

相畏相杀,相须相使以制约偏性和提高疗效。再者,根据患者的体质以及有无过敏史,比如对酒精过敏者就避免使用酒制虫类中药,或对某种虫类蛋白过敏者都必须禁用。因而,进一步规范虫类中药炮制方法和给药方式是十分必要的,选择适应病情、适应患者的虫类中药将如虎添翼、事半功倍。

2.2 评价不同方法炮制虫类中药治疗类风湿性关节炎的疗效就目前而言,正如我们所看到的,甚至同一种虫类中药在治疗类风湿性关节炎的应用过程中存在多种炮制方法,然而却缺乏不同炮制方法下治疗类风湿性关节炎的疗效之间的比较性研究,在选择治疗类风湿性关节炎的虫类中药过程中,缺乏选择何种方法的标准和尺度,其关键在于缺乏疗效比较研究,导致无法制定相应的规范和要求。因此,我们有必要通过临床实践,对不同炮制的虫类中药治疗类风湿性关节炎进行疗效比较,评价每种炮制方法的虫类中药治疗类风湿性关节炎的疗效及差异,为虫类中药选择提供依据。

2.3 加快不同方法炮制虫类中药治疗类风湿性关节炎的有效成分和作用机制研究 中药及中药复方治疗疾病的有效成分及作用机制不明确是制约中药走向世界的重要瓶颈之一。临床实践表明,不同方法炮制虫类中药治疗类风湿性关节炎疗效确切,表明不同方法炮制虫类中药可以通过某些途径发挥作用治疗类风湿性关节炎,然而虫类中药经过不同炮制方法加工之后,其主要成分性质或量势必发生改变,因而其作用机制、作用的靶点也同样发生改变,比如虫类中药大部分都含有高蛋白,然而经过高温或酒制等炮制后,其蛋白质已经发生变性,是否提示虫类中药其治疗类风湿性关节炎的主要成分并不是蛋白质,然而有动物实验,乌梢蛇水解液(含大量的蛋白质)口服可降低 Th1 型细胞因子 TNF- α 水平,升高 Th2 型细胞因子 IL-10,从而调节 Th1/Th2 平衡,同时乌梢蛇 CII 可缓解佐剂型关节炎(AA)大鼠关节炎症的同时,可抑制其滑膜细胞和 PP 共培体系上清液 TNF- α 和 IL-1 β 活性,表明乌梢蛇 CII 可以和 PP 作用产生抑制因子,提示乌梢蛇 CII 对滑膜细胞炎症因子的抑制作用可能是通过口服耐受的机制完成^[12,13]。这些实验证明,治疗类风湿性关节炎的有效成分正是这些蛋白质,然而在临床实践中,不经过任何炮制或

加工入药治疗类风湿性关节炎的虫类中药也很少,经过这些炮制其蛋白剩下多少,是否变性都值得研究,但如果不是蛋白质,那乌梢蛇的作用途径或有效成分又是哪些部分,尤其是经过炮制之后的乌梢蛇其作用的有效成分或作用机制仍然是不清楚的。尽管这样的研究对于发现治疗类风湿性关节炎的新药具有较高的意义,却与传统的中医中药相去甚远。加快不同方法炮制虫类中药治疗类风湿性关节炎的有效成分和作用机制研究,有助于探索治疗类风湿性关节炎的新药。

参考文献:

