

毛樱桃乙醇提取物的试验研究

孙晶波, 徐晶, 陈璐, 李岩, 张成义*
(北华大学药学院, 吉林 吉林 132013)

[摘要] 目的: 通过现代科学方法确定毛樱桃抗冻伤乙醇提取的最佳工艺。方法: 采用正交实验设计法优选毛樱桃的最佳提取工艺, 采用兔耳冻伤模型进行提取物抗冻伤实验研究。结果: 毛樱桃加 8 倍量 95% 乙醇, 采用索氏提取器回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 此条件下的提取率最高, 该提取物在兔耳冻伤试验中能明显减轻兔耳局部冻伤组织红肿等炎症反应, 防止水泡产生和组织坏死, 对兔耳轻、中度冻伤有显著的治疗作用。结论: 本研究确定了毛樱桃最佳醇乙提取工艺, 且提取物具有显著的抗炎及抗冻伤作用。

[关键词] 毛樱桃, 冻伤, 乙醇提取物

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0033-03

Study on Ethanol Extracts of *Prunus tomentosa*

SUN Jing-bo, XU Jing, CHEN Lu, LI Yan, ZHANG Cheng-yi
(Beihua University Pharmaceutical College, Jilin 132013, China)

[Abstract] Objective: To determine the best extraction process of effective part of *Prunus tomentosa* Thunb by modern scientific methods. **Method:** Orthogonal design was used to screen and optimize the extraction conditions of *P. tomentosa*, and animal model of frostbite were used to observe the effect of the extractions. **Result:** The best extraction condition was: 8 times 95% ethanol was added and extracted 2 times (1.5 h/time) by Rope extractor. The extraction could significantly reduce the inflammation of swelling and prevent blisters and tissue necrosis at the rabbit's ears. The extract had the significant therapeutic effect for the mild to moderate frostbite of rabbit's ear. **Conclusion:** The optimized extraction method was established and the extract had moderate effect of anti-inflammation and anti-frostbite. The results also provide the scientific data for further studying on the new traditional medicine.

[Key words] *Prunus tomentosa* Thunb; frostbite; ethanolic extracts

毛樱桃, 俗称山樱桃、野樱桃, 属蔷薇科, 李属野生或半野生植物, 广泛分布于我国的东北、华北及西北各地^[1]。毛樱桃为落叶灌木, 高 1.5 ~3 m, 核果球形, 直径约 1 cm, 有深红色和黄色两种, 以深红色较为常见。果实味美可口, 营养丰富, 自古为果中珍品。樱桃还具有很高的药用价值, 其根、茎、叶、果

实、果核均可入药, 樱桃核具有透疹解毒之效。民间以樱桃泡酒治疗冻伤效果显著, 尤其在东北地区应用广泛, 而且毛樱桃也是东北长白山地域的地方特产。但对毛樱桃抗冻伤作用及有效成分或有效部位的系统研究尚未见相关报道。因此, 本课题将通过索氏提取法提取毛樱桃抗冻伤性炎症的醇提物并提供最佳提取工艺, 为进一步开发预防和治疗冻伤的现代化中药制剂提供重要的理论依据。

1 材料

毛樱桃, 购自吉林本地农贸市场, 由北华大学药学院生药学教研室李凤丽副教授进行基源鉴定, 为长白山地区特产毛樱桃 *Prunus tomentosa* Thunb;

[收稿日期] 2010-01-13(004)

[基金项目] 吉林省科学技术厅计划项目(20050548)

[第一作者] 孙晶波, 讲师, 从事天然药物化学研究。E-mail: sjb781219@163.com

[通讯作者] * 张成义, Tel: 013596223025, E-mail: zhchyl@163.com

AE37 摄像倒置显微镜, MOTIC 公司。无水乙醇(天津市北方天医化学试剂厂);提取用玻璃器材均为国产。

2 方法

取 3 份毛樱桃(10 g/份), 2 份 95% 乙醇(100 mL/份), 1 份蒸馏水(100 mL), 于同等条件下分别采用索氏提取器、回流提取装置及蒸馏装置(所用溶剂为蒸馏水, 所提成分为挥发油)提取 2 h, 进行提取方法的筛选。根据参考文献[3]所述方法对 3 种提取方法所得的提取物进行抗冻伤实验研究, 每组实验给药量均为 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

确定提取方法(索氏提取法)后, 采用正交实验: 样品量为 10 g/份, 以提取次数(A)、提取时间(B)、乙醇用量(C)及乙醇浓度(D)等为考察因素, 以干膏得率为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验^[2]。

