

正交试验优选蛇六谷减毒炮制工艺

梅新路*,徐斌,徐菲拉,仝淑花,何三民*(金华市中心医院,浙江金华 321000)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)22-3137-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.22.35

摘要 目的:优选蛇六谷减毒炮制工艺。方法:以蛇六谷口尝刺激性、兔眼刺激性综合评分为指标,在单因素试验的基础上设计正交试验,考察饱和氢氧化钙溶液用量、加热时间、加热温度对炮制效果的影响,并进行验证试验及炮制前后样品刺激性比较。结果:饱和氢氧化钙溶液用量、加热温度对炮制效果有显著影响;最优炮制工艺为100℃下加入30倍药材量的饱和氢氧化钙溶液加热30min;验证试验综合评分分别为8.05、8.44、8.37(RSD=2.5%, $n=3$);炮制前、后综合评分平均值分别为0.12、8.54($n=10$)。结论:与炮制前比较,药材经优选工艺炮制后刺激性降低;优选工艺稳定可靠。

关键词 蛇六谷;正交试验法;减毒炮制;工艺优化;综合评分

Optimization of Toxicity Attenuation Processing Technology of *Amorphophallus sinensis* Belval. by Orthogonal Test

MEI Xin-lu, XU Bin, XU Fei-la, TONG Shu-hua, HE San-min (Jinhua Municipal Central Hospital, Zhejiang Jinhua 321000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the toxicity attenuation processing technology of *Amorphophallus sinensis* Belval. METHODS: With the overall score of taste stimulation and rabbit eye irritation of *A. sinensis* Belval. as the index, and based on the single factor method, orthogonal test was designed to investigate the influences of the amount of saturated calcium hydroxide solution, heating time and heating temperature on the processing effect, and verification tests as well as irritation comparison before and after processing were conducted. RESULTS: The amount of saturated calcium hydroxide solution and heating temperature had significant influence on the processing effect. The optimal processing technology was to add saturated calcium hydroxide solution 30 times as much as the amount of medicinal materials at 100℃ and heat it for 30 min. The verification tests showed overall scores of 8.05, 8.44 and 8.37 (RSD=2.5%, $n=3$). The average overall scores before and after processing were 0.12 and 8.54 ($n=10$) respectively. CONCLUSIONS: The medicinal materials processed by the optimal technology have lower stimulation and irritation. The optimal technology is stable and reliable.

KEYWORDS *Amorphophallus sinensis* Belval.; Orthogonal test; Toxicity attenuation processing; Technology optimization; Overall score

血祛风、止痒消炎,用于湿热蕴结或血热风燥引起的皮肤瘙痒效果明显;甲硝唑对厌氧微生物有杀灭作用,其在人体中还还原时生成的代谢物也具有抗厌氧菌作用,可抑制细菌DNA的合成,从而干扰细菌的生长、繁殖,最终致细菌死亡。针对目前单纯外用疗程长、复发率高的现状,笔者采用中西医结合的方法,通过基质配方和工艺参数的优选,优选出了一种疗效确切、不含激素且价廉的中药复方乳膏制剂的制备工艺,可为足癣治疗提供新的选择。

参考文献

- [1] 杨基森. 中药制剂设计学[M]. 贵阳: 贵州科学技术出版社, 1992: 448-456.
- [2] 侯世祥, 徐莲英. 中药制药工艺技术解析[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 483-487.
- [3] 高新富, 张珊珊, 徐彦飞, 等. 均匀设计优化新白班乳膏基质处方[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(18): 1504.
- [4] 朱倩云, 李筱青, 李成网. 正交试验优选如意金黄乳膏的

基质[J]. 安徽医药, 2012, 16(1): 25.

- [5] 王滨, 满玉清, 张海霞, 等. 正交设计法优选白斑乳膏II号的基质处方[J]. 药学研究, 2013, 32(1): 11.
- [6] 朱海涛, 肖亚康, 陈黎, 等. 乳膏基质处方及制备工艺优选[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(18): 1562.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录VD.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录VI.
- [9] 谢华, 贾云志. 正交试验优选复方苦黄乳膏乳化工艺[J]. 中国药房, 2008, 19(3): 190.
- [10] 张国根, 罗美兰. 甲硝唑乳膏处方及制备工艺的改进[J]. 中国药房, 2010, 21(17): 1590.
- [11] 刘辉, 郭苗苗, 徐丹, 等. 特益乳膏的制备及稳定性考察[J]. 中国药房, 2012, 23(1): 54.
- [12] 陈逸生, 张坤水, 刘学功, 等. 柚皮苷乳膏制备工艺研究[J]. 中药材, 2011, 34(11): 1796.
- [13] 李筱芳, 刘维达. 足癣治疗的进展[J]. 中国真菌学杂志, 2006, 6(1): 171.