[1] 邵晓慧,孔祥山,房林华.全蝎的炮制与临床应用研究[J].时珍国医国药,2006,17(2):232.
 [2] 耿宝生,苗兴满.全蝎不同炮制品醇溶性浸出物及水分的含量测定[J].山东医药工业,2001,20(2):11.
 [3] 张道荣.关于蜈蚣炮制方法的探讨[J].中药通报,1986,11(11):21.
 [4] 王秀芳,王永华.酒炙乌梢蛇三法简介[J].时珍国医国药,2000,11(8):705.
 [5] 郭青,曹永贺.散寒通络汤治疗寒湿型类风湿性关节炎 44 例[J].陕西中医,2006,27(12):1537.
 [6] 狄邦圣.五虫汤治疗类风湿性关节炎[J].陕西中医,2006,27(12):1537.
 [7] 洪家模,肖波,王炳均,等.活血通痹方治疗中老年类风湿性关节炎疗效观察及对血液流变学的影响[J].新中医,2006,38(3):43.
 [8] 张海.白蛇参附汤治疗类风湿性关节炎 52 例疗效观察[J].中华中医药杂志,2008,23(7):651.
 [9] 杨志伟,周长征.痹痛丸治疗类风湿性关节炎 156 例疗效观察[J].湖南中医杂志,2002,18(1):11.
 [10] 金柄谷,陈茂涂.金丙益肾药酒治疗类风湿性关节炎 80 例[J].中国中医药现代远程教育,2009,12(7):24.
 [11] 陈觉明,钟建平,黄国杨.顽痹药酒治疗类风湿性关节炎临床观察[J].浙江中医学院学报,1994,18(1):12.
 [12] 沈杰,鲍建芳,张之澧,等.乌梢蛇水解液对炎性和抗炎性细胞因子的作用[J].临床内科杂志,2002,19(S1):94.
 [13] 庞捷,李娟,吴湘慧,等.乌梢蛇 II 型胶原蛋白对大鼠佐剂型关节炎滑膜细胞因子的作用[J].中药材,2009,32(4):556.

不同炮制方法对续断中总生物碱含量的影响

张丹¹,曹纬国^{1*},陶燕铎²,刘伟¹,谢治深¹,王永丽¹

(1. 重庆医科大学中医药学院,重庆 401331; 2. 中国科学院西北高原生物研究所,青海 西宁 810000)

摘要:目的 研究续断生品及不同炮制品中总生物碱的含量变化,探讨不同炮制方法对续断中总生物碱含量的影响。方法 采用酸性染料比色法测定续断生品及炮制品中总生物碱的含量。结果 与续断生品相比较,盐制续断中的总生物碱含量较高,而清炒续断与酒炙续断中总生物碱的含量相对较低。结论 不同炮制方法均能影响续断中总生物碱的含量变化,该研究可以为续断炮制机理的研究提供借鉴。

关键词:续断; 炮制方法; 总生物碱; 比色法

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2011.09.092

中图分类号: R283 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2011)09-2242-02

Influence of Different Processing Method on Content of Total Alkaloids in *Dipsacus asperoids*

ZHANG Dan¹, CAO Wei-guo^{1*}, TAO Yan-duo², LIU Wei¹, XIE Zhi-shen¹, WANG Yong-li¹

(1. Department of TCM Integration, TCM College, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China;

2. The Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810000, China)

收稿日期: 2010-08-27; 修订日期: 2011-03-28

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划(No. 2007BAI45B00); 重庆市卫生局科研项目(No. 2010-1-146)

作者简介: 张丹(1979-)女(汉族) 陕西渭南人, 现任重庆医科大学中医药学院讲师, 硕士学位, 主要从事药用植物资源开发与利用研究工作。

* 通讯作者简介: 曹纬国(1978-)男(汉族) 山东临沂人, 现任重庆医科大学中医药学院副教授, 硕士学位, 主要从事中药与天然药物研究与开发工作。

Abstract: Objective To discuss the influence of processing methods on the content of total alkaloids in *Dipsacus asperoids*. **Methods** The content of total alkaloids was determined by acid dye colorimetry in crude and processed *Dipsacus asperoids*. **Results** The content of total alkaloids in the *Dipsacus asperoids* processed with salt was higher than the crude content of total alkaloids in the wine-processed and processed *Dipsacus asperoids* was lower. **Conclusion** Different processed methods affect the content alternation of total alkaloids in *Dipsacus asperoids*. This research can be as reference for studying the processed mechanism of *Dipsacus asperoids*.

Key words: *Dipsacus asperoids*; Processing method; Total alkaloids; Colorimetry

续断为川续断科植物川续断的干燥根^[1],又名川断,具有补肝肾、强筋骨、续折伤、止崩漏等功效,主要用于肝肾不足、腰膝酸软、风湿痹痛、跌打损伤、筋伤骨折、崩漏和胎漏等症。续断主要含有三萜皂苷类化合物、环烯醚萜苷类化合物、生物碱类化合物、酚酸类化合物、黄酮类化合物等多种成分。现代研究表明,续断总生物碱是续断安胎、治疗先兆性流产和习惯性流产的有效部位^[2-4],而续断临床多使用炮制品,目前尚未见关于炮制对续断总生物碱含量影响的研究报道。本研究以续断总生物碱为评价指标,探讨不同炮制方法对续断中总生物碱含量的影响,为续断饮片质量控制和炮制机理的研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 试剂 咖啡因(批号:171215-200507,中国药品生物制品检定所,含量测定用)水为重蒸水,其余所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器 龙尼柯 UV-2102PC 紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司),KH5200DA 数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司),PHS-2C 型酸度计(上海理达仪器厂),METTLER TOLEDO AG204 万分之一电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。

