

- 5 王 黎,李红文.弓形虫感染所致慢性荨麻疹45例治疗分析[J].新乡医学院学报,2006,23(2):179-180.
- 6 赵 辨.中国临床皮肤病学[M].南京:江苏科学技术出版社,2010:413-417.
- 7 覃桂芳,刘 鑫,赵 林.FQ-PCR方法检测女性尖锐湿疣(CA)患者HPV的基因分型[J].中国临床新医学,2009,2(9):928-929.
- 8 梅册芳,温 景,欧阳烈,等.盐酸依匹斯汀联合摩拉生物共振治疗慢性荨麻疹的临床疗效观察[J].中国临床新医学,2012,5(1):12-14.
- 9 毕鸣晔,田 玥,黄海峰.慢性荨麻疹患者血清白介素-4、白介素-6、白介素-10及IFN- γ 检测及临床意义[J].中国中西医结合皮肤性病学杂志,2009,8(6):351-353.
- 10 莫双莲.慢性荨麻疹部份发病机制的临床进展[J].中国保健营养,2012,22(6):1269.
- 11 任毅行,孟宪楠.慢性荨麻疹部分发病机制研究[J].中外健康文摘,2011,8(33):154.
- 12 Bonagura VR, Hatam L, Devoti J, et al. Recurrent respiratory papillomatosis: altered CD8 + T-cell subsets and T(H)1/(H)2 cytokine imbalance[J]. Clin Immunol, 1999, 93(3):302-311.
- [收稿日期 2013-12-06][本文编辑 杨光和 吕文娟]

课题研究·论著

多指标综合评价艾滋病口腔含漱液的提取工艺

李 静, 郑培秋, 莫小林

基金项目: 广西壮族自治区中医药管理局立项课题(编号:GZYZ1121)

作者单位: 530300 广西,横县人民医院药剂科(李 静,郑培秋); 530021 南宁,广西中医药大学第一附属医院药剂科(莫小林)

作者简介: 李 静(1963-),女,大学专科,副主任药师,研究方向:临床药学。E-mail:hxrmyyyjk@163.com

通讯作者: 郑培秋(1961-),男,大学本科,医学学士,主任医师,研究方向:肝胆外科疾病的诊治。E-mail:hxrmyyyb@163.com

[摘要] 目的 优选爱口含漱液的提取工艺,保证制剂质量。方法 以三因素(加水量、提取时间和提取次数)为考察因素,按三个指标(盐酸小檗碱含量、总多糖含量和浸膏率)采用综合评价方法考查爱口含漱液的最佳提取工艺。结果 该制剂最佳提取工艺为加水量6倍,提取时间30 min,提取3次。结论 优选最佳提取工艺方案可行,稳定性好,能有效保证制剂质量。

[关键词] 爱口含漱液; 盐酸小檗碱; 提取工艺; 正交试验

[中图分类号] R 97 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)04-0296-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.04.07

Multi-index comprehensive evaluation of extraction process of love mouth gargle liquid LI Jing, ZHENG Peiqiu, MO Xiao-lin. Department of Pharmacy, the People's Hospital of Hengxian, Guangxi 530300, China

[Abstract] **Objective** To optimize the extraction process of love mouth gargle liquid, ensure the quality of preparation. **Methods** Taking three factors(water volume, extracting time and extracting times) as investigation factors, with three indexes(berberine hydrochloride content, total polysaccharide content and extract yield), the optimum extraction process of the love mouth gargle liquid was examined using the comprehensive evaluation method. **Results** The optimum extraction process for preparation included adding 6 times amount of water, extraction time of 30 minutes, 3 times of extraction. **Conclusion** The optimum extraction process is feasible, good stability, can effectively guarantee the quality of preparation.

