· 药剂与工艺 ·

葛根芩连汤不同配伍对葛根素含量的影响

戴开金,罗佳波,谭晓梅,吴昭晖*
(第一军医大学 中药制剂研究重点实验室,广东 广州 510515)

摘 要:目的 建立 HPLC测定葛根芩连汤各配伍组合中葛根素含量的方法,研究配伍对葛根素含量的影响。方法 采用 $L_8(2^7)$正交设计及统计软件 SPSS10.0统计分析,以 HPLC测定葛根素的含量。结果 黄芩、黄连、甘草对方中葛根素含量的影响差异不存在显著性,两两交互作用差异不具有显著性。实验中观察到凡是黄连与葛根的配伍组合中皆有沉淀产生,并且发现沉淀中含有一定量的葛根素。结论 黄芩、黄连、甘草对葛根素的含量没有显著性影响。含黄连和葛根配伍煎液产生的沉淀中含葛根素可能与 pH值的改变有关。

关键词:葛根芩连汤;配伍;葛根素;高效液相色谱
中图分类号:R283.2;R284.2;R286.02 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2003)06-0506-03

Influence of various compatibilities on puerarin content in Gegen Qinlian Decoction

DAI Kai-jin, LUO Jia-bo, TAN Xiao-mei, WU Zhao-hui
(Key Laboratory of Pharmaceutical Research of TCM, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract **Object** To set up the quantitative method for determining the puerarin in Gegen Qinlian Decoction (GQD) by RP-HPLC and to study the change of puerarin contents in various combinations of GQD. **Methods** $L_8(2^7)$ orthogonal design and statistic analysis (SPSS 10.0) were used, the puerarin contents in the samples were determined by HPLC. **Results** Influence of *Radix Scutellaria*, *Rhizoma Coptidis* and *Radix Glycyrrhizae Preparata* on the puerarin content in GQD was insignificant. And interactions between two of three were insignificant too. In this experiment, puperarin in the sedimentation was found in the compatible decoction of *Rhizoma Coptidis* and *Radix Puerariae*. **Conclusion** The puerarin content is not markedly influenced by *Radix Scutellaria*, *Rhizoma Coptidis* and *Radix Glycyrrhizae Preparata*. Maybe, the change of pH is relevant to the sedimentation in the compatible decoction contained *Rhizoma Coptidis*. and *Radix Puerariae*

Key words Gegen Qinlian Decoction (GQD); compatibility; puerarin; HPLC

葛根芩连汤由葛根、黄连、黄芩、甘草 4味药组成,出自《伤寒论·太阳篇》,有解表清里、升清止利之功,经过长期临床应用,疗效显著。该方配伍对主要化学成分的影响研究报道较少,本实验主要研究了配伍对葛根素含量的影响,并对加入黄连和葛根所产生的沉淀物进行了分析,为从事该方的研究提供一些参考资料。

1 仪器与试药

美国惠普 HP-1100高效液相色谱仪,G1315A紫外-可见光二级管阵列检测器;410A型 pH计(美国 ORION);甲醇(分析纯、色谱纯),乙腈(色谱纯);葛根素对照品(中国药品生物制品检定所);葛根、黄芩、黄连、甘草药材由广东省药材公司提供,经本校中药鉴定教研室刘传明讲师鉴定,分别为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* Ohwi,唇形科植物黄芩 *Scutellaria* baicalensis Georgi 干燥根茎,毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 干燥根茎,豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 干燥根茎(经蜜制)。

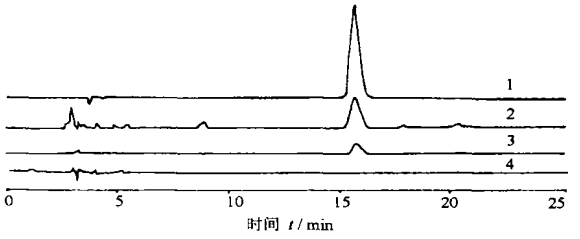
2 方法与结果

2.1 葛根芩连汤中葛根素含量测定方法的建立[1,2]

2.1.1 色谱条件:色谱柱:Zorbax $SB-C_{18}$柱(250 mm×4 mm, 5μm);流动相:甲醇-乙腈-水(12∶8∶80);流速:1.0 mL/min;柱温:室温;检测波长:250 nm。色谱图见图 1

2.1.2 标准曲线:精密称取葛根素对照品约 10 mg,置 50 mL容量瓶中,加流动相溶解,定容制成对照品溶液。精确吸取溶液 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 mL于 10 mL容量瓶中,用流动相定容。以浓度对峰面积进行线性回归,得到方程:$Y = 38.7452X - 2.1845$,

