

间,从而提高萃取速率;另一方面微波作用于溶剂,不仅加热了溶剂,而且提高了溶剂的活性,使其能更多地溶解有效成分。正是微波的这些热效应和非热效应加速了萃取过程。

3.4 对于传统的醇提取工艺,加热回流时溶剂温度很难达到 80℃ 以上,若在水中加热回流,则最高温度也难以超过 100℃,无论加热时间多么长均如此。但微波加热就有可能使受热物质在局部温度超过 100℃。若液泡不能耐受 100℃ 高的温度,就易破裂,以致有效成分在破裂处一拥而出。如果把液泡看作一个气球,对外是密封的,则微波加热此球,尽管球内也是水分,但在这样一个密闭体系内(相当于压力容器内),温度可能超过 100℃,于是液泡膜破裂。

3.5 通过透射电镜观察,发现微波萃取较传统提取更易使细胞内的液泡膜发生变形或破裂,从而更易

使细胞内的有效物质溶出。这正是微波辅助萃取所需的时间较传统提取的时间短的原因,也是微波萃取所得产品中有效成分的含量相对较高的原因所在。

References

- [1] Pare J R, Belanger J M R, Stafford S S, *et al*. Microwave-assisted natural products extraction [P]. US: 5002784, 1991-03-26.
- [2] Michael S, Sau S C. Kinetics of isothermal and microwave extraction of essential oil constituents of peppermint leaves into several solvent systems [J]. *Flavour Frag J*, 1995, 10: 259-272.
- [3] Sau S C, Michael S. Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and a hexane + ethanol mixture [J]. *Flavour Frag J*, 1995, 10: 101-112.
- [4] Wang J, Shen P N, Shen Y J. Studies on active ingredients in *Pueraria* root by microwave-assisted extraction [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2002, 33(8): 382-384.
- [5] Wang J, Shen P N, Shen Y J. Study on microwave-assisted extraction process for active ingredients in *Radix Acanthopanaxis Senticosi* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25(1): 11-14.

配伍对葛根芩连汤中小檗碱含量的影响

吴昭晖, 奚林明, 戴开金, 罗佳波, 谭晓梅*

(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 法测定葛根芩连汤各配伍煎液中小檗碱的含量测定方法, 研究配伍对小檗碱含量的影响。方法 采用 $L_8(2^7)$ 正交设计及统计软件 SPSS10.0 统计方法, 以 HPLC 法测定小檗碱的含量。结果 葛根、黄芩、甘草对方中小檗碱含量的影响差异存在显著性 ($P < 0.05$), 葛根与黄芩、黄芩与甘草、葛根与甘草对小檗碱的含量影响交互作用不显著。实验中观察到凡是黄连与葛根、黄芩、甘草的配伍组皆有沉淀产生, 沉淀中含有一定量的的小檗碱。结论 葛根、黄芩、甘草降低小檗碱的含量。

关键词: 葛根芩连汤; 配伍; 小檗碱; 高效液相色谱

中图分类号: R 286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)01-0033-03

Influence of compatibility on content of berberine in Gegen Qinlian Decoction

WU Zhao-hui, XIL in ming, DA I Kai-jin, LUO Jia-bo, TAN Xiao-mei

(Key Laboratory of Pharmaceutics of Chinese Materia Medica, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: **Object** To set up the quantitative method of berberine in decoctions prepared from various combinations of the recipe named Gegen Qinlian Decoction (GQD) by HPLC and to determine the change of berberine contents in different decoction. **Methods** By $L_8(2^7)$ orthogonal design and statistics analysis (SPSS 10.0), eight decoctions of *Rhizoma Coptidis* either alone or in combination with one or more of the other three components were prepared and analyzed. Their berberine contents were determined by HPLC. **Results** For *Radix Puerariae*, *Radix Scutellariae*, and *Radix Glycyrrhizae Preparata*, the difference on the content of berberine is significant ($P < 0.05$). Interactions between two of three is insignificant in this experiment. The sedimentation is found in the decoctions of *Rhizoma Coptidis* in combined with one or more of the other three components. **Conclusion** The content of berberine is reduced by *Radix Puerariae*, *Radix Scutellariae*, and *Radix Glycyrrhizae Preparata*.