* 中药师, 硕士。研究方向: 中药分析。电话: 0579-82552265。
E-mail: mei222331@163.com

通信作者: 主任中药师。研究方向: 中药炮制。电话: 0579-82552266

(收稿日期: 2015-04-17 修回日期: 2015-06-15)

(编辑: 林静)

中药蛇六谷是天南星科多年生草本植物华东魔芋 *Amorphophallus sinensis* Belval. 的干燥块茎, 其味辛、温, 有毒, 归肺、肝、脾经, 具有软坚散结、清热解毒、抗癌等功效, 临床上主要用于癌症、糖尿病及高脂血症等的治疗^[1]。国家级名中医陆德铭用蛇六谷等中药治疗乳腺癌转移 37 例, 治疗后患者生存期均在 6 个月以上, 超过 95% 患者生存期在 12 个月以上^[2]。蛇六谷在临床治疗恶性肿瘤方面有一定的疗效, 但该药材在使用过程中即使经过长时间煎煮, 也可引起强烈的黏膜刺激性, 使其应用受到很大限制^[3]。为此, 笔者尝试寻找一种较好的炮制方法, 使炮制后的蛇六谷在有效成分不损失的前提下减少刺激性。目前, 中外文献相关报道较少^[4]。笔者在前期试验^[5]及单因素考察结果的基础上, 采用正交试验法, 以口尝刺激性与兔眼黏膜刺激性综合评分为指标, 优选炮制工艺, 为该饮片的减毒炮制提供参考。

1 材料

1.1 仪器与软件

HWS24 型恒温水浴箱 (上海一恒科技仪器有限公司); BS210S 型电子天平 (北京赛多利斯仪器有限公司); 101-2 型恒温干燥箱 (上海跃进医疗器械厂)。SPSS 11.5 数据分析软件。

1.2 药材、药品与试剂

蛇六谷 (购自亳州永刚中药材有限公司, 产地浙江, 批号: 130326, 经金华市中心医院杜志炉副主任中药师鉴定为天南星科植物蛇六谷的干燥块茎); 氯化钙为分析纯, 去离子水为本院自制。

1.3 动物

健康新西兰家兔 20 只, ♀ ♂ 各半, 体质量 (1.5 ± 0.5) kg, 双眼无红肿, 实验合格证号: 浙实动字第 2009A034 号。

2 方法与结果

2.1 供试品制备

2.1.1 口尝刺激性用供试品 取单因素试验及正交试验后各样品 200 g 洗净, 切成厚度为 2 mm、底面积为 1 cm² 的长方体薄片, 备用。

2.1.2 兔眼刺激性试验用供试品 取单因素试验及正交试验后各样品 200 g 洗净, 加入 10 ml 水, 置于研钵中研磨成糊状, 备用。

2.2 口尝刺激性试验方法及评分

以口尝刺激性强度 (S) 与持续时间 (T) 加权得分为指标^[5-6], 规定炮制后口尝 (共 10 人, 取平均值) 无麻舌感 (炮制效果最优) 计 0 分, 微有麻舌感计 20 分, 明显麻舌感计 40 分, 强烈麻舌感 (与未炮制品相同) 计 50 分, 并记录刺激持续时间 (min)。麻舌感强度与持续时间权重系数分别为 0.4、0.6, 口尝刺激性综合得分 $Z_1 = 0.4 \times S + 0.6 \times T$ (S、T 分别经标准化处理为最高值为 1 的评分)。

2.3 兔眼刺激性试验

随机选取家兔 3 只, ♀ ♂ 不拘。固定家兔, 翻开一只眼上下眼睑, 吸取供试品 0.5 ml, 滴入, 闭合, 使药物与眼睑结膜充分接触, 另一只眼滴入淀粉溶液, 40 min 后观察眼睑结膜变化情况。无水腫、无分泌物计 0 分; 轻微水腫、有少量分泌物计 20 分; 水腫面积至兔眼半闭合面积、有较多分泌物计 40 分; 水腫

面积至闭合、有大量分泌物计 50 分。同“2.2”项下方法, 兔眼刺激性评分经标准化后得到 Z_2 。

将兔眼刺激性评分和口尝刺激性评分权重系数分别设为 0.8、0.2, 刺激性综合得分 $Z_3 = 0.2 \times Z_1 + 0.8 \times Z_2$ 。刺激性综合评分越高, 意味着炮制效果越差, 因此, 评价炮制效果的得分应取其倒数, 即炮制效果评分 $Z_4 = 1/Z_3$ 。

