

# 以高尿酸血症小鼠模型优选痛风定颗粒的提取工艺

杨田义<sup>1</sup>, 杨培民<sup>2</sup>, 冯明建<sup>1</sup>, 代龙<sup>1\*</sup>

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011)

**[摘要]** **目的:**通过高尿酸血症小鼠模型对痛风定颗粒的不同提取工艺进行优选。**方法:**通过灌胃给予尿酸酶抑制剂氧嗪酸钾制造高尿酸(UA)血症小鼠模型,分别给予痛风定颗粒处方经水提取、水提醇沉、70%乙醇提取所得浸膏,紫外分光光度法测定各组的血尿酸(SUA)浓度。**结果:**与正常组相比,模型组小鼠血尿酸水平显著升高( $P < 0.001$ );与模型组相比,水提取所得浸膏能够显著降低高尿酸血症小鼠的血尿酸水平( $P < 0.01$ );水提醇沉上清液、醇沉部分对高尿酸血症小鼠的血尿酸水平无显著性影响;70%乙醇提取浸膏能够显著升高模型组小鼠的血尿酸水平( $P < 0.001$ )。**结论:**来源于临床的水提取工艺为痛风定颗粒的最佳提取工艺。

**[关键词]** 痛风定颗粒;提取工艺;高尿酸血症;氧嗪酸钾

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0028-03

## Screen Extraction Process of Tongfengding Granules by Mouse Model of Hyperuricemia

YANG Tian-yi<sup>1</sup>, YANG Pei-min<sup>2</sup>, FENG Ming-jian<sup>1</sup>, DAI Long<sup>1\*</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355;

2. Affiliated Hospital of Shandong Medical University, Jinan 250011)

**[Abstract]** **Objective:** Screen the extraction process of Tongfengding granules by the mouse model of hyperuricemia. **Method:** Given by gavage uricase inhibitor potassium oxide hydrochloride manufacture of high uric acid (UA) mouse model of hyperlipidemia, the mice were fed grain with water extraction, water extraction and alcohol precipitation, 70% ethanol extracts derived from extracts of Tongfengding graules, and then the concentrations of uric acid in the blood of each group (SUA) were determined by UV spectrophotometer. **Result:** Compared with normal group, the serum uric acid levels in model group mice were significantly higher ( $P < 0.001$ ); compared with model group, the water extract obtained extract could significantly reduce the high uric acid levels in mice serum uric acid ( $P < 0.01$ ); supernatant and precipitation part in water extraction and alcohol precipitation had no significant impact on serum uric acid levels of high serum uric acid mice; 70% ethanol extracts could significantly increase serum uric acid levels in model group mice ( $P < 0.001$ ). **Conclusion:** Water extraction from the clinical setting for Tongfengding graules is the best particle extraction.

**[Key words]** Tongfengding granules; extraction process; hyperuricemia; potassium oxide hydrochloride

**[收稿日期]** 20100528(002)

**[第一作者]** 杨田义,在读硕士研究生,研究方向:中药新药开发研究、中药制剂与新剂型研究, Tel: 15169046272, E-mail: tianyi\_yang@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \*代龙,教授,硕士研究生导师,研究方向:中药药剂新技术、新剂型, Tel: 0531-82960689, E-mail: dailongdailong@263.net

痛风(gout)是体内慢性嘌呤代谢障碍引起的疾病,主要是由于尿酸生成增加及(或)尿酸排泄减少,尿酸在体内沉积,引起的病理、生理改变<sup>[1]</sup>。痛风定颗粒处方由茯苓、白术、柴胡、赤芍等9味中药组成,临床汤剂疗效显著,拟将其制成颗粒。近年来药效学筛选中药复方的提取工艺有直观、说服力强的优点,因此越来越被人们接受。本试验以血尿酸

浓度为指标对痛风定颗粒不同工艺所得浸膏的主要药效学进行评价<sup>[2]</sup>,以此优选痛风定颗粒的最佳提取工艺。

## 1 材料

**1.1 仪器** UV1100 紫外-可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司)、Centrifuge 5804 高速离心机(德国 Eppendorf 公司)、Biofuge stratos 高速冷冻离心机(德国 Thermo electron LED GmbH)。

