

葛根芩连汤合煎、分煎及共煎对其有效化学成分的影响

王晓军

平凉市人民医院, 甘肃 平凉 744000

[摘要] 目的: 观察葛根芩连汤合煎、分煎及共煎对其有效化学成分的影响。方法: 采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)检测合煎、分煎及共煎提取下葛根芩连汤有效化学成分包括葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀含量的变化。结果: 分煎剂中葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀平均百分含量为1.93%、0.60%、0.14%、0.07%, 明显高于合煎剂及共煎剂, 合煎剂与共煎剂中葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀平均含量差别较小。结论: 葛根芩连汤分煎剂中有效化学元素(葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀)含量较高, 比合煎、共煎质量更优, 合煎与共煎质量相当。

[关键词] 葛根芩连汤; 合煎; 分煎; 共煎; 化学成分

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2016)08-0218-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.08.095

葛根芩连汤出自《伤寒论》, 配伍以葛根为君药, 黄连、黄芩为臣药, 炙甘草为辅药, 主治身热下利, 湿热所致腹泻、痢疾, 是治疗急性腹泻的经典方剂。随着现代医学的发展, 葛根芩连汤广泛应用于内、外、妇、儿等各科病证^[1]。中药复方由于多种药材中含有不同化学成分, 在不同的提取方法下可发生溶解度的改变或产生其他化学反应导致药效不同^[2]。本文主要探究不同提取方式对葛根芩连汤中葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀4种化学成分含量的影响, 以期为葛根芩连汤的临床应用提供实验数据。

1 资料与方法

1.1 仪器 ①反相高效液相色谱仪(深圳辉泰机电设备有限公司)、ME155DU 万分之一电子天平(杭州汇尔仪器设备有限公司)、超声波清洗器(连云港欧倍洁医疗设备有限公司)。

1.2 材料 葛根(产地: 安徽)、黄芩(产地: 河北)、黄连(产地: 四川)、炙甘草(产地: 内蒙古), 均由平凉铸康饮片厂提供。

1.3 标准品 葛根素(批号: 752-200108)、黄芩苷(批号: 715-8501)、盐酸小檗碱(批号: 713-8702)、盐酸巴马汀(批号: 110732-200907), 均由中国药品生物制品检定所提供。

1.4 试剂 甲醇色谱纯(上海振兴化工一厂)、乙醇色谱纯(上海振兴化工一厂)、盐酸分析纯(天津市科密欧化学试剂开发中心)、磷酸分析纯(广东省光华试剂有限公司)。以上各药均按2010版药典方法进行含量测定。

1.5 样品制备

1.5.1 合煎剂(供试品)制备 精密称取葛根8g, 及用

400 mL 蒸馏水浸泡30 min 后先煎20 min, 然后加黄连、黄芩、炙甘草各3g, 继续加热至沸腾, 沸腾30 min 后过滤。药渣再加300 mL 蒸馏水, 加热至沸腾, 沸腾20 min 后过滤, 混合2次滤液, 去渣浓缩, 加蒸馏水调整至中药浓度为0.1 kg/L, 精密吸取1 mL 样品置10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释, 摇匀, 离心10 min 后分出上清液, 即成10 g/L 的汤剂。

1.5.2 分煎剂(供试品)制备 按1.5.1药量精密称取药材, 将4味药材置于不同烧杯中, 分别加100 mL 蒸馏水浸泡30 min 后煎煮20 min 过滤。药渣再加100 mL 蒸馏水煎煮20 min, 然后将4味药材2次的煎煮液混合, 加蒸馏水调整至中药浓度为0.1 kg/L, 精密吸取1 mL 置10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释, 摇匀, 离心10 min 后分出上清液, 即成10 g/L 的汤剂。

1.5.3 共煎剂(供试品)制备 按1.5.1药量精密称取药材, 将4味药材置于同一烧杯中煎煮2次, 时间和加水量同1.5.1, 混合2次滤液, 去渣浓缩, 加蒸馏水调整至中药浓度为0.1 kg/L, 精密吸取1 mL 置10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释, 摇匀, 离心10 min 后分出上清液, 即成10 g/L 的汤剂。

1.5.4 对照品制备 精密称取葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀标准品适量, 分别置于10 mL 的烧杯中, 加甲醇溶解并稀释至一定浓度(葛根素0.7 g/L、黄芩苷0.16 g/L、盐酸小檗碱0.09 g/L、盐酸巴马汀0.03 g/L)作为对照品汤剂。

1.6 色谱条件选择 色谱柱: CAPCELL PAK C18 UG120。流动相及检测波长, 葛根素: 甲醇-水(25:75), 250 nm;

[收稿日期] 2016-04-15

[作者简介] 王晓军(1970-), 男, 副主任中医师, 研究方向: 中药学。

黄芩苷：甲醇-水(47:53)，280 nm；盐酸小檗碱、盐酸巴马汀：乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾(35:65)，270 nm。流速为 1 mL/min，柱温为 25 ℃，柱压为 90-100 Bar。