[Key words] Love mouth gargle liquid; Berberine hydrochloride; Extraction process; Orthogonal test

爱口含漱液为我院中医科由古方增液汤加味组成(生地、麦冬、玄参、沙参、苦参、黄连),具有清热、抗炎、抗菌、调节免疫功能的作用,组方立法符合艾滋病口腔炎的病因病机及发病特点。爱口含漱液对

艾滋病口腔病损的防治具有较好的功效,而且价格低廉,使用方便,口感良好,病人乐于接受^[1,2]。为避免因人为因素造成的制剂制备工艺变化导致的质量不稳定和临床疗效的不连续性,获取该制剂有效

成分提取的最佳制备工艺,发挥其最大临床疗效,2012-01~2012-10,我院与广西中医药大学第一附属医院合作进行生产工艺研究。实验以三个可变因素(加水量、提取时间和次数),三个评分指标(盐酸小檗碱含量、总多糖含量和浸膏率)进行,采用 $L_9(3)^3$ 正交试验对中药含漱液的提取工艺进行综合评分优选,为规范其提取制备工艺提供试验依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。GH-252 电子分析天平(日本 A&D 公司)。HH-W420 数显三用恒温水箱。

1.1.2 试药 生地、麦冬、沙参、玄参、黄连、苦参药材由广西南宁万宝堂药业提供,经广西中医药大学第一附属医院伍小燕主任药师鉴定符合《中国药典》2010 年版一部各品种项下标准。盐酸小檗碱、D-无水葡萄糖标准品购自中国药品生物制品检定所,批号分别为 110713-200911、110833-201205。所用试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 正交试验设计 由于处方中药材沙参、生地有效成分为多糖,黄连有效成分盐酸小檗碱能溶于水或热水^[3],因此本实验采用加水煎煮进行提取,选用三个可变因素(加水量、提取时间和次数),三个评分指标(盐酸小檗碱含量、总多糖含量和浸膏率),应用 $L_9(3)^3$ 正交设计安排试验,工艺水平安排见表 1。

表 1 提取工艺 $L_9(3)^3$ 因素水平

水 平	加水量(倍)	提取时间(min)	提取次数(次)
1	6	30	1
2	8	60	2
3	10	90	3

1.2.2 样品的制备 按 $L_9(3)^3$ 正交试验表设计的工艺条件,以处方量称取各成分,按正交试验各项要求进行前处理,然后按规定次数和时间加水、煎煮、滤过、合并滤液,浓缩至 1 000 ml,得提取液。

1.2.3 盐酸小檗碱的含量测定^[4]

1.2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取 105℃干燥至恒重的盐酸小檗碱 10.0 mg,加乙醇溶解,定量至 25 ml,制成 0.40 mg/ml 的对照品贮备溶液。

1.2.3.2 供试品溶液的制备 精密吸取 2 ml 样

品,加至氧化铝柱(称取中性氧化铝 6 g,湿法装柱,用乙醇 15 ml 预洗)上,用乙醇 35 ml 分次洗脱,收集洗脱液,加乙醇定量至 50 ml,摇匀,精密吸取 1~10 ml 置量瓶中,加乙醇定量至刻度,摇匀,即得。

1.2.3.3 阴性对照品溶液的制备 除黄连外,按处方量制成缺黄连阴性样品,同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

1.2.3.4 测定波长的选择 精密吸取对照品贮备溶液 1 ml,加乙醇定量至 25 ml,摇匀,作为对照品溶液。另取供试品溶液和阴性对照液,以乙醇为空白,在波长 200~800 nm 范围内扫描,当波长在 350 nm 处时,盐酸小檗碱和供试品均有最大吸收峰;而阴性对照液则无吸收峰,表明可用于含量测定。

1.2.3.5 标准曲线的制备 分别精密吸取对照品溶液 1、2、3、4、5、6 ml,加乙醇定量至 100 ml,摇匀,于波长 350 nm 处测定溶液的吸光度,结果得标准曲线 $C = A \cdot 16.17 + 0.04014$ ($r = 0.99999$),表明在 4.04~24.24 mg/L 范围内,与吸光度的线性关系良好。

