

复方鱼腥草配方合煎对黄芩苷和绿原酸成分溶出量的影响

刘彬果¹, 杨本明¹, 吕丽君¹, 宓鹤鸣² (1. 中国人民解放军 254 医院药剂科, 天津 300142; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要 目的: 比较复方鱼腥草全方合煎与药材单煎对黄芩苷和绿原酸成分溶出量的影响。方法: 采用高效液相色谱法, 测定黄芩和金银花药材单煎提取物、全方合煎提取物中黄芩苷与绿原酸的含量。结果: 全方合煎中的黄芩苷溶出量比黄芩单煎增加 100%, 相反, 全方合煎中的绿原酸溶出量比金银花单煎降低 25.4%。结论: 复方配伍后煎煮对成分的溶出量有明显影响。

关键词 复方鱼腥草; 黄芩苷; 绿原酸; 高效液相色谱; 配伍

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)03-0208-03

Effect on dissolution of baicalin and chlorogenic acid in Compound Herba Houttuyniae in different combinations

LIU Bin-guo¹, YANG Ben-ming¹, LU Li-jun¹, MI He-ming² (1. No. 254 Hospital of Peoples Liberation Army of China, Tianjin 300142, China; 2. Schools of Pharmacy Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the dissolution of baicalin and chlorogenic acid in decoctions of *Composition Herba Houttuyniae* and simple recipe. **Methods:** The contents of baicalin and chlorogenic acid were determined in decoctions of *Composition Herba Houttuyniae* and simple recipe by HPLC. **Results:** The decoctions of *composition Herba Houttuyniae* were compared with simple recipe: the content of baicalin in the former decreased 100%, and the chlorogenic acid decreased 25.4%. **Conclusion:** Different combinations of complex prescription of Chinese herbal medicine in the form have great influence on the dissolution of chemical component content. **KEY WORDS** *composition herba houttuyniae*; baicalin; chlorogenic acid; HPLC; compatibility

复方鱼腥草片是中国药典(2000版一部)新增品种, 2005年版一部也有收载。本品系由鱼腥草、黄芩、板蓝根、金银花、连翘等五味中药组成, 具有清热解毒之功效; 用于外感风热引起的咽喉疼痛; 急性咽炎、扁桃腺炎有风热征候者^[1]。中药配伍应用是中医用药的基本形式, 历代中医、药学家在漫长的实践中将中药使用配伍规律总结为“君、臣、佐、使”、“七情”、“十八反、十八畏”等宝贵经验, 对指导临床合理用药, 发挥和提高疗效意义深远。现代科学在对中药的研究中发现, 中药配伍对药物药效影响很大。近几年来, 随着各地对中医药研究的深入, 越来越重视中药配伍的研究。药物治疗疾病的物质基础是其中所含的化学成分, 采用化学分析的方法对煎煮前后化学成分含量进行定性和定量研究, 对阐明中药复方的组成规律, 揭示中药作用的本质有其重要作用。如段天璇^[2]等人测定了半夏泻心汤不同配伍情况下小檗碱、巴马丁及甘草酸的含量, 发现不同组合下

三者煎出量不同。中药黄连和黄芩、甘草不同比例单煎液、合煎液小檗碱的溶出量不同^[3], 这些研究为中医组方理论的化学基础进行了有意义的初步探索。本研究针对复方鱼腥草片进行研究, 在改进该制剂制备工艺过程中检测了全方合煎液与黄芩、金银花药材各自单煎液中黄芩苷和绿原酸溶出量^[4]。结果表明, 复方鱼腥草全方合煎时对黄芩苷溶出有明显的增加, 而对绿原酸溶出有所减少。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪, 515 泵, Waters996 检测器, Waters2010 色谱工作站, 安谱公司 BDS (4.6 mm ×250 mm, 5 μm)。

黄芩苷(批号-0715-9909)、绿原酸对照品(批号-0753-200111)购自中国药品生物制品检定所; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 测定样品液的制备

2.1 供试品溶液的制备 按处方各药材配比, 分别

称取黄芩 15.0 g、金银花 5.8 g 全方药材 (鱼腥草 58.3 g、黄芩 15.0 g、板蓝根 15.0 g、金银花 5.8 g、连翘 5.8 g) 各 5 份,加入 20 倍量水,煎煮提取 3 次,每次 1.5 h,合并,过滤,定容于 1 000 mL 量瓶中,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,备用。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取 60 真空干燥至恒重的黄芩苷对照品 2.20 mg、绿原酸对照品 25.75 mg,分别用 50% 甲醇溶解并定容于 25 mL 量瓶中,备用。

