

正交优选苗药验方隔梨胃炎消提取工艺

罗春丽, 李金玲, 刘红昌, 王华磊, 赵致[?]

(贵州大学农学院中药材研究所 贵州省药用植物繁育与种植重点实验室, 贵阳 550025)

[摘要] 目的: 优选苗药验方治疗慢性胃炎的提取工艺。方法: 选取水和乙醇作为提取溶媒, 以溶剂浓度、溶剂用量、提取时间、提取次数及药材粉碎粒度作为考察因素, 每个因素设立 3 个水平; 并以提取物的镇痛、抗炎作用, 浸出物为指标, 利用 $L_9(3^4)$ 正交设计优选提取工艺。结果: 水提最佳提取工艺为粉碎粒度为粗颗粒, 加 10 倍量水, 提取 1 h, 提取 3 次; 醇提最佳提取工艺为粉碎粒度为最粗粉, 加 10 倍量乙醇, 提取 2 h, 乙醇浓度为 70%, 提取 2 次。考虑到节约成本以及考察指标浸出物、镇痛率、抗炎率的结果显示水提组均优于醇提组; 最终确定提取工艺为水提, 药材粉碎粒度为粗颗粒, 加 10 倍量水, 提取 1 h, 提取 3 次。结论: 优选的提取工艺稳定, 提取物药效显著。

[关键词] 隔梨胃炎消; 提取工艺; 镇痛作用; 抗炎作用

[中图分类号] R283.6; 285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0129-03

Optimization of Extraction Techniques for Geli Weiyaxiao by Orthogonal Experiment

LUO Chun-li, LI Jin-ling, LIU Hong-chang, WANG Hua-lei, ZHAO Zhi[?]

(College of Agronomy, Guizhou University, The Key laboratory of Propagation and Cultivation for Medicinal Plants of Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

[Abstract] Objective: To optimize the extraction techniques of Geli Weiyaxiao. **Method:** The selection of optimum process was investigated by $L_9(3^4)$ orthogonal design with the Geli Weiyaxiao as the observation index. **Result:** Water extraction process: to smash the best size for coarse particles, plus 10 times the volume of water, from 1 hour, 3 times. Ethanol extraction process: to smash the best size for 10 mesh number, adding 10-fold 70% ethanol, extracting for 2 times, 2 hours for each extraction; In consideration of cost-saving and the results of various indexes, the optimal process condition was selected as follows: the best size for coarse particles, plus 10 times the volume of water, from 1 hour, 3 times. **Conclusion:** The optimal extraction technique for Geli Weiyaxiao is stable and reliable.

[Key words] Geli Weiyaxiao; extraction technique; analgesic effect; anti-inflammatory action

[收稿日期] 20100524(003)

[基金项目] 贵州省中药材现代产业技术体系建设专项 (GZCYTX-02) 资助; 贵州省中药材资源保护与可持续利用研究创新团队 ([2010]4006); 贵州省科技厅重点实验室计划项目 ([2010]4015)。

[第一作者] 罗春丽, 讲师, 硕士学位, 主要从事苗药的开发与利用的研究工作, Tel: 13984095679, E-mail: lilyluo310@126.com

[通讯作者] * 赵致, 教授, Tel: 13985146492, E-mail: zzhao@gzu.edu.cn

“隔梨胃炎消”由隔山消、刺梨根、万年荞等苗族习用草药组成。经贵州大学中药材研究所鉴定: 隔山消为萝藦科植物牛皮消 *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight 的块根; 刺梨根为蔷薇科植物缙丝花 *Rosa roxburghii* Tratt. 的干燥根; 万年荞为蓼科植物金荞麦 *Polygonum cymosum* Trev. 的根及根茎^[1]。本方在苗族民间已经积累了丰富的用药经验, 采用原药材直接打粉混合作为散剂的粗制剂供患者服用; 疗效显著, 治疗胃炎, 特别是治疗浅表性胃炎的有效率达 100%。基于胃炎胃溃疡主要临床症状是引发

