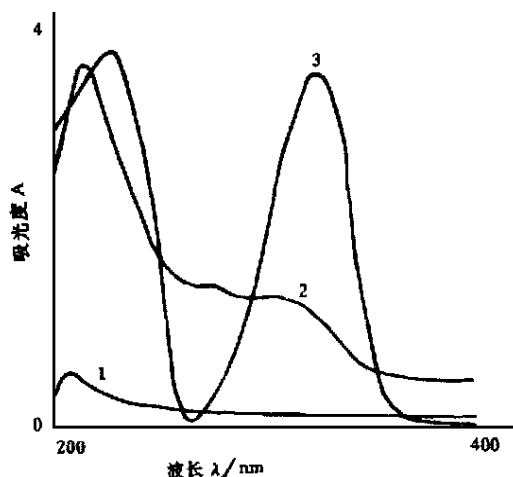
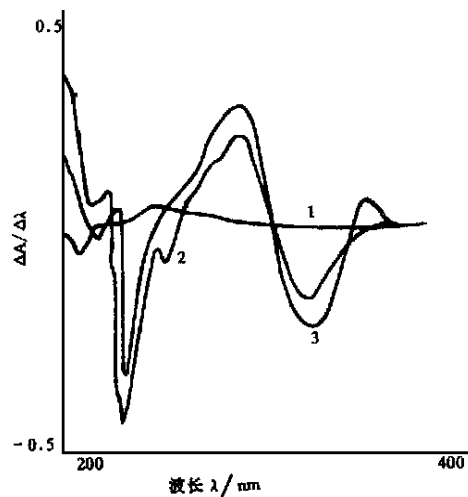




1阴性液 2样品液 3对照品液

图 1 零阶紫外吸收光谱



1阴性液 2样品液 3对照品液

图 2 一阶导数光谱

横坐标,回归方程为 $Y = 6.74C - 0.0048$, ($r = 0.9999$),表明在 $10 \sim 50 \mu\text{g/mL}$ 范围内,一阶导数光谱振幅值和邻氨基苯甲酸浓度有良好的线性关系。

2.6 加样回收率和稳定性考察:精密量取对照品溶液,加入已知含量的样品液中,依上法测定,平均加样回收率为 96.6% , $RSD = 1.09\%$ 。将样品液避光冷藏,分别在不同时间进样,3 d内测定结果无明显变化, $RSD = 2.31\%$ 。

2.7 样品测定:取样品液 1 mL 置于 10 mL 容量瓶中,以乙醇定容,依上法测定 $351 \sim 354 \text{ nm}$ 振幅谷处的 ($\Delta A / \Delta \lambda$) 值,用标准曲线法计算大青叶样品中邻氨基苯甲酸含量,为 $(375.88 \pm 0.89) \mu\text{g/mL}$ 。

2.8 方法比较:采用高效毛细管电泳法对大青叶中邻氨基苯甲酸含量进行测定,结果为 $(382.62 \pm 1.15) \mu\text{g/mL}$ 。将两种方法测定结果进行统计学处理,表明两者没有显著性差别 ($P > 0.05, n = 5$)。

3 讨论

导数光谱法具有简便、快速的优点,在中药材及其制剂化学成分的含量测定方面的应用已有报道^[4-6]。本文以一阶导数光谱法对大青叶中邻氨基苯甲酸的含量进行了测定,通过线性关系、加样回收率和稳定性考察,以及与高效毛细管电泳法比较,表明该法能简便准确地测定大青叶药材中的邻氨基苯甲酸含量,为该类药材的质量控制提供了简便、准确的方法。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典·一部. 广东: 广东科技出版社, 北京: 化学工业出版社, 1995: 15
- 2 Wu Xiaoyun, Liu Yunhai, Sheng Wangun, *et al.* Plant Med, 1997, 63: 55
- 3 王寅, 尹茶, 乔传卓. 第二军医大学学报, 1999, 20(6): 370
- 4 龙沛霞, 王玉珍. 中草药, 1996, 27(9): 531
- 5 陈鸣. 中国中药杂志, 1996, 21(5): 282
- 6 刘克仲. 华西药理学杂志, 1994, 9(1): 67

(1999-11-24收稿)

正交法优选醋炙三棱最佳炮制工艺

南京中医药大学 (210029) 陆兔林* 毛春芹 叶定江

摘要 以三棱总黄酮、扭体镇痛法及抗凝血作用为指标,选择炒制温度、炒制时间、醋用量 3 个因素,用 $L_9(3)^4$ 正交设计表,采用综合评分和方差分析的数学分析方法,对三棱进行醋制工艺优选。结果表明,每 100 kg 三棱用醋 25 kg , 温度 130°C , 炒 10 min 为最佳工艺。

关键词 三棱 正交设计 总黄酮 镇痛 抗凝血

* Address: Lu Tulin, Nanjing University of TCM, Nanjing

陆兔林 男,讲师,博士。毕业于南京中医药大学中药系。主要从事《中药炮制学》教学和中药饮片质量标准及新药开发研制工作。主持或承担多项科研课题;在《中草药》、《中成药》、《中药材》等刊物发表科研论文 10 余篇。

Optimization of Processing Technique of *Sparganium stoloniferum* by Orthogonal Experimental Design

Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (Nanjing 210029) Lu Tulin, Mao Chunqin and Ye Dingjiang

Abstract The optimum conditions for the processing of *Sparganium stoloniferum* Buch-Ham. with vinegar were studied by $L_9(3)^4$ orthogonal experimental design, as guided by decrease of writhing rate in analgesic test and anticoagulant activity. The results showed that the best processing conditions were stir frying of the raw *S. stoloniferum* with the addition of 25 kg of vinegar per 100 kg of crude drug at 130℃ for 10 min.

