

南寒水石炮制工艺及药效学初探

陈朝军, 陆景坤*, 高甜, 王芳, 张斌, 毅和
(内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010010)

[摘要] 目的: 优选南寒水石的炮制工艺, 并对其药效进行初步研究。方法: 通过四因素三水平的正交试验, 以煨后性状和 CaCO_3 含量作为观测指标对炮制方法进行评估。动物分为模型组、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 雷尼替丁组、 $360.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 洁白丸成药组、 $334.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 去寒水石洁白丸组、 $26.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 河南产、浙江产和新疆产南寒水石组, 分别灌胃给予相应药物连续 7 d 后, 幽门结扎法建立大鼠胃液分泌增加模型, 观察寒水石对大鼠胃液分泌量、pH 值和胃液酸度的影响。结果: 南寒水石炮制后性状以质酥, 色白, 触及为细粉状为指标, 其最佳工艺条件为粉碎粒度为粉末(过 20 目), 温度为 $1\ 000\ ^\circ\text{C}$, 时间为 1.5 h; 除浙江产南寒水石对胃液排出量无影响外, 南寒水石各组 and 去寒水石洁白丸组均能显著引起幽门结扎大鼠胃液分泌量减少, pH 增加, 胃液总酸度和 1 h 酸排出量下降; 洁白丸组除可增加 pH 以外对其他指标无影响, 河南产南寒水石药效最优, 浙江产南寒水石表现欠佳。结论: 南寒水石对大鼠胃液分泌有抑制作用, 且不同产地南寒水石药效有所不同。

[关键词] 南寒水石; 炮制; 药效

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0191-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121029.1138.001.html>

[网络出版时间] 2012-10-29 11:38

Processing Technology and Pharmacodynamics of Hanshuishi

CHEN Zhao-jun, LU Jing-kun*, GAO Tian, WANG Fang, ZHANG Bin, YI He
(Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010010, China)

[收稿日期] 20120617(005)

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2008BAI55B02-16); 内蒙古自治区教育厅高等学校科学研究项目(NJ09110)。

[第一作者] 陈朝军, 教授, 从事无机化学研究, Tel: 13804746319, E-mail: chenchaojun18@163.com

[通讯作者] * 陆景坤, 硕士, 副研究员, 药理毒理学, Tel: 15248156805, E-mail: lujingkun909@sina.com

明显升高, 导致 CaMK 信号转导通路亢奋, 加味温胆汤可能通过抑制海马神经细胞 Ca^{2+} 大量内流, 阻止其超载, 抑制 CaMK 信号转导通路活性, 改善神经可塑性而发挥其抗抑郁效应。

[参考文献]

[1] Maclennan D H. Ca^{2+} signaling and muscle disease[J]. Eur J Biochem, 2000, 267(17): 5291.
[2] 王树荣, 王欣. 细胞内 Ca^{2+} 浓度的调节[J]. 中华现代中西医杂志, 2004, 2(8): 692.
[3] 刘冰. 中枢神经系统钙稳态紊乱与神经损伤的研究进展[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2006, 33(4): 193.
[4] 郭晓云, 江开达. 慢性轻度应激抑郁动物模型研究进展[J]. 国际精神病学杂志, 2007, 34(6): 216.
[5] 赵宇. 盐酸氟西汀调控神经干细胞信号通路及下游

基因表达的实验研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2009.

[6] 陈嘉, 董文心. 抑郁药物对海马神经元保护作用的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(6): 441.
[7] 耿战辉, 程义勇, 洪燕, 等. 心理应激时大鼠海马神经元的钙状态变化及锌的作用研究[J]. 营养学报, 2003, 5(1): 65.
[8] 牛玉杰, 石年. 溴氰菊酯对大鼠神经细胞内游离钙的影响[J]. 卫生毒理学杂志, 2001, 15(4): 216.
[9] 徐金影, 刘寿先. 抑郁大鼠海马神经元损伤及其机制[J]. 咸宁学院学报: 医学版, 2006, 20(4): 302.
[10] 钟晓明, 毛庆秋, 黄真, 等. 苏郁胶囊对慢性应激抑郁模型大鼠海马神经细胞凋亡的影响[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(8): 733.

