

## 醋制紫硃砂最佳炮制工艺研究

毛春芹<sup>1</sup>, 季德<sup>1</sup>, 陈强<sup>1</sup>, 陆兔林<sup>1,2\*</sup>

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 南京中医药大学 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210023

**摘要:** 目的 优选醋制紫硃砂最佳炮制工艺。方法 以小鼠耳肿胀抑制率、半数致死量(LD<sub>50</sub>)和氯化钠质量分数作为指标, 选择加水量、醋用量、粒度及析晶时间4个因素, 用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交设计表, 采用方差分析, 对紫硃砂醋制工艺进行优选。结果 醋制紫硃砂最佳炮制工艺为选择过40目筛的紫硃砂, 加5倍量水, 加饮片总量50%的醋, 控制析晶时间为60 min。结论 该工艺设计合理, 稳定可靠, 为醋制紫硃砂的质量控制奠定了基础。

**关键词:** 紫硃砂; 醋制; 正交试验; 耳肿胀抑制率; 半数致死量

中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)01-0055-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.01.011

## Optimal processing technique of vinegar-processed *Halite Violaceus*

MAO Chun-qin<sup>1</sup>, JI De<sup>1</sup>, CHEN Qiang<sup>1</sup>, LU Tu-lin<sup>1,2</sup>

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

**Abstract: Objective** To optimize the processing technique for vinegar-processed *Halite Violaceus*. **Methods** The ear swelling, median lethal dose (LD<sub>50</sub>), and content of sodium chloride were chosen as indicators, the optimal technique was investigated by the factors of water amount, vinegar amount, particle size, and crystallization time, and determined by L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test and variance analysis. **Results** The optimal processing conditions were as follows: using 40 mesh to screen *Halite Violaceus*, adding the amount of water in five times, and 50% of the total increase vinegar as total amount as pieces, and controlling the crystallization time to 60 min. **Conclusion** The processing technology is reasonable, stable, and feasible, which could lay a solid foundation for the quality control of vinegar-processed *Halite Violaceus*.

**Key words:** *Halite Violaceus*; vinegar-processed; orthogonal test; inhibitory rate of ear swelling; median lethal dose

紫硃砂首见于近代《中药志》, 又名碱硃砂、脑砂、红盐, 系卤化物矿物紫色石盐 *Halite Violaceus* 的晶体<sup>[1]</sup>, 主要成分为氯化钠, 同时还含有多种微量元素<sup>[2]</sup>。硃砂主产于青海、新疆、甘肃等西北地区的盐湖中, 是极具特色的民族药, 《中华本草》藏、蒙、维药卷中均有记载<sup>[3-5]</sup>。据文献记载, 紫硃砂具有消积软坚、破瘀散结的功效, 多用于润肠通便、解痉止痛、治肠鸣食积等症, 现代临床主要应用于抗肿瘤和抗炎等<sup>[6-8]</sup>。紫硃砂生品有毒, 内服不当可出现中毒症状, 如口腔灼痛、吞咽困难、呕吐、便血、高热甚至昏迷<sup>[9-10]</sup>。

从古至今, 硃砂多采用醋作为辅料进行炮制, 现代炮制方法主要为取硃砂碎块, 溶解后滤过去除杂质, 再加醋煮制, 捞取结晶晾干即得<sup>[11-12]</sup>。醋味酸、苦, 性温, 具有解毒、引药入肝、散瘀止痛、消肿、矫味矫臭等作用, 炮制后可降低硃砂毒性, 并增强其消积软坚、破瘀散结等功效。由于炮制过程中影响饮片质量的因素很多, 而各地对于醋制硃砂的炮制程度通常只是一些经验判断, 缺乏统一的操作规范及客观量化的指标, 对成品质量影响较大, 可能导致各地方炮制品的毒性和药效不统一, 无法充分发挥其相应的药用价值。为此, 本实验选择加

收稿日期: 2013-08-13

基金项目: 国家中医药管理局公益性行业专项 (200807039)