疼痛和炎症^[2], 实验采取镇痛和抗炎的药效研究、提取收膏率的测定作为参考指标进行不同溶媒提取工艺的优选。

1 材料

1.1 药材 隔山消, 万年荞, 刺梨根等药材各 5 kg (采自贵州省毕节市鸭池镇)。品种来源由贵州大学中药材研究所鉴定。

1.2 动物 昆明种小鼠, 清洁级动物, SCXK(黔)2002-0001, 300 只, 雌雄各半, 体重(20 ± 2) g。标准颗粒饲料(贵阳医学院实验动物中心提供)。

2 方法

2.1 水提工艺优选试验

2.1.1 水提工艺因素设定及浸出物的测定 利用 $L_9(3^4)$ 正交设计优选水提取工艺设定因素为加水量、提取时间、提取次数、药材粒度。如表 1 所示。

表 1 水提工艺因素水平的设定 $L_9(3^4)$

水平	A 加水量/倍	B 提取时间/h	C 提取次数/次	D 药材粒度
1	10	0.5	1	药材饮片 ¹
2	8	1.0	2	粗颗粒 ²
3	6	1.5	3	最粗粉 ³

注: 药材粒度: ¹ 为直接购买药材商品饮片粒径; ² 为饮片经过粉碎, 粒径 < 5 mm, 且不能通过一号筛的药材颗粒; ³ 为经过粉碎能通过一号筛并混有能通过三号筛不超过 20% 的药材粉末。提取液浓缩、干燥、恒重后测定浸出物收率(表 2 同)。

2.1.2 水提液镇痛作用测定

根据动物与人体间的等效剂量换算, 将浸提液浓缩至 0.254 g·mL⁻¹ 备用。将小鼠随机分为 11 组, 每组 10 只, 称重标记后 ig 给药, 其中阴性对照为生理盐水, 阳性对照药物为盐酸曲马多。分别按 0.2 mL·(10 g)⁻¹ 体积 ig 给药, 30 min 后, 分别 ip 0.6% 醋酸致痛, 观察 20 min 内小鼠出现的扭体次数并记录, 按公式 1 计算镇痛率。

镇痛率 = (对照组扭体次数 - 给药组扭体次数) / 对照组扭体次数 × 100% (1)

2.1.3 水提液抗炎作用测定 提取液的制备及分组同 2.1.2。阳性对照药物为地塞米松。给药 30 min 后, 于小鼠右耳两面涂擦二甲苯致肿, 左耳不涂, 1 h 后脱颈椎处死小鼠, 用 6 mm 打孔器冲下左右耳同一部位的圆片, 于分析天平上称质量, 右耳质量减去左耳质量为肿胀度, 比较药物的抗炎作用。

2.2 醇提工艺优选试验

2.2.1 醇提工艺因素设定及浸出物的测定 利用 $L_9(3^4)$ 正交设计优选醇提取工艺设定因素为加醇

量、提取时间、乙醇浓度、药材粒度。如表 2 所示。

表 2 醇提工艺因素水平的设定 $L_9(3^4)$

水平	A 醇浓度/%	B 用量/倍	C 提取时间/h	D 药材粒度
1	60	8	1.0	药材饮片 ¹
2	70	10	1.5	粗颗粒 ²
3	80	12	2.0	最粗粉 ³

2.2.2 醇提液镇痛作用测定 同 2.1.2。

2.2.3 醇提液抗炎作用测定 同 2.1.3。

2.3 优选水提工艺与醇提工艺镇痛、抗炎作用的对比试验 按优选出的不同溶媒提取的最佳工艺制备提取液。将提取液浓缩至 0.254 g·mL⁻¹ 备用。分别按 2.1.2 及 2.1.3 项下考察提取液的镇痛、抗炎作用; 确定“隔梨胃炎消”的提取工艺。