2.3 阴性对照液的制备 按处方各药材配比,去除黄芩和金银花,其余药材按样品测定液相同方法制备,作为黄芩苷和绿原酸测定时的阴性对照液。

3 方法学考察

3.1 色谱条件 黄芩苷测定条件^[5]安谱 BDS 柱 (4.6 mm ×250 mm, 5 μm),流动相:甲醇-水-冰醋酸 (45:55:1),流速:1.0 mL/min,柱温:30℃,检测波长:280 nm,进样量 20 μL。绿原酸测定条件^[6]:安谱 BDS 柱 (4.6 mm ×250 mm, 5 μm),流动相:甲醇-水-冰醋酸 (20:80:1),流速:1.0 mL/min,柱温:30℃,检测波长:324 nm,进样量 20 μL。在此色谱条件下记录对照品液、供试品液、阴性对照液色谱图,结果见图 1。表明黄芩苷、绿原酸色谱峰分离良好,无杂质干扰,达到定量要求。

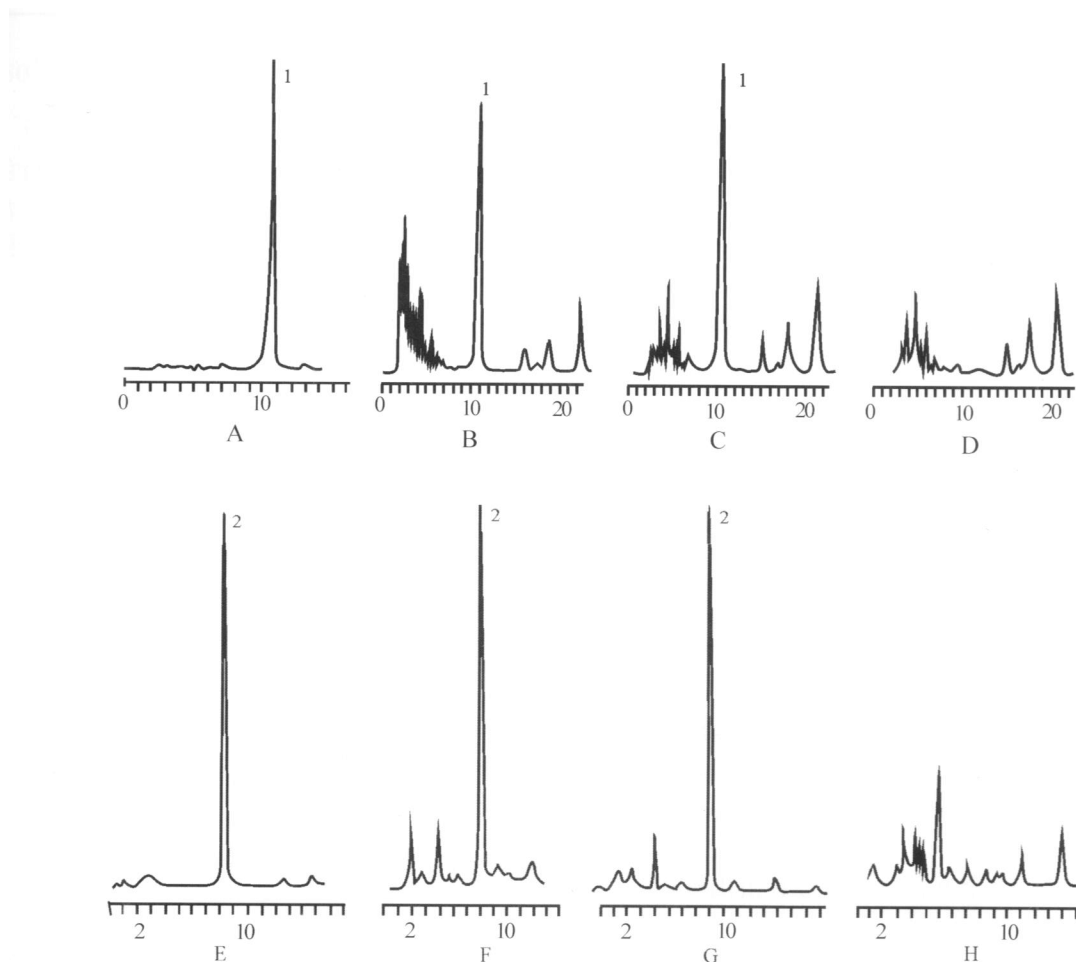


图 1 对照品及样品溶液色谱图

A 黄芩苷对照品液色谱图; B 黄芩药材样品液色谱图; C 全方样品液色谱图 (280 nm); D 缺黄芩全方液色谱图;
E 绿原酸对照品液色谱图; F 金银花药材样品液色谱图; G 全方样品液色谱图 (324 nm); H 缺金银花全方液色谱图。
1 黄芩苷色谱峰; 2 绿原酸色谱峰

3.2 标准曲线的绘制 取黄芩苷、绿原酸对照液,分别配成浓度

$C_{\text{黄芩苷}} = 2.75, 5.49, 10.99, 21.97, 43.94, 87.88 \mu\text{g/mL}$;