1.2.3.6 样品测定 取样品 3 批,照供试品溶液制备方法,分别在 350 nm 波长处测定吸光度,计算 3 批样品含量为 848.5 mg/L、832.5 mg/L、893.9 mg/L。

1.2.3.7 加样回收率试验 精密吸取已测得盐酸小檗碱含量的样品 1 ml 各 6 份,分别加入对照品溶液 1 ml,依供试品溶液制备方法测定吸光度,结果回收率($n=6$)为 98.8%,RSD 为 0.46%。

1.2.3.8 稳定性试验 精密吸取对照品溶液 3 ml,置 100 ml 量瓶中。加乙醇溶液定容,每隔 30 min 测定一次吸光度,共测定 6 次,结果吸光度分别为 0.7450、0.7445、0.7442、0.7444、0.7441、0.7439,平均值为 0.7435,RSD($n=6$)为 0.028%,表明盐酸小檗碱溶液在 3h 内基本稳定。

1.2.3.9 重现性测定 依法对同一批样品测定,重复测定 6 次,结果平均含量为 0.832 g/L,RSD($n=6$)为 0.86%。

1.2.4 总多糖含量测定^[5]

1.2.4.1 葡萄糖标准品溶液的制备 精密称取 105℃干燥恒重的无水葡萄糖标准品 5 mg,加水溶解定量至 100 ml,即得每毫升含无水葡萄糖 0.05 mg 的溶液,作为标准溶液。

1.2.4.2 供试品溶液的制备 精密移取提取液 2.5 ml 至离心管中,3 500 r/min 离心 10 min,精密吸取上清液 2 ml 至离心管中,加入 10 ml 无水乙醇,摇匀,3 500 r/min 离心 20 min,倾去上清液,所得沉淀水浴挥干乙醇,加水 10 ml,摇匀,超声处理 5 min,

转移至 100 ml 量瓶中,定容,备用。

1.2.4.3 最大吸收波长的确定 精密吸取标准溶液 0.5 ml,置于 10 ml 具塞试管中,加入水 1.0 ml,加入 5% 苯酚溶液 0.6 ml,迅速加入浓硫酸 3.6 ml,振摇 5 min,沸水浴 15 min,冰水浴 30 min,取出,以水同上操作制备空白溶液。在 300~600 nm 范围内扫描,结果在波长 488 nm 处有最大吸收。

1.2.4.4 标准曲线的绘制 精密吸取 1.2.4.1 项下标准溶液 0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 ml,分别置于 10 ml 具塞试管中,加入水 1.0 ml,加入 5% 苯酚溶液 0.6 ml,迅速加入浓硫酸 3.6 ml,振摇 5 min,沸水浴 15 min,冰水浴 30 min,取出,以第 1 份为空白,于紫外分光光度计中,在最大吸收波长 488 nm 处测定吸光度,得回归方程 $C = A \cdot 13.283 - 0.02380$ ($r = 0.9988$)。表明在 1.0~8.0 mg/L 范围内,与吸光度的线性关系良好。

1.2.4.5 稳定性实验 按 1.2.4.3 项下方法操作,每隔 30 min 对同一供试品溶液测定吸光度一次,共测定 6 次,结果吸光度分别为:0.3625、0.3628、0.3628、0.3625、0.3630、0.3629、0.3627,平均 0.3627, RSD 为 0.015%。说明在 3 h 内,吸收值稳定,可用于测定。

1.2.4.6 含量测定 精密吸取 0.1 ml,照标准曲线的制备项下方法测定吸收度。按标准曲线计算出含量。

1.2.5 浸膏率测定 精密称取上述滤液 20 ml,分别置于已干燥恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,残渣于 105℃ 烘箱中干燥 3 h,得干浸膏,称定,按下式公式计算浸膏率:浸膏率 = $(VW_1/20W) \times 100\%$ (式中, V 为每份药材提取液总体积; W_1 为 20 ml 提取液中干浸膏重量; W 为每份药材的重量)。

