

石膏对麻杏石甘汤中甘草酸含量影响的研究*

□武孔云 梁光义** (贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室 贵阳 550002)

贺祝英 靳凤云 李 星 冯 华 (贵阳中医学院 贵阳 550002)

摘 要:目的:研究石膏对麻杏石甘汤汤剂中甘草酸含量的影响。方法:采用 HPLC 法测定麻杏石甘汤汤剂和缺石膏的麻杏石甘汤汤剂两种汤剂中甘草酸含量,选 Diamonisl C18 柱,流动相甲醇-0.2mol/L 醋酸胺溶液-冰醋酸(67:33:1),检测波长为 250nm。结果:缺石膏的麻杏石甘汤汤剂中甘草酸含量为 10.3530mg/g,麻杏石甘汤传统汤剂中甘草酸含量为 9.6322mg/g。结论:石膏对麻杏石甘汤传统汤剂中甘草酸的含量有一定的降低作用。

关键词:石膏 甘草酸 麻杏石甘汤 HPLC 法

麻杏石甘汤一方出自东汉名医张仲景《伤寒论》一书,由麻黄 6g,苦杏仁 9g,甘草 6g,石膏 24g 组成,该方具有辛凉宣肺,清热平喘之功效,主治表邪未解,肺热咳喘证。根据现代临床经验证明,石膏用量的大小在麻杏石甘汤治疗咳喘症的疗效上起到了关键的作用,重用石膏能够使该方的疗效大大提高,使咳喘诸症更快得到缓解^[1]。而麻黄与甘草的比例也宜恰当,据临证经验,取两者等量为宜,因为甘草量大则牵制麻黄宣散之力,量小则恐麻黄宣散太过,两者配伍恰当,功专在肺,取效则速^[2]。本实验参照 2005 版《中国药典》^[3],采用 HPLC 法测定麻杏石甘汤传统汤剂,和缺少石膏的麻杏石甘汤传统汤剂中甘草酸的含量,比较其甘草酸含量的差异,探讨矿物药石膏对麻杏石甘汤复方汤剂中有效成分甘草酸含量的影响,报道如下:

一、仪器与材料

美国 Agilent1100 高效液相色谱仪;甘草酸单铵

盐购自中国药品生物制品检定所(批号:0731-9704);药材由贵州圣济堂制药有限公司提供,经贵阳中医学院董丽莎教授鉴定,麻黄为麻黄科植物草麻黄(*Ephedra sinica* Stapf.)、甘草为豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)、苦杏仁为蔷薇科植物杏(*Prunus armeniaca* L.)、石膏为硫酸盐类矿物硬石膏族石膏(*Gypsum Fibrosum*)、甲醇为色谱纯、醋酸胺和冰醋酸为分析纯,水为重蒸馏水。

二、麻杏石甘汤汤剂制备

1. 传统汤剂

称取药材麻黄 6g,苦杏仁 9g,甘草(炙)6g,石膏 24g,加 10 倍量水常温浸 30min,煎煮保持微沸 30min,趁热过滤,滤渣加 7 倍量水煎煮保持微沸 20min,趁热滤过,合并二次滤液,药渣水洗 3 次,与滤液合并,减压浓缩,冷却至室温定容至 50mL 容量瓶中,即得传统汤剂。同法平行制备 3 份。

2. 缺少石膏的麻杏石甘汤传统汤剂

称取药材麻黄 6g,苦杏仁 9g,甘草(炙)6g,加 10 倍量水常温浸 30min,煎煮保持微沸 30min,趁热过

收稿日期:2007-03-13

修回日期:2007-06-01

* 国家自然科学基金资助项目(30460154):传统汤剂与中药颗粒汤剂的化学研究,负责人:梁光义。

** 联系人:梁光义,教授,博士生导师,主要研究方向:新药研发及中药化学,Tel:0851-5652109,E-mail:guangyi_liang@21cn.com。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 89

滤,滤渣加7倍量水煎煮保持微沸20min,趁热滤过,合并二次滤液,药渣水洗3次,与滤液合并,减压浓缩,冷却至室温定容至50mL容量瓶中,即得缺少石膏的麻杏石甘汤传统汤剂。同法平行制备3份。