1.3 药材样品 实验样品采自重庆武隆,经本校中药教研室王刚副教授鉴定为川续断。

2 方法和结果

2.1 不同炮制品的制备^[1,5] 续断炮制方法参考《中国药典》2010 版 I 部“炮制通则”与《全国中药炮制规范》。续断生品:取续断药材,除去杂质,洗净,润透,切斜片,干燥。酒炙续断:取续断片用黄酒拌匀,吸尽余酒,闷润至透,用文火炒干至微带黑色,晾凉,每 10 kg 续断用黄酒 1 kg。盐炙续断:取续断片用盐水拌匀,闷润至透,置锅内,用文火炒干,取出放凉,每 10 kg 续断用食盐 0.2 kg。清炒续断:取续断药材,除去杂质,洗净润透,切斜片,文火炒至变黄。

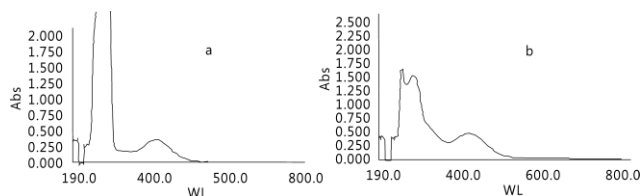
2.2 总生物碱的含量测定^[6]

2.2.1 咖啡因对照品溶液的制备 精密称取减压干燥至恒重的咖啡因对照品 6.4 mg,置于 100 ml 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取续断细粉 5 g,精密称取,加 5 ml 浓氨水将药材浸润 30 min,然后加 100 ml 氯仿冷浸过夜,超声提取 40 min,滤过,残渣用氯仿分 3 次洗涤,每次 10 ml,合并滤液,回收至干,残渣用无水乙醇溶解定容至 25 ml 容量瓶中,即得供试品溶液。

2.2.3 溴甲酚绿缓冲液的制备 ①精密称取溴甲酚绿 1 g,加入 0.2 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液 100 ml 溶解;②精密称取醋酸钠 18 g,加冰醋酸 23 ml,加水稀释至 1 000 ml;临用时取①25 ml 至 500 ml 容量瓶中,加②定容至刻度,并调 pH 值至 4.12,即得溴甲酚绿缓冲液。

2.2.4 测定波长的选择 分别精密量取咖啡因对照品溶液 1.5 ml 和供试品溶液 1 ml,挥干溶剂后,残渣精密加入 10 ml 溴甲酚绿缓冲液,溶解转移至分液漏斗中,加入 4 ml 氯仿,振摇 2 min,静置至氯仿层澄清,取氯仿层,重复 3 次,合并氯仿萃取液,并以溴甲酚绿饱和的氯仿为空白对照,在 200~600 nm 波长范围内扫描。结果咖啡因对照品和供试品溶液均在 416 nm 处有最大吸收,故选 416 nm 为测定波长。结果见图 1。



a - 咖啡因对照品 b - 续断药材

图 1 续断药材及咖啡因对照品紫外光谱扫描图

2.2.5 标准曲线的制备 分别精密量取咖啡因对照品溶液 0, 0.5, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0, 7.5 ml, 挥干溶剂后,残渣分别精密加入 10 ml 溴甲酚绿缓冲液,溶解后,转移至分液漏斗中,加入 4 ml 氯仿,振摇 2 min,静置至氯仿层澄清,分取氯仿层,重复 3 次,合并氯仿萃取液,以第 1 组做空白对照,分别测定吸收度。以吸收度值 A 为纵坐标,以对照品浓度 C 为横坐标,求得回归方程: $A = 13.6161C + 0.1435$, $r = 0.9993$,线性范围为 0.00267~0.04 mg·ml⁻¹。

2.2.6 精密度实验 精密吸取同一对照品溶液 6 份,依“2.2.5”项下方法处理显色后,于波长 416 nm 处测定吸收度,计算吸收度的 RSD = 2.36%。

