

缓释制剂在体内具有起效迅速、药效缓和而持久的特征,时间效应过程的统计矩结果表明,其体内平均滞留时间为11.27 h,大于通栓救心片(5.94 h)。相对生物利用度为129.1%,与血药浓度法测得的数据(126.3%)基本一致。

References:

- [1] Song H T, Zhang R H, Guo T. Survey and prospect of pharmacokinetics study of Chinese herbal drug [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1998, 13(3): 125-127.
- [2] Liu Y, Sheng H F. Discussion of the experimental methodology of Chinese herbal drug serum pharmacology [J]. *J Guiyang Coll Tradit Chin Med* (贵阳中医学院学报), 2004, 26(1): 53-56.
- [3] Guo L W. *The Method and Application of Pharmacokinetics of Chinese Traditional Drugs* (中药药物动力学方法与应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [4] Zhan H S. Experimental method of medicinal serum and its application prospects in the study and making of new Chinese drugs [J]. *J Zhejiang Coll Tradit Chin Med* (浙江中医学院学报), 2000, 24(2): 79-82.
- [5] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理学实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [6] Zhao C L, Liu J F, Liu H C. The study progress of Chinese herbal drugs [J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药学学报), 2003, 19(2): 125-128.

HPLC 法研究泻心汤中大黄和黄芩配伍的活性成分变化

何毓敏¹, 张 艺^{1*}, 孟宪丽², 王 平², 王毓杰¹, 熊玉霞²

(1. 成都中医药大学民族医药研究所, 四川 成都 611730; 2. 成都中医药大学 药理研究室, 四川 成都 611730)

摘要:目的 研究泻心汤中大黄和黄芩配伍前后的活性成分变化。方法 采用 HPLC 法对两药合煎液和单煎混合液各峰进行检测和分析,并对两药合煎液和单煎混合液中黄芩苷、大黄素等活性成分进行测定和动态分析。结果 大黄与黄芩配伍合煎后产生了活性成分动态变化。结论 中药复方配伍并非是单味药的简单加合,本实验结果有助于阐明泻心汤的化学成分基础。

关键词:泻心汤; 大黄; 黄芩; 配伍

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)05-0699-04

Effective component changes in compatibility of *Radix et Rhizoma Rhei* with *Radix Scutellariae* in Xiexin Decoction

HE Yu-min¹, ZHANG Yi¹, MENG Xian-li², WANG Ping², WANG Yu-jie¹, XIONG Yu-xia²

(1. Institute of Ethnomedicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611730, China; 2. Research Laboratory of Pharmacology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611730, China)

Abstract: **Objective** To explore the chemical components changes in compatibility of *Radix et Rhizoma Rhei* with *Radix Scutellariae* in Xiexin Decoction. **Methods** HPLC Chromatograms were used to study the peak changes of single and co-decoction of *Radix et Rhizoma Rhei* with *Radix Scutellariae*, as well as the effective components were determined and analysed. **Results** The significant changes of baicalin, rhein, emodin, chrysophanol, and physcion had been found. **Conclusion** Compatibility of Chinese herbal medicines doesn't mean adding single herb simply and this test is just an attempt to elucidate the chemical foundation of Xiexin Decoction.

Key words: Xiexin Decoction; *Radix et Rhizoma Rhei*; *Radix Scutellariae*; compatibility

泻心汤由大黄、黄连和黄芩3味药组成,是经典的清热解毒方剂,临床治疗急性感染性疾病的疗效确切。拆方研究表明,泻心汤中大黄与黄芩配伍的抗内毒素作用大于全方及大黄和黄芩单用时的情况^[1]。因此,本实验采用 HPLC 法研究大黄与黄芩

配伍前后化学成分的变化,为后期的药效学研究提供依据。

1 仪器与试药

HP 1100 高效液相色谱系统:四元梯度泵、柱恒温系统、自动进样器、二极管阵列检测器,ChemSta-

收稿日期:2006-08-16

基金项目:国家自然科学基金项目(30371765)