3 结果

3.1 水提工艺优选试验 结果见表 3。

表 3 隔梨胃炎消水提工艺优选结果 $L_9(3^4)$

No	A	B	C	D	浸出物 /%	镇痛率 /%	抗炎率 /%
1	1	1	1	1	7.29	68.63	28.72
2	1	2	2	2	13.89	68.91	35.22
3	1	3	3	3	9.76	74.19	36.68
4	2	1	2	3	12.38	77.42	38.14
5	2	2	3	1	16.91	78.23	40.64
6	2	3	1	2	13.64	75.07	29.40
7	3	1	3	2	19.34	74.85	35.71
8	3	2	1	3	9.88	78.59	32.16
9	3	3	2	1	7.68	67.45	34.25
					111.00	663.34	310.92
浸出物							
K_1	30.94	39.01	30.81	31.88			
K_2	42.93	40.68	33.95	46.87			
K_3	36.90	31.08	46.01	32.02			
\underline{K}_1	10.31	13.00	10.27	10.63			
\underline{K}_2	14.31	13.56	11.32	15.62			
\underline{K}_3	12.30	10.36	15.34	10.67			
R	3.997	3.200	5.067	4.997			
镇痛率							
K_1	199.6	212.1	192.9	190.6			
K_2	217.4	212.1	204.4	227.9			
K_3	200.1	192.9	219.8	198.6			
\underline{K}_1	66.54	70.69	64.29	63.54			
\underline{K}_2	72.47	70.65	68.13	75.95			
\underline{K}_3	66.69	64.20	73.27	66.21			
R	5.927	6.393	5.147	2.670			
抗炎率							
K_1	100.6	102.6	90.28	103.6			
K_2	108.2	108.0	107.6	100.3			
K_3	102.1	100.3	113.0	107.0			
\underline{K}_1	33.54	34.19	30.09	34.54			
\underline{K}_2	36.06	36.01	35.87	33.44			
\underline{K}_3	34.04	33.44	37.68	35.66			
R	2.52	2.563	7.583	2.217			

浸出物影响因素 $C > D > A > B$, 工艺优为 $A_2 B_2 C_3 D_2$; 镇痛率影响因素 $B > A > C > D$, 工艺优选为 $A_2 B_1 C_3 D_2$; 抗炎率影响因素 $C > B > A > D$, 工艺优选为 $A_2 B_2 C_3 D_2$; 综合 3 项指标考虑, 确定最终优选出的水提最佳工艺条件为: $A_2 B_2 C_3 D_2$, 即为加 10 倍量水, 提取时间为 1 h, 提取 3 次, 药材粒度为粗颗粒。

3.2 醇提工艺优选试验 结果见表 4。浸出物影响因素 $D > B > C > A$, 工艺优选为 $A_1 B_2 C_2 D_3$; 镇痛率影响因素 $A > D > C > B$, 工艺优选为 $A_2 B_2 C_3 D_3$; 抗炎率影响因素 $D > B > C > A$, 工艺优选为 $A_2 B_1 C_3 D_3$; 综合 3 项指标考虑, 确定最终优选出的工艺条件为: $A_2 B_2 C_3 D_3$, 即为加 70% 乙醇, 提取时间为 2 h, 乙醇用量为药材的 10 倍, 药材粒度为最粗粉, 提取 2 次。

