

相须药对黄芩与黄连分煎液配伍后主要成分含量变化规律研究

★ 赵晓娟¹ 胡律江¹ 郭慧玲¹ 胡志方² (1. 江西中医学院 南昌 330006; 2. 江西中医药高等专科学校 抚州 344000)

摘要:目的:考察黄芩与黄连分煎后两药配伍时主要成分黄芩苷、小檗碱的含量变化规律。方法:黄芩与黄连药材用水分别煎煮提取,分煎液按不同比例配伍,在100℃下加热1h,离心,取上清液,用甲醇稀释过滤。在优化的RP-HPLC条件下进行分析,比较色谱指纹图谱,考察主要成分黄芩苷、小檗碱的相对峰面积变化与配伍比例的关系。结果:黄芩水煎液和黄连水煎液配伍后色谱峰具有加和性,且有新的色谱峰产生。主要成分黄芩苷、盐酸小檗碱的相对峰面积有明显变化。结论:黄芩与黄连分煎液配伍后主要成分黄芩苷、盐酸小檗碱的含量各有不同的影响,成分含量较高的最佳配伍比例分别是1:2和1:3。

关键词:黄芩;黄连;相须药对;分煎;配伍

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A

Research on Compatibility of Scutellaria and Goldthread by sub-frying

ZHAO Xiao-juan¹, HU Lv-jiang¹, GUO Hui-ling^{1*}, HU Zhi-fang²

1. Jiangxi University of TCM, Nanchang, 330006;
2. Jiangxi College of TCM, Fuzhou 344000

Abstract: Objective: To investigate the sub-baicalin and berberine drug combination fried when two major components of baicalin and berberine content changes. Methods: baicalin and berberine herbs decoction water extraction, respectively, at different ratio of decoction combined, heated at 100℃ under 1 h, centrifuged and the supernatant taken, diluted with methanol filter. In the optimized conditions of RP-HPLC analysis of chromatographic fingerprint comparison, examining the major components of baicalin, berberine changes in the relative peak area ratio and the compatibility relations. Results: Scutellaria and Coptis Decoction Decoction combined with the increase after the peak and sexual, and new peaks arise. Main component baicalin and berberine hydrochloride in the relative peak area has changed significantly. Conclusion: Scutellaria Decoction with Coptis hours after the main component of combination of baicalin, berberine hydrochloride have different impact on the best ingredients combined with higher levels of the ratio of 1:2 and 1:3, respectively.

Key words: baicalin, berberine; drugs which work together; sub-frying, compatibility

药对又称对药,是临床用药中相对固定的两味药物的配伍形式,在方剂配伍中能起到相辅相成的作用。基于药对这种方剂配伍的基本形式,在临床研究中,许许多多的灵验新方由此而衍生出来。由于研究单味药难以反映出其在复方中的真实作用,而复方由于药味多,作用关系复杂,对其研究也难以得出准确结论。“药对”作为方药配伍中的雏形,对其研究恰好可以弥补上述研究的不足。《神农本草经》于两药配伍效应上便记载有:药“有相须者,有相使者,有相畏者,有相恶者,有相反者,有相杀者”。在运用方式上,经文建议“当用相须、相使者良,勿用相恶、相反者”。本文选用相须药对黄芩与黄连,研究其配伍过程中主要成分的变化规律,对研

究中药物质基础,弄清中药配伍规律具有重要的意义,以便科学地指导临床应用。

黄芩^[1]为唇形科植物(Scutellaria baicalensis Georgi)的干燥根,主要含有黄芩苷、次黄芩素等黄酮类化合物,具有清热燥湿、泻火解毒、止血安胎的功效。黄连^[2]为毛茛科植物黄连(Coptis chinensis-Franch)的干燥根茎,是常用中药。其性寒味苦,主要含有小檗碱、巴马汀、药根碱等生物碱,具有抗菌消炎、降压、抗溃疡、抑制胃液分泌等作用。二药皆苦寒,黄芩具凉血安胎之功,黄连有清热止呕之能,两药配对,可清热安胎。另外有研究表明黄连与黄芩配伍后可拮抗黄连对红细胞的损害作用。在临床应用中,黄芩和黄连配伍的处方较多,为了消除药材

