵坐标, 尿素含量为横坐标, 得回归方程 $Y = 0.174X + 0.1002$ ($R^2 = 0.9982$), 线性范围 1.25~6.27 mg。

2.5.5 专属性考察 取已制得的 9 个样品各 0.03 g, 分别置于锥形瓶中, 各加入空白人工肠液 10 mL, 摇匀, 于 37℃ 水浴加热 2 h, 按 2.5.3 项下方法制备阴性对照溶液, 于 417.5 nm 处测定 A, 作为空白值对供试品溶液进行校正, 结果 9 个样品对应空白值吸光度分别为 0.061, 0.068, 0.049, 0.045, 0.041, 0.050, 0.030, 0.049, 0.0330。

2.5.6 精密度试验 精密量取肾毒症患者模拟肠液 3 mL 于量瓶中, 加入显色剂 10 mL, 加人工肠液定容, 放置 20 min 后过滤。以人工肠液重复操作作为空白, 于 417.5 nm 处测定 6 次, 结果 A 的 RSD 0.49%, 表明仪器精密度良好。

2.5.7 稳定性试验 取样品 1 份, 按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min 测定 A, 结果 RSD 0.95%, 表明供试品溶液在 30 min 内稳定性良好。

2.5.8 重复性试验 取样品 6 份, 按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液, 分别于 417.5 nm 处测定 A, 结果 RSD 2.9%。

2.5.9 加样回收率试验 取已测定吸附力的样品 6 份, 按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液, 于 417.5 nm 处测定 A, 计算回收率, 结果见表 2。

2.5.10 样品测定 分别称取正交试验的 9 个样品 0.030 5, 0.031 2, 0.030 5, 0.030 0, 0.030 2, 0.030 1,

表2 尿素吸附力测定的加样回收率试验

称样量 /g	样品吸附 尿素量 /mg	检出量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.031 5	0.424	4.694	102.3	101.5	3.2
0.031 6	0.425	4.533	98.8		
0.031 7	0.426	4.752	103.6		
0.031 8	0.428	4.769	104.0		
0.030 8	0.414	4.418	96.1		
0.030 1	0.405	4.798	104.1		

注:尿素加入量均为5.013 mg。

0.031 0,0.031 4,0.030 1 g,各加入尿素5.013 mg,按2.5.3项下方法制备供试品溶液,于417.5 nm处测定A,计算吸附力分别为8.94,16.29,8.38,15.61,20.45,8.49,9.36,13.45,3.72 mg·g⁻¹。

吸附力 = 吸附量 / 样品量;

吸附量 = 加入尿素质量 - 未被吸附的尿素质量

2.6 炮制工艺优选^[4] 以吸附力(y_1)和收率(y_2)为评价指标,权重系数分别为0.8,0.2,分别将 y_1 和 y_2 最大值定为100分,故选定5号试验为100分,按公式 $y_{11} = 79.55 + y_1$,把各试验的吸附力转化为分数;选定4号试验为100分,按公式 $y_{22} = 99.25 + y_2$,将各试验的收率转化为分数,综合评分(y) = $0.8y_{11} + 0.2y_{22}$,即 $y = 83.49 + 0.8y_1 + 0.2y_2$ 。试验安排及结果见表3,各样品均质轻易碎,片状卷曲,颜色为焦黄色、黄黑色、亮黑色或黑色,方差分析见表4。

表3 冬瓜皮炭炮制工艺L₉(3⁴)正交试验安排

No.	A	B	C	D	吸附力 /mg·g ⁻¹	收率 /%	综合 评分
1	1	1	1	1	8.94	0.83	90.81
2	1	2	2	2	15.61	0.57	96.09
3	1	3	3	3	9.36	0.60	91.10
4	2	1	2	3	16.29	0.75	96.67
5	2	2	3	1	20.45	0.48	99.95
6	2	3	1	2	13.45	0.46	94.34
7	3	1	3	2	8.38	0.57	90.31
8	3	2	1	3	8.49	0.50	90.38
9	3	3	2	1	3.72	0.44	86.65
K ₁	278	277.79	275.53	277.31			
K ₂	290.96	286.42	279.31	280.74			
K ₃	267.24	271.99	281.36	278.15			
R	7.91	4.81	1.61	0.71			

表4 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	94.04	2	47.02	44.13	<0.05
B	35.15	2	17.58	16.49	>0.05
C,D(误差)	2.32	4			

注: $F_{0.01}(2,4) = 99.25, F_{0.05}(2,4) = 19.25$ 。

由直观分析可知,各因素对炮制工艺的影响顺序为A>B。方差分析表明A因素对冬瓜皮的 y_1, y_2 均具有显著性差异,确定最佳工艺为制炭温度280℃,制炭时间15 min。取3份冬瓜皮,每份100 g,按优选的工艺炮制冬瓜皮炭,测得平均吸附力20.85 mg·g⁻¹,RSD 2.83%,说明该炮制工艺稳定可行。

3 讨论

以“吸附力”作为炭药“存性”的控制指标,控制炒炭存性标准的色素吸附方法具有操作简便、快速、定量准确等优点,可作为对炒炭存性的质控依据^[5]。研究表明慢性肾功能不全可导致各种代谢产物和毒素在体内蓄积,并引起患者一系列临床症状和并发症。肾功能障碍时小肠可发生代偿作用,毒素可通过小肠排出,因此经肠道吸附毒素是减轻肾毒症症状的常用方法之一^[6-7]。以冬瓜皮炭对尿素的吸附力为指标,研究冬瓜皮炭的炮制工艺具有实际生产意义。冬瓜皮作为一味利水渗湿药广泛应用于临床,具有很好的临床效果。冬瓜皮制炭后,在保留原有性味功效的同时,增加了吸附清除毒素的功能,因此冬瓜皮炒炭可用于治疗尿毒症。临床现应用的吸附剂^[8]大多具有毒副作用且价格昂贵;冬瓜皮药食两用,无毒副作用且价廉易得,为新吸附剂的开发提供实验依据。

[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:中国医药科技出版社,2010:106.
- [2] 田代华. 实用中药辞典. 上卷[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:623.
- [3] 焦坤,张丽,陈佩东,等. 正交优选法筛选茅根炭炮制的最佳工艺[J]. 中国中医药信息杂志,2008,15(5):60.
- [4] 白俊其,宋艳刚,丘小惠. 综合评分法优选黑豆汁提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):4.
- [5] 许腊英,毛维伦,赖先银. 控制中药炒炭存性质量标准的探讨[J]. 中国医院药学杂志,2003,23(6):323.
- [6] 周小舟,张盛光,阳晓,等. 腺嘌呤所致大鼠慢性肾功能衰竭的机理研究[J]. 基础医学与临床,1997,17(1):54.
- [7] 王志红. 大黄治疗慢性肾功能衰竭172例疗效分析[J]. 中国综合临床,2005,21(4):332.
- [8] 杨波,蒋云生,李春竹,等. 活性炭吸附血清中小分子尿毒素的作用观察[J]. 中国现代医学杂志,2005,15(10):1500.

[责任编辑 仝燕]