作者简介:何毓敏(1980—),男,浙江湖州人,现工作于三峡大学医学院。Tel: (0717)6396818 E-mail: hym0811@163.com

*通讯作者 张 艺 Tel: (028)88849811 E-mail: 9006zmy@cdutcm.edu.cn

tion 色谱工作站(安捷伦科技公司),BP 121S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

色谱分析用乙腈、戊烷磺酸钠为色谱纯;其余试剂均为分析纯。黄芩苷、芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品为中国药品生物制品检定所提供。药用大黄 *Rheum officinale* Baill.、黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 均购自成都市中药材有限公司,均符合《中国药典》2005 年版大黄、黄芩药材项下的规定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为迪马 Diamonsil™ C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为 0.01 mol/L 戊烷磺酸钠溶液(A)-乙腈(B),B 由 14% 保持 3 min, 3~35 min 线性升到 40%, 35~50 min 线性升到 90%;体积流量:1.0 mL/min;进样量:20 μL。

2.2 供试品溶液的制备

2.2.1 大黄-黄芩合煎供试品溶液的制备:称取大黄药材 20 g 和黄芩药材 10 g,混合均匀后,用 10 倍量水浸渍 30 min,回流提取 60 min;倾出提取液后,药渣用 8 倍量水再回流提取 40 min,合并两次煎液,浓缩并调整至含大黄生药 50 mg/mL,含黄芩生药 25 mg/mL。精密吸取该煎液 10 mL,水浴浓缩至干,残留物以 65% 甲醇溶解并转移至 50 mL 量瓶中,加 65% 甲醇稀释至刻度,摇匀,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液待用。

2.2.2 大黄单煎供试品溶液的制备:称取大黄药材 20 g,同上法煎煮。取 1/10 的煎液,水浴浓缩至干,残留物以 65% 甲醇溶解,制成含大黄生药 10 mg/mL 的溶液,待用。

2.2.3 黄芩单煎供试品溶液的制备:称取黄芩药材 10 g,同上法煎煮。取 1/10 的煎液,水浴浓缩至干,残留物以 65% 甲醇溶解,制成含黄芩生药 5 mg/mL 的溶液,待用。

2.2.4 大黄-黄芩单煎混合供试品溶液的制备:按照大黄、黄芩在方剂配伍中的比例,各取 1/10 的大黄和黄芩的单煎液混合均匀后,同上处理,制成含大黄生药 10 mg/mL、黄芩生药 5 mg/mL 的溶液,待用。

2.3 检测波长的选择:分别选择 254、274、280、430 nm 检测波长,对大黄-黄芩合煎液进行 HPLC 图谱的直观比较,结果 280 nm 检测波长下所得图谱分离较好,能够提供较多的特征峰(图 1)。因此选择 280 nm 检测波长进行 HPLC 分析。

2.4 干扰试验:由空白样品的色谱图(图 2)可见,选定的流动相系统所得图谱没有杂质峰和假峰的干

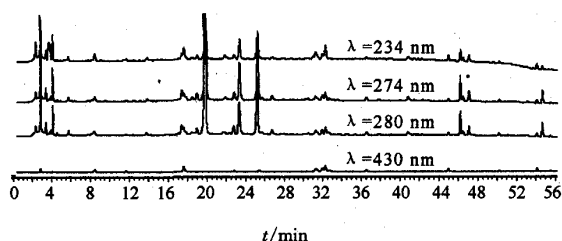


图 1 不同检测波长下大黄-黄芩合煎液的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of co-decoction with *Radix et Rhizoma Rhei* and *Radix Scutellariae* at various wave length

扰。在 280 nm 下,由大黄单煎、黄芩单煎、大黄-黄芩合煎及其单煎混合供试品溶液的色谱图(图 2)可见,即使不同的样品,色谱图中相应成分的保留时间是重复的,说明建立的分析方法稳定、可靠。