[责任编辑 聂淑琴]

[Abstract] Objective: To optimize the processing technology of Hanshuishi and obtain the basic pharmacodynamic parameters. **Method:** An orthogonal experiment of four factors and three levels was conducted to evaluate the Hanshuishi processing technology, and the characters of calcined products and CaCO_3 content were used as observation indexes. The animals were divided into model group, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Ranitidine group, $360.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Jiebai Wan group, $334.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ the Jiebai Wan removed Hanshuishi group, $26.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ henan Hanshuishi, zhejiang Hanshuishi and xinjiang Hanshuishi groups, Pylorus-ligated rat model was applied to observe the effect on gastric juice volume, acidity and pH value of the rats subjected to intragastric administration. **Result:** The processed traits of Hanshuishi were crisp, white color and powder. The optimum conditions of the Hanshuishi were particle size of powder (20 mesh), temperature of $1\ 000\ ^\circ\text{C}$, time 1.5 h; In addition to the 13th sample produced in Zhejiang, the other Hanshuishi groups and the Jiebai Wan group removed Hanshuishi could significantly decrease the volume, total acidity and 1 h acid excretion of gastric juice of experimental rats and increase pH value; Except of increasing the pH value, Jiebai Wan group had no effect, The efficacy of henan *Hanshuishi* was optimal and the Zhejiang one had a poor performance. **Conclusion:** Hanshuishi inhibited gastric secretion of rats; moreover, the efficacy of Hanshuishi from different areas has slightly different.

[Key words] Hanshuishi; processing; pharmacodynamics

南寒水石为蒙、藏医方剂中常用矿物药,主产于我国的河南、安徽、江苏、浙江等地,为碳酸盐矿物三方晶系方解石,菱面体,也有呈柱状或板状,多为无色或乳白色,如有混入物,则呈灰、黄、玫瑰、红、褐等色彩,主含碳酸钙(CaCO_3),加稀盐酸产生大量气体。生品具有平喘、化痰、下乳作用,煅品具有杀菌、消毒、收敛的作用,临床多以煅制品入药^[1-3]。2010年版药典^[1]藏族验方洁白丸中添加平制的南寒水石,洁白丸用于胸腹胀满,胃脘疼痛,消化不良,呕逆泄泻,小便不利。2010年版药典^[1]附录Ⅲ收载有寒水石平制、奶制两种方法,但仅有简单说明,对炮制的时间、温度、粒度等均无明确规定,相关的药效学研究也未见报道。我们在前期的研究中发现目前市场上药用的南寒水石基源比较混乱,据此,本文以正交实验法,以煅后性状及 CaCO_3 含量作为观测指标,对南寒水石炮制工艺进行优选;并就 3 种产地的南寒水石炮制品的药效进行初步探究,以期在南寒水石的应用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 SX2-4-10 型箱式电阻炉(天津中环), PHS-25 型 pH 计(上海精密雷磁仪器), BS224S 型电子天平(北京赛多利斯), SKG-02 型电热恒温干燥箱(黄石恒丰), 新芝/SC-15 型数控超级恒温槽(广州飞迪), TU-1901 型双光紫外-可见分光光度计(北京普析), H1850 型高速离心机(湖南湘仪)。

1.2 动物 清洁级 Wistar 大鼠 56 只, 体重(200 ± 20)g, 雌雄各半, 购自内蒙古大学实验动物中心, 许可证号 SCKX(蒙)2002-0001。

1.3 药品及试剂 南寒水石 12, 13, 20 号样均购自安徽亳州市中药饮片厂, 产地分别为河南、浙江、新疆; 洁白丸、去寒水石洁白丸依照 2010 年版药典^[1]自制, 其中洁白丸中添加 13 号南寒水石煅制品, 所需中草药均购于呼和浩特市京远大药房; 雷尼替丁(河北永丰药业有限公司), 福林-酚试剂(上海润成生物科技有限公司), 小牛血清白蛋白(中国科学院上海生物化学研究所), 酪氨酸(北京医药站); 其他试剂均为国产分析纯; 伊利脱脂牛奶购自呼和浩特市美特好超市。

2 方法

2.1 南寒水石炮制工艺

2.1.1 正交设计方案 实验选用 $L_9(3^4)$ 正交表设计方案, 以南寒水石粒度、煅制温度、煅制时间作为考察因素, 每个因素各选 3 个水平, 见表 1。

表 1 炮制工艺因素水平

No.	粉碎粒度 (A)	煅制温度/ $^\circ\text{C}$ (B)	煅制时间 /h (C)
1	小块(约 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$)	800	0.5
2	粉末(过 20 目)	900	1.0
3	粉末(过 100 目)	1 000	1.5

2.1.2 炮制条件 将 13 号样品处理成所需粒度(处理时注意不要带进外源杂质)后, 以一定厚度置坩埚内, 放入马弗炉中间, 按实验设制煅制时间和温度。煅完后打开马弗炉, 降至 $200\ ^\circ\text{C}$ 左右取出, 立即投入足量双蒸水中, 加盖, 淬酥, 取出置阴凉处干燥,

称重,辨别其性状,检测炮制品钙含量。

2.1.3 观察指标^[4-5] 煨后性状:炮制至酥,色白,触及成细粉状为宜。根据性状变化特征划分为2个指标。质地:黏结3分(与煨前没有太大区别,需用力才能捻碎)、较脆6分(需稍稍用力才能捻碎)、酥脆9分(一碰即成松散状),松散12分(一碰即成细粉状);色泽:色灰3分,色黄3分,色白6分,分别给分。