**1.2 试药** 痛风定颗粒提取物(自制)、氧嗪酸钾(日本进口)、别嘌醇醇(Sigma 公司,批号 057K481)、尿酸(中国药品生物制品检定所,批号 140738-200501)、氯化钠、碳酸钠、浓磷酸、钨酸钠、硫酸锂等为分析纯、药材购自济南建联中药店,经本校周凤琴教授鉴定符合 2005 年版《中国药典》规定。

**1.3 动物** 昆明种雄性小鼠 56 只(山东中医药大学实验动物中心),体重(18±2)g,6 周龄,动物许可证号 SCXK(鲁)20050015。

## 2 方法和结果

### 2.1 痛风定颗粒不同工艺浸膏的制备

**2.1.1 水提取工艺** 取 8 倍处方量的药材,加 8,6 倍量水,煎煮 2 次,每次 1 h,过滤,合并滤液,浓缩至 1 g(生药)·mL,取半量得浸膏 1。

**2.1.2 水提醇沉工艺** 取 2.1.1 项下另一半量,加适量乙醇使乙醇的体积分数为 70%,静置过夜,抽滤,滤液回收乙醇并加水调整至含生药 1 g·mL<sup>-1</sup>,得浸膏 2。取乙醇沉淀加水使溶解混悬并调整至 1 g·mL<sup>-1</sup>,得浸膏 3。

**2.1.3 乙醇提取工艺** 取 4 倍处方量的药材,加 6 倍量体积分数为 70% 的乙醇,回流 1 h,过滤,药渣加 6 倍量体积分数为 70% 的乙醇回流 1 h,过滤,合并滤液,回收乙醇并调整浓度至 1 g·mL<sup>-1</sup>,得浸膏 4。

**2.2 尿酸浓度的测定**<sup>[4]</sup> 采用磷钨酸还原法分别测定尿酸质量浓度为 0、25.0、50.0、75.0、100.0、125.0 mg·L<sup>-1</sup> 的尿酸标准液的 A 值(检测波长 700 nm),并计算其标准曲线, $Y=0.0161X-0.005$  ( $r=0.9968$ )

结果表明,尿酸在 0~125.0 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。取各样品血清,磷钨酸还原法测定血尿酸 A 值(检测波长 700 nm),根据标准曲线计算血尿酸质量浓度。

**2.3 不同工艺浸膏的高尿酸血症小鼠试验** 小鼠随机均分为空白对照组、模型组、阳性对照组、浸膏

1 组,浸膏 2 组,浸膏 3 组,浸膏 4 组,共 7 组,每组 8 只。不同工艺浸膏剂量为 10 g·kg<sup>-1</sup>,别嘌醇醇阳性对照组为 5 mg·kg<sup>-1</sup>。空白对照组灌胃给予生理盐水,其他各组灌胃给予氧嗪酸钾造模,造模 1 h 后分别给予阳性药和痛风定颗粒不同工艺浸膏,连续给药 7 d,处死小鼠前 12 h 断粮不断水,第 7 d 给药后 1 h 摘眼球取血,离心机离心(1 万 r·min<sup>-1</sup>,10 min),取上层血清,作为样品。按 2.2 项下方法测定各样品血清中血尿酸质量浓度,结果见表 1。采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示,2 组均数比较用  $t$  检验,结果见表 2。

表 1 血尿酸质量浓度测定 mg·L<sup>-1</sup>

组别	1	2	3	4	5	6	7	8
空白	42.9	39.8	46.6	40.4	36.6	45.3	41.0	37.9
模型	50.3	46.0	54.0	49.1	47.8	44.1	47.2	51.6
阳性对照	40.4	44.1	37.9	44.7	34.2	43.5	39.8	41.0
浸膏 1	37.3	46.0	35.4	46.0	41.6	33.5	31.7	45.3
浸膏 2	49.7	55.3	46.6	56.5	55.9	44.1	46.6	45.3
浸膏 3	47.8	53.4	51.6	54.0	51.6	46.0	50.9	52.8
浸膏 4	47.7	61.1	60.4	71.1	60.4	76.5	64.4	68.7

