

蚯蚓用于抗血栓的加工方法

张晓丽^{1*}, 杨洪武², 吴品昌¹

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032; 2. 辽宁红五星制药有限公司, 沈阳 110017)

[摘要] 目的: 为干品蚯蚓的临床应用提供依据。方法: 采用冷冻干燥、晒干、不同温度烘干等方法干燥, 以溶栓效价的测定为指标。结果: 晒干、40 °C 烘干、40 °C 减压干燥的效价与冷冻干燥品效价无差异, 温度 > 50 °C 则效价显著下降。结论: 蚯蚓的干燥方法可确定为晒干或者 40 °C 烘干。

[关键词] 蚯蚓; 血栓; 蚓激酶

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0024-03

Processing Method of Earthworm Used in Anti-thrombus

ZHANG Xiao-li^{1*}, YANG Hong-wu², WU Pin-chang¹

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;

2. Liaoning Red Star Pharmaceutical Co. Ltd, Shenyang 110017, China)

[Abstract] **Objective:** To provide basis on clinical application of dried earthworm. **Method:** Drying method including freeze drying, dried in the sun and dried by heat in different temperature were taken. Determined thrombolytic valences as index. **Result:** The valences of earthworm dried in the sun, dried at 40 °C, vacuum drying at 40 °C and freeze-drying were no difference, but the valence was decreased significantly when temperature was higher than 50 °C. **Conclusion:** Drying method of earthworm could be identified as drying in the sun or dried at 40 °C.

[Key words] earthworm; thrombus; lumbrukinase

蚯蚓对血栓病的疗效可靠, 大量试验证明蚓激酶是其活性成分, 而在进行蚯蚓的收集过程中, 发现大量在临床应用的蚯蚓溶栓疗效不稳定, 因此, 有必要对蚯蚓的加工及稳定性进行考察。

1 材料

鲜参环毛蚓购于海南, 经辽宁中医学院鉴定教研室纪俊元教授鉴定为参环毛蚓 *Pheretima asperillum* (E. perrier), 干参环毛蚓购自不同市场。

紫外检测器(上海沪西仪器厂), 101 型电热干燥箱(泰斯特仪器有限公司), LGJO.5 型冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂), 台式离心机, 三恒电泳仪。

尿激酶、凝血酶、纤维蛋白原(上海研生生化试剂有限公司, 批号分别为 140604-200623, 140605-200424, 140606-200523), 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液配制 取尿激酶对照品, 加生理盐水使溶解, 振摇, 制成每 1 mL 含尿激酶 1 000 U 的对照品溶液。蚯蚓粉碎, 称取 0.1 g, 精密称定, 放入匀浆机器中, 加纯水 5 mL, 匀浆, 倾出, 离心 5 min (5 000 r · min⁻¹), 倾出上清液作为供试品溶液。

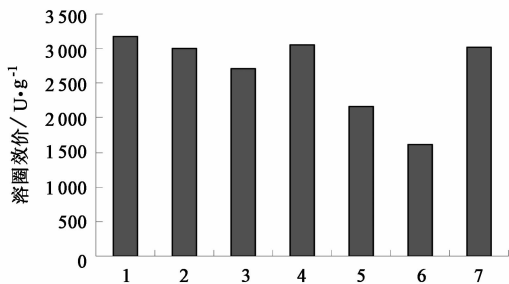
2.2 测定法 采用纤维平板法^[1], 取制备好的纤维平板, 精密量取生理盐水空白对照液、尿激酶阳性对照液及上述各流份 10 μL, 分别用微量加样器点于纤维平板上, 于 37 °C 恒温条件下放置 18 h, 用卡尺精密测量溶圈直径, 计算溶圈效价。

2.3 干燥方法的考察 取鲜蚯蚓, 分别冷冻干燥、

[收稿日期] 20110706(002)

