

机制及沉淀物中是否含有新的物质、该物质是否具有药理作用有待进一步的研究。

3.2 本实验采用正交设计及统计软件对该方进行实验设计及分析,结果表明,在 0.05 水平下,黄芩、黄连、甘草对葛根素的含量的影响差异无显著性,说明黄芩、黄连、甘草在该汤中对葛根素的含量没有影响,但是由于黄连与葛根合煎能产生沉淀,因此在制剂过程中要加以注意。

3.3 在本实验中所采用的高效液相色谱条件下,各配伍煎液中没有发现新物质的色谱峰。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
[2] Wu Z H, Tan X M, Luo J B. Determination of puerarin in Gegen Qinlian Micropill by HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 1999, 5(6): 10-12.
[3] Fan B T. Pharmacy of TCM (中药药剂学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1999.

止眩颗粒剂的提取工艺研究

文红梅¹,李 伟¹,彭国平¹,朱 荃¹,张正行^{2*}

(1. 南京中医药大学,江苏 南京 210029; 2. 中国药科大学,江苏 南京 210009)

摘 要:目的 优选止眩颗粒剂的制备工艺。方法 以 23-乙酰泽泻醇 B、白术内酯 I 提取率和固形物得率为指标,采用正交试验法对止眩颗粒剂的提取工艺进行优选,并以小鼠镇静作用的药效学验证。结果 优化工艺为:泽泻、白术先以 12 倍量 70% 乙醇分 2 次回流提取,每次 2 h;再以 14 倍量水分 2 次煎煮,每次 2 h。提取物对小鼠有明显的镇静作用。结论 该工艺合理,有效成分提取效率高。
关键词:止眩颗粒剂;正交试验;23-乙酰泽泻醇 B;白术内酯 I;镇静作用
中图分类号:R 284. 2; R 286. 02; R 286. 13 文献标识码: A 文章编号:0253-2670(2003)06-0508-03

Study on extraction technology of Zhixuan Granula

WEN Hong-mei¹, LI Wei¹, PENG Guo-ping¹, ZHU Quan¹, ZHANG Zheng-xing²

(1. Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China; 2. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: **Object** To optimize the preparation procedure for Zhixuan Granula (ZXG). **Methods** The optimum extracting conditions of ZXG were selected by orthogonal test with the active components: 23-acetate alisol B, atractylenolide I, and dried extract as the index, it mice sedation of ZXG was clarified by pharmacodynamics. **Results** The optimum preparation procedure was as follows: *Rhizoma Alismatis* and *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* were extracted with alcohol first, adding 12-fold 70% alcohol by refluxing, extracting twice, 2 h once, then extracted with water, adding 14-fold water, extracting twice, 2 h once. The extract showed the obvious effect on sedation of mice. **Conclusion** The optimum preparation procedure is reliable, with higher extracting ratio of the active components.

Key words: Zhixuan Granula (ZXG); orthogonal test; 23-acetate alisol B; atractylenolide I; sedation

止眩颗粒剂处方源于《金匱要略》中的“泽泻汤”,由泽泻和白术两味中药组成。具利水除饮、健脾制水之功,用于饮停心下、头目眩晕、胸中痞满、咳逆水肿等症。由于泽泻中含有泽泻醇类物质,该类成分具有利水渗湿作用,与泽泻主要药效相吻合;白术中含有白术内酯类成分,该类成分与泽泻汤的健脾制水的功效相吻合。又考虑到两味药的水提液中富含多糖、氨基酸等成分。因此,本实验采用正交试验法设计先醇提再水煎工艺,以泽泻、白术的活性成分为

指标,再通过药效学试验验证,优化出泽泻、白术共煎的最佳工艺。

1 实验材料

泽泻购于福建省药材公司,经本校中药鉴定教研室王春根教授鉴定,为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎。白术购于浙江省磐安县药材公司,经鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎,符合《中华人民共和国药典》标准。

* 收稿日期: 2002-12-13
基金项目: 国家中医药管理局青年基金项目 (97Y014)
作者简介: 文红梅 (1965—), 女, 山东蓬莱人, 副教授, 中国药科大学 2000 级博士生, 从事药物分析研究。Tel: (025) 6798188

昆明种小鼠(南京医科大学动物中心);戊巴比妥钠(上海化学试剂公司)。

2 实验方法

2.1 醇提取及水提取工艺条件的综合筛选

2.1.1 正交试验设计:为了能确切地反映制备工艺条件,选择最佳提取工艺条件,对正眩颗粒剂的提取工艺进行了正交试验。各因素水平见表 1。其中醇提取及水提取各提取 2 次。