2 实验方法及结果

2.1 4 种化学成分标准曲线方程及线性方程 见表 1。精密吸取各对照品溶液，按各成分的色谱条件测定峰面积(RSD)，以峰面积值为纵坐标(Y)，对照品进样量(μ L)为横坐标(X)，进行线性回归。

2.2 精密度试验 精密选取葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀对照品汤剂，连续进样 6 次。按各成分的色谱条件测定 RSD 分别为 0.2%~1.7% 之间，表明仪器精密度良好。

2.3 稳定性试验 精密选取葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀供试品汤剂，连续测试 6 次，每次间隔 2 h。按各

成分的色谱条件测定稳定性 RSD 在 0.4%~0.7% 之间，表明在测定时间内 4 种成分稳定性良好。

2.4 重复性试验 精密选取葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀供试品汤剂，依照线性关系与标准曲线连续测定 6 次，以 RSD 计算，重现性 RSD 在 0.5%~0.8% 之间，表明重复性良好。

2.5 加样回收试验 精密选取葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀供试品汤剂，精密加入对照品适量，按供试品溶液制备方法处理，按各成分的色谱条件，并依照线性关系与标准曲线连续测定 6 次，其加样回收率分别为 99.99% (RSD 为 0.49)、100% (RSD 为 0.13)、99.96% (RSD 为 0.20)、99.87% (RSD 为 0.34)。

表 1 4 种化学成分标准曲线方程及线性方程

化学成分	回归方程	相关系数	精密度	稳定性	重复性	线性范围(μ L)	平均回收率(%)
葛根素	$Y=3.1 \times 10^3 X - 3\ 926.4$	0.999 7	1.9	0.4	0.5	1.4- 7.0	99.99
黄芩苷	$Y=5.9 \times 10^2 X - 1\ 05.7$	0.999 5	1.7	0.6	0.5	0.3- 1.6	100
盐酸小檗碱	$Y=6.2 \times 10^2 X - 245.2$	0.999 1	2.0	0.6	0.8	0.2- 0.9	99.96
盐酸巴马汀	$Y=3.3 \times 10^2 X - 1\ 71.9$	0.999 6	1.9	0.7	0.7	0.1- 0.3	99.87

2.6 葛根芩连汤合煎剂、分煎剂及共煎剂 4 种有效成分含量比较 见表 2。分煎剂中葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀平均含量高于合煎剂及共煎剂。合煎剂与共煎剂中 4 种成分含量差别不大。

表 2 葛根芩连汤合煎剂、分煎剂及共煎剂 4 种有效成分含量比较 %

样 品	葛根素	黄芩苷	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀
合煎剂 1	1.62	0.50	0.09	0.03
合煎剂 2	1.80	0.32	0.09	0.05
合煎均值	1.71	0.41	0.09	0.04
分煎剂 1	0.92	0.59	0.15	0.06
分煎剂 2	1.94	0.61	0.13	0.08
分煎均值	1.93	0.60	0.14	0.07
共煎剂 1	1.61	0.52	0.13	0.06
共煎剂 2	1.71	0.49	0.13	0.06
共煎均值	1.66	0.51	0.13	0.06

3 讨论

葛根芩连汤在《伤寒论·太阳篇》中有“以水八升，先煮葛根，减二升，纳诸药，煮取二升，去渣，分温再服”的配制方法记载，也有“葛根解肌于表，芩、连清热于里，甘草则合表里而并和之耳。盖风邪处中，病位在表，一入于里，则变为热矣。故治表者，必以葛根之辛凉，治里者，必以黄连之苦寒也”的药效描述。已有研究证实，该方治疗糖尿病、急性肠

炎、细菌性痢疾等疾病疗效显著^[3]。

本研究采用 RP-HPLC，选用葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀 4 种指标性成分对葛根芩连汤进行含量测定。在其色谱条件下，这 4 种成分与其他成分间均有很好的分离度。方法学考察提示此方法在较大范围内线性关系良好，葛根芩连汤中葛根素、黄芩苷等指标成分含量均在线性范围之内。结果显示，分煎剂中葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀平均含量明显高于合煎剂及共煎剂，合煎剂与共煎剂中葛根素、黄芩苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀平均含量差别较小。因此，临床上推荐分煎制备葛根芩连汤，以便更好地保留其有效化学成分，从而达到提高葛根芩连汤内在质量的目的。另外，葛根芩连汤不同煎剂制备过程中各药物有效化学成分是否会产生拮抗作用，以及煎制方式是否会影响药效的吸收仍有待研究。

[参考文献]

- [1] 张启云，徐良辉，李冰涛，等. 复方葛根芩连汤多效应成分分类整合药代动力学研究[J]. 中国临床药理学与治疗学，2011，16(1): 51- 56.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 北京：化学工业出版社，2000：273- 274.
- [3] 赵林华，姬航宇，冀博文，等. 葛根芩连汤治疗糖尿病理论探讨[J]. 中华中医药杂志，2012，27(2): 280- 283.

(责任编辑：吴凌，刘迪成)