表 2 各组别对血尿酸血症的影响比较

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	血尿酸质量浓度/mg·L <sup>-1</sup>
空白	-	41.3 ± 1.2
模型	-	48.8 ± 1.1 <sup>1)</sup>
阳性药	5	40.7 ± 1.2 <sup>3)</sup>
浸膏 1	10 × 10 <sup>3</sup>	39.6 ± 2.1 <sup>2)</sup>
浸膏 2	10 × 10 <sup>3</sup>	50.0 ± 1.8
浸膏 3	10 × 10 <sup>3</sup>	51.0 ± 1.0
浸膏 4	10 × 10 <sup>3</sup>	66.3 ± 2.3 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.001$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.001$ 。

结果表明,与空白组相比,模型组小鼠血尿酸水平显著升高( $P < 0.001$ )。给药 7 d 后,与模型组相比,浸膏 1 组能够显著降低高尿酸血症小鼠的血尿酸水平( $P < 0.01$ );浸膏 2 组和浸膏 3 组对高尿酸血症小鼠的血尿酸水平无显著性影响;浸膏 4 组能显著升高尿酸血症小鼠的血尿酸水平( $P < 0.001$ )。

## 3 讨论

本方来源于临床汤剂,处方药味多,成分与药效相关性不明确,若选用其中一个或几个所谓代表性

# 正交试验优选心衰宁合剂水提工艺

张建玲, 贺祝英, 吴红梅

(贵阳中医学院第一附属医院, 贵阳 550001)

**[摘要]** 目的: 优选心衰宁合剂的最佳水提工艺。方法: 以人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 含量和浸膏得率为考察指标, 采用正交试验优选出最佳水提工艺。结果: 心衰宁合剂最佳水提工艺为第1次加12加倍量水, 第2, 3次分别加10倍量水, 共煎煮3次, 每次1 h。结论: 该水提取工艺设计合理, 人参皂苷提取率高, 稳定可行, 方法可重复操作, 可为心衰宁合剂的研制提供理论和试验基础。

**[关键词]** 心衰宁合剂; 水提工艺; 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 正交试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0030-04

## Study on Optimizing Technological Condition of Water Extraction for Xinshuaining Mixtures by Orthogonal Design

ZHANG Jian-ling, HE Zhu-ying, WU Hong-mei

(First Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize the water extraction process of Xinshuaining Mixtures. **Method:** Orthogonal design was used to select the water extraction process of Xinshuaining Mixtures with the content of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, ginsenoside Re, ginsenoside Rb<sub>1</sub> and the yield of extract as the investigating index. **Result:** The best water extraction process of Xinshuaining Mixtures was: the first time adding 12 folds water, adding 10 folds water for second and third times, decocting 1 h for 3 times. **Conclusion:** The established technology was

**[收稿日期]** 20101125(003)

**[第一作者]** 张建玲, 主任药师, 研究方向: 中药制剂及质量标准, Tel: 0581-8612596, E-mail: 249550525@qq.com

成分为指标进行工艺筛选必然会造成结论误判; 而在成分不明的情况下, 采用主要药效学来筛选工艺更能保证药效。

人及灵长类或鸟类、陆生爬行类(蛭、蚯蚓)体内没有尿酸酶, 尿酸直接排出体外; 而在其他哺乳类体内存在尿酸酶, 尿酸由尿酸酶氧化为尿素后排出体外。通过灌胃给予雄性小鼠尿酸酶抑制剂氧嗪酸钾, 可以抑制小鼠体内尿酸酶的活性, 导致小鼠体内尿酸浓度升高, 从而成功制造高尿酸血症小鼠模型。

本试验只是对痛风定颗粒提取工艺的初步筛选, 并未设定高、中、低剂量组, 以后的研究中还将结合得膏量、君臣药有效成分的含量等对痛风定颗粒

的提取工艺进一步优化。

### [参考文献]

- [1] 张忠辉. 痛风与高尿酸血症的进展[J]. 重庆医学, 2007, 36(10): 985.
- [2] 袁碧和. 尿酸检测对痛风诊断的评价[J]. 现代医药卫生, 2005, 21(13): 1718.
- [3] 王丹, 张三印, 代勇, 等. 高尿酸血症及痛风动物模型研究概况[J]. 山东中医杂志, 2008, 27(8): 573.
- [4] 崔宝印, 李亚红. 改良血清尿酸微量测定法及正常参考值[J]. 中国人民解放军军医进修学院学报, 1981, 2(2): 178.

[责任编辑 全燕]