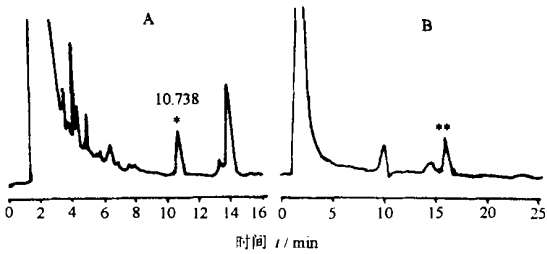
表 1 因素水平表
Table 1 Factors and levels

水平	A 乙醇浓度 /%	因素	
		B 溶剂用量/倍量 (醇提用量/水提用量)	C 煎煮时间/h (醇提/水提)
1	55	(5+3)/(6+4)	(1+1)/(1+1)
2	70	(7+5)/(8+6)	(1.5+1.5)/(1.5+1.5)
3	85	(9+7)/(10+8)	(2+2)/(2+2)

2.1.2 考核指标的选择:23-乙酰泽泻醇 B 为泽泻的主要活性成分,白术内酯 I 为白术的主要活性成分,且两种成分水溶性偏小,相对较难煎出,故选作本工艺的考核指标。

2.1.3 检验方法:泽泻中 23-乙酰泽泻醇 B 的含量测定见文献[1]。色谱条件为 Kromasil C₁₈ 色谱柱;流动相:乙腈-水(70:30);流速:1.0 mL/min;检测波长:208 nm。白术中白术内酯 I 的含量测定见文献[2]。色谱条件为 Kromasil C₁₈ 色谱柱;流动相:甲醇-水(65:35);流速:1.0 mL/min;检测波长:220 nm。色谱图见图 1。

对试验样品溶液各取适量,加两倍量甲醇醇沉后,10 000 r/min 离心 10 min,精密量取上清液 20 μL,注入液相色谱仪分析,采用外标法计算 23-乙酰泽泻醇 B、白术内酯 I 含量。



* -23-乙酰泽泻醇 B * -白术内酯 I
* -23-acetate alisol B * -atractylenolide I

图 1 样品中 23-乙酰泽泻醇 B (A) 和白术内酯 I (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of 23-acetate alisol B (A) and atractylenolide I (B) in samples

精密量取试验样品液各 100 mL,置于已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干后,于 105 ℃ 烘箱中干燥 3 h,称重,计算固形物得率。

2.1.4 正交试验结果:选用 L₉(3⁴) 正交表,以 23-乙酰泽泻醇 B 提取率、白术内酯 I 提取率、固形物得率为综合考察指标,进行了 9 次试验,有关试验数据及其分析结果见表 2,3。

方差分析结果表明,因素 A、B、C 对试验结果均无显著性影响。经直观比较分析,同时结合生产实际,确定最优工艺条件为 A₂B₂C₃。即 12 倍量 70% 乙醇回流提取,提取 2 次,每次 2 h;再用 14 倍量水煎煮 2 次,每次 2 h。

2.1.5 最佳工艺条件的验证:按泽泻汤处方,称取 20 日量(420 g) 3 份,按照上述最优工艺条件煎煮提取,测定提取液中 23-乙酰泽泻醇 B 含量、白术内酯 I 含量和浸膏得率,结果见表 4。可见,按最佳工艺进行提取,浸膏得率、23-乙酰泽泻醇 B 含量、白术内酯 I 含量均处于较高水平。表明该工艺稳定可行。

表 2 正交试验数据及其计算分析结果
Table 2 Data and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D (误差)	23-乙酰泽泻醇 B 提取率(X)/%	白术内酯 I 提取率(Y)/%	固形物 (Z)/%	综合评分 (M)
1	1	1	1	1	59.18	44.64	33.57	-2.74
2	1	2	2	2	62.24	49.65	38.10	1.05
3	1	3	3	3	64.79	55.19	38.20	3.91
4	2	1	2	3	68.37	51.38	35.70	5.01
5	2	2	3	1	71.39	57.44	34.60	8.85
6	2	3	1	2	66.33	52.77	40.12	4.64
7	3	1	3	2	65.82	44.81	40.23	1.96
8	3	2	1	3	70.92	40.83	34.17	3.22
9	3	3	2	1	68.37	46.99	40.83	4.20
K ₁	2.22	4.23	5.12	10.31				
K ₂	18.50	13.12	10.26	7.65				
K ₃	9.38	12.75	14.72	12.14				
R	16.28	8.89	9.6	4.49				

M=(0.6X+0.3Y+0.1Z)-55

表 3 方差分析结果
Table 3 Analysis of variance

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	44	2	22	14.6	
B	17	2	8.5	5.6	
C	15	2	7.5	5	
D (误差)	3	2	1.5		

$F_{0.05}(2,2)=19.0$

表 4 最佳工艺条件验证结果 (n=3)

Table 4 Test results of optimum preparation procedure (n=3)