Key words: Gegen Qinlian Decoction (GQD); compatibility; berberine; HPLC

葛根芩连汤出自《伤寒论》，由葛根、黄芩、黄连、甘草组成，具有轻清解肌、清热止利功效，用于治疗太阳表邪内陷所致肠热下利证，临床应用广泛。葛根芩连汤具有解热、抗菌、抗病毒、解痉、抑制胃肠运动、抗缺氧、抗心律失常、增强机体免疫功能等药理作用。本实验主要研究了配伍对小檗碱含量的影响。

1 仪器与试药

美国惠普 HP 1100 高效液相色谱仪 (G1315A 紫外-可见光二极管阵列检测器); pH 计 (美国 ORION, 410A 型); 甲醇 (分析纯, 色谱纯), 乙腈 (色谱纯), 三乙胺 (分析纯); 盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 含量测定用, 批号: 0713-9906); 葛根、黄芩、黄连、甘草药材由广州市药材公司提供, 经第一军医大学中药药剂教研室奚林明鉴定分别为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) 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 葛根芩连汤中小檗碱的含量测定

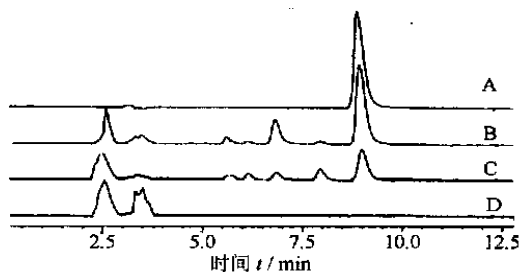
2.1.1 色谱条件: 色谱柱为 Zorbax SB C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.2 mol/L 乙酸铵 (0.01 mol/L KH₂PO₄ + 0.2% 三乙胺) (47:53); 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 室温; 检测波长: 346 nm。

2.1.2 标准曲线: 精密称取盐酸小檗碱对照品约 6 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解, 制成对照品溶液。精确吸对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 mL 于 10 mL 量瓶中, 流动相定容。进样, 测定峰面积, 以浓度对峰面积进行线性回归, 得回归方程: $Y = 19.568\,972X - 9.564\,875$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明盐酸小檗碱在 11.96~119.6 μg/mL 线性关系良好。

2.1.3 供试品溶液及阴性对照溶液的制备: 按处方配比取葛根芩连汤各味药饮片 (葛根 15 g, 黄芩、黄连各 9 g, 甘草 6 g) 3 份及缺黄连阴性对照 3 份, 加水 400 mL, 先煎葛根 20 min, 余药共煎 30 min, 煎两次, 粗滤过, 合并滤液, 定容至 1 000 mL。取 20 mL, 用 80 mL 甲醇溶解, 离心, 洗涤沉淀, 清液用甲醇定容至 100 mL, 膜滤过, 得供试品溶液。依次进样, 测定浓度, 计算得汤剂中小檗碱的含量为 0.293 g/剂, RSD = 1.97% ($n = 3$)。色谱图见图 1。

2.1.4 精密度试验: 取对照品溶液重复进样 5 次, 小檗碱峰面积 RSD 为 0.19%。

2.1.5 稳定性考察: 取样品液各一份, 在配置后 4,



A-盐酸小檗碱对照品 B-葛根芩连汤

C-葛根芩连汤沉淀物 D-缺黄连阴性

A-berberine chloride reference substance B-GQD

C-depositor of GQD D-sample without *Rhizoma Coptidis*

图 1 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

8, 12, 24 h 进样, 测定小檗碱浓度, 其 RSD 为 0.86%, 表明 24 h 内溶液稳定。

2.1.6 加样回收率试验: 精密量取已测定含量的葛根芩连水煎液 20 mL, 分别加入盐酸小檗碱对照品约 6 mg, 按 2.1.3 项下“用 80 mL 甲醇溶解……”起同法操作, 进样, 测定小檗碱浓度, 计算含量, 求得平均回收率为 98.50%, RSD 为 0.59% ($n = 4$)。

2.2 配伍对葛根芩连汤中小檗碱含量的影响

2.2.1 正交设计: 选葛根、黄芩、甘草作为 3 个因素, 选用药和不用药为 2 个水平, 并考虑两两交互作用, 因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A 葛根	B 黄芩	C 甘草
1	用 药	用 药	用 药
2	不用药	不用药	不用药

2.2.2 试验安排: 采用 $L_8(2^7)$ 正交试验优化, 试验安排及结果见表 2。

2.2.3 统计分析: 采用 SPSS 10.0 统计分析软件, 结果表明葛根、黄芩、甘草对小檗碱的影响差异具有显著性 ($P < 0.05$), 即葛根、黄芩、甘草降低了小檗碱的含量。葛根与黄芩、黄芩与甘草、葛根与甘草交互作用差异无显著性。