三、方法与结果

1. 色谱条件

分析柱:Diamonisl C18柱 5 μ m (250 $\times$ 4.6mm); 流动相:甲醇-0.2mol/L 醋酸胺溶液-冰醋酸(67:33:1); 流速1mL/min; 检测波长为250nm; 柱温25 $^{\circ}$ C; 进样量为5 μ L,在上述条件下,甘草酸与杂质峰可完全分离,空白样品无干扰(见图1)。

2. 对照品溶液的制备

取甘草酸单铵盐对照品10mg,精密称定,置50mL量瓶中,用流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(每1mL甘草酸单铵盐对照品0.2392mg,折合甘草酸为0.221mg)。

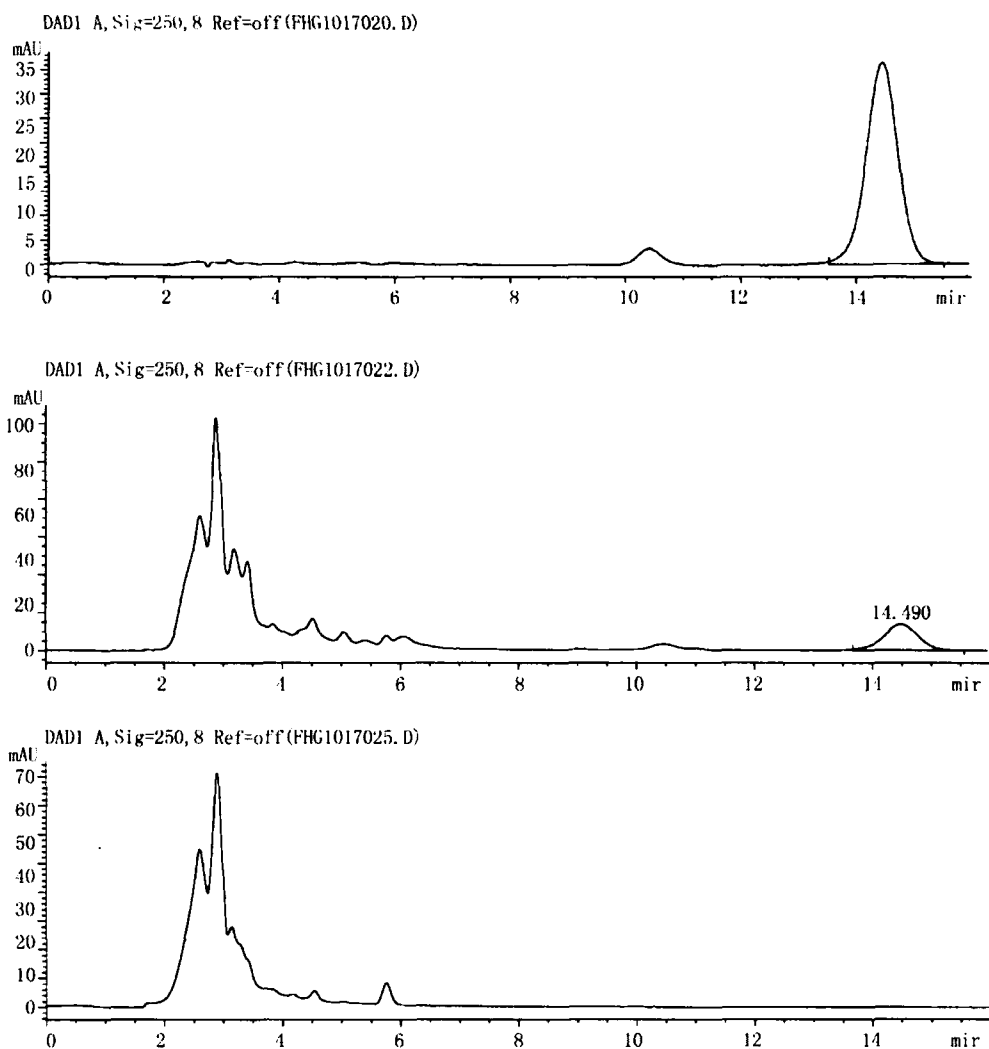
3. 供试品溶液的制备

分别精密吸取麻黄石甘汤传统汤剂和缺少石膏的麻杏石甘汤传统汤剂试液各2mL,置25mL容量瓶中,加流动相约20mL,超声处理(功率250W,频率20kHz)20min,取出,放冷,加流动相定容至刻度,摇匀,滤过,