2.4 单因素试验

据文献报道, 天南星类药材加入氢氧化钙溶液并加热, 可使药材刺激性显著降低^[7-8]。因此, 选取饱和氢氧化钙溶液用量、加热温度、加热时间为试验因素, 以炮制效果评分 Z_4 为指标, 考察各因素不同水平时对炮制结果的影响。

2.4.1 饱和氢氧化钙溶液用量考察 称取蛇六谷 5 份, 各 200 g, 分别置于 2 000、4 000、6 000、8 000、10 000 ml 饱和氢氧化钙溶液中, 100 °C 水浴加热 45 min, 取样检测。结果, 当饱和氢氧化钙水溶液用量超过 6 000 ml 时, 增加用量, 评分未见明显提高, 确定较优用量为 2 000~6 000 ml, 详见图 1。

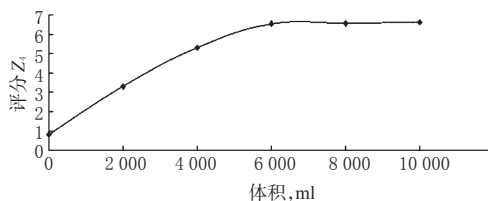


图 1 饱和氢氧化钙水溶液不同用量对炮制效果的影响

Fig 1 Influences of different amounts of saturated calcium hydroxide solution on processing effect

2.4.2 煎煮温度考察 称取蛇六谷 5 份, 各 200 g, 置于 4 000 ml 饱和氢氧化钙水溶液中, 分别在 20、40、60、80、100 °C 下煎煮 45 min^[9], 取样检测。结果, 当温度从 20 °C 升高到 100 °C 时, 评分值不断增加。因此, 确定此范围为加热温度, 详见图 2。

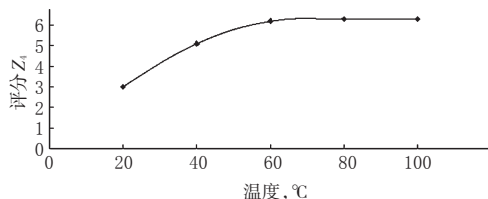


图 2 不同加热温度对炮制效果的影响

Fig 2 Influences of different heating temperatures on processing effect

2.4.3 煎煮时间考察 称取蛇六谷 200 g, 5 份, 置于 4 000 ml 饱和氢氧化钙溶液中, 45 °C 下分别加热 30、60、90、120 min, 取样检测。结果, 当加热时间为 60 min 时, 评分值不再增加, 因此加热时间确定为 30~60 min, 详见图 3。

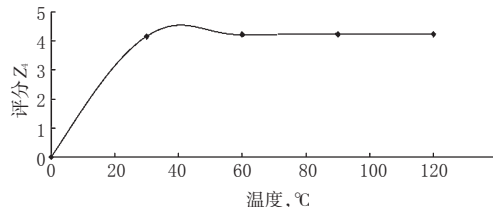


图 3 不同加热时间对炮制效果的影响

Fig 3 Influences of different heating time on processing effect

2.5 正交试验

在单因素试验基础上,以炮制后综合评分 Z_4 为指标,采用正交试验法进一步考察饱和氢氧化钙溶液用量(A, ml)、加热时间(B, min)、加热温度(C, $^{\circ}$ C)对蛇六谷炮制效果的影响。各因素分别取3个水平,见表1;按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验,见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A, ml	B, min	C, $^{\circ}$ C
1	2 000	30	20
2	4 000	45	60
3	6 000	60	100

表2 正交试验设计及结果

Tab 2 Orthogonal test design and its results

试验号	A	B	C	D	评分 Z_4
1	1	1	1	1	1.16
2	1	2	2	2	2.14
3	1	3	3	3	2.91
4	2	2	1	3	4.21
5	2	3	2	1	5.02
6	2	1	3	2	3.14
7	3	3	1	2	8.17
8	3	1	2	3	5.18
9	3	2	3	1	6.55
K_1	2.070	4.513	3.160	4.243	
K_2	4.123	4.113	4.300	4.483	
K_3	6.633	4.200	5.367	4.100	
R	4.563	0.400	2.207	0.383	

表3 方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

变异来源	离均差平方和	自由度	均方	F	F临界值	P
A	31.34	2	15.67	139.289	19.00	显著
B	0.266	2	0.133	1.182	19.00	
C	7.307	2	3.518	32.476	19.00	显著
误差	0.225	2	0.113	1.000	19.00	

