

vasc Res, 2014, 103(1): 17-27.

- [21] ECHEM C, BOMFIM GF, CERAVOLO GS, et al. Anti-toll like receptor 4 (TLR4) therapy diminishes cardiac remodeling regardless of changes in blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR)[J]. Int J Cardiol, 2015, 187: 243-245.

- [22] MATSUDA S, UMEMOTO S, YOSHIMURA K, et al. Angiotensin activates MCP-1 and induces cardiac hypertrophy and dysfunction via toll-like receptor 4 [J]. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis, 2015, 22(8): 833-844.

(收稿日期: 2019-03-03, 修回日期: 2019-12-19)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.07.006

◇ 药学研究 ◇

## 柴葛解肌颗粒醇沉工艺对石膏成分保留及解热作用的影响

吴静鸣<sup>1</sup>, 黄晓青<sup>1</sup>, 曹阳<sup>2</sup>, 黄顺旺<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>安徽天星医药集团有限公司, 安徽 合肥 230601; <sup>2</sup>合肥创新医药技术有限公司, 安徽 合肥 230088

通信作者: 黄顺旺, 男, 药学博士, 主任药师, 研究方向为新药的研究, E-mail: huangsw5503@163.com

**摘要:**目的 通过研究石膏成分保留及解热作用, 探讨柴葛解肌颗粒醇沉工艺合理性。方法 采用络合滴定法测定柴葛解肌颗粒醇沉前后浸膏中含水硫酸钙含量, 采用2,4-二硝基苯酚致大鼠发热模型、内毒素致家兔发热模型, 对其解热药效作用进行对比研究。结果 醇沉前后浸膏均具有一定的解热作用, 且与阳性药组比较, 三者差异无统计学意义。结论 柴葛解肌颗粒醇沉工艺合理。

**关键词:** 中药工艺改进; 柴葛解肌汤; 石膏; 硫酸钙; 解肌清热; 醇沉工艺

## Study on the effects of alcohol precipitation process of *Chaige Jieji* granules on the retention of *Gypsum Fibrosum* components and antipyretic effect

WU Jingming<sup>1</sup>, HUANG Xiaqing<sup>1</sup>, CAO Yang<sup>2</sup>, HUANG Shunwang<sup>2</sup>

Author Affiliations: <sup>1</sup>Anhui Tianxing Pharmaceutical Group Co., Ltd., Hefei, Anhui 230601, China;

<sup>2</sup>Hefei Innovative Medical Technology Co., Ltd., Hefei, Anhui 230088, China

**Abstract: Objective** The rationality of alcohol precipitation process of *Chaige Jieji* granules was discussed by studying the retention of *Gypsum Fibrosum* components and antipyretic effect. **Methods** The study determined the content of  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  in the extracts of *Chaige Jieji* granules before and after alcohol precipitation by complexometric titration, and used fever models induced by 2,4-dinitrophenol in rats and by endotoxin in rabbits to compare their antipyretic effects. **Results** The extracts both had antipyretic effect. Compared with positive drug group, there was no significant difference between the three groups. **Conclusion** The alcohol precipitation process is reasonable and feasible.

**Key words:** Technology improving (TCD); *Chaige Jieji* decoction; *Gypsum fibrosum*; Calcium sulfate; Reliev muscle clear heat; Alcohol precipitation proces

柴葛解肌颗粒系根据经典名方明代陶华所著《伤寒六书》记载的“柴葛解肌汤”研制而成的中药六类新药, 由柴胡、葛根、羌活、白芷、黄芩、甘草、大枣、石膏等11味药材组成, 具有解肌清热功效, 临床用于治疗感冒、流行性感等, 治疗小儿高热不退, 并具有热退不反复的显著疗效。原方为汤剂, 本研究拟采用水提醇沉工艺将该经典名方开发成为临床疗效好, 服用量小, 病人依从性好的现代中成药。

该处方中石膏为臣药, 清内郁之热, 文献报道其主要成分为含水硫酸钙<sup>[1]</sup>, 钙离子为石膏中所含的主要离子成分, 石膏对动物造模所致的发热具有一定的解热作用。本研究于2018年5月至2019年2月对柴葛解肌颗粒提取纯化工艺中醇沉前后浸膏中钙离子进行含量测定并对解热药效作用进行对比研究, 说明生产工艺选择醇沉的合理性。