1.4 多指标评分方法 各指标综合评分 $V_i = v_{i1} + v_{i2} + v_{i3} + \dots + v_{i6}$; $v_{ij} = 100 \times w_j \times m_{ij}/m_{j\max}$ 。 (V_i 为第 i 次处理的综合评分, m_{ij} 为指标 j 在第 i 次处理中的量, $m_{j\max}$ 为指标 j 在所有处理中的最大值, w_j 为指标 j 的归一化权重系数。因总多糖含量、小檗碱含量相对重要,最高权重分定为 40,浸膏率定为 20,总分为 100)。

2 结果

2.1 提取工艺正交试验结果 提取工艺正交试验结果见表 2,方差分析见表 3。从直观分析,表 3 结果显示,影响提取工艺的因素主次顺序为 $C > B > A$;表 3 方差分析表明,因素 C (次数)对提取工艺有显著影响 ($P < 0.05$), A (加水量)、 B (提取时间)对

提取工艺有显著影响水平较低。

表 2 提取工艺正交试验结果

序号	A	B	C	D (误差)	总多糖 含量 (mg/ml)	小檗碱 含量 (mg/ml)	浸膏率 (%)	综合 得分
1	1	1	1	1	7.57	274.3	2.259	43.9
2	1	2	2	2	21.21	279.6	5.823	73.1
3	1	3	3	3	25.45	371.0	7.817	93.4
4	2	2	3	1	27.87	391.3	7.367	97.8
5	2	3	1	2	13.27	239.9	3.730	52.4
6	2	1	2	3	19.57	341.0	5.743	76.7
7	3	3	2	1	26.65	369.6	6.693	92.1
8	3	1	3	2	23.60	402.2	6.969	91.7
9	3	2	1	3	15.22	297.1	4.824	63.7
K_1	210.5	212.3	160.1	233.8				
K_2	226.9	234.7	242.0	217.3				
K_3	247.6	261.8	282.9	233.9				
R	38.5	55.8	136.4	22.0				

$K_{\text{均}} = 228.3$

注:为节约水、电和工时,确定提取工艺为 $A_1B_1C_3$,即加水 6 倍,煎煮 30 min,提取 3 次

表 3 提取工艺正交试验方差分析结果

方差来源	方差和(SS)	自由度(f)	均方(MS)	F	P
A	1483	2.0	741.3	3.0	
B	3117	2.0	1559	6.4	
C	18613	2.0	9307	38.3	<0.05
D(误差)	486.1	2.0	243.1		

注: $F_{0.10(2,2)} = 9.0$; $F_{0.05(2,2)} = 19.0$

2.2 最佳工艺验证试验结果 为考察上述优选提取工艺的稳定性,按处方比例取药材 3 份,浸泡 30 min,加水 6 倍,煎煮 30 min,提取 3 次。分别测定总多糖含量、盐酸小檗碱含量和浸膏率。结果表明,用优选的工艺条件提取,这 3 份药材的提取率均达到了较高水平,且工艺稳定,适用于大生产。见表 4。

表 4 最佳工艺验证试验结果

序号	总多糖含量(mg/ml)	盐酸小檗碱含量(g/L)	浸膏率(%)
1	26.1	389.5	7.56
2	26.5	389.8	7.58
3	26.2	390.1	7.61