[通讯作者] * 张晓丽, 本科, 副教授, 从事中药研究, Tel: 13704034823, E-mail: zhangxl4651@sina.com

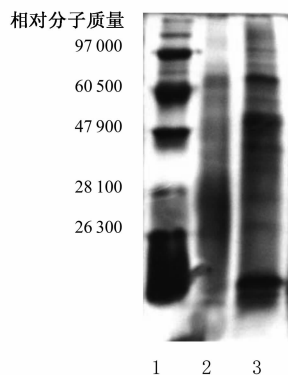
室温 25 ℃ 阴干、晒干、40,50,60 ℃ 烘干、40 ℃ 减压干燥。干燥后,分别按供试品溶液制备方法操作,进行溶圈效价测定,同时按《中国药典》附录 IX H 水分测定法第一法(烘干法)测定水分,结果见图 1。从试验结果可以看出,晒干、40 ℃ 烘干、40 ℃ 减压干燥的效价与冷冻干燥品效价无差异。温度 > 50 ℃ 则效价显著下降。



1. 冷冻干燥;2. 晒干;3. 阴干;4. 40 ℃;5. 50 ℃;6. 60 ℃;7. 40 ℃ 减压

图 1 不同干燥方法对溶栓活性的影响

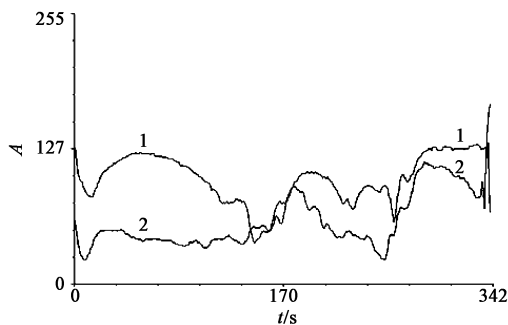
2.4 参环毛蚓的鲜品与干品的电泳谱对比 取参环毛蚓鲜品(冻干)与市干品(珠海,效价为 3 208 U · g⁻¹,与鲜品相当)各 0.1 g,加水 5 mL,匀浆,离心,取上清液,作为供试品溶液 1,2,分别吸取供试品溶液 15 μL 及样品缓冲液 15 μL 加样,SDS-PAGE 电泳,银染,观察如图 2,再用凝胶处理系统处理,结果见图 3。从图可以看出,干品大分子蛋白降解较多,而报道活性蚓激酶相对分子质量集中在 2 万 ~ 4 万,而此小相对分子质量区间,蛋白含量差别不大。



1-Marker;2-干品;3-鲜品

图 2 参环毛蚓的酶谱电泳

2.5 参环毛蚓的稳定性研究 为考察参环蚓中溶栓活性蛋白酶的稳定性,确立参环毛蚓的有效期,本文将参环毛蚓在室温下放置,按效价^[2]测定方法,测定 0,1,2,3,6,12,18,24 个月的溶圈效价分别为



1. 干品;2. 鲜品

图 3 参环毛蚓酶谱电泳

3 078,2 986,2 970,3 105,2 864,2 905,2 725,2 530 U · g⁻¹。结果可知本品在室温下,放置 24 个月,溶栓效价与 0 月的效价相比较有下降趋势,12 个月内下降 5.6%,24 个月下降 17.8%,说明本品在 1 年内稳定性良好。

2.6 不同市场蚯蚓的效价测定 取全国各地 14 个批次的蚯蚓,按 2.1 方法操作,进行溶圈效价测定,结果见表 1。

表 1 不同地区商品参环毛蚓的溶圈效价

批次	溶圈效价 / U · g ⁻¹	批次	溶圈效价 / U · g ⁻¹
沈阳 1	2 702	珠海	3 208
沈阳 2	0	江苏沛县	3 005
沈阳 3	0	山东	0
沈阳 4	0	朝阳	0
沈阳 5	0	北京 1	2 650
沈阳 6	2 505	北京 2	2 516
沈阳 7	1 725	大连	2 012

3 讨论

阴干使溶栓活性有所下降,可能原因是阴干使蚯蚓中溶栓活性酶长时间在潮湿条件下,从而使酶水解,晒干活性下降不明显,可能是因为蚯蚓中溶栓活性酶对光不是非常敏感;冷冻干燥与 40 ℃ 烘干溶栓活性差别不是很大,升高温度使活性下降,结合冷冻干燥及减压干燥对设备要求高,耗能大,从经济成本来看,最终确定蚯蚓的干燥方法为晒干或者 40 ℃ 烘干。