### 1 材料

**1.1 仪器** KDM型可调控温电热套(山东鄞城华

鲁电热仪器有限公司);Laws-500T型纯化水机(杭州永洁达净化科技有限公司);STW0101型山佳高精度数字式电子体温计[山佳国际工贸(天津)有限公司]。

**1.2 试药** 柴胡、葛根、羌活、白芷、石膏(含水硫酸钙含量为96.5%)等11味药材购于安徽普仁中药饮片有限公司;乙二胺四醋酸二钠(西陇化工股份有限公司);钙黄绿素(天津市光复精细化工研究所);2,4-二硝基苯酚(上海试剂三厂);大肠杆菌标准菌株(安徽省食品药品检验研究院提供);金莲清热颗粒(宁夏启元药业有限公司,生产批号20170609);所用试剂均为分析纯。

**1.3 动物** SPF级SD大鼠53只,体质量范围为200~220 g,动物合格证号34000200000367,由安徽省实验动物中心提供;普通级家兔30只,体质量范围为1.8~2.2 kg,动物合格证号0030686,由南京安立默科技有限公司提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 醇沉前后浸膏相关成分含量

**2.1.1 醇沉前后浸膏的制备** 柴胡、羌活、白芷和生姜四味药材提取挥发油;以上药渣与葛根、甘草、白芍等其余七味药材合并加10倍量纯化水煎煮2次,每次2 h,滤过。合并上述各滤液,滤液按重量分为均等两份,一份滤液浓缩至含原药材0.1 g/mL,以备测定醇沉前钙离子含量用;另一份滤液浓缩至相对密度为1.15左右(80℃)的浸膏,放冷,加入乙醇至含醇量为50%,静置24 h,滤过,回收乙醇至无醇味,用纯化水调至含原药材0.1 g/mL,以备测定醇沉后钙离子含量用,做3次平行试验。

**2.1.2 试剂配制** EDTA-2Na(乙二胺四醋酸二钠)溶液的配制<sup>[1]</sup>:取EDTA-2 Na·H<sub>2</sub>O 18.61 g,溶于约300 mL适宜温度的去离子水中,冷却后稀释至1 L,摇匀即得EDTA-2Na滴定溶液(0.05 mol/L)。钙指示剂的配制<sup>[2]</sup>:取钙黄绿素0.3 g,加氯化钾30 g,研磨均匀,即得。

**2.1.3 阴性对照试验** 依据本品处方比例制备不含石膏的阴性对照溶液,按照2.1.4项下方法进行测定,测得消耗EDTA-2 Na滴定液(0.05 mol/L)为0 mL,结果表明对照溶液对测定无干扰。

**2.1.4 钙离子含量的测定** 精密吸取上述醇沉前和醇沉后溶液各5 mL,加纯化水20 mL,氢氧化钠溶液调pH>12,加入少许钙指示剂,用EDTA-2 Na滴定溶液(0.05 mol/L)进行滴定,直至溶液由紫红色变为纯蓝色时为止。根据EDTA-2 Na滴定液消耗量计算钙离子含量。每1毫升EDTA-2 Na滴定液(0.05 mol/

L)相当于8.608 mg的含水硫酸钙<sup>[1-5]</sup>。

**2.1.5 水煎醇沉前后钙离子煎出量试验结果** 柴葛解肌颗粒水煎醇沉前、水煎醇沉后钙离子煎出量试验结果见表1。

表1 醇沉前后钙离子煎出量试验结果(n=3)

组别	取样量/ mL	EDTA溶液 消耗量/mL	含水硫酸钙 含量/(mg/mL)	钙离子 煎出率/%
醇沉前				
1	5.0	2.14	3.68	47.4
2	5.0	2.20	3.79	48.7
3	5.0	2.18	3.75	48.4
平均值	5.0	2.17	3.74	48.2
醇沉后				
1	5.0	1.49	2.57	33.1
2	5.0	1.54	2.65	34.1
3	5.0	1.46	2.51	32.2
平均值	5.0	1.50	2.58	33.1