作者简介: 毛春芹 (1963—), 女, 江苏南京人, 高级实验师, 主要研究方向为中药质量控制及新药研发。

Tel: (025)85811835 E-mail: mcq63@163.com

\*通信作者 陆兔林 Tel: (025)85811835 E-mail: ltl209@163.com

水量、醋用量、粒度、析晶时间 4 个主要因素, 选用  $L_9(3^4)$  正交设计, 以与紫硃砂功效相对应的抗炎作用 (小鼠耳肿胀抑制率)、半数致死量 ( $LD_{50}$ ) 及主成分氯化钠质量分数为指标, 采用方差分析的方法对醋制紫硃砂的炮制工艺进行优化, 确定醋制紫硃砂的最佳炮制工艺参数。

### 1 仪器与材料

予华 HH—S 型水浴锅 (巩义市英峪予华仪器厂); AG285—电子分析天平 (0.01 mg, Mettler Tole-DO, 瑞典)。

氯化钠 (广东汕头市西陇化工厂, 分析纯, 批号 0604291); 硝酸银 (国药集团化学试剂有限公司, 分析纯, 批号 JX20050721); 荧光素 (天津市化学试剂研究所, 批号 20071018); 糊精 (北京奥博星生物技术有限责任公司, 分析纯, 批号 20080302); 乙醇 (无锡市亚盛化工有限公司, 分析纯, 批号

20090313); 二甲苯 (分析纯, 北京化学试剂厂, 批号 081103); 醋酸地塞米松 (浙江仙碧制药股份有限公司, 批号 090252); 醋 (江苏恒顺醋业公司, 批号 20090119, 酸度  $\geq 4.5$ )。

紫硃砂药材 (批号 090328) 购于南京市医药公司, 经南京中医药大学药学院中药鉴定教研室陈建伟教授鉴定为卤化物类矿物类紫色石盐晶体 *Helite Violaceous*。

清洁级 ICR 小鼠, 体质量 18~22 g, 雌雄各半, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 许可证号: SCXK (沪) 2007-0005。

### 2 方法与结果

#### 2.1 正交试验设计醋制紫硃砂炮制工艺

选用  $L_9(3^4)$  正交表设计方案, 以紫硃砂加水量 (A)、醋用量 (B)、粒度 (C)、析晶时间 (D) 作为考察因素, 每个因素各选 3 个水平。见表 1。

表 1  $L_9(3^4)$  正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of  $L_9(3^4)$  orthogonal test

试验号	A / 倍	B / %	C / 目	D / min	耳肿胀抑制率 / %	$LD_{50} / (g \cdot kg^{-1})$	氯化钠 / %	综合评分
1	5 (1)	40 (1)	20 (1)	60 (1)	32.62	5.05	83.56	94.21
2	5 (1)	50 (2)	40 (2)	70 (2)	33.16	5.23	83.40	96.17
3	5 (1)	60 (3)	60 (3)	80 (3)	31.02	4.90	84.11	91.83
4	10 (2)	40 (1)	40 (2)	80 (3)	29.95	5.33	83.62	94.70
5	10 (2)	50 (2)	60 (3)	60 (1)	25.67	5.63	83.67	94.15
6	10 (2)	60 (3)	20 (1)	70 (2)	20.32	5.41	84.35	88.37
7	15 (3)	40 (1)	60 (3)	70 (2)	20.86	5.40	83.41	88.41
8	15 (3)	50 (2)	20 (1)	80 (3)	26.20	5.05	83.60	89.38
9	15 (3)	60 (3)	40 (2)	60 (1)	27.27	5.42	82.83	93.24
$K_1$	282.21	277.32	271.96	281.6				
$K_2$	277.22	279.7	284.11	272.95				
$K_3$	271.03	273.44	274.39	275.91				
R	11.18	6.26	12.15	8.65				

#### 2.2 样品的制备<sup>[13]</sup>

按正交试验设计, 取 9 份紫硃砂药材各 100 g, 破碎成所需粒度后, 按试验号依次设置, 置沸水中溶化, 滤过, 滤液转移至烧杯中, 加入适量醋, 将烧杯置于水浴锅内, 隔水加热蒸发, 随时捞取液面上析出的结晶, 控制析晶时间, 收集上层与下层结晶, 干燥, 即得。