投料量 /g	浸膏质量 /g	浸膏得率 /%	23-乙酰泽泻醇 B 提取率/%	白术内酯 I 提取率/%	综合 评分
420	166.6	36.68	71.76	52.31	
420	149.8	35.67	72.03	53.16	7.38
420	153.6	36.57	69.82	54.76	

2.2 对小鼠镇静作用的药效验证^[3]:以最佳提取工艺制成止眩颗粒剂,并进行相关药效学验证。

2.2.1 对小鼠自发活动的影响:取小鼠 50 只,雌雄各半,每组 10 只,分为 5 组,分别为生理盐水对照组,戊巴比妥钠 0.04 g/kg 组,止眩颗粒剂低、中、高剂量组 (0.52,1.56,4.68 g/kg)。将小鼠置于自发活动记录仪的实验箱内,适应环境 3 min,然后开始计时,观察记录 5 min 内活动次数,作为给药前的对照值。然后将小鼠取出给药,给药 30 min 后将各组小鼠分别放入活动箱内,适应 3 min 后,记录 5 min 内小鼠活动次数,并计算自发活动抑制率,结果见表 5。止眩颗粒剂 1.56,4.68 g/kg 可显著抑制小鼠的自发活动。

表 5 止眩颗粒剂对小鼠自发活动的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Effect of ZXG on spontaneous activity of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	剂 量 /g · kg ⁻¹	小鼠活动 次数	自发活动抑 制率/%
对照	10	—	103.8±19.8	—
戊巴比妥钠	10	0.04	63.4±30.8**	38.45
止眩颗粒剂	10	0.52	105.4±26.0	-1.54
	10	1.56	82.8±17.3*	20.23
	10	4.68	80.6±20.0*	22.35

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs control group

2.2.2 对小鼠戊巴比妥钠睡眠时间的延长作用:分组见表 6,对照组给予生理盐水,给药组给予止眩颗粒剂 0.52,1.56,4.68 g/kg。给药后 20 min,动物 ip 戊巴比妥钠 165 mg/kg,观察止眩颗粒剂对戊巴比妥钠睡眠作用的延长作用,结果见表 6。止眩颗粒剂 1.56,4.68 g/kg 可显著延长小鼠的戊巴比妥钠睡眠时间。

表 6 止眩颗粒剂对戊巴比妥钠睡眠
时间的延长作用 ($\bar{x}\pm s$)

Table 6 Effect of ZXG on sleeping time prolongation with pentobarbital sodium ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	剂量/g · kg ⁻¹	睡眠时间/min
戊巴比妥钠	10	0.165	55.63±14.84
止眩颗粒剂	10	0.52	55.15±19.18
	10	1.56	76.54±23.28*
	10	4.68	91.38±31.30**

与戊巴比妥钠组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs pentobarbital sodium group

2.2.3 对戊巴比妥钠阈下催眠剂量的影响:动物分组见表 7,按剂量给予止眩颗粒剂,30 min 后 ip 戊巴比妥钠最大阈下催眠剂量。凡 30 min 内动物翻正反射消失达 1 min 以上者,表明已产生了睡眠,用 x²值测定对照组与给药组入睡动物数之间的差别,结果见表 7。止眩颗粒剂 1.56,4.68 g/kg 可显著降低戊巴比妥钠的阈下睡眠剂量。

表 7 止眩颗粒剂对戊巴比妥钠阈下
催眠剂量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 7 Effect of ZXG on sub-threshold dose of hypnosis with pentobarbital sodium ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	剂量/(g · kg ⁻¹)	睡眠动物数/只	睡眠百分率/%
戊巴比妥钠	20	0.112	2	10
止眩颗粒剂	20	0.52	5	25
	20	1.56	8**	40
	20	4.68	13**	65

与戊巴比妥钠组比较: **P<0.01

**P<0.01 vs pentobarbital sodium group

3 讨论

3.1 采用蒸馏法与醇提法对白术挥发性成分进行提取比较,表明白术挥发油在醇提液中含量较高,可直接醇提白术活性成分,简化提取操作步骤。

3.2 止眩颗粒剂可减少小鼠自发活动,延长戊巴比妥钠引起的小鼠睡眠时间,促进给予阈下戊巴比妥钠剂量的小鼠进入睡眠状态,表明止眩颗粒剂有明显的镇静催眠作用。这可能与治疗美尼耳氏综合症的作用相关。

致谢:我校国家药理规范化研究中心的孙小玉、李小冬、李璇等在药理研究中给予了大力支持。

References:

[1] Wen H M, Peng G P, Chi Y M, et al. Quality standard study of *Rhizoma Alismatis* I [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 18(6): 375-377.
[2] Li W, Wen H M, Zhang A H, et al. Study on quality of *Atractylodes macrocephala* Koidz [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21(3): 170-172.
[3] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.