注:EDTA为乙二胺四醋酸二钠溶液

根据表1,柴葛解肌颗粒水煎醇沉前后含水硫酸钙含量比较,醇沉后含量减少接近1/3。

**2.2 统计学方法** 采用SPSS 11.0统计软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)统计处理,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

### 2.3 药效学考察<sup>[6-15]</sup>

**2.3.1 醇沉前后浸膏对2,4-二硝基苯酚致大鼠发热模型的影响** 选取体温正常(37.0~38.0℃)、测定2次体温后温差 $\leq 0.3$ ℃的大鼠53只,分成四组,分别为0.9%氯化钠溶液组(0.70 mL/100 g)、阳性对照组(金莲清热颗粒2.3 g/kg)、醇沉前组(7.2 g生药/kg, 0.70 mL/100 g)、醇沉后组(7.2 g生药/kg, 0.70 mL/100 g),每只大鼠背部皮下注射2,4-二硝基苯酚20 mg/kg,当体温升高1℃左右时,各组大鼠分别灌胃相应药物或0.9%氯化钠溶液,在给药后每隔1 h测肛温1次,连续测定3 h。见表2。

表2结果显示:与0.9%氯化钠溶液组比较,给药后2 h和3 h,阳性对照药金莲清热颗粒,醇沉前和醇沉后均可降低大鼠发热体温( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );金莲清热颗粒组,醇沉前组和醇沉后组之间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3.2 醇沉前后浸膏对内毒素致家兔发热模型的影响** 实验前间隔30 min测两次肛温,以波动不大于0.2℃者为受试动物,取其均值为基础温度。取体温符合解热实验要求的家兔分为四组,分别为0.9%氯化钠溶液组(5 mL/kg),阳性对照组(金莲清热颗粒1.7 g/kg),醇沉前组(5.2 g生药/kg, 5.03 mL/kg),

表2 醇沉前后浸膏对2,4-二硝基苯酚致大鼠发热模型的影响/( $^{\circ}\text{C}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量	鼠数	造模前	造模后	给药后		
					1 h	2 h	3 h
0.9%氯化钠溶液组	0.7 mL/100 g	13	37.5 $\pm$ 0.2	39.9 $\pm$ 0.6	39.9 $\pm$ 0.7	39.5 $\pm$ 0.3	39.3 $\pm$ 0.3
金莲清热颗粒组	2.3 g/kg	13	37.5 $\pm$ 0.3	39.9 $\pm$ 0.8	39.5 $\pm$ 0.6	38.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	38.7 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>
醇沉前组	7.2 g生药/kg	14	37.5 $\pm$ 0.3	39.8 $\pm$ 0.3	39.4 $\pm$ 0.4	38.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	38.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
醇沉后组	7.2 g生药/kg	13	37.5 $\pm$ 0.3	39.9 $\pm$ 0.4	39.4 $\pm$ 0.6	39.1 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	38.7 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>

注:与0.9%氯化钠溶液组相比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;造模后,金莲清热颗粒组、醇沉前组、醇沉后组之间比较, $P > 0.05$

表3 醇沉前后浸膏对内毒素致家兔发热模型的影响/( $^{\circ}\text{C}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量	兔数	基础体温	造模后	给药后			
					1 h	2 h	3 h	4 h
0.9%氯化钠溶液组	5 mL/kg	7	39.5 $\pm$ 0.4	40.9 $\pm$ 0.2	41.2 $\pm$ 0.3	41.5 $\pm$ 0.4	40.9 $\pm$ 0.5	40.2 $\pm$ 0.5
金莲清热颗粒组	1.7 g/kg	8	39.5 $\pm$ 0.3	41.0 $\pm$ 0.3	40.9 $\pm$ 0.3	40.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	40.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	40.1 $\pm$ 0.3
醇沉前组	5.2 g生药/kg	8	39.5 $\pm$ 0.3	40.9 $\pm$ 0.3	40.9 $\pm$ 0.4	40.6 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	40.5 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>	40.1 $\pm$ 0.3
醇沉后组	5.2 g生药/kg	7	39.5 $\pm$ 0.3	40.9 $\pm$ 0.4	40.9 $\pm$ 0.4	40.6 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	40.5 $\pm$ 0.4	40.1 $\pm$ 0.3