Key words *Sparganium stoloniferum* Buch-Ham. orthogonal experimental design total flavonoids analgesic action anticoagulant activity

通过对三棱炮制研究,表明醋炙法优于其它炮制方法。历版《中华人民共和国药典》及全国大部分地方规范中都将醋炙法作为其炮制方法。但炮制过程中影响饮片质量的因素较多,各地对醋炙三棱质量要求不一,炒制程度各异,没有全国统一使用的规范工艺,对成品质量影响较大。为此本文选择炒制温度、炒制时间、用醋量 3 个主要因素,选用 $L_9(3)^4$ 正交设计,以与三棱功效相对应的镇痛、抗凝血作用及其代表性成分总黄酮^[1]为指标,采用综合评分和方差分析两种分析的方法对醋炙三棱的炮制工艺进行研究,确定醋炙三棱的最佳工艺参数。

1 实验材料

三棱药材购自南京市药材公司,经本校鉴定教研组陈建伟副教授鉴定为黑三棱科植物黑三棱 *Sparganium stoloniferum* Buch-Ham 削去外皮的干燥块茎。米醋:镇江恒顺香醋厂生产。

752紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂);芦丁由植化教研室李祥老师提供,其他所用试剂均为分析纯。

昆明种小鼠,体重 18~ 22 g,由本校实验动物中心提供。

2 实验方法与结果

2.1 正交试验设计醋炙三棱炮制工艺:选用 $L_9(3)^4$ 因素水平表,各因素水平见表 1 根据正交安排 9 种炮制工艺,见表 2

表 1 正交设计醋炙三棱工艺的因素水平表

水平	因 素		
	A 炒制温度 (℃)	B 炒制时间 (min)	C 用醋量 (%)
1	100	5	15
2	130	10	20
3	160	15	25

2.2 炮制品的制备:等量称取 9 份样品,以表 2 的 9 种工艺组合按醋炙法操作,将三棱饮片与醋拌匀后,置经预试的电炒锅内,分别制得 9 种醋炙样品,

备用。

2.3 样品中总黄酮的含量测定:按文献^[2]中总黄酮含量测定下方法测定各样品中的总黄酮。结果见表 2

表 2 三棱总黄酮 $L_9(3)^4$ 正交试验数据及计算表

序号	A	B	C	D	总黄酮 (%)
1	1	1	1	1	0.2928
2	1	2	2	2	0.3705
3	1	3	3	3	0.4794
4	2	1	2	3	0.3398
5	2	2	3	1	0.5221
6	2	3	1	2	0.3204
7	3	1	3	2	0.3847
8	3	2	1	3	0.2825
9	3	3	2	1	0.3119

2.4 三棱各炮制品对化学刺激引起小鼠扭体反应的影响:药液制备:称取三棱各炮制品 100 g,分别加水煎煮 2 次,过滤,滤液合并浓缩至 100 mL,备用。按文献法^[3]进行实验,观察小鼠扭体反应次数。结果见表 3

2.5 三棱各炮制品对小鼠凝血时间的影响:按文献法^[4],小鼠灌服给药 1 h 后用玻璃毛细管插入小鼠内眦球后静脉丛,深约 4~ 5 mm,轻轻转动再缩回。自血液流入管内开始计时,血液注满后取出毛细管,每隔 30 s 折断毛细管约 0.5 cm,并缓慢向左右拉开,观察折断处是否有血凝丝,至血凝丝出现为止,所历时间即为血凝时间。结果见表 3

2.6 最佳炮制工艺方案优选

2.6.1 各实验结果方差分析:以总黄酮为指标对表 2 正交试验结果进行方差分析,结果表明,因素 A C 对醋炙三棱的质量有显著的影响,因素 B 无显著差异,其影响程度为 C> A> B 醋炙三棱的最佳工艺组合应为 A₂B₃C₃