表 4 隔梨胃炎消醇提工艺优选结果 $L_9(3^4)$

No	A	B	C	D	浸出物 /%	镇痛率 /%	抗炎率 /%
1	1	1	1	1	6.790	60.63	24.56
2	1	2	2	2	12.47	60.91	29.18
3	1	3	3	3	13.61	66.19	35.19
4	2	1	2	3	12.55	69.42	34.98
5	2	2	3	1	8.880	70.23	27.05
6	2	3	1	2	10.46	67.07	27.79
7	3	1	3	2	9.790	66.85	29.94
8	3	2	1	3	13.02	70.59	34.10
9	3	3	2	1	7.730	59.45	19.77
					95.30	591.34	262.56
浸出物							
K_1	32.87	29.13	30.27	23.40			
K_2	31.89	34.37	32.75	32.72			
K_3	30.54	31.80	32.28	39.18			
R	0.777	1.747	0.827	5.260			
镇痛率							
K_1	187.7	196.9	198.3	190.3			
K_2	206.7	201.7	189.8	194.8			
K_3	196.9	192.7	203.3	206.2			
R	6.330	3.007	4.497	5.297			
抗炎率							
K_1	88.93	89.48	86.45	71.38			
K_2	89.82	90.33	83.93	86.91			
K_3	83.81	82.75	92.18	104.3			
R	2.003	2.243	2.750	10.96			

3.3 工艺优选验证试验 根据正交试验结果进行不同提取溶媒提取工艺的验证, 结果见表 5。

表 5 隔梨胃炎消水提、醇提工艺验证

提取工艺	编号	浸出物 /%	镇痛率 /%
水提 $A_2 B_2 C_3 D_2$	1	20.88	76.5
	2	19.54	20.46
	3	20.96	77.8
醇提 $A_2 B_2 C_3 D_3$	1	14.26	77.2
	2	13.89	14.34
	3	14.87	62.7

优选工艺条件重复 3 次, 以验证工艺的合理性和稳定性, 结果表明水提、醇提的浸出物收率、镇痛率均验证了优选工艺的合理性; 水提组与醇提组比较, 镇痛效果较稳定。

3.4 优选水提工艺与醇提工艺镇痛、抗炎作用的对比试验 结果见表 6。

表 6 隔梨胃炎消水提、醇提液的镇痛抗炎作用 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	扭体次数 / 次	耳肿胀度 / mg
生理盐水	-	56.0 \pm 12.8	13.9 \pm 2.0
盐酸曲马多	0.04	6.0 \pm 5.6 ²⁾	7.5 \pm 2.9 ¹⁾
醇提	5.8	13.0 \pm 6.8 ²⁾	8.8 \pm 2.6 ¹⁾
水提	5.8	10.0 \pm 3.0 ²⁾	8.0 \pm 3.3 ¹⁾

注: 与生理盐水对照组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 7 同)

由表 6 试验结果直观分析以水作为溶媒的镇痛作用、抗炎作用均优于 70% 乙醇回流提取组, 但统计分析结果表明醇提与水提两者之间无显著差异性。采用煎煮法, 工艺条件为: $A_2 B_2 C_3 D_2$, 即为加 10 倍量水, 提取时间为 1 h, 提取 3 次, 药材粒度为粗颗粒; 采用乙醇回流法, 工艺条件为: $A_2 B_2 C_3 D_3$, 即为加 70% 乙醇, 提取时间为 2 h, 乙醇用量为药材的 10 倍, 药材粒度为最粗粉, 提取 2 次。考虑到节约成本以及考察指标浸出物、镇痛率、抗炎率的结果显示水提组均优于醇提组; 最终确定苗族复方“隔梨胃炎消”的提取工艺为: 10 倍量水提, 提取时间为 1 h, 提取 3 次, 药材粒度为粗颗粒。

4 结论

实验采用正交设计方法对苗族复方“隔梨胃炎消”进行了优选, 为衡量该制剂提取工艺合理性、稳定性提供实验基础; 结果表明该复方的镇痛、抗炎效果均接近于西药对照组, 在工艺优选过程中选定浸出物收率、镇痛率、抗炎率作为参考指标为药物的疗效优劣提供了可靠的依据。

[参考文献]

- [1] 黄祖明, 李文胜, 屈克义, 等. 复方隔山消颗粒对实验性慢性萎缩性胃炎大鼠胃泌素和胃动素的影响[J]. 中华医药杂志, 2006, 6(5): 507.
- [2] 刘晓雯, 于文涛. 中药复方治疗实验性慢性胃炎的实验的研究进展[J]. 医学综述, 2008(5): 738.

[责任编辑 聂淑琴]