注:与0.9%氯化钠溶液组相比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;造模后,金莲清热颗粒组、醇沉前组、醇沉后组之间比较, $P > 0.05$

醇沉后组(5.2 g生药/kg, 5.03 mL/kg)。每组家兔静脉注射大肠杆菌液( $10^6$ /kg)造模。选择体温升高高于 $1^{\circ}\text{C}$ 的家兔,分别灌胃相应药物或0.9%氯化钠溶液,观察给药后1、2、3、4 h时各组家兔直肠温度变化。见表3。

表3结果显示:与0.9%氯化钠溶液组比较,给药后2h,金莲清热颗粒、醇沉前和醇沉后可降低家兔发热体温( $P < 0.01$ ),给药后3 h,醇沉前和金莲清热颗粒均可降低家兔发热体温( $P < 0.05$ );金莲清热颗粒组,醇沉前组和醇沉后组之间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

处方中的石膏清热泻火,除烦止渴。口服石膏煎剂,经胃酸作用后,一部分可变为可溶性钙,经肠吸收入血,增加血中钙离子浓度,调节体温中枢而解热<sup>[1]</sup>。本研究参照相关文献<sup>[1-5]</sup>,采用络合滴定法测定钙离子在醇沉前后浸膏的溶出情况,考察药液中石膏含量,测定结果可靠、灵敏。

考察柴葛解肌颗粒处方工艺在醇沉前后浸膏对2,4-二硝基苯酚致大鼠发热模型和对内毒素致家兔发热模型的影响,两种浸膏均具有一定的解热作用,且金莲清热颗粒组,醇沉前组和醇沉后组之间比较,差异无统计学意义。

因此,本醇沉工艺(含醇量为50%)虽然钙离子含量减少接近1/3,但从药效学(解热)角度分析仍具有一定的可行性,为柴葛解肌颗粒的提纯工艺提供理论支持。

### 参考文献

- [1] 文海平,刘巍,成正雄,等.白虎汤不同配伍条件下钙离子含量变化[J].中南药学,2006,4(1):32-34.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版.一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:94.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版.四部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:291,327.
- [4] 张莉,张萍,吴顺友.退烧冲剂中石膏含量测定方法的研究[J].实用医药杂志,2008,25(2):188.
- [5] 唐继红,何芳,丁世全.羟苯磺酸钙的含量测定方法研究[J].中国药房,2003,14(8):492-493.
- [6] 李维祖,明亮,陈师农,等.湿热清颗粒的发汗解热及促进肠蠕动作用[J].安徽医科大学学报,2004,39(5):362-364.
- [7] 苗明三,弓宝,史晶晶,等.抗病毒口服液解热作用[J].中药药理与临床,2009,25(1):54-56.
- [8] 秦峰,魏倩,董六一.醒脑静乳剂解热镇痛抗炎作用及对中枢神经系统的影响[J].安徽医药,2009,13(10):1165-1169.
- [9] 刘晋华,李玉萍,尤光甫.清肺消咳颗粒的解热作用实验[J].中国药师,2010,13(2):205-207.
- [10] 夏伦祝,冯艺戎,汪永忠,等.重连口服液解热镇痛抗炎免疫作用的实验研究[J].安徽医药,2010,14(9):1005-1006.
- [11] 周丽娟,罗雅琪,杨炆,等.金蝉颗粒药效学的实验研究[J].中华中医药学刊,2013,31(3):649-651.
- [12] 安君,魏凤玲,崔刚.通淋颗粒的主要药效学研究[J].实用药物与临床,2013,16(6):510-513.
- [13] 杨斌,徐向东.白虎汤对内毒素致热家兔的解热作用及其机制研究[J].吉林中医药,2015,35(5):508-511.
- [14] 明继阳,李洋,丁彦,等.知母在白虎汤中解热作用的研究[J].中医药信息,2017,34(3):47-50.
- [15] 聂坚,李刚,张建英,等.香芩解热颗粒对2,4-二硝基苯酚致热大鼠的解热作用研究[J].中国中医药科技,2018,25(4):477-480.

(收稿日期:2019-02-25,修回日期:2019-03-22)