以醋酸扭体反应为指标对表 3 正交试验结果进行方差分析,结果表明,因素 A B C 对醋炙三棱的镇痛实验结果有显著的影响,其影响程度为 A> B

表 3 正交设计三棱各炮制品对醋酸扭体反应及小鼠凝血时间的影响

序号	A	B	C	D	<i>t</i> 值 与对照组比较	扭体反应次数 ($\bar{x} \pm s$)	<i>t</i> 值 与对照组比较	凝血时间 ($\bar{x} \pm s$)
对照组						23.3 $\pm$ 3.199		83.7 $\pm$ 2.731
1	1	1	1	1	3.40	15.7 $\pm$ 6.094	5.98	112.8 $\pm$ 15.117
2	1	2	2	2	4.77	15.9 $\pm$ 3.719	5.21	97.7 $\pm$ 8.039
3	1	3	3	3	3.34	17.2 $\pm$ 4.803	3.53	97.6 $\pm$ 12.103
4	2	1	2	3	5.83	14.3 $\pm$ 3.683	16.06	211.3 $\pm$ 24.966
5	2	2	3	1	6.48	13.6 $\pm$ 3.489	23.67	209.6 $\pm$ 16.590
6	2	3	1	2	3.38	13.8 $\pm$ 8.297	10.27	130.7 $\pm$ 14.196
7	3	1	3	2	4.06	16.1 $\pm$ 4.606	14.14	188.7 $\pm$ 23.313
8	3	2	1	3	3.40	17.5 $\pm$ 4.343	11.56	135.9 $\pm$ 13.996
9	3	3	2	1	3.24	16.6 $\pm$ 5.701	2.58	103.1 $\pm$ 23.414

> C 醋炙三棱的最佳工艺组合应为 A₂B₃C₃ 或 C₂

以小鼠凝血时间为指标对表 3 正交试验结果进行方差分析,结果表明,因素 A B C 对醋炙三棱的小鼠凝血时间实验结果有显著的影响,其影响程度为 A> B> C 醋炙三棱的最佳工艺组合应为 A₂B₃C₃

2.6.2 各实验结果综合加权评分分析:根据上述几项实验结果,以综合加权评分的方法对各炮制品中总黄酮含量(样品中总黄酮含量 $\times$ 10 总黄酮最高含量)醋酸扭体反应、小鼠凝血时间(*t*值)等 3 项指标进行综合评价,评分结果见表 4

由表 4 综合加权评分的结果和上述方差分析结

表 4 正交设计各样品实验指标综合评分结果

序号	A	B	C	D	总黄酮	扭体反应	凝血时间	综合得分
1	1	1	1	1	5.61	3.40	5.98	14.99
2	1	2	2	2	7.10	4.77	5.21	17.08
3	1	3	3	3	9.18	3.34	3.53	16.05
4	2	1	2	3	6.51	5.83	16.06	28.40
5	2	2	3	1	10.0	6.48	23.67	40.15
6	2	3	1	2	6.14	3.38	10.02	19.54
7	3	1	3	2	7.37	4.06	14.14	25.57
8	3	2	1	3	5.41	3.40	11.56	20.37
9	3	3	2	1	5.97	3.24	2.58	11.79

果均表明,因素 A B C 对醋炙三棱的质量有显著影响,同时采用综合加权评分法和采用方差分析法结果一致。根据分析结果,醋炙三棱的最佳工艺组合应为 A₂B₃C₃,即用 25% 的米醋与三棱饮片拌匀吸尽后,于 130℃ 时不停翻炒 10 min,取出,放凉即得。

3 小结与讨论

三棱为临床常用药,具破血化瘀止痛作用。实验显示,三棱中黄酮类成分具显著的生理活性,本实验选择与三棱功效相对应的镇痛、抗凝血作用及其代表性成分黄酮为指标,以对成品质量影响较大的炒制温度、炒制时间、用醋量 3 个主要因素,采用正交

试验法研究三棱炮制工艺采用单指标和多指标综合分析两种方法对醋炙三棱的炮制工艺进行优选,筛选出醋炙三棱的最佳工艺参数。本实验结果为进一步制定三棱饮片质量标准提供参考依据。

参考文献

- 1 陆兔林,叶定江,毛春芹,等. 中草药, 1999, 30(6): 439
- 2 陆兔林,毛春芹,叶定江,等. 中成药, 1998, 20(3): 23
- 3 徐叔云,陈奇,沈映君,等. 药理实验方法学. 北京:人民卫生出版社, 1991: 700, 695
- 4 陈奇,徐秋萍,沈映君,等. 中药药理研究方法学. 北京:人民卫生出版社, 1994: 484

(1999-08-23 收稿)

2000-04-21 修回)

欢迎订阅 2001 年《中国药学杂志》

《中国药学杂志》是由中国药学会主办,中国药学杂志编辑出版部出版的综合性药学学术刊物。月刊,国内外公开发行。读者为高、中级药学工作者及其医药卫生人员。内容包括药学各学科,辟有专题笔谈、综述、中药及天然药物、药理、药剂、临床药学、药品检验及质量、药物化学、药物与临床、生物技术、新药介绍、药学史、药学期刊、药事管理、学术讨论、科研简报等栏目。创刊 40 多年来在医药卫生界影响较大,享有很高声誉,连续获得国家科委、中宣部、新闻出版署共同主办的第一、二届全国优秀科技期刊评比一等奖,新闻出版署和国家科委联合主办的首届国家期刊奖以及中国科协第一、二届优秀科技期刊一等奖。

本刊为大 16 开,72 页,每期定价 9.00 元。国内邮发代号: 2-232,国外代号: M313 编辑部地址:北京东四西大街 42 号(邮编: 100710);电话: (010)65229531;传真: 65597969