

复方缬草牙痛酊中宽叶缬草药渣渗漉工艺的药效学优化研究

袁渊¹, 鲍家科^{2*}

(1. 泸州医学院附属中医医院药剂科, 四川 泸州 646000; 2. 贵州省药品审评认证中心, 贵阳 550004)

[摘要] **目的:**通过药效学指标优选复方缬草牙痛酊中宽叶缬草药渣的渗漉工艺。**方法:**采用小鼠炎症耳廓毛细血管通透性变化模型,比较复方缬草牙痛酊中宽叶缬草药渣的渗漉工艺制成品的药效学指标,通过正交试验考察乙醇体积分数、加醇量、流速、浸泡时间对渗漉工艺的影响。**结果:**各因素对宽叶缬草药渣渗漉工艺的影响顺序依次为乙醇体积分数 > 浸泡时间 > 加醇量 > 流速,优选的渗漉工艺为加 15 倍量 75% 乙醇浸泡 1 h,以 3.0 BV·h⁻¹ 的流速进行渗漉。**结论:**通过药效学试验指标优选的渗漉工艺参数稳定可靠,具有实际指导意义。

[关键词] 宽叶缬草; 渗漉工艺; 药效学指标; 正交试验; 吸光度

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0021-03

[doi] 10.11653/syfy2013230021

Optimization of Percolation Process for *Valeriana officinalis* Dregs in Compound V. *officinalis* Toothache Tinctures

YUAN Yuan¹, BAO Jia-ke^{2*}

(1. Department of Pharmacy, Hospital (TCM) Affiliated to Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China;

2. Guizhou Evaluation and Certification Center for Drug, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize percolation process of *Valeriana officinalis* dregs in compound V. *officinalis* toothache tinctures with pharmacodynamic indicators. **Method:** Changes of capillary permeability of mouse ear inflammation model was adopted, pharmacodynamic indicators of percolation process end-product of V. *officinalis* dregs were compared, effects of ethanol concentration, soaking time, ethanol amount and flow rate on percolation process were investigated by orthogonal test. **Result:** Pharmacodynamic effects of each factors on percolation process of V. *officinalis* dregs was in order of ethanol concentration > soaking time > ethanol amount > flow rate, optimum percolation process was as following: soaked 1 h with 15 times the amount of 75% ethanol at 3.0 BV·h⁻¹. **Conclusion:** Optimized percolation process parameters were stable and reliable through pharmacodynamic tests, they had practical guiding significance.

[Key words] *Valeriana officinalis*; percolation process; pharmacodynamic indexes; orthogonal test; absorbance

[收稿日期] 20130510(008)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目 ([2008]5002)

[第一作者] 袁渊, 硕士, 药师, 从事中药药理学研究及临床药理学研究, Tel: 18228967262, E-mail: yypower@qq.com

[通讯作者] * 鲍家科, 本科, 主任药师, 从事中药民族药质量控制关键技术研究, Tel: 0851-6850900, E-mail: bjk2005@163.com

复方缬草牙痛酊系由苗族民间验方开发而成,由宽叶缬草、红花、樟木、凤仙花 4 味药物组成。宽叶缬草为方中君药,祛风除湿、活血疏经、理气止痛^[1];红花活血通经、散瘀止痛^[2];凤仙花活血通络、祛风止痛^[3],樟木祛风散寒、理气活血止痛^[4],三者共为佐使药。诸药合用,共奏活血散瘀、消肿止痛等功效,临床用于治疗牙龈炎、冠周炎、龋齿引起的牙痛或牙龈肿痛,疗效确切,无明显毒副作用^[5-7]。本实验以小鼠毛细血管通透性试验的渗出

染料吸光度为考察指标,通过正交试验优选宽叶缬草药渣的渗漉工艺,为复方缬草牙痛酊的工业生产与临床应用提供实验依据。

1 材料

GJ-8402 型热板测痛仪(浙江宁海白石电子医药仪器厂),UV-1750 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司),TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂),XS205DU 型分析天平(梅特勒-托利多公司),TC-10K 型电子天平(常熟双杰测试仪器厂),注射器(1 mL,无锡德凡仪器有限公司)。