毛樱桃醇提物抗冻伤实验: 选用普通级新西兰大白兔 2.5 kg 左右, 雌雄各半, 兔耳大小厚薄相近, 共 20 只, 由吉林大学实验动物中心提供。按文献[3]所述方法建立冻伤模型, 左右耳致冻伤, 右耳作为自身对照。分 4 组, 每组 5 只, 分别为毛樱桃醇提物高剂量组($600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中剂量组($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、低剂量组($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)及生理盐水治疗组。造模后 2 h 后开始给药, 各组分别用棉球涂抹相应药物每次 0.5 mL, 每天 3 次, 连续给药 7 d, 给药期间观察兔耳局部冻伤表现情况并记录结果^[4]; 7 d 后取材作病理切片, 光学显微镜下进行病理观察并记录结果。

3 结果

3.1 提取方法的选择 在同等条件下进行实验, 确定提取效率最高且提取物抗冻伤效果好的方法。结果见表 1。

表 1 3 种提取方法结果比较

提取方法	提取率/%	兔耳冻伤实验
索氏提取器	25	冻伤症状明显减轻
回流提取	17	冻伤症状明显减轻
蒸馏	0.8 明显变化	

上述结果表明, 采用索氏提取器的提取率最高, 抗冻伤效果也较好, 因此, 本研究采用索氏提取器进行工艺优选。

3.2 索氏提取工艺正交法优选 按 2 项下所述方法, 采用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验。因素水平安排见

表 2, 结果见表 3。

表 2 因素水平

水平	A 提取次数	B 提取时间/h	C 乙醇用量/倍	D 乙醇体积分数/%
1	1	1	4	75
2	2	1.5	6	85
3	3	2	8	95

表 3 正交试验结果

水平	试验号	A	B	C	D 干膏得率/%
1	1	1	1	1	9.74
2	1	2	2	2	11.26
3	1	3	3	3	11.57
4	2	1	2	3	23.26
5	2	2	3	1	25.78
6	2	3	1	2	26.15
7	3	1	3	2	14.62
8	3	2	1	3	13.28
9	3	3	2	1	11.95
K_1		32.57	47.62	49.17	47.47
K_2		75.19	50.32	46.49	52.03
K_3		39.85	49.67	51.97	48.11
R		14.21	0.9	1.83	1.52

正交试验结果分析: 各因素对樱桃提取物干浸膏得率的影响程度 $A > C > D > B$, 最佳工艺方案为 $A_2 B_2 C_3 D_2$, 即樱桃加 8 倍量 95% 乙醇, 采用索氏提取器回流提取 2 次, 每次 1.5 h。

3.3 最佳工艺的重复试验 按照 3.2 中优选出的工艺方法 $A_2 B_2 C_3 D_2$ 进行重复试验($n=5$), 样品量为 20 g/份, 所得结果见表 4。