2.2.7 重现性实验 取同一批续断药材细粉 6 份,每份 5 g,分别按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液 1 ml,依“2.2.5”项下方法处理显色后,于波长 416 nm 处测定吸收度,计算吸收度的 RSD = 2.58%。

2.2.8 稳定性实验 取续断药材细粉 5g,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 6 份,每份 1 ml,依“2.2.5”项下方法处理显色后,分别于 0, 15, 30, 60, 90, 120 min 测定吸收度,结果吸收度的 RSD 为 2.79%,表明续断供试品溶液在 120 min 内稳定。

2.2.9 加样回收率实验 取已知总生物碱含量的续断药材细粉 6 份,每份 2 g,分别加入咖啡因对照品适量,按照“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备,依“2.2.5”项下显色方法显色后,于波长 416 nm 处测定吸收度,计算加样回收率。结果见表 1。

表 1 续断总生物碱的加样回收率测定结果

取样量 m/g	供试品含 量 m/mg	对照品加入 量 m/mg	测得量 m/mg	回收率 (%)	平均回收 率 (%)	RSD (%)
2.030	2.905	2.8	5.903	103.50		
1.982	2.836	2.8	5.536	96.43		
2.106	3.014	2.8	5.769	98.39		
1.974	2.825	2.8	5.437	96.86	97.88	2.99
1.958	2.802	2.8	5.513	96.82		
1.962	2.808	2.8	5.376	95.29		

n = 6

2.2.10 样品总生物碱含量测定 精密吸取供试品溶液 1 ml,依“2.2.5”项下方法处理显色后,于波长 416 nm 处测定吸收度,并计算样品中总生物碱的含量。结果见表 2。

3 讨论

酸性染料比色法,是根据在一定 pH 介质中,生物碱类成分与氢离子生成阳离子,酸性染料在此条件下解离成阴离子而与其定量结合生成有色络合物,从而应用分光光度法进行测定。本实验结果表明该方法灵敏度高,结果稳定可靠,与卫莹芳^[6]关于全国不同产地续断中总生物碱含量的研究相比,结果基本一致,因此本方

法可以应用于续断药材及其炮制品中总生物碱的质量控制。

表 2 样品测定结果

样品	总生物碱含量 $C/mg \cdot g^{-1}$
续断生品	1.431
清炒续断	1.132
酒炙续断	1.237
盐制续断	1.590

本实验中续断总生物碱测定结果表明 续断生品中总生物碱的含量约为 $1.431 mg \cdot g^{-1}$,而不同炮制方法均对续断中总生物碱的含量产生影响 其中续断盐制后总生物碱含量明显提高 盐制续断中总生物碱含量约为 $1.590 mg \cdot g^{-1}$,另外续断清炒和酒炙后均使续断中总生物碱的含量降低 含量约为 $1.132 mg \cdot g^{-1}$ 和 $1.237 mg \cdot g^{-1}$,证明不同炮制方法对续断中总生物碱的含量影响较大 其原因尚不清楚 有待进一步研究其炮制机理。

续断为常用中药 临床上多使用炮制品,《中国药典》2010 版和《全国中药炮制规范》均记载了酒续断和盐续断两种炮制品。目前针对续断药材的研究多集中于其皂苷类成分 而对其所含生

物碱的研究较少 总生物碱已经被证明为续断安胎、治疗先兆性流产和习惯性流产的有效部位。本研究表明不同炮制方法对续断中总生物碱的含量影响较大 其中续断盐制后可使总生物碱的含量提高 而清炒续断和酒炙续断中总生物碱的含量则有降低。因此临床使用续断药材时 应有针对性的选择不同炮制品。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典, I 部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 309.
- [2] 晏媛, 郑萍. 续断的药理学研究进展[J]. 中医药研究 2002, 18(5): 53.
- [3] 王岩, 周莉玲, 李锐. 川续断的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(4): 233.
- [4] 钟美英, 申玉华. 川续断的研究现状[J]. 中医药导报 2008, 14(6): 137.
- [5] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 101.
- [6] 卫莹芳, 刘永, 王化东. 等. 全国不同产地续断中总生物碱的含量测定[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化 2009, 11(4): 559.