取续滤液用0.45 μ m的微孔滤膜滤过,分别得麻杏石甘汤传统汤剂、缺少石膏的麻杏石甘汤传统汤剂供试液。

4. 标准曲线的绘制

分别精密吸取甘草酸标准溶液,用流动相稀释配制浓度分别为0.0442、0.0882、0.1324、0.1762、0.2211、0.2664mg/mL的甘草酸系列对照品溶液。按上述色谱条件依次测定,以峰面积积分值(A)对进样量(C)进行线性回归,得回归方程: $A = 710.033C +$



A-甘草酸单铵盐 B-传统汤剂 C-缺甘草传统汤剂阴性对照

图1 样品HPLC图

2.967, $r = 0.9999$, 甘草酸单铵盐在 $0.442 \sim 2.664 \mu\text{g}$ 间浓度与峰面积的线性关系良好, 结果见表 1。

6. 稳定性实验

精密吸取供试液各 $5 \mu\text{l}$, 每 2h 测定一次, 各测 5 次, 结果见表 3, 说明样品在 8h 内稳定。

7. 重复性实验

同一样品按上述方法进行 5 次平行实验, 结果见表 4。

8. 加样回收实验

取同一批样品各 9 份, 按高、中、低剂量, 取适量样品, 加入一定量的对照品, 按上述条件进行制备、处理, 并按色谱条件项下进行测定, 计算回收率, 结果见表 5。

结果表明, 本法具有较好的加样回收率。

9. 样品含量测定

精密吸取传统汤剂和缺石膏的传统汤剂各 $10 \mu\text{l}$ 进样, 用外标法计算传统汤剂和缺石膏的传统汤剂中甘草酸的含量, 每付麻杏石甘汤中甘草酸的含量以 3 次测得的平均值计, 处理结果见下表 6。

对传统汤剂和缺石膏的传统汤剂中甘草酸的 3 次测得的结果进行 Fisher 小样本非参数随机化测验^[4], 结果表面传统汤剂和颗粒汤剂中甘草酸含量之间平均数差异的显著水平 $p = 0.050000$, 达到显著水平 ($p \leq 0.05$), 说明传统汤剂和颗粒汤剂中甘草酸的含量存在显著差异。

四、讨论

通过统计学处理, 缺石膏的

麻杏石甘汤传统汤剂的甘草酸含量与上述传统汤剂中甘草酸含量间有着显著性的差异, 缺石膏的麻杏石甘汤传统汤剂的甘草酸含量高于麻杏石甘汤传统汤剂中甘草酸含量。说明石膏对甘草酸含量有一定的降低作用。而这是与在重用石膏的情况下, 处方偏重于止咳平喘, 具有宣肺而不助热, 清肺而不留邪的功效有关, 还有待药效学的进一步研究探讨。

表 1 甘草酸线性关系考察

列数	1	2	3	4	5	6
进样量 C(μg)	0.442	0.882	1.324	1.762	2.211	2.664
峰面积 A	315.38657	627.52222	943.74316	1258.64856	1573.24548	1890.91138

表 2 甘草酸精密测定结果

	1	2	3	4	5	6	RSD
峰面积	1577.96899	1573.76257	1571.96826	1569.82214	1572.03821	1569.01697	0.20%

表 3 甘草酸稳定性测定结果

	1	2	3	4	5	RSD
峰面积	673.67719	680.08649	686.58948	681.71082	674.38092	0.79%

表 4 甘草酸重复性测定结果

	1	2	3	4	5	RSD
含量(mg/g)	9.1674	9.7347	9.6118	9.6167	9.6682	2.35%

表 5 甘草酸加样回收测定结果

药材称样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得值(mg)	加样回收率	平均值	RSD
0.1227	1.1730	0.76	1.9147	97.59%		
0.1233	1.1787	0.76	1.9483	101.26%	100.62%	2.74%
0.1209	1.1558	0.76	1.9386	103.00%		
0.1255	1.1998	1.13	2.2975	97.14%		
0.1226	1.1721	1.13	2.2942	99.30%	97.17%	2.19%
0.1237	1.1826	1.13	2.2569	95.07%		
0.1206	1.1529	1.59	2.7215	98.65%		
0.1279	1.2227	1.59	2.8583	102.87%	99.63%	2.89%
0.1249	1.1940	1.59	2.7422	97.37		