$C_{\text{绿原酸}} = 3.22, 6.44, 12.88, 25.75, 51.5, 103 \mu\text{g/mL}$ 的溶液。

依次测定,以色谱峰面积积分值对浓度回归,回归方程:

$A_{\text{黄芩苷}} = 50.181C - 167.729$ ($r=0.9990$), 线性范围: $2.20 \sim 87.88 \mu\text{g/mL}$;

$A_{\text{绿原酸}} = 96.726C - 97.362$ ($r=0.9992$), 线性范围: $3.22 \sim 103 \mu\text{g/mL}$ 。

3.3 重复性试验 按处方量精密称取全方样品,按上述方法制备并测定,结果黄芩苷日内 $RSD = 0.17\%$ ($n=5$);绿原酸日内 $RSD = 1.6\%$ ($n=5$);黄芩苷日间 $RSD = 3.8\%$ ($n=5$);绿原酸日间 $RSD = 2.4\%$ ($n=5$)。

3.4 加样回收率试验 按处方量精密称取已知黄芩苷和绿原酸含量的全方样品 5 份,分别精密加入一定量的黄芩苷和绿原酸对照品,按上述方法制备并测定,计算回收率,结果见表 1、2。

表 1 黄芩苷加样回收率试验结果 ($n=5$)

编号	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	14.34	12.25	27.18	104.80		
2	13.87	13.46	26.63	94.80		
3	12.95	12.32	25.00	97.80	98.07	3.7
4	13.46	13.42	26.43	96.65		
5	12.69	13.03	25.32	96.93		

3.5 稳定性试验 供试品溶液在室温下放置不同时间 (0、1、4、8、10、12、24 h) 测定,以黄芩苷色谱峰面积积分值计 $RSD = 1.34\%$;以绿原酸色谱峰峰面积积分值计 $RSD = 2.18\%$ 。表明样品液在 24 h 内基本稳定。

表 2 绿原酸加样回收率试验结果 ($n=5$)

编号	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	6.86	6.32	12.89	95.41		
2	6.44	6.05	12.18	94.88		
3	6.28	6.78	12.75	95.43	95.99	1.3
4	5.93	6.49	12.17	96.16		
5	5.79	6.22	11.89	98.07		

4 样品测定

样品测定 取上述制备的样品测定液进行色谱分析,外标法定量,计算全方合煎和黄芩、金银花药材各自单煎情况下黄芩苷和绿原酸的溶出量,结果见表 3。

表 3 复方鱼腥草合煎与黄芩、金银花单煎对成分溶出量的影响 ($n=5$)

编号	黄芩苷的溶出量 (mg/g药材)		绿原酸的溶出量 (mg/g药材)	
	全方合煎	黄芩单煎 ¹⁾	全方合煎	黄芩单煎 ²⁾
1	27.4	13.4	7.5	9.9
2	28.6	14.6	8.5	11.2
3	28.3	14.3	7.9	10.6
4	27.7	13.2	8.7	11.5
5	28.1	14.7	8.3	9.4
\bar{x}	28.0	14.04	8.18	10.26
RSD (%)	1.7	4.95	5.88	6.03

¹⁾ $P < 0.001$, ²⁾ $P < 0.01$ 单煎与合煎比较。

5 讨论

5.1 与单味药相比,全方合煎使黄芩苷溶出量提高了 100%,而绿原酸溶出量降低了 25.4%。中药复方发挥作用的物质基础是其化学成分,化学成分量的变化直接影响药效,本实验结果对研究不同药物相互作用的化学基础提供初步资料。当然,中药复方是一个复杂的体系,配伍煎煮后各种成分不仅发生物理量的变化,还有可能产生新的物质,溶出度的变化只是体现它药效的一个方面,还应研究不同配伍状况下化学成分溶出度的体内差异。

5.2 另外,在做上述试验的同时,为了进一步验证结果的可靠性,还采用超声提取方法做了验证试验(具体步骤同上),结果除了提取率稍有差异,溶出

度变化结果与上同,进一步验证了试验的可靠性。

参考文献:

- [1] 中国药典 2000年版.一部 [S]. 2000: 523.
- [2] 段天璇,马长华,侯艳霞,等. 半夏泻心汤不同配伍情况下部分化学成分变化 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(5): 363.
- [3] 李建荣,刘岱,高晓山,等. 黄连与黄芩、甘草配伍小檗碱煎出率测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(6): 21.
- [4] 顾苏俊. 近年来有关中药配伍研究的进展 [J]. 药物不良反应杂志, 2000(4): 217.
- [5] 许杨彪. 复方鱼腥草颗粒质量标准研究 [J]. 中成药, 2003, 25(2): 213.
- [6] 郭用庄,廖彩霞,翟旭峰,等. 金银花配方颗粒质量标准的研究 [J]. 中成药, 2002, 24(6): 423.

收稿日期: 2007-09-04