2.5 确定峰归属:以保留时间对各峰进行归属,见图 2。能明显地辨别出合煎液供试品溶液中各峰在单煎液供试品溶液中的位置,确定了大黄-黄芩合煎液供试品溶液中峰 3、5、22 为共流出峰,峰 1、2、11~14、16、20、21 来源于大黄,峰 4、6~10、15、17~19 来源于黄芩。

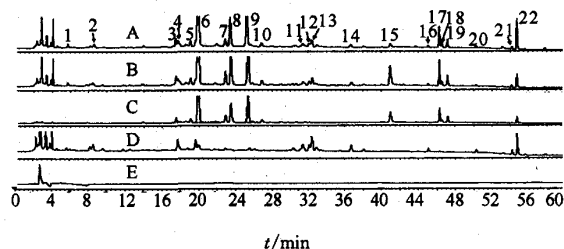


图 2 大黄(A)、黄芩(B)及其合煎液(C)与单煎混合液(D)、空白(E)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC Chromatograms of *Radix et Rhizoma Rhei* (A), *Radix Scutellariae* (B), their mixture (C), co-decoction sample (D), and blank sample (E)

由于中药的色谱峰有共流出现象,所以配伍后单一地用保留时间进行峰归属是不可靠的。采用二极管阵列检测器扫描有紫外吸收的色谱流出物的紫外图,可以进一步验证用保留时间进行的峰归属。

分别提取大黄-黄芩合煎液供试品溶液中峰形较明显的 16 个峰的紫外光谱图,经人工识别大黄与黄芩单煎液供试品溶液及单煎混合液供试品溶液中各峰的紫外光谱,初步归属大黄-黄芩合煎液供试品溶液中各主要峰的来源,结果见表 1。合煎液供试品溶液中峰 22 为共流出峰,峰 2、12~14、20 来源于大黄,峰 4、6~10、15、17~19 来源于黄芩。

通过将已知对照品的色谱行为进行对比分

析,确定合煎液供试品溶液中峰 6、12、14 分别对应黄芩苷、大黄酸和大黄素。

2.6 单煎混合与合煎样品供试品溶液的 HPLC 图谱比较:通过比较大黄、黄芩配伍前后化学成分的不同,发现两药共煎导致某些成分产生明显的量变,这种变化在两药分别煎煮,再按配伍比例混合的单煎混合样品供试品溶液中未见发生,表明共煎是导致

化学成分发生明显变化的原因。以峰 6 为例,在选用的 HPLC 色谱条件下,合煎液在保留时间约为 20 min 时其峰面积占全谱的 33.03%,而单煎混合样品供试品溶液中,该峰对应化学成分的峰面积占全谱的 40.68%,所以,在共煎煮过程中,合煎液中保留时间 20 min 的峰所对应的化学成分产生了明显变化。大黄、黄芩配伍共煎化学成分的变化见表 1。

表 1 大黄与黄芩配伍各主要峰的归属结果

Table 1 Assignment of peaks in co-decoction of Radix et Rhizoma Rhei and Radix Scutellariae

峰号	保留时间/min	λmax/nm	来源	合煎样品供试液面积比/%	单煎混合面积比/%	差值/%
2	8.48	227.16, 282.42, 334.17	大黄	1.13	0.79	0.34
4	17.69	220.24, 272.43, 316.05	黄芩	1.98	1.70	0.28
6	19.89	222.14, 279.43, 317.14	黄芩	33.03	40.68	-7.65
7	22.89	229.18, 276.64	黄芩	1.99	2.85	-0.86
8	23.47	271.09, 311.28	黄芩	6.45	6.92	-0.47
9	25.36	221.13, 274.51	黄芩	10.07	11.70	-1.63
10	26.88	286.47	黄芩	1.80	1.06	0.74
12	32.08	236.17, 277.24, 319.07	大黄	0.75	0.67	0.08
13	32.16	234.12, 279.63, 316.24	大黄	1.02	0.91	0.11
14	36.67	234.79, 272.44	大黄	0.64	0.62	0.02
15	40.96	275.93, 322.48	黄芩	0.83	4.93	-4.10
17	46.29	275.25	黄芩	2.84	3.37	-0.53
18	46.55	271.41, 319.28	黄芩	0.61	0.72	-0.11
19	47.17	230.24	黄芩	1.19	1.56	-0.37
20	50.28	276.17	大黄	0.32	0.18	0.14
22	54.72	225.46, 261.53	大黄、黄芩	3.71	1.91	1.80