在共煎过程中产生相互作用,本试验设计了黄芩和黄连药材先分煎,然后再用分煎液配伍的思路,研究配伍后主要成分的含量变化规律,旨在为中药配伍理论提供现代科学依据。

1 仪器与试药

Dionex Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(Dionex UltiMate 3000 Pump、Dionex UltiMate 3000 Variable wavelength Detector),黄芩苷化学对照品(110715-200815,中国药品生物制品检定所),盐酸小檗碱对照品(110713-200208,中国药品生物制品检定所),甲醇(色谱纯),磷酸,去离子双蒸水(实验室自制)。黄芩、黄连药材均购自汇仁药店,经鉴定符合中国药典 2005 版标准^[3]。

2 方法

2.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 迪马公司),流动相:(甲醇:水:磷酸)为(47:53:0.2),洗脱时间:30 min,流速:1 ml/min,柱温 25 °C,检测波长为双波长:280 nm 和 345 nm。

2.2 线性关系考察 精密称取黄芩苷 3.3 mg,用甲醇溶解并定容至 25 ml,摇匀,再分别精密量取 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 ml,置 10 ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,再用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,分别取 10 μl 进样测定,以黄芩苷进样量(X)为横坐标,以峰面积对应值(Y)为纵坐标,得回归方程: $Y = 0.5477X + 0.0023 (r = 0.9992)$ 。黄芩苷在 3.3 ~ 105.6 μg/ml 与峰面积呈良好的线性关系。

精密称取盐酸小檗碱对照品 5.02 mg,用甲醇溶解并定容至 100 ml,摇匀,再分别精密量取 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 ml,置 10 ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,再用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,分别取 10 μl 进样测定,以盐酸小檗碱进样量(X)为横坐标,以峰面积对应值(Y)为纵坐标,得回归方程: $Y = 61.021X + 36.282 (r = 0.9997)$ 。盐酸小檗碱在 1.2518 ~ 40.32 μg/ml 与峰面积呈良好的线性关系。

2.3 供试品溶液的制备^[4,5] 称取黄芩、黄连药材粗粉各 40 g,分别加 8、8、6 倍蒸馏水回流提取三次,并合并滤液定容至 1000 ml,黄芩水煎液和黄连水煎液按表 1 所示体积比例配伍混合后于 100 °C 水浴加热 1 h,冷却后补充损失的水分,离心 5 min(4 000 r/min),分取上清液,用移液管精密移取 0.2 ml 用甲醇定容至 10 ml,再用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,即得供试品。

表 1 黄芩水煎液和黄连水煎液的不同体积配伍比例

配伍比例(体积比)	黄芩水煎液 /ml	黄连水煎液 /ml
1:0	100	0
1:1	50	50
1:2	33.3	66.7
1:3	25	75
2:1	66.7	33.3
2:3	40	60
3:1	75	25
3:2	60	40
0:1	0	100

2.4 测定方法 每次试验取供试品溶液 10 μl 进样,按前述色谱条件进行分析,记录色谱图,计算各色谱峰面积。

2.5 方法学验证 以黄芩水煎液和黄连水煎液 2:1 配伍样品为测定对象,对仪器精密度,实验方法稳定性和重复性进行考察。

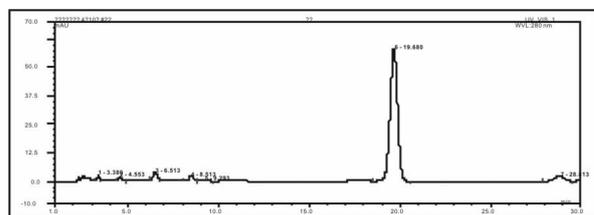
2.5.1 精密度实验 取同一份供试品溶液,连续进样 5 次,各色谱峰保留时间 $RSD \leq 0.6\%$,各色谱峰峰面积 $RSD \leq 1.5\%$ 。