表 4 最佳工艺验证实验

No	干膏得率	聊	RSD
1	24.98		
2	24.72		
3	25.14	24.92	0.214
4	24.67		
5	25.09		

结果表明, 5 次平行试验结果相差不大, 得膏率较高, 说明该工艺方案结果稳定、可行, 可以作为毛樱桃抗冻伤有醇提物的最佳提取方案。

3.4 对兔耳冻伤模型的影响 按 1.2 所述方法进行毛樱桃提取物抗冻伤试验, 结果见图 1。

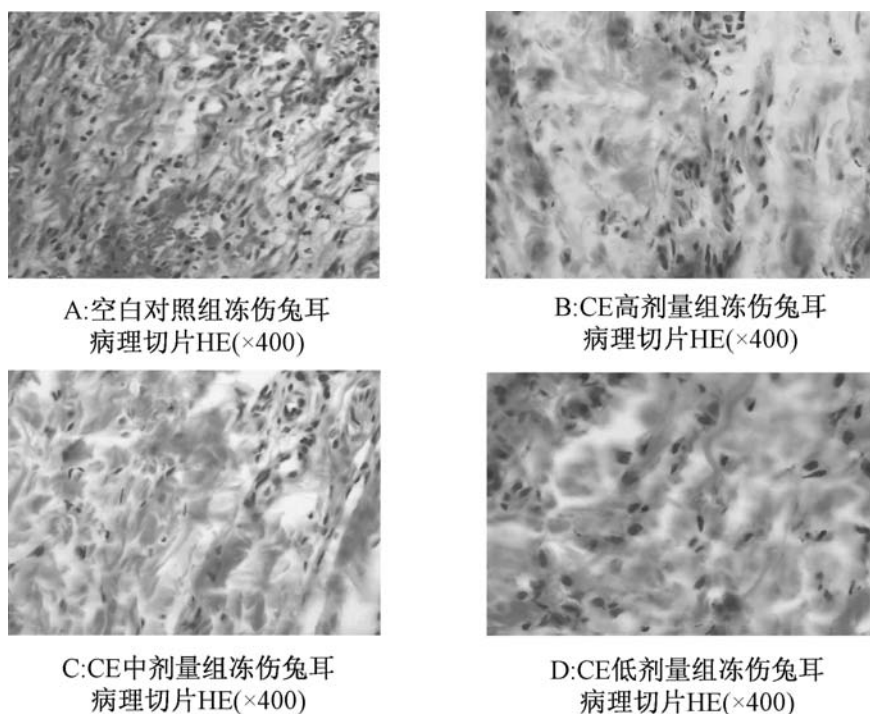


图 1 毛樱桃醇提物对兔耳局部冻伤组织病理学的影响

肉眼观察结果表明:与生理盐水治疗组比较,毛樱桃(CE)高剂量组的冻伤兔耳完全恢复正常,中、低剂量组的冻伤兔耳大部分恢复正常,少部分有结痂形成。说明高、中、低剂量组局部给药,可以明显减轻兔耳局部冻伤组织红肿热痛的炎症反应,防止水泡产生和脓肿的形成,对兔耳轻、中度冻伤有显著的治疗作用,并有剂量依赖性。

镜下观察:对照组冻伤兔耳镜下可见大量中性粒细胞渗出,白细胞浸润,组织疏松水肿;高剂量组冻伤兔耳镜下中性粒细胞渗出少见,无组织水肿;中、低剂量组的冻伤兔耳镜下可见少量的中性粒细胞渗出,白细胞浸润,组织疏松轻度水肿。结果说明毛樱桃醇提物具有一定的抗炎作用,且具有剂量依赖性。

4 讨论

冻伤是一种由寒冷所致的末梢局限性炎症性皮肤病,是冬季常见病,常发生于长时间暴露在外面的部位,多发生于肢端尤其在关节突出的部位,如手指、足根、足趾及鼻尖、耳廓等处^[5]。该病病程较长,冬季还会反复发作,在治疗方面,虽方法较多,但很少能根治,所以常令人感到棘手。北方民间传统的毛樱桃泡酒治疗冻伤的方法简单、有效,效果好,但存在储存、携带以及使用不便等缺点,而且有效成分浓度低、治疗周期长。故本文对毛樱桃进行研究,采

用醇提物入药,提高药物有效成分的浓度,可提高药物疗效。

通过提取方法的选择,本研究发现索氏提取器的提取效率最高、效果最好,而且本法也是现在天然药物有效成分提取过程中常用的方法。本文采用正交实验对毛樱桃的乙醇提取工艺进行研究,结果表明,毛樱桃加 8 倍量 95% 的乙醇,采用索氏提取器回流提取 2 次,每次 1.5 h 的效率最高,其干膏得率可达 25% 左右。本研究还对优选工艺的稳定性进行了考查,同等条件下进行 5 次平行实验,其结果的相对偏差为 0.214,结果表明本工艺稳定性好,切实可行,因此将其作为毛樱桃的最佳提取工艺。采用本法大大提高了毛樱桃抗冻伤成分的提取及利用率,与民间传统泡制的樱桃酒相比,大大降低了用药难度。

毛樱桃的抗冻伤作用可能与其所含的化学成分如黄酮、有机酸等的抗炎作用有关^[6],本课题组还将进一步对其抗冻伤有效成分分离及药效学实验研究,进而确定其抗冻伤的有效成分。因此,本研究及后续相关工作将为毛樱桃的药用开发提供科学依据,而合理开发、利用长白山野生药用资源也将进一步推进我省医药经济的发展。

[参考文献]

- [1] 高海生,赵希艳,郑立红.毛樱桃果实营养成分分析研究[J].河北职业技术师范学院学报,2000,14(4):38.
- [2] 马超英,冯华,蒋合众,等.冠脉通颗粒剂主要药物的提取和成型工艺研究[J].新中医,2007,39(1):107.
- [3] Lipton J M. Anti-inflammatory actions of the neuroimmunomodulator α -MSH [J]. Immunol Today, 1997, 18 (3) : 140.
- [4] 王秋红,肖洪彬,杨炳友,等.洋金花治疗银屑病有效部位的药理作用研究(Ⅰ)—抗炎、抗瘙痒及抗过敏作用[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(2):49.
- [5] 陈幼明.甘草粉浸剂治疗 I 度冻伤 100 例[J].时珍国医国药,2007,18(6):1394.
- [6] 高卫卫,杜金华,于玲,等.樱桃酒中有机酸类和含量的研究[J].食品与发酵工业,2008,34(4):145.

[责任编辑 全燕]