对全国各地的蚯蚓进行了溶栓效价测定,结果表明质量差别较大,北方所用蚯蚓明显不如南方的蚯蚓,原因可能是由于蚯蚓中的溶栓药效成分为蛋白酶类成分稳定性较差,有的活性全部消失。另外参环毛蚓的主产地为广东地区,北方在市场上的环节可能会多一些,南方的批发到零售的环节更直接

乳疾一贴灵巴布剂水提工艺

庞来祥^{1*}, 刘艳梅², 张丽艳¹, 寻园¹

(1. 解放军第 451 医院, 西安 710054; 2. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046)

[摘要] 目的: 优选乳疾一贴灵巴布剂的水提取最佳工艺条件。方法: 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法, 以羟基红花黄色素 A 的含量及浸膏得率为试验指标, 考察浸泡时间、加水量、提取时间对水回流提取的影响, 确定最佳提取条件。结果: 最佳提取条件为浸泡 1.5 h, 第 1 次加 10 倍量水, 提取 1 h, 第 2 次加 8 倍量水, 提取 0.5 h。结论: 该优选工艺稳定、可行。

[关键词] 正交设计; 羟基红花黄色素 A; 浸膏得率; 水提工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0026-03

Extraction Technology of Ruji Yiteling Catapasm

PANG Lai-xiang^{1*}, LIU Yan-mei², ZHANG Li-yan¹, XUN Yuan¹

(1. 451st Hospital of Liberated Army, Xi'an 710054, China; 2. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology conditions of Ruji Yiteling catapasm. **Method:** Extraction conditions was optimized by $L_9(3^4)$ orthogonal design test. The content and dry extract rate of HSYA as indexes. Effects of soaking time, water volume, extraction time were investigated. **Result:** Optimum extraction technology was as followed: soaked 1.5 h, extracted 1 h with 10 times the amount of water in the first time, extracted 0.5 h with 8 times the amount of water in the second time. **Conclusion:** The optimum extraction technique was stable and feasible.

[Key words] orthogonal design; HSYA; dry extract rate; extraction process by water

乳疾一贴灵巴布剂是解放军第 451 医院中医药研究所研制的中药制剂, 由柴胡、红花、蒲公英等药组成。具有活血化瘀、疏肝理气、消痈散结之功, 用于乳腺增生、乳腺结核、急慢性乳腺炎及肿瘤等的临床治疗。该药原剂型为黑膏药, 因传统黑膏药制备

过程中经高温处理, 有效成分易破坏, 使用时易污染衣物, 故将其改进成巴布剂。根据药材中有效成分的理化性质, 将红花、蒲公英进行水提, 为保证制剂质量, 以羟基红花黄色素 A 含量及浸膏得率为指标, 采用正交设计优选最佳工艺。

1 仪器与试药

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津), JA2003N 型电子天平, DG/20-002 型台式干燥箱(重庆试验设备厂制造)。药材(解放军第 451 医院中医

[收稿日期] 20110718(010)

[通讯作者] * 庞来祥, 教授, 主任药师, 从事中药新药研发工作, Tel: 029-84734251, E-mail: plx1011@163.com

一些。几批干品药材的溶栓活性与鲜品的活性相近, 蚯蚓制剂的原料多为鲜品, 使药材的存放带来不便, 投药量的准确性差, 为蚯蚓以干品作为生产用药提供了依据, 当然在投料前应测定蚯蚓的活性。

研究[J]. 药物生物技术, 2006, 13(1): 49.

[2] 焦连庆, 于敏, 黄青, 等. TAME 法测定金龙消栓合剂中蚓激酶单位效价[J]. 中草药, 2000, 31(4): 267.

[责任编辑 仝燕]

[参考文献]

[1] 张东方, 周美环, 单玉, 等. 参环毛蚓中纤溶活性蛋白酶