解痉镇痛酊(上海运佳黄埔制药有限公司提供,批号 20100903),二甲苯(重庆川江化学试剂厂),伊文思蓝(中国医药集团上海化学试剂公司进口分装),氯化钠注射液(贵州科伦药业有限公司,批号 B090527),宽叶缬草(由贵州同济堂制药有限公司提供,经贵阳中医学院陈德媛研究员鉴定为败酱科植物宽叶缬草 *Valeriana officinalis* Linn. var. *latifolia* Mig. 的干燥根及根茎,秋季进行采挖,除去杂质后阴干,按国家法定标准进行检验,均符合有关规定)。

昆明种小鼠,雌雄各半,体重 18 ~ 22 g,由长沙市开福区东创实验动物科技服务部、重庆滕鑫生物技术有限公司提供,合格证号分别为医动字 100012,SCXK 渝 2009-0003,普通饲料饲养,清洁级,实验室温度 18 ~ 24 °C,相对湿度 65% ~ 75%。

2 方法与结果

2.1 药效学评价 取小鼠 110 只,随机分为 11 组,每组 10 只,雌雄各半,分别为阴性组、解痉镇痛酊(0.24 g·mL⁻¹)组、正交试验 9 种制成品(0.4 g·mL⁻¹)组。小鼠适应性喂养 2 d 后,按 10 mL·kg⁻¹ 给药剂量对各组小鼠左右耳涂以对应药物,阴性组涂以等量生理盐水,并于小鼠尾静脉注射 1% 伊文思蓝 0.2 mL,给药 20 min 后,用移液枪于小鼠右耳正反两面各滴加 10 μL 二甲苯至炎。给药 1 h 后处死小鼠,沿着耳廓基线位置剪下双耳,用 9 mm 打孔器于左右耳同一部位打下圆形耳片,于电子天平上称重左右耳片质量并记录,将右耳片剪碎放入盛有 35% 丙酮溶液 4 mL 的 EP 管中,水浴 38 °C 浸泡 48 h 后取出浸出液,以 1 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液于 590 nm 处测定吸光度(A)^[9-10]。

2.2 正交试验优选 复方缬草牙痛酊处方中 4 味药材,宽叶缬草按原工艺提取^[8],宽叶缬草药渣由原浸泡提取改为渗漉提取。选取乙醇体积分数、加醇量、流速、浸泡时间为考察因素,以小鼠炎症耳廓

渗出染料 A 为考察指标,采用正交试验优选宽叶缬草药渣的渗漉工艺,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 复方缬草牙痛酊中宽叶缬草药渣渗漉工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 加醇量/倍	C 流速/Bv·h ⁻¹	D 浸泡时间/h
1	65	10	1.0	0
2	75	15	2.0	1
3	85	20	3.0	2

表 2 复方缬草牙痛酊中宽叶缬草药渣渗漉工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	吸光度
1	1	1	1	1	8.1
2	1	2	2	2	7.0
3	1	3	3	3	8.4
4	2	1	2	3	10.1
5	2	2	3	1	6.1
6	2	3	1	2	6.2
7	3	1	3	2	10.7
8	3	2	1	3	11.4
9	3	3	2	1	11.2
K ₁	7.833	9.633	8.567	8.467	
K ₂	7.467	8.167	9.433	7.967	
K ₃	11.100	8.600	8.400	9.967	
R	3.633	1.466	1.033	2.000	

表 3 渗漉工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	24.007	2	12.004	12.998	<0.1
B	3.407	2	1.704	1.845	>0.1
C(误差)	1.847	2	0.924	1.000	
D	6.500	2	3.250	3.519	>0.1