2.5.2 稳定性实验 取同一份供试品溶液,分别在 0、2、4、8、16、24、48 h 等时间进样进行分析,各色谱峰保留时间 $RSD \leq 0.9\%$,各色谱峰峰面积 $RSD \leq 2.1\%$ 。

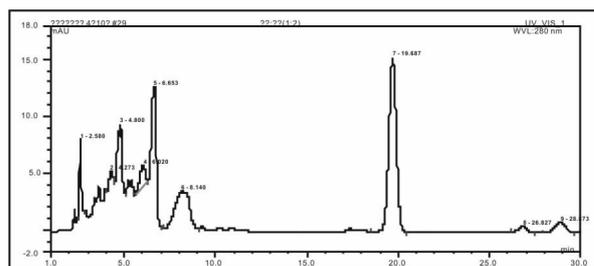
2.5.3 重复性实验 取黄芩水煎液和黄连水煎液 2:1 配伍样品 5 份,分别按上述方法加热,离心,分析,各色谱峰保留时间 $RSD \leq 0.9\%$,各色谱峰峰面积 $RSD \leq 2.5\%$ 。

3 结果

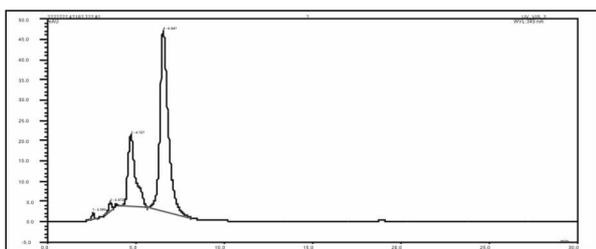
典型样品的色谱指纹图谱参见图 1。比较 A、B、C、D 色谱图可见,黄芩水煎液和黄连水煎液配伍后色谱峰具有加和性,且有新的色谱峰出现。



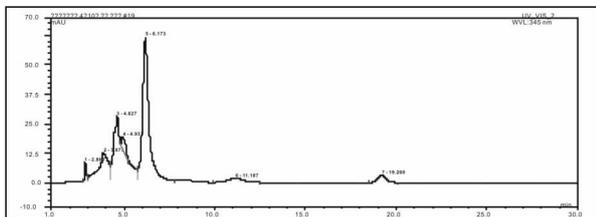
A: 黄芩水煎液样品(280 nm)



B: 黄芩水煎液与黄连水煎液(1:2)配伍后样品(280 nm)



C: 黄芩水煎液样品 (345 nm)



D: 黄芩水煎液与黄连水煎液 (1:3) 配伍后样品 (345 nm)

图1 典型样品的色谱指纹图谱

上述图谱 A、B 为 280nm 时黄芩药材水煎液色谱图和黄芩-黄连水煎液为 (1:2) 配伍时的色谱图, 其中 7 号峰为黄芩苷的色谱峰; C、D 为 345 nm 时黄连药材水煎液色谱图和黄芩-黄连水煎液为 (1:3) 配伍时的色谱图, 其中 5 号峰为盐酸小檗碱的色谱峰。实验结果见表 2、表 3、表 4 和表 5。

表 2 不同配伍比例时黄芩苷的相对峰面积 (n=5)

配伍比例	相对峰面积	折算成含相同生药量的相对峰面积
1:0	28.6776	7.170
1:1	4.6617	2.331
1:2	7.3783	5.535
1:3	4.6127	4.613
2:1	6.2443	2.342
2:3	2.7640	1.728
3:1	14.443	4.814
3:2	7.8420	3.268

表 3 不同配伍比例时盐酸小檗碱的相对峰面积

配伍比例	相对峰面积 (n=5)	折算成含相同生药量的相对峰面积
0:1	24.4639	6.116
1:1	3.7356	1.868
1:2	10.5203	3.945
1:3	17.8274	5.942
2:1	2.8357	2.127
2:3	5.4309	2.263
3:1	2.3075	2.308
3:2	3.0521	1.908