3 讨论

爱口含漱液中君药沙参有效成分为多糖,具有

广泛的药理作用^[6]。黄连作为臣药,能清热湿,泻火解毒^[7]。所含主要成分盐酸小檗碱,已证明具有多种生理活性^[8],与黄连的的药理作用密切相关。以单一指标成分进行工艺优选与中药多组分、多靶点的作用特点有一定的距离。本研究以总多糖含量、盐酸小檗碱含量和水溶性总煎出物 3 个指标的量为考察对象,综合考虑其之于复方功效的力度,采用主客观结合的层次分析法、多指标加权综合评分法^[9,10]优选了爱口含漱液的制备工艺,优选的最佳提取工艺具有良好的稳定性、可靠性和可操作性,可用于该制剂的实际生产。多糖的含量测定方法中,主要为苯酚-硫酸比色法^[5]和蒽酮-硫酸比色法^[11],本实验对比实验后表明苯酚-硫酸比色法产生的有色化合物在 4h 内颜色稳定,优于蒽酮-硫酸比色法,故选择苯酚-硫酸比色法。

参考文献

- 1 陈振念,何艳英,卫奕荣. 中药含漱液防治艾滋病口腔病损 102 例疗效观察[J]. 四川中医,2010,28(10):114-115.
- 2 何艳英,郑培秋,卫奕荣. 中药含漱液防治艾滋病口腔病损的疗效观察[J]. 广西医学,2008,30(12):1868-1869.
- 3 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 第 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006:102,1624,2817.
- 4 罗国平,孟会宁,张云龙,等. 小陷胸颗粒中盐酸小檗碱的含量测定[J]. 河北医药,2012,34(10):1568-1569.
- 5 高伟,王晓娟,刘翊,等. 一种降糖复方中药提取液中总多糖含量的测定[J]. 时珍国医国药,2009,20(1):164-165.
- 6 梁莉,王婷,乔华,等. 南沙参多糖的药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志,2008,23(5):334-335.
- 7 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:285.
- 8 张志辉,邓安珊,于金倩,等. 黄连碱药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2013,38(17):2750-2754.
- 9 任爱农,卢爱玲,田耀洲,等. 层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(4):372-374.
- 10 王冬梅,吕振江,王永红,等. 多指标综合评价玉竹蜜蒸炮制工艺研究[J]. 中草药,2012,43(10):1934-1938.
- 11 陈彦君,王武鹏,潘顺浩,等. 中草药中多糖的测定方法改进[J]. 时珍国医国药,2009,20(3):608-609.

[收稿日期 2013-11-20][本文编辑 黄晓红 蓝斯琪]

课题研究·论著

点穴经筋疗法对膝骨关节炎关节积液作用的临床研究

吕亚南, 李荣祝, 王小燕, 梁斌, 高新, 刘朝锋, 王程

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:桂科自 0728084)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院康复医学中心推拿科

作者简介: 吕亚南(1960-),男,研究生学历,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:中西医手法、刃针、毫火针、火针等疗法,以及中西医结合康复临床诊疗。E-mail:13768306558@163.com

【摘要】目的 探讨点穴经筋疗法治疗膝骨关节炎(KOA)的疗效。**方法** 对 KOA 患者 30 例 46 个患病膝关节,其中 16 例为双膝 32 个患病膝关节,14 例为单膝 14 个患病膝关节,采用点穴经筋疗法治疗。在治疗前及治疗 3 个月结束时,采用彩色多普勒超声诊断仪测量患病膝关节腔积液情况,采用 KOA 病情严重指数(ISOA)进行评价。**结果** 30 例治疗 3 个月,ISOA 评分降低明显,治疗前后比较差异有统计学意义($t=15.652, P=0.000$);彩色多普勒超声诊断仪显示患病膝关节腔积液前后径合计总数量减少,差异有统计学意义($t=3.446, P=0.001$),积液关节个数减少,差异无统计学意义($\chi^2=1.848, P=0.257$)。**结论** 点穴经筋疗法治疗 KOA 是减轻或消除临床症状的有效方法。

【关键词】 骨关节炎; 膝; 点穴经筋疗法; 手法; 彩色多普勒超声诊断仪

【中图分类号】 R 244.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2014)04-0299-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.04.08