

三妙消痛贴的提取工艺研究

苏松柏¹, 张永萍^{1*}, 何焜¹, 张丽丽²

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 贵州大学, 贵州 花溪 550025)

[摘要] 目的: 研究三妙消痛贴的最佳提取工艺。方法: 采用正交试验法, 以提取物中盐酸小檗碱含量结合其主要药理学试验为考察指标, 优选出三妙消痛贴的最佳提取工艺。结果: 最佳提取工艺参数为: 10 倍量 50% 的乙醇回流提取 2 次, 每次 2 小时。结论: 优选的三妙消痛贴提取工艺稳定可行。

[关键词] 正交试验; 提取工艺; 盐酸小檗碱; 小鼠耳肿胀

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0009-03

Extraction Technology Research of Sanmiao Xiaotong Tie

SU Song-bai¹, ZHANG Yong-ping^{1*}, HE Kun¹, ZHANG Li-li²

(1. Guiyang Traditional Chinese Medicine College, Guiyang 550002, China;

2. Guizhou University, Huaxi 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction technology for Sanmiao Xiaotong Tie. **Method:** An orthogonal test was adopted in this study. The extraction technology of San Miao Xiao Tong Tie was optimized by extracting berberine hydrochloric and swelling function of mice. **Result:** The best extraction technology was to extract for 2 times with 10 fold ethanol solution (50%) and 2 h each time. **Conclusion:** The optimized extraction technology was rational and the extraction rate of the active components was high.

[Key words] orthogonal test; extraction technology; berberine hydrochloric; mouse ear swelling

痛风是由于嘌呤代谢紊乱, 尿酸增高, 导致尿酸结晶沉积在关节及皮下组织而致的一种疾病^[1]。三妙消痛贴处方由黄柏、芭蕉根、黄连、飞龙掌血等药材组成, 具有消肿止痛, 祛风除湿, 活血化瘀的功效, 用于痛风病的治疗。本文用药效和有效成分的含量共同确定三妙消痛贴的提取工艺。

1 仪器与试剂

Waters515 二元泵, Waters2487 可变波长紫外检

测器, Waters DC 柱温箱, 威玛龙色谱工作站, Shin-Pack-C18 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), METTLER AE 240 电子分析天平 (梅特勒-脱利多仪器有限公司), 盐酸小檗碱 (11073-200208, 中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 含量 98.7%), 甲醇 (色谱纯, 江苏汉邦科技有限公司), 乙腈 (色谱纯, 江苏汉邦科技有限公司), 水为重蒸水, KM 小鼠 (雌雄各半, 体重 24 ~ 30 g, 由贵阳医学院提供, 2009-07)。

2 方法

2.1 药材预处理 三妙消痛贴为中药复方制剂, 其方由 10 味中药组成, 在提取前将黄连和三七打成粗粉, 其余药材均切为饮片, 备用。

2.2 提取工艺优选 以黄柏、黄连中有效成分盐酸小檗碱的提取量和小鼠消肿抗炎试验作为双考察指标, 采用高效液相色谱法测定盐酸小檗碱的含量, 采用抗小鼠耳肿胀试验来衡量消肿抗炎的强弱。选择

[收稿日期] 20100602(006)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项: 黔科合农字[2006]5002号; 贵阳市科学技术计划项目: [2009]筑科大合同字第1号

[第一作者] 苏松柏, 在读硕士研究生。E-mail: susongbaifu@163.com

[通讯作者] * 张永萍, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 药物新制剂新技术与新剂型。Tel: 0851-5652346, E-mail: gyzhyp@yahoo.com.cn

乙醇体积分数、乙醇用量、提取次数、提取时间 4 个因素,每个因素设 3 水平,试验设计方案见表 1。

表 1 芭蕉根贴提取正交试验因素水平

水平	A 乙醇/%	B 乙醇用量/倍	C 煎煮次数/次	D 煎煮时间/h
1	50	6	1	1
2	60	8	2	1.5
3	70	10	3	2

2.3 盐酸小檗碱的测定方法 按处方比例称取药材 112 g 共 9 份,按正交试验方案提取,滤过,定容,采用高效液相色谱法测定并计算盐酸小檗碱的含量。

2.3.1 色谱分析条件 色谱柱 Shin-Pack-C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 265 nm, 柱温 30 °C,

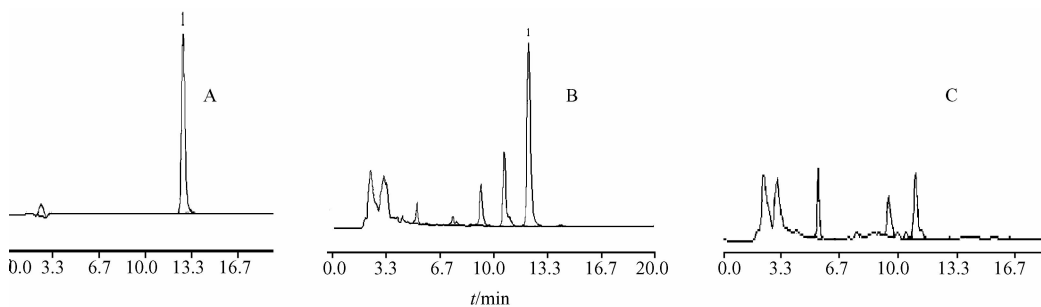


图 1 三妙消痛贴提取液 HPLC

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 盐酸小檗碱

2.3.5 线性关系考察 精密吸取浓度为 0.112 g · L⁻¹ 的盐酸小檗碱对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 mL 至 10 mL 量瓶中, 分别加甲醇定容。精密吸取上述对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪。以进样量 X (μg) 对峰面积 Y 进行回归处理, 得回归方程 Y = 35 674X, R = 0.999 9。盐酸小檗碱进样量在 0.011 2 ~ 0.112 0 mg 线性关系良好。