表 4 不同配伍比例时平行进样 5 次所对应的黄芩苷的相对峰面积

实验号	配伍比例						
	1:1	1:2	1:3	2:1	2:3	3:1	3:2
1	4.7052	7.4740	4.6201	6.2443	2.8235	14.7175	7.8326
2	4.7268	7.3031	4.5276	6.1101	2.6883	14.2634	7.5508
3	4.8705	7.3665	4.7176	6.3079	2.7207	14.5108	7.9792
4	4.4623	7.3665	4.5924	6.2157	2.8830	14.4787	7.9972
5	4.5437	7.3814	4.6058	6.1072	2.7045	14.2446	7.8502

表 5 不同配伍比例时平行进样 5 次所对应的盐酸小檗碱的相对峰面积

配伍比例	实验号						
	1:1	1:2	1:3	2:1	2:3	3:1	3:2
1	3.8643	9.9744	17.8274	2.8357	5.4309	2.4152	3.1204
2	3.5345	11.2473	17.5808	3.1101	5.6279	2.2634	3.2142
3	3.9366	10.1024	18.0176	2.8079	5.7207	2.5108	2.9792
4	3.6412	11.0213	17.1086	2.5176	5.0830	2.1035	2.9972
5	3.7014	10.2561	18.6026	2.9072	5.292	2.2446	2.9495

对表 4 和表 5 的数据进行方差分析得: $F = 4195.774 > F_{0.05}(6, 28) = 2.445259$ 和 $F = 1412.646 > F_{0.05}(6, 28) = 2.445259$, 故在显著性水平 0.05 下拒绝原假设 H_0 , 认为黄芩黄连不同比例配伍时对其主要成分黄芩苷和盐酸小檗碱的含量均有显著的差异, 即配伍比例对含量有显著影响。

4 讨论

由于中药材成分比较复杂, 所以对流动相的组成比例进行了考察优化, 优化后的 RP-HPLC 色谱分析方法能使各主要色谱峰得到良好的分离。对上述的黄芩和黄连样品, 在紫外分光光度计上于波长 200~400 nm 处扫描, 结果在 278 nm 处黄芩的吸收度最大, 在 345 nm 处黄连的吸收度最大, 故选择 280 nm 和 345 nm 的双波长为检测波长。

本实验采用相对峰面积方式对黄芩水煎液和黄连水煎液配伍时黄芩的主要组分黄芩苷和黄连的主要成分盐酸小檗碱的含量变化规律进行了研究, 并将所测相对峰面积换算为各样本中所含黄芩和黄连生药量相等时的峰面积进行比较。结果表明: 黄芩水煎液和黄连水煎液配伍后色谱峰具有加和性, 且有新的色谱峰产生; 黄芩与黄连配伍为 1:2 时黄芩苷的含量最高, 为 1:3 时盐酸小檗碱的含量最高。相须药对黄芩与黄连在不同比例配伍时都影响着其主要成分含量, 通过本实验找出了两药的最佳配伍比例, 为临床应用提供科学指导。

参考文献

- [1] 陈建真, 吕圭源. 配伍对黄芩汤中黄芩苷含量的影响[J]. 中国现代应用药学杂志, 2008, 25(3): 205-208.
- [2] 李伟, 宋凤瑞. 毛细管电泳及液相色谱法研究黄连黄芩配伍过程化学成分的变化[J]. 药学学报, 2008, 43(2): 191-194.
- [3] 国家药典委员会编, 中华人民共和国药典 2005 年版一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [4] 黄艳萍, 刘浩. 黄芩与柴胡不同比例配伍黄芩苷水煎出量的比较[J]. 海峡药学, 2007, 19(10): 60-61.
- [5] 陈丽红, 王强. 葛根芩连汤不同配伍对黄芩苷、小檗碱含量的影响[J]. 西北药学杂志, 2008, 20(4): 147-149.

(收稿日期: 2009-06-21)