2.1.4 样品中 CaCO₃ 含量测定^[1] 取南寒水石生品、炮制品细粉约0.2 g,精密称定,按照2010年版药典一部石膏项下含水硫酸钙检测方法检测。

2.2 对幽门结扎大鼠胃液分泌的影响^[6-7]

2.2.1 受试样品的制备 依据2.1炮制工艺研究结果制备12,13,20号样炮制样品,淬酥时将蒸馏水换成脱脂牛奶,既得平制南寒水石样品。所有受试样品分别粉碎过200目筛(微粒直径0.75 μm)后用5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制成混悬液。

2.2.2 动物分组及给药 将大鼠按体重随机分为模型组(5%羧甲基纤维素钠)、阳性对照组(雷尼替丁100 mg·kg⁻¹)、洁白丸成药组(360.4 mg·kg⁻¹)、去寒水石洁白丸组(334.3 mg·kg⁻¹)、南寒水石12号组(26.1 mg·kg⁻¹)、13号组(26.1 mg·kg⁻¹)和20号组(26.1 mg·kg⁻¹),共7组。每组8只,ig给药体积均为10 mL·kg⁻¹,溶媒均为5%羧甲基纤维素钠,给药共7 d,末次ig后空腹,禁食自由饮水。

2.2.3 检测指标 各组动物禁食48 h后,戊巴比妥钠(0.5%)腹腔注射麻醉大鼠,自胸骨剑突下沿腹中线切开腹壁,切口1 cm左右,暴露胃,结扎幽门,并立即经十二指肠给予相应药物,缝合切口。禁食、禁水,5 h后脱颈椎处死,结扎贲门取胃,胃液收集于离心管内,以3 000 r·min⁻¹离心5 min后,精确称量胃液量,测定胃液分泌量,测定胃液pH,酸碱中和滴定法测定胃液总酸度,并计算1 h总酸排出量。

2.3 统计分析 炮制工艺研究部分用正交方差分析,药效研究部分计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析,组间比较用 t 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 正交实验 最佳工艺条件为A₂B₃C₃,即粉碎粒度为粉末(过20目),温度为1 000 ℃,时间为1.5 h。结果见表2~3。

3.2 不同产地南寒水石炮制品对幽门结扎大鼠胃液分泌的影响 与模型组相比,雷尼替丁阳性组能显著抑制胃酸分泌量,降低总酸度,减少1 h总酸排出量($P < 0.01$),增加胃液pH($P < 0.01$);12,13,20

表2 正交试验结果分析

实验号	列号				性状分 (X)	Ca含量 (y)/%	综合分
	A	B	AB	C			
1	1	1	1	1	6	102.65	0.741
2	1	2	2	2	6	125.33	0.836
3	1	3	3	3	12	119.65	1.123
4	2	1	2	3	12	117.35	1.113
5	2	2	3	1	9	122.21	0.978
6	2	3	1	2	12	123.96	1.141
7	3	1	3	2	15	119.43	1.277
8	3	2	2	3	9	122.23	0.978
9	3	3	1	1	6	119.65	0.812
I	2.703	2.956	2.698	2.594			
II	3.153	2.988	3.063	3.175			
III	3.144	3.056	3.239	3.231			
极差	0.450	0.100	0.542	0.636			

注:综合分 = X/X均 < 50% + Y/Y均 < 50%。

表3 方差分析

方差来源	自由度	SS	MS	F	P
总变异	8	0.181 328			
A	2	0.049 498	0.024 749	0.61	<0.05
B	2	0.021 946	0.010 973	0.27	>0.05
C	2	0.109 884	0.054 942	1.63	>0.05
误差	2	0.080 529	0.040 264		

注: $F_{0.05}(2,8) = 4.46$; $F_{0.01}(2,8) = 8.65$ 。

号南寒水石组与模型组比较pH均显著增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),总酸度,1 h排酸量均显著降低($P < 0.01$),12,20号组胃液量显著低于模型组($P < 0.01$);去寒水石洁白丸组与模型组相比,胃液pH显著高于模型组,胃液量,总酸度和1 h排酸量显著低于模型组($P < 0.01$);洁白丸全方组与模型组相比,对胃液量、胃液pH和总酸度无显著影响,仅能显著降低1 h排酸量($P < 0.05$)。12号组胃液pH显著高于13,20号组,胃液量,总酸度和1 h排酸量显著低于13,20号组($P < 0.01$),20号组胃液pH显著高于13号组,胃液量,总酸度和1 h排酸量显著低于13号组($P < 0.01$);去寒水石洁白丸组与洁白丸全方组相比,胃液量,总酸度和1 h排酸量显著低于洁白丸组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),见表4。