2.4 抗小鼠耳肿胀试验 按处方比例称取药材 112 g 共 9 份,按正交试验方案提取,滤过,浓缩成 1 mL · g⁻¹ 生药粉的浸膏。取体重 26 ~ 30 g 雄性小鼠 100 只,随机分为空白对照组;正交试验 9 组。将 0.01 mL 的二甲苯涂布在小鼠右耳部上,10 min 后正交各组动物以每 20 g 小鼠 0.1 mL 浸膏的剂量均匀涂布在小鼠的右耳上,分 2 次连续给药。给药后 20 min,脱颈处死小鼠,用 8 mm 打孔器冲下左耳和右耳同一部位的圆片,于分析天平上分别称重,以两耳质量的差值表示肿胀程度,比较药物的抗炎作用。

3 结果

3.1 综合评分 以盐酸小檗碱含量的最大值和小

流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (48:52), 每 100 mL 加入十二烷基磺酸钠 0.1 g, 进样量为 10 μL, 流速 1 mL · min⁻¹。

2.3.2 对照品溶液制备 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇配制成每 1 mL 含 60.8 μg 的溶液,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 各试验滤液稀释至 2 000 mL,取 10 mL 稀释至 100 mL 后,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液,见图 1。

2.3.4 阴性对照溶液的制备 取未加黄连、黄柏药材的处方加 10 倍量 50% 乙醇,煎煮 2 次,每次 2 h 提取,取滤液稀释至 2 000 mL,取 10 mL 稀释至 100 mL 后,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为阴性对照溶液,见图 1。

鼠耳增重的最小值为参照将数据进行归一化,再给出不同的权重,小檗碱的含量权重系数为 0.4,小鼠耳肿胀的量权重系数为 0.6。以综合数值进行统计分析,其中综合评分 Y = 0.4 × X₁ × 100/10.496 2 + 0.6 × 6.505 × 100/X₂。其直观分析的结果见表 2,方差分析的结果见表 3。

通过直观分析,比较极差 R 值,在所选因素水平范围内,影响因素大小顺序为 C > A > D > B,即提取次数对综合评分影响最大,乙醇用量影响最小。以 R 值最小的 B 因素为误差项进行方差估算,提取次数和乙醇体积分数对指标的影响有显著性差异 (P < 0.05),结合极差初步确定提取条件 A₁B₁C₃B₃ 为,即 6 倍量的 50% 乙醇煎煮 3 次,每次煎煮 2 h。

3.2 验证试验 根据正交试验结果筛选的工艺条件 A₁B₁C₃B₃。进行 3 批验证试验,按处方量称取药材,加 6 倍量 50% 乙醇,煎煮 3 次,每次 2 h,结果表明小檗碱的平均质量分数 9.56 mg · g⁻¹,小鼠的平均耳肿胀量是 (6.35 ± 1.03) mg,且重现性好,故认为该工艺稳定可靠。

表 2 巴蕉根贴提取工艺正交试验结果

No	乙醇体积 分数/%	乙醇用量 /倍	煎煮次数 /次	煎煮时间 /h	小檗碱 / mg·g ⁻¹	小鼠耳肿 胀量/mg	综合评分 /Y
1	50	6	1	1	3.692 8	6.91	70.515
2	50	8	2	2	9.011 2	6.76	92.035
3	50	10	3	3	10.496 2	6.50	100
4	60	6	2	3	9.832 2	7.01	93.108
5	60	8	3	1	8.027 4	6.87	87.362
6	60	10	1	2	6.061 8	7.75	73.462
7	70	6	3	2	9.513 9	9.02	79.384
8	70	8	1	3	7.428 7	9.83	68.015
9	70	10	2	1	9.237 9	9.33	77.015
K ₁	87.517	80.879	70.664	78.298			
K ₂	84.644	82.471	87.386	81.504			
K ₃	74.682	83.493	88.793 2	87.041			
R	12.835	2.614	18.128	8.743			

4 讨论

中药复方制剂疗效的好坏,提取工艺是重要影响因素之一。影响中药提取的因素很多,如煎煮时间、煎煮次数、加水量,煎煮温度、溶剂极性、溶剂浓度、浸泡时间、药材颗粒粒度等^[2]。因此,应找出影

表 3 提取工艺方差分析

因素	SS	f	F	P
A	272.230	2	26.161	<0.05
C	610.234	2	58.643	<0.05
D	117.380	2	11.280	
B(误差)	10.406	2	1.000	

注: * $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

响提取的主要因素,寻找适宜的提取条件,以提高浸出率和药品质量。由本文结果可看出,提取次数和乙醇体积分数对盐酸小檗碱的含量及小鼠耳肿胀的量有显著影响,是影响本制剂的主要因素。本文采用了药效的量化指标作为一个考察指标,更突出了复方的治疗作用非某一种有效成分起作用,而是复方综合的作用。

[参考文献]

- [1] 蒙木荣. 痛风性关节炎湿热证形成机理及治法探讨[J]. 广西中医药,2008,31(4):44.
- [2] 买尔旦·马合木提. 正交试验设计优选紫草复方的水提工艺[J]. 新疆医科大学学报,2009,32(4):381.

[责任编辑 仝燕]

本刊欢迎网上投稿

《中国实验方剂学杂志》2010 年正式施行网上投稿,请登录本刊网站 [www. syfjxzz. com](http://www.syfjxzz.com) 注册会员,登陆采编系统之后按照提示在线投稿。本刊对网上来稿免收稿件处理费。编辑部对来稿有修改权。经审后,如录用,请按通知要求交纳论文发表费(见本刊稿约 7 投稿及缴费)。