2.3 单味药及产生沉淀各煎液 pH 测定和沉淀中小檗碱含量测定: 在实验的过程中发现凡含黄连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, 上清液用 pH 计测 pH, 沉淀用水洗 3 次, 60 °C 干燥至恒重, 称重, 精确称取定量, 加定量甲醇回流提取 1 h, 滤过, 定容, 按小檗碱的含量测定方法测定。含黄连配伍溶液 pH 值及沉淀中小檗碱的

含量测定结果见表 3。从表 3 中可以看出 pH 值从低到高的顺序为黄连煎液 < 含黄连合煎液 < 葛根、黄芩、甘草单煎液，各配伍煎液沉淀中小檗碱的含量高于单煎液，黄连与黄芩配伍煎液沉淀中小檗碱最多。

表 2 $L_8(2^7)$ 正交设计及结果

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

实验 次数	A	B	A × B	D	A × D	B × D	空白	小檗碱含量/ (g · 剂 ⁻¹)
1	1	1	1	1	1	1	1	0.294
2	1	1	1	2	2	2	2	0.335
3	1	2	2	1	1	2	2	0.295
4	1	2	2	2	2	1	1	0.388
5	2	1	2	1	2	1	2	0.336
6	2	1	2	2	1	2	1	0.357
7	2	2	1	1	2	2	1	0.414
8	2	2	1	2	1	1	2	0.506

表 3 含黄连配伍溶液 pH 值及沉淀中小檗碱的含量

Table 3 pH in decoctions with Rhizoma Coptidis and berberine content in depositors

配伍	pH 值	小檗碱含量/(g · 剂 ⁻¹)
葛根	5.23	-
黄芩	5.45	-
甘草	5.10	-
黄连	3.73	0.004
黄连+葛根	4.23	0.033
黄连+黄芩	4.14	0.209
黄连+甘草	4.08	0.086
黄连+黄芩+葛根	4.36	0.045
黄连+黄芩+甘草	4.31	0.044
黄连+葛根+甘草	4.15	0.121
葛根芩连汤	4.48	0.064

3 结果及讨论

3.1 从表 2 可以看出，在 0.05 的水平下，葛根、黄芩、甘草使小檗碱含量降低。实验中发现葛根与黄连合煎液会有沉淀产生，产生沉淀的原因是否是葛根中的某些成分与小檗碱形成复合物，有待进一步的研究证实。黄芩使小檗碱含量降低的原因是否是小檗碱与黄芩苷形成复合物有待进一步的研究证实。

甘草降低小檗碱的含量是否与产生新物质有关还有待进一步的研究。

3.2 对含黄连各配伍产生的沉淀物分析表明，沉淀中所含主要成分之一为小檗碱（约占沉淀物 15%~25%），小檗碱沉淀是否是由于形成的复合物分解所致有待进一步的研究。从表 3 中可以看出 pH 值从低到高的顺序为黄连煎液 < 含黄连合煎液 < 葛根、黄芩、甘草单煎液，pH 值的改变可能与小檗碱沉淀有一定的关系。

3.3 黄连能清热燥湿，泻火解毒，主治温病热甚心烦，湿热痞满，湿热下痢等。黄连苦寒，有抑阳损脾伤胃的副作用，单用或用量过大，往往引起胃脘饱胀、厌食、腹痛等症状，所以需要配伍性微温的药物，以减缓其苦寒太过，避免不良反应。有研究表明黄连与黄芩、甘草配伍可拮抗黄连对红细胞的损害作用^[2]，本研究证明葛根、黄芩、甘草皆能降低方中黄连小檗碱的含量，提示降低了苦寒之性可能与降低了小檗碱的含量有关。

3.4 葛根、黄芩、甘草皆能降低方中黄连小檗碱的含量，并不意味着配伍后药效就降低，药效的降低与否取决于有效成分的综合作用。有研究表明黄连与黄芩、甘草按适当的比例配伍，可以增强黄连对金黄色葡萄球菌生长抑制作用^[3]。而葛根、黄连、黄芩、甘草单味药还未发现抑制作用。提示本方配伍仍可能有增强药效的作用。

References

- [1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed Vol I.
- [2] Lin N, Gao X S, Li J R. Influence of Huanglian and berberine on the erythrocytic osmotic fragility of experimental glucose 6 phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in rats [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1998, 23(10): 630-632.
- [3] Yan M Z, Gao X S, Liu L X. Observation on inhibitory effect of Coptis alone and its combination with Scutellaria and liquorice on the growth of *Staphylococcus aureus* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1998, 23(6): 375-377.

美国 ALPHA 实验室认可
美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素 ≥ 95%)

专业生产厂家

电话: 0086-022-26721040; 26723305; 26737125

传真: 0086-022-26721041

网址: <http://www.jf-natural.com>

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津北辰科技园科园路