* 收稿日期:2002-09-23
基金项目:国家自然科学基金面上重点项目(39970886)



1-葛根素 2-葛根芩连汤 3-葛根芩连汤沉淀物 4-缺葛根阴性

1-puerarin 2-GQD 3-GQD sedimentation

4-sample without *Radix Puerariae*

图 1 HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms

r= 0.999 9 结果表明葛根素在 10.01~ 160.16 μg /mL线性关系良好。

2.1.3 供试品溶液及缺葛根阴性液的制备[3]: 按处方配比取葛根芩连汤各味药 (葛根 15 g,黄芩 9 g,黄连 9 g,甘草 6 g) 饮片 3份及缺葛根阴性 3份,加水 400 mL,先煎葛根 20 min,余药共煎 30 min,煎两次,趁热粗过滤,合并滤液 90℃ 定容至 1 000 mL,取 10 mL,放冷,加甲醇 35 mL,超声 10 min,过滤,用相同比例醇水溶液洗涤,定容至 50 mL。取 5 mL水浴蒸干,用流动相溶解,定容至 10 mL,膜过滤,即得。每个样品进样 3次,测定,计算得葛根素含量为 0.428 3 g/剂,*RSD* 为 2.02%。

2.1.4 精密度试验: 取葛根素对照品溶液重复进样 5次,葛根素峰面积的 *RSD*= 0.62%。取全方样品液重复进样 5次,葛根素峰面积的 *RSD*= 0.99%。结果表明,精密度较好。

2.1.5 稳定性考察: 取葛根素对照品和样品液各一份,在制备后 4, 8, 12, 16, 24 h 测定葛根素的浓度,其 *RSD* 分别为 0.18%, 0.44%。结果表明在 24 h 内溶液稳定。

2.1.6 回收率试验: 精密量取缺葛根阴性液 10 mL,置 50 mL量瓶中,加入葛根素对照品约 6 mg,按 2.1.3项下"加甲醇 35 mL……"起,同法制得供试样品,进样,测定葛根素浓度,计算回收率。求得平均回收率为 98.97%, *RSD*= 0.55% (n= 4)。

2.2 配伍对葛根芩连汤中葛根素含量的影响: 以黄芩、黄连、甘草为因素,用药和不用药为水平,采用 $L_8(2^7)$ 正交表设计试验,因素水平及结果见表 1, 2。

采用 SPSS10.0统计分析软件,结果表明在 0.05水平下,黄连、黄芩、甘草对葛根素含量的影响差异无显著性 (P 值分别为 0.208, 0.506, 0.208),且两两交互作用影响差异也不显著。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal design

水平	因素		
	A黄芩	B黄连	C甘草
1	用药	用药	用药
2	不用药	不用药	不用药

表 2 $L_8(2^7)$ 正交设计及结果

Table 2 $L_8(2^7)$ orthogonal design and result

试验次数	A	B	A×B	C	A×C	B×C	空白	葛根素含量 /(g·剂-1)
1	1	1	1	1	1	1	1	0.435 6
2	1	1	1	2	2	2	2	0.437 1
3	1	2	2	1	1	2	2	0.463 4
4	1	2	2	2	2	1	1	0.450 8
5	2	1	2	1	2	1	2	0.445 6
6	2	1	2	2	1	2	1	0.446 6
7	2	2	1	1	2	2	1	0.476 1
8	2	2	1	2	1	1	2	0.440 6

2.3 含黄连、葛根煎液的 pH值及沉淀物中葛根素的含量测定: 在实验过程中发现凡含黄连和葛根的各配伍均有沉淀产生,故对沉淀进行考察。各配伍药液的煎法按 2.1.3项下至"…… 合并滤液",滤液放冷,离心,用 pH计测上清液 pH值。沉淀用水洗 3次, 60℃ 干燥至恒重,研细称重,精确称取约 0.05 g,甲醇 40 mL超声提取 0.5 h,过滤,洗涤 3次,定容至 50 mL,取 5 mL吹干,加流动相溶解,定容至 10 mL,微孔滤膜过滤,测定,结果见表 3。

表 3 配伍溶液 pH 值及沉淀中葛根素的含量

Table 3 pH of compatible decoctions and puerarin content in sedimentation

配伍组合	pH值	葛根素含量 /(g·剂-1)
葛根	5.23	< 0.001
黄连	3.73	-
黄连+ 葛根	4.39	0.020
黄连+ 黄芩+ 葛根	4.36	0.029
黄连+ 葛根+ 甘草	4.15	0.072
葛根芩连汤	4.25	0.031

从表 3可以看出,pH值从低到高的顺序为: 黄连煎液的 pH值 <含黄连、葛根配伍煎液的 pH值 <葛根单煎液的 pH值。含葛根与黄连配伍的煎液沉淀物中葛根素含量远大于葛根单煎液。