表 4 寒水石对小鼠胃液分泌的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	胃液量/mL	pH	总酸度/mmol·L ⁻¹	总酸排出量/mmol·L ⁻¹ ·h ⁻¹
模型	-	4.81 ± 0.76	1.44 ± 0.16	9.83 ± 0.80	9.46 ± 1.78
雷尼替丁	100	0.83 ± 0.50 ²⁾	6.16 ± 0.36 ²⁾	1.37 ± 0.20 ²⁾	0.24 ± 0.18 ²⁾
12 号样	26.1	1.23 ± 0.64 ²⁾	5.05 ± 0.33 ²⁾	1.43 ± 0.12 ²⁾	0.36 ± 0.20 ²⁾
13 号样	26.1	4.94 ± 0.61	1.83 ± 0.38 ¹⁾	6.63 ± 1.51 ²⁾	6.49 ± 1.37 ²⁾
20 号样	26.1	3.07 ± 1.12 ²⁾	4.12 ± 0.48 ²⁾	1.70 ± 0.13 ²⁾	1.05 ± 0.38 ²⁾
洁白丸	360.4	5.15 ± 0.54	1.99 ± 1.53	7.96 ± 3.74	8.11 ± 3.58 ¹⁾
去寒水石洁白丸	334.3	3.37 ± 0.63 ²⁾	2.29 ± 0.31 ²⁾	4.86 ± 0.96 ²⁾	3.20 ± 0.53 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01。

4 讨论

天然矿物药往往不是单一的矿物,炮制目的在于提高矿物药的疗效和生物利用度,减少或除去有害元素,降低矿物药的毒副作用,减缓药性^[8-9]。适宜的炮制方法才能使有效成分充分发挥作用。在高温条件下南寒水石可能发生了分解,成分发生了变化,部分分解成氧化钙^[10],奶淬后有可能生成羟基钙,课题组前期研究发现南寒水石在体外模拟的人工胃液中水淬制品溶出度低于生品,说明在胃内酸性条件下,溶出度有很大程度降低,有可能在胃体表面形成了保护膜,从而起到保护胃黏膜的作用^[11]。本实验通过正交设计规范了南寒水石的炮制方法,最佳工艺条件为粉碎粒度为粉末(过 200 目筛),温度为 1 000 ℃,时间为 1.5 h。

本次实验药效学研究表明,南寒水石炮制品对幽门结扎大鼠胃液分泌均有不同程度的影响,不同产地南寒水石表现有所不同,河南产 12 号南寒水石优于新疆产 20 号和浙江产 13 号南寒水石,尤其 13 号南寒水石表现欠佳,这可能是因为这几种样本虽然主成分相同,但伴生物质有所不同,药效的发挥可能是伴生物质与主成分共同作用的结果;洁白丸对胃液分泌的调节并不显著,说明方剂中有些成分与南寒水石成分可能有相反的作用,抑制了南寒水石的药效,去寒水石洁白丸仍然有调节胃液分泌的作用,可能是因为方剂中其他成分也有类似作用;由于南寒水石多应用在蒙、藏药中,以炮制品入药,其用药方式多为未经煎煮直接入药,因此本实验选用了炮制后不经提取直接应用,以参考其临床用药方式。通过研究我们认为不同产地南寒水石色泽,质地,外观形态、及相应的药效都略有区别,其机制和有效成

分还有待进一步研究。在我们的调研研究中发现寒水石的存在基源混乱及炮制方法不规范等情况,应对寒水石的应用做进一步规范管理。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:602,附录 23,25.

[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 蒙药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,2004:55.

[3] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海:上海科技出版社,2005:3391.

[4] 孟根巴根. 蒙药寒水石的炮制沿革探析[J]. 内蒙古民族大学学报. 2007,13(5):56.

[5] 巴图,娜仁花. 寒水石的常用炮制方法及其作用[J]. 中国民族民间医药杂志,2002,总(55):101.

[6] 李平,聂坚,楚五更,等. 蜂胶胃三联预防幽门结扎型大鼠胃溃疡[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):215.

[7] 柴剑波,李冀,毕珺辉,等. 大黄黄连泻心汤、理中丸对幽门结扎型及醋酸涂抹型胃溃疡寒、热证大鼠模型的药效学比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):134.

[8] 李秀安. 浅谈矿物药的特点及炮制目的[J]. 青海医药杂志,1997(4):60.

[9] 赖珺,廖正根,杨明福,等. 生物利用度的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18):226.

[10] 李明雄,王洪军. 煅制火候对寒水石炮制质量的影响[J]. 湖北中医学院学报,2003,5(2):25.

[11] 陆景坤,陈朝军,周昊菲,等. 寒水石生品、炮制品在人工胃液中的溶出率[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):23.

[责任编辑 聂淑琴]