#### 2.3 紫硃砂各炮制品对二甲苯引起小鼠耳肿胀的影响<sup>[14]</sup>

取 18~22 g 小鼠 110 只, 随机分为 11 组, 每

组 10 只。对照组 (给予等体积的生理盐水)、地塞米松组 (给药剂量为 0.2 g/kg)、试验号 1~9 组给药剂量均为 0.2 g/kg, 各组 ig 给药, 每天 1 次, 连续 3 d, 于末次给药 30 min 后, 将二甲苯 0.05 mL 涂于小鼠右耳两侧。致炎 1 h 后颈椎脱臼处死, 用直径 8 mm 打孔器在左右两耳廓相同部位打孔取耳, 及时称质量, 以左右耳片质量之差为肿胀度, 计算肿胀抑制率并与对照组进行比较。结果见表 1。

肿胀抑制率 = (对照组肿胀度 - 给药组肿胀度) / 对照组肿胀度

## 2.4 紫硃砂各炮制品的 LD<sub>50</sub> 研究<sup>[15]</sup>

按文献方法<sup>[16]</sup>对紫硃砂各炮制品进行 LD<sub>50</sub> 预试验, ig 给药 1 次后, 造成动物全部死亡的剂量 ( $D_m$ ) 为 7.4 g/kg, 动物全部成活的最高剂量 ( $D_n$ ) 为 3.9 g/kg, 剂量组间距值  $r=1.17$ 。

将小鼠禁食不禁水 12 h 后, 按雌雄分别随机分为 45 组, 每组 10 只, 雌雄各半。根据预试验结果, 设定 5 个剂量组, 分别为 7.4、6.4、5.4、4.6、3.9 g/kg。ig 给药后, 立刻观察动物的中毒反应及死亡情况, 记录中毒反应症状及死亡时间, 将死亡效应计数资料及剂量等相关数据输入 SPSS 11.5 软件, 测得 LD<sub>50</sub> 值。结果见表 1。

## 2.5 紫硃砂各炮制品中氯化钠质量分数测定<sup>[17]</sup>

取紫硃砂各炮制品约 0.12 g, 精密称定, 加水 20 mL 溶解, 滤过, 加水 30 mL 溶解后, 加 2% 糊精溶液 5 mL 与荧光黄指示液 5~8 滴, 摇匀, 用硝酸银滴定液 (0.1 mol/L) 滴定。每 1 mL 硝酸银滴定液 (0.1 mol/L) 相当于 5.844 mg 氯化钠。氯化钠质量分数测定结果见表 1。

## 2.6 评分标准及权重系数的确定

紫硃砂炮制最重要的目的是降低药物毒性, 另一方面通过炮制可提高药物纯度、增强药物疗效。根据指标的重要性, 确定耳肿胀抑制率、LD<sub>50</sub>、氯化钠质量分数权重系数分别为 0.25、0.5、0.25。各指标评分按照公式: 评分 = 指标值 / 指标最大值 × 权重系数 × 100, 综合评分 = 耳肿胀抑制率评分 + LD<sub>50</sub> 评分 + 氯化钠质量分数评分。

## 2.7 炮制工艺方差分析

经分析, 醋用量的  $R$  值最小, 将其列为误差项进行方差分析。结果 (表 2) 表明, 加水量、粒度、析晶时间的  $P$  值均大于 0.05, 表明各因素对实验结果均无显著性影响。在优选紫硃砂的最佳醋制工艺时, 根据均值大小, 综合考虑大生产过程中的能源和时间因素, 确定醋制紫硃砂的最佳工艺为  $A_1B_2C_2D_1$ , 即选择过 40 目筛的紫硃砂, 加 5 倍量水, 加饮片总量 50% 的醋, 控制析晶时间为 60 min。

## 2.8 工艺验证

取 3 份紫硃砂药材, 每份 1 000 g, 粉碎, 过 40 目筛, 投入 5 倍量沸水中溶解, 滤过, 滤液中加入药材总量 50% 的醋, 置于不锈钢容器内, 加热蒸发, 随时将液面析出的结晶捞出, 析晶时间 60 min, 合并上层与下层结晶, 将结晶干燥, 研细, 即得。对

表 2 方差分析表

Table 2 Analysis of variance

方差来源	离均差平方和	自由度	F 值	显著性
A	20.91	2	3.14	无
C	27.56	2	4.14	无
D	16.88	2	2.53	无
B (误差)	6.66	2		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