3 讨论

3.1 实验结果表明黄连与葛根合煎产生沉淀,并且发现沉淀中含有一定量的葛根素,约占煎液中葛根素总量的 5%~ 20%。葛根素沉淀的原因可能是黄连的存在导致合煎液的 pH值降低,降低了葛根素的溶解度,从而在较低温 (90℃ 以下) 下析出。亦有可能是沉淀过程中的包合、夹带所致。产生沉淀的

机制及沉淀物中是否含有新的物质、该物质是否具有药理作用有待进一步的研究。

3.2 本实验采用正交设计及统计软件对该方进行实验设计及分析,结果表明,在 0.05水平下,黄芩、黄连、甘草对葛根素的含量的影响差异无显著性,说明黄芩、黄连、甘草在该汤中对葛根素的含量没有影响,但是由于黄连与葛根合煎能产生沉淀,因此在制剂过程中要加以注意。

3.3 在本实验中所采用的高效液相色谱条件下,各配伍煎液中没有发现新物质的色谱峰。

References:

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
[2] Wu Z H, Tan X M, Luo J B. Determination of puerarin in Gegen Qinlian Micropill by HPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 1999, 5(6): 10-12.
[3] Fan B T. *Pharmacy of TCM* (中药药剂学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1999.

止眩颗粒剂的提取工艺研究

文红梅[1],李 伟[1],彭国平[1],朱 荃[1],张正行[2*]
(1. 南京中医药大学,江苏 南京 210029; 2. 中国药科大学,江苏 南京 210009)

摘 要: 目的 优选止眩颗粒剂的制备工艺。方法 以 23-乙酰泽泻醇 B、白术内酯Ⅰ提取率和固形物得率为指标,采用正交试验法对止眩颗粒剂的提取工艺进行优选,并以小鼠镇静作用的药效学验证。结果 优化工艺为:泽泻、白术先以 12倍量 70% 乙醇分 2次回流提取,每次 2 h;再以 14倍量水分 2次煎煮,每次 2 h。提取物对小鼠有明显的镇静作用。结论 该工艺合理,有效成分提取效率高。

关键词: 止眩颗粒剂;正交试验;23-乙酰泽泻醇 B;白术内酯Ⅰ;镇静作用
中图分类号: R284.2; R286.02; R286.13 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)06-0508-03

Study on extraction technology of Zhixuan Granula

WEN Hong-mei[1], LI Wei[1], PENG Guo-ping[1], ZHU Quan[1], ZHANG Zheng-xing[2]
(1. Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China; 2. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract **Object** To optimize the preparation procedure for Zhixuan Granula (ZXG). **Methods** The optimum extracting conditions of ZXG were selected by orthogonal test with the active components: 23-acetate alisol B, atractylenolide I, and dried extract as the index, it mice sedation of ZXG was clarified by pharmacodynamics. **Results** The optimum preparation procedure was as follows: *Rhizoma Alismatis* and *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* were extracted with alcohol first, adding 12-fold 70% alcohol by refluxing, extracting twice, 2 h once, then extracted with water, adding 14-fold water, extracting twice, 2 h once. The extract showed the obvious effect on sedation of mice. **Conclusion** The optimum preparation procedure is reliable, with higher extracting ratio of the active components.

Key words: Zhixuan Granula (ZXG); orthogonal test; 23-acetate alisol B; atractylenolide I; sedation

止眩颗粒剂处方源于《金匮要略》中的“泽泻汤”,由泽泻和白术两味中药组成。具利水除饮、健脾制水之功,用于饮停心下、头目眩晕、胸中痞满、咳逆水肿等症。由于泽泻中含有泽泻醇类物质,该类成分具有利水渗湿作用,与泽泻主要药效相吻合;白术中含有白术内酯类成分,该类成分与泽泻汤的健脾制水的功效相吻合。又考虑到两味药的水提液中富含多糖、氨基酸等成分。因此,本实验采用正交试验法设计先醇提再水煎工艺,以泽泻、白术的活性成分为指标,再通过药效学试验验证,优化出泽泻、白术共煎的最佳工艺。

1 实验材料

泽泻购于福建省药材公司,经本校中药鉴定教研室王春根教授鉴定,为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎。白术购于浙江省磐安县药材公司,经鉴定为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎,符合《中华人民共和国药典》标准。

* 收稿日期: 2002-12-13
基金项目: 国家中医药管理局青年基金项目 (97Y014)
作者简介: 文红梅 (1965-),女,山东蓬莱人,副教授,中国药科大学 2000级博士生,从事药物分析研究。Tel: (025) 6798188