表 6 麻杏石甘汤传统汤剂和缺石膏的传统汤剂中甘草酸的含量(mg/g)

甘草酸含量	1	2	3	X $\pm$ S	RSD
传统汤剂	9.6118	9.6167	9.6682	9.6322 $\pm$ 0.0312	0.32%
缺石膏的传统汤剂	10.0681	10.4111	10.5798	10.3530 $\pm$ 0.2608	2.52%

参考文献

- 1 陈雪梅, 麻杏石甘汤中石膏用量的重要性, 四川中医, 2001, 19 (2): 78.
- 2 聂惠民, 《伤寒论》方药解析, <http://2728.cn/n9120c40.shtml>,

2005, 04.

- 3 药典委员会, 中华人民共和国药典(2005 年版第一部), 北京: 化学工业出版社, 2005, 1.
- 4 Tang, Q. Y., and Feng, Practical Statistics and DPS Data Processing System. Beijing: China Agricultural Press. M. G. 1997.

A Preliminary Study of Gypsum's Effects on Glycyrrhizic Acid in Maxingshigan Decoction

Wu Kongyun, Liang Guangyi

(Guizhou Key Laboratory of Chemistry for Natural Products under Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

He Zhuoying, Jin Fengyun, Li Xing, Feng Hua

(Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

We studied the effects of gypsum on glycyrrhizic acid concentration in Maxingshigan Decoction. In the study, HPLC was employed to determine acid concentrations in both traditional decoctions with and without gypsum. The measurement was made at an ODS column and a mobile phase of methanol-0.2mol/Lammonium acetate-glacial acetic acid (67:33:1). The detection wavelength was set at 250nm. Test results showed that the glycyrrhizic acid concentration reached 10.3530mg/g in the Maxingshigan Decoction without gypsum, and 9.6322mg/g in the traditional decoction with gypsum. The study adds evidence to the fact that gypsum is able to reduce the glycyrrhizic acid concentration in Maxingshigan Decoction, though to a limited extent.

Keywords: Gypsum Fibrosum; glycyrrhizic acid; Maxingshigan Decoction; HPLC

(责任编辑:王 瑀, 责任译审:邹春申)

我国科学家发现抑制败血症休克的新机制

最近,中科院上海生命科学研究院的科学家发现,在先天性免疫系统中有一个非常关键的调控分子,它能有效调控机体内的免疫应答信号通路,形成既有效、又不过度的免疫平衡状态。这项成果能够推动败血症休克等疾病的治疗研究。

这项研究是由中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所孙兵研究组进行的。最新一期的国际知名学术期刊《自然免疫》报道了这一成果。

败血症休克是感染引起的一种严重的炎症状态,往往能导致近 50% 的死亡率。其原因在于,在感染过程中,如果人体内一种叫做“TLR 受体信号通路”过度活化,将导致产生过量的炎性细胞因子,过量的炎性细胞因子反而危害人体,导致休克。

科学家表示,正常的免疫应答对机体抵抗感染是非常必要的,而过度的免疫应答又会对机体产生损害。在免疫应答启动后发挥限制作用,而不是抑制免疫应答的发生,这一点对机体非常

关键。

中国科学家此次正是在免疫应答的平衡机制方面取得新发现。通过研究小鼠的休克模型,孙兵研究组的博士生施木德和邓位文发现,引起败血症休克的主要免疫应答信号(即 TLR 信号通路)能被一个叫 TRIM30-a 的分子所抑制。这种分子在炎症的初始阶段被诱导产生。

经过一系列的信号传递,对致炎因子的产生起到明显的抑制作用。尽管这部分工作主要是在小鼠模型上取得的,但对人类身上发生的类似的免疫应答调控也有重要的指导性意义。

这个课题的主要参加者还有浙江大学的项春生教授,他用 DNA 芯片技术在筛选特定基因的研究中,做出了重要的贡献。此外,上海生命科学研究院实验动物中心、生化与细胞所动物实验技术平台和其他多位教授也对这个课题进行了支持。(文 摘)