注: F_{0.1}(2,2) = 9.0。

由直观分析可知,各因素对宽叶缬草药渣渗漉工艺的影响顺序依次为 A > D > B > C,即乙醇体积分数 > 浸泡时间 > 加醇量 > 流速。以极值最小的 C 因素为误差项进行方差分析,结果表明 A 因素对评价指标的影响具有显著性意义,B,D 因素则对评价指标的影响无显著性意义,确定最佳渗漉工艺组合为 A₂B₂C₃D₂,即加 15 倍量 75% 乙醇以 3.0 Bv·h⁻¹ 的流速浸泡 1 h。

2.3 药效学比较 以生理盐水为空白,解痉镇痛酊为阳性对照,比较各组药物对小鼠炎症耳廓毛细血

管通透性变化的影响及各组药物抗炎效果,结果阴性组、解痉镇痛酊组及1~9号提取物的吸光度分别为 (0.0146 ± 0.0019) , (0.0058 ± 0.0023) , (0.0081 ± 0.0029) , (0.0070 ± 0.0026) , (0.0084 ± 0.0006) , (0.0101 ± 0.0037) , (0.0061 ± 0.0024) , (0.0062 ± 0.0006) , (0.0107 ± 0.0041) , (0.0114 ± 0.0038) , (0.0112 ± 0.0055) ;与阴性组相比,7~8号提取物组具有显著差异($P < 0.05$),3~4号提取物组的差异非常显著($P < 0.01$),阳性组、1~2号提取物组、5~6号提取物组则具有极显著差异($P < 0.001$)。

3 讨论

复方缬草牙痛酊中有效成分较为复杂,在药材的提取过程中除原有活性成分外还可能会产生新成分。采用不同提取方法得到的药材提取物,可能会出现有效成分的比例和含量各有差别,这种差别虽不明显,但体现在药效上可能会有较大的差异。因此,针对不同的提取工艺,有必要利用特定评价方法对优选的工艺进行验证。目前,常见的工艺参数筛选方法是通过理化手段检测提取物化学成分的含量变化,并以此作为评价指标;但由于中药化学成分含量复杂,检测方法比较局限,采用理化定量测定的结果往往不能客观全面地反映出提取物有效成分的变化,而采用药效学试验结果作为评价指标进行中药提取工艺的优化时,可避免理化检测评价方法的不足,而且结果直观,具有理化学指标检测方法所不具备的优势。不过工艺优化的药效学指标评价方法属于生物学试验研究方法,在一定程度上存在试验数据离散度大、结果重复性不够好的缺点,应尽量通过

试验动物的选择和试验条件、操作的一致性等方面来尽可能克服。

[参考文献]

- [1] 杨乾,鞠爱华,白万富,等.宽叶缬草的化学成分及药理活性研究进展[J].中国现代应用药学,2008,25(Z1):613.
- [2] 范莉,濮润,赵海誉,等.红花药材的HPLC指纹图谱及质量研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(1):37.
- [3] 周瑞琴.凤仙花药理作用研究进展[J].中国社区医师:医学专业,2011,13(25):37.
- [4] 熊颖,吴雪茹,涂兴明.樟脑的药学研究进展[J].检验医学与临床,2009,6(12):999.
- [5] 万呼春,张爽,吴妮娅,等.复方缬草牙痛酊对牙龈炎、冠周炎临床治疗效果观察[J].华西口腔医学杂志,2008,26(2):162.
- [6] 北京医学院.中医临证基础[M].北京:人民教育出版社,1975:465.
- [7] 薛燕,雷跻九.中药复方霰弹理论——论中药复方现代研究方法[M].北京:中国环境科学出版社,1996:66.
- [8] 黎继烈,杨杰,张慧,等.缬草精油提取工艺及成分分析[J].中国粮油学报,2010,9(1):52.
- [9] 曹亮,李娜,姜雅琼,等.胆木叶提取部位群的抗炎镇痛作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(24):124.
- [10] 黄利权,伍义行.火绒草的抗炎活性研究——对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀及毛细血管通透性的影响[J].中兽医学杂志,2004,2(1):10.

[责任编辑 全燕]