2.7 定量测定与动态分析:为进一步探明两药配伍规律,采用 HPLC 法,对大黄、黄芩配伍前后水煎液中的黄芩苷、大黄素、大黄酚的煎出量进行测定。参照《中国药典》2005 年版大黄和黄芩项下的色谱条件设定各参数。芦荟大黄素由于色谱峰分离度不佳,故未对其进行测定。

2.7.1 标准曲线的制备:精密称取经五氧化二磷干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量,加甲醇制成 590 μg/mL 的溶液。取大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为 25、118、28、27 μg/mL 的混合对照品溶液。分别精密吸取黄芩苷对照品溶液和混合对照品溶液 2、4、8、12、16 μL 进样,测定峰面积。以进样量对峰面积进行线性回归,结果见表 2。

表 2 5 种成分的线性范围和回归方程

Table 2 Linear ranges and regression equations for five components

名称	线性范围/μg	回归方程	r
黄芩苷	1.180~9.440	Y=23 111.295 X-859.188	0.999 9
大黄酸	0.050~0.400	Y=12 145.642 X-460.216	0.999 6
大黄素	0.236~1.888	Y=4 673.327 X-181.654	0.999 9
大黄酚	0.056~0.448	Y=40 547.891 X-1 568.186	0.999 8
大黄素甲醚	0.054~0.432	Y=1 933.891 X-213.182	0.999 4

2.7.2 样品测定:精密吸取各供试品溶液适量,水浴浓缩至干,所得残留物分别按《中国药典》2005 年版大黄和黄芩项下供试品溶液的制备方法处理。精密吸取各供试品溶液和黄芩苷对照品溶液、混合对照品溶液 20 μL,进样,记录色谱峰,测定峰面积,并按外标法计算质量浓度,将测定结果转换成按生药量计所含相应的有效成分的量,结果见表 3。结果表明,大黄和黄芩配伍后,黄芩苷的煎出量降低,而大黄蒽醌类成分大黄酸、大黄素、大黄酚的量均有明显升高。

表 3 大黄、黄芩配伍前后有效成分的测定 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Determination of active components in single and co-decoction ($\bar{x} \pm s, n=6$)

名称	大黄/ (mg · μg ⁻¹)	黄芩/ (mg · μg ⁻¹)	大黄-黄芩/ (mg · μg ⁻¹)	平均转 移率/%
黄芩苷		61.03±1.77	55.76±1.83**	91.36
大黄酸	0.91±0.13	—	1.27±0.03**	137.66
大黄素	0.39±0.04	—	0.86±0.21**	219.11
大黄酚	1.56±0.12	—	1.98±0.05**	126.28
大黄素甲醚	0.61±0.11	—	0.68±0.05	102.31

与各自的单味药材煎液比较: **P<0.01

**P<0.01 vs decoction of single herb

3 讨论

中药复方是一个复杂体系,研究中药复方药味配伍需要建立一套稳定、可靠、重现性好、有较好的

分离度和适当分离时间的色谱分离方法;在此基础上,通过复方共煎与各味药单煎及单煎混合的 HPLC 图谱比较分析,可以得出复方中的化学成分因相互作用而出现量的变化情况,同时还可以得出中药复方指纹峰与单味药的相关信息、化学成分结构信息、量变信息等。在上述总体思路和策略的指导下,本实验采用 HPLC-DAD 及其指纹图谱方法,对大黄、黄芩配伍前后活性成分的变化情况进行了考察。实验确定了在反相色谱模式和梯度洗脱条件下,乙腈-0.01 mol/L 戊烷磺酸钠溶液为流动相系统的分离条件,并利用保留时间和紫外光谱归属配伍后合煎液中主要峰的来源。结果表明,泻心汤中的大黄、黄芩相配伍,既表现出了增溶协同作用(峰 2、4、10),又表现出明显的溶出抑制作用(峰 6、9)。