减压内部沸腾法提取穿心莲内酯的工艺研究

彭梦微, 韦藤幼*, 陈晓光, 童张法

(广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004)

摘要: 目的 优化减压内部沸腾法提取穿心莲内酯的工艺条件。方法 在单因素的基础上, 采用响应面分析法, 对减压内部沸腾法提取穿心莲内酯工艺进行优化, 建立并分析了解吸剂浓度、提取剂浓度和提取温度 3 因素与穿心莲内酯得率关系的数学模型。结果 减压内部沸腾法提取穿心莲内酯的最佳工艺条件为: 解吸剂浓度 80%, 提取剂浓度 32%, 提取温度 $59^{\circ}C$ 。此条件下, 提取得率为 0.660%, 与模型预测值 0.662% 误差较小, 证实了响应面回归方程的预测值与试验值之间具有较高的拟合度。结论 经响应面法优化后的穿心莲内酯减压内部沸腾法提取工艺, 大大缩短了提取时间, 降低了提取温度, 并减少了有机溶剂的消耗量。

关键词: 穿心莲内酯; 减压内部沸腾法; 响应面

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2011.09.093

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1008-0805(2011)09-2244-03

穿心莲 *Andrographis paniculata* Nees 为爵床科穿心莲属植物, 其主要有效成分为内酯类化合物^[1]。医学研究表明, 穿心莲内酯具有抗炎、抗菌、抗癌、抗病毒、抗心血管疾病等功效^[2,3]。此外, 穿心莲内酯的衍生物对“类激素”与“类蛋白转换酶”有抑制性, 极有希望开发成为一种高效抗艾滋病的天然药^[4], 以穿心莲内酯为母核的新药筛选也在进行中^[5]。目前, 穿心莲内酯传统提取方法有水提法^[6]、醇提法^[7]、碱水提取法^[8]等, 其操作简单, 但具有提取率低、有机溶剂消耗量大等缺点, 一些新型的提取技术如酶法提取^[6]、超声波辅助提取^[9]、微波辅助提取^[9]等, 虽然都能够实现低温提取, 但酶法提取需要进行高温灭活及酶的成本较高, 超声波、微波辅助提取存在设备昂贵、安全性差等不足。文献^[10]提出了减压内部沸腾法提取植物有效成分的方法, 该方法对金银花^[11]、葛根^[12]、三七^[13]等有效成分进行提取的研究已有报道, 但将此法应用到穿心莲内酯提取及利用响应面进行工艺优化尚未见研究。

收稿日期: 2010-08-27; 修订日期: 2010-12-17

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划课题(No. 05112001-3A6)

作者简介: 彭梦微(1987-), 女(汉族), 广西玉林人, 现为广西大学化学化工学院在读硕士研究生, 学士学位, 主要从事中药的研究工作。

* 通讯作者简介: 韦藤幼(1959-), 男(汉族), 广西藤县人, 现为广西大学化学化工学院教授, 硕士学位, 主要从事中药工艺研究与教学工作。

本文采用响应面分析法^[14,15]对减压内部沸腾法提取穿心莲内酯的工艺条件进行优化, 旨在系统地研究减压内部沸腾法提取穿心莲内酯的工艺, 为科学合理利用穿心莲资源和产业化奠定理论和技术基础。

1 材料与仪器

1.1 材料 穿心莲(产地广西玉林); 穿心莲内酯对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110797-200307, 纯度: 95%); 甲醇(分析纯、一级色谱纯, 天津四友化学药剂有限公司); 乙醇(分析纯, 广东汕头市西陇化工厂)。

1.2 仪器 CBM-10A vp 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); SHB-III T 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); HS-4 精密恒温浴槽(成都仪器厂); H1650 高速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

2 方法

2.1 减压内部沸腾法提取穿心莲内酯 称取 10.0 g 穿心莲粉末, 用 10 ml 一定浓度的乙醇溶液均匀润湿 30 min, 使乙醇溶液充分渗透物料; 加入 12 倍量一定浓度的某温度的乙醇溶液, 迅速减压至内部产生沸腾(物料表面产生小气泡), 提取 4 min 后, 过滤, 取少量的滤液, HPLC 测定穿心莲内酯的含量。

2.2 乙醇回流法 称取 10.0 g 穿心莲粉末, 用 85% 乙醇提取两次, 2 h/次, 第 1 次溶剂用量为 10 倍, 第 2 次为 8 倍, 合并提取液, 滤过, 取少量的滤液, HPLC 测定穿心莲内酯的含量。