表2、表3结果表明,各因素对炮制效果的影响主次顺序为 $A>C>B$,其中因素A、C对试验结果有显著影响。因素B各水平较为接近,考虑到节约能源与时间,确定其水平为1。综合分析后确定最优工艺组合为 $A_3B_1C_3$,即每200 g药材加入6 000 ml饱和氢氧化钙溶液,100 $^{\circ}$ C下煎煮30 min。

2.6 工艺验证试验

取3批蛇六谷药材(每批200 g),按优选工艺制备,其 Z_4 平均得分分别为8.05、8.44、8.37($RSD=2.5\%$, $n=3$),表明优选工艺稳定可靠。

2.7 炮制前后对比试验

取10批药材(编号: $P_1\sim P_{10}$)分别进行炮制前后刺激性综合评分,结果显示与炮制前比较,炮制后药材评分更高,即刺激性更低;并经试验者口尝证明,炮制后的样品已无明显刺激性。炮制前、后综合评分平均值分别为0.12、8.54($n=10$),详见表4。

3 讨论

本试验选择蛇六谷口尝刺激性与兔眼刺激性为考察炮制

表4 炮制前、后综合评分比较

Tab 4 Comparison between the overall scores before and after processing

组别	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6	P_7	P_8	P_9	P_{10}
炮制组	8.19	8.46	8.08	8.99	8.01	8.95	8.98	8.67	8.26	8.79
未炮制组	0.11	0.12	0.13	0.10	0.12	0.12	0.16	0.13	0.14	0.12

效果的指标,通过正交试验优化炮制工艺,研究结果表明饱和氢氧化钙用量对炮制效果有显著影响,为主要因素;加热温度为次要因素;加热时间对炮制结果影响并不显著。

引起蛇六谷麻舌刺激性的原因有多种,目前主要集中于两方面:一是蛇六谷中含有的大量草酸钙针晶末端可刺穿细胞产生机械刺激性;二是针晶末端的凝集蛋白具有引致炎症反应发生的作用,从而引起刺激性反应^[10]。但具体作用机制有待进一步确证。目前对蛇六谷刺激性的评价主要有口尝法和家兔眼刺激法^[11]。口尝法对蛇六谷生品等强刺激性物可以进行较明显的评价,但对炮制品“微有麻舌感”判别误差稍大,且易受主观影响^[9]。兔眼刺激法评价较客观,但受到个体差异的影响,无法精确定量。因此,笔者将上述2种指标结合起来,期望建立一种相对更客观、准确的标准,以保证毒性中药蛇六谷炮制工艺的安全、有效、稳定、可控。结果表明,通过多样本口尝与兔眼黏膜刺激性结合的指标考察蛇六谷刺激性是可行的。

本试验为进一步研究天南星科药材的炮制工艺提供了参考,为规范中药材减毒炮制工艺、建立可控质量评价体系奠定了一定的基础。

参考文献

- [1] 韩安榜,林崇良.中药蛇六谷的研究进展[J].中国药业,2009,18(12):88.
- [2] 吴雪卿,阙华发,何春梅,等.陆德铭教授治疗乳腺癌远处转移37例[J].上海中医药大学学报,2000,14(1):24.
- [3] 浙江省食品药品监督管理局.浙江省中药炮制规范[S].2005年版.杭州:浙江科学技术出版社,2005:231.
- [4] 黄永亮,何晓燕,吴纯洁,等.毒性中药半夏麻舌特性评价的研究现状与展望[J].世界科学技术:中医药现代化,2013,18(12):438.
- [5] 潘春燕,徐斌,何三民,等.蛇六谷饮片煎煮前后刺激性比较及煎煮时间研究[J].中国药房,2014,25(15):1 380.
- [6] 钟凌云,吴皓,张科卫,等.生半夏中草酸钙针晶的刺激性作用研究[J].中国中药杂志,2006,31(20):1 706.
- [7] 刘彦群,刘凯,何静,等.壳聚糖家兔眼刺激试验[J].徐州医学院学报,2002,22(3):201.
- [8] 唐力英,吴宏伟,王祝举,等.天南星炮制减毒机制探讨: I [J].中国实验方剂学杂志,2012,18(24):28.
- [9] 武刚毅,谭政.天南星的炮制研究概述 [J].中国药师,2004,7(12):967.
- [10] 田雨,可燕,周修佳,等.上海地区习用的抗肿瘤中药“蛇六谷”[J].中药材,1999,22(9):439.
- [11] 韩海成,陈培丰.中药蛇六谷相关中药品种抗癌作用研究进展[J].云南中医中药杂志,2007,28(7):51.

(收稿日期:2014-12-06 修回日期:2015-05-20)

(编辑:刘 萍)