大黄能抑制血中肿瘤坏死因子(TNF)和白细胞介素-1(IL-1)浓度的升高,从而降低内毒素血症的毒性及炎症反应,并通过影响中枢介质 cAMP 水平来抑制内毒素性发热^[2]。前期药效筛选研究的结果证实了大黄蒽醌和黄芩黄酮均为活性成分。活性成分之间的相互作用往往能够影响疗效。实验中发现,大黄、黄芩配伍的水煎液中没有出现明显的沉淀,这可能由于大黄蒽醌类成分和黄芩苷均为酸性成分,成盐的机会少,故沉淀不明显。配伍后,黄芩苷的煎出量明显降低,可能是由于大黄蒽醌类成分的

酸性较强,混煎液由其所致的酸性因素,不利于其他酸性成分溶入汤液。而大黄蒽醌类成分大黄酸、大黄素、大黄酚在配伍后较配伍前有显著升高,可能受黄芩和大黄蒽醌类大部分成分的增溶效应影响。研究结果既是对大黄、黄芩配伍的活性成分相互作用的一般规律的探讨,也为进一步开展泻心汤抗内毒素作用的药效物质基础研究奠定基础。

实验结果提示,中药复方配伍并非是单味药的简单加合,而中药复方研究的重要任务之一就是寻找能够提升复方疗效、使多个药效指标达到综合最优的配伍比例。大黄与黄芩相配伍,未发现新的成分,但使大黄中大部分蒽醌类成分的煎出量升高,使黄芩苷的煎出量有所降低,而其作为整体抗内毒素作用得到加强。说明在泻心汤抗内毒素作用的研究中,大黄蒽醌与黄芩黄酮存在一个最佳配伍比例。至于这个最佳配伍比例是什么,是否为原方以药材配伍合煎提取所得的配比,这是一个值得研究的问题。

References:

- [1] Xiong Y H, Meng X L, Zhang Y, et al. *Traditional Chinese Medicine Development and Modern Science & Technology* (中医药发展与现代科学技术) [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 2005.
- [2] Liu B H. The inhibition of rhein on LPS-stimulated Mφ and its mechanism [A]. *Dissertation of Master Degree of Nankai University* (南开大学硕士论文) [D]. Tianjin: Nankai University, 2002.

人参白虎汤不同配伍条件下人参皂苷 R_{g1} 和 Re 变化的研究

丁选胜, 安娜芹, 姚 丹, 赵一鸣

(中国药科大学 药理研究室, 江苏 南京 210009)

摘 要:目的 通过研究不同配伍条件下人参皂苷 R_{g1}、Re 的变化,探讨人参白虎汤配伍规律。方法 采用 HPLC 法测定人参白虎汤中各单味药物及不同配伍组别和全方中人参皂苷 R_{g1}、Re。结果 各配伍组别在原方配伍比例条件下,人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的量有了很大的提高。结论 人参与方中其他药物配伍后,人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 Re 的溶出量有一定程度的增加,表明原方配伍比例是合理的。

关键词:人参白虎汤; 配伍; 人参皂苷 R_{g1}; 人参皂苷 Re

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2007)05-0702-03

Change of ginsenoside R_{g1} and ginsenoside Re in different compatibilities of Renshen Baihu Decoction

DING Xuan-sheng, AN Na-qin, YAO Dan, ZHAO Yi-ming

(Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Key words: Renshen Baihu Decoction; compatibility; ginsenoside R_{g1}; ginsenoside Re

收稿日期:2006-09-19

作者简介:丁选胜(1962—),男,安徽广德人,副教授,硕士生导师,主要研究方向为心血管药理与临床药学。E-mail: dxs0162@sina.com