3 批样品进行工艺验证, 结果 3 批样品的耳肿胀抑制率分别为 30.12%、28.26%、29.45%, LD<sub>50</sub> 分别为 5.26、5.55、5.20 g/kg, 氯化钠质量分数分别为 83.71%、83.82%、82.46%, 结果表明确定的工艺条件操作简便、合理可行, 能制备出质量可控的醋制紫硃砂饮片。

## 3 讨论

矿物藏 (蒙) 药是少数民族人民在长期自然生存与社会实践积累的医疗经验总结, 是祖国医药宝库的瑰宝。但是缺乏现代科学论据严重影响其临床安全合理应用, 成为制约这些矿物藏 (蒙) 药现代化发展的瓶颈。本实验针对目前紫硃砂的炮制并无统一、规范的工艺标准, 其炮制程度完全依靠药工的技术而定, 质量评价多是依靠外观性状指标的现状, 通过多指标正交优选法对其醋制工艺进行了规范化研究。

目前, 全国及各地的炮制规范中规定的醋制紫硃砂的炮制方法有 2 种: (1) 隔水醋制煮法; (2) 隔水醋制捞法。预试验结果表明, 隔水醋制捞法优于隔水醋制煮法, 因此选择加水量、醋用量、粒度、析晶时间 4 个因素, 以抗炎作用 (小鼠耳肿胀抑制率)、LD<sub>50</sub> 及氯化钠质量分数为指标, 采用正交分析的方法对醋制紫硃砂的炮制工艺进行了优化筛选。正交试验表明各因素对试验结果均无显著性影响, 在优选紫硃砂的最佳醋制工艺时, 根据均值大小, 综合考虑大生产过程中的能源和时间因素, 最终采用的最佳工艺条件为  $A_1B_2C_2D_1$ , 即选择过 40 目筛的紫硃砂, 加 5 倍量水, 加药材总量 50% 的醋, 控制析晶时间为 60 min。由于醋的用量和粒度对紫硃砂炮制工艺影响较小, 在放大生产时可按企业条件在适当范围内做相应调整。

本实验通过药效、毒理学及定量测定相结合的方法优选了醋制紫硃砂的最佳工艺, 所提供的实验方法可靠, 测定结果能反映客观实际, 是实现醋制

紫硃砂炮制条件统一和规范的可贵探索,同时也为醋制紫硃砂的质量控制奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 叶定江,原思通. 中药炮制学辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [2] 余玖霞,陆兔林,毛春芹,等. 白硃砂和紫硃砂及其炮制品中微量元素的测定 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 270-274.
- [3] 国家中医药管理局. 中华本草·藏药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.
- [4] 国家中医药管理局. 中华本草·蒙药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.
- [5] 国家中医药管理局. 中华本草·维吾尔药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [6] 山东北镇卫生学校肿瘤研究小组. 紫硃砂紫金锭合剂治疗食道癌和贲门癌 635 例疗效的初步报告 [J]. 新医学, 1974, 5(3): 110-111.
- [7] 人民解放军第 366 医院科研小组. 紫硃砂为主治疗鼻咽和鼻腔肿瘤 34 例疗效分析 [J]. 新医学, 1974, 5(3): 108-109.
- [8] 金凤礼. 硃砂注射液治疗慢性鼻炎疗效观察 [J]. 白求恩医科大学学报, 1980(1): 120-121.
- [9] 周凤梧. 中药学 [M]. 济南: 山东科技出版社, 1981.
- [10] 邓水蓉,吴志辉,李发英,等. 紫硃砂合理炮制法探讨 [J]. 中药材, 1997, 20(2): 77-78.
- [11] 北京市公共卫生局. 北京市中药饮片切制经验 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1960.
- [12] 湖南卫生厅. 湖南省中药炮制规范 [M]. 长沙: 湖南省科学技术出版社, 1983.
- [13] 叶定江,原思通. 中药炮制学辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [14] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [15] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [16] Olajide O A, Alada A R A. Studies on the anti-inflammatory properties of *Entada abyssinica* [J]. *Fitoterapia*, 2001, 72(5): 492-496.
- [17] 中国药典 [S]. 一部. 2010.