

炙甘草及其配伍载体中 4 种药效组分变化规律分析

李景松, 张贵君*, 朱广伟, 高晓美, 彭 慧

北京中医药大学中药学院, 北京 100102

摘 要: 目的 研究炙甘草补脾益气药效组分甘草苷-甘草素-甘草酸-异甘草苷的变化规律。方法 以单味药及其药对、对应的复方为供试品, 采用水煎煮法制备供试品溶液, HPLC 法进行测定。结果 炙甘草中 4 种药效组分(甘草苷-甘草素-甘草酸-异甘草苷)的质量浓度依次为(12.14±0.31)、(3.25±0.19)、(38.75±1.77)、(1.40±0.25) mg/mL; 炙甘草-人参中药效组分的质量浓度依次为(2.87±0.04)、(0.74±0.02)、(6.42±0.18)、(0.37±0.03) mg/mL; 炙甘草-白术中药效组分的质量浓度依次为(5.99±0.01)、(2.16±0.09)、(22.40±1.80)、(0.77±0.02) mg/mL; 四君子汤中 4 种药效组分的质量浓度依次为(2.99±0.03)、(0.81±0.04)、(10.05±0.31)、(0.32±0.03) mg/mL。结论 4 个供试品中炙甘草药效组分变化规律基本一致: 炙甘草>炙甘草-白术>四君子汤>炙甘草-人参; 药效组分比例的变化区间是(7.76~9.34):(2.00~2.81):(17.35~31.41):1。单味炙甘草药效组分的总量是配伍组分的 3 倍, 中药多以配方的形式使用, 说明药效组分资源利用空间较大, 药效组分有明显的对应性, 中药质量标准应以药效组分标示量和药效组分生物效价作为指标。

关键词: 炙甘草; 配伍载体; 药效组分; 变化规律; 甘草苷-甘草素-甘草酸-异甘草苷

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)13-1863-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.13.010

Analysis on changing rules of four active components alignment in *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle* and its compatibility carrier

LI Jing-song, ZHANG Gui-jun, ZHU Guang-wei, GAO Xiao-mei, PENG Hui

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: Objective To study the changing rules of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle* (GRRPM) with the active components alignment (ACA, liquiritin-liquiritigenin-glycyrrhizin acid-isoliquiritinin) of tonifying spleen and replenishing qi. **Methods** Taking single herbs, their medicine pairs, or their medicine compounds as test sample, the sample solution was prepared by traditional water decoction and determined by HPLC. **Results** The contents of liquiritin-liquiritigenin-glycyrrhizin acid-isoliquiritinin in GRRPM were (12.14±0.31), (3.25±0.19), (38.75±1.77), and (1.40±0.25) mg/mL; The ACA contents in GRRPM-*Ginseng Radix et Rhizoma* (GRR) were (2.87±0.04), (0.74±0.02), (6.42±0.18), and (0.37±0.03) mg/mL; The ACA contents in GRRPM-*Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (AMR) were (5.99±0.01), (2.16±0.09), (22.40±1.80), and (0.77±0.02) mg/mL; The ACA contents in Sijunzi Decotion (SD) were (2.99±0.03), (0.81±0.04), (10.05±0.31), and (0.32±0.03) mg/mL. **Conclusion** Four main active components in the efficacy of the test components have almost the same change rule: GRRPM>GRRPM-AMR>SD>GRRPM-GRR; The percentage change intervals of the ACA (liquiritin-liquiritigenin-glycyrrhizin acid-isoliquiritinin) are (7.76—9.34):(2.00—2.81):(17.35—31.41):1. The total contents in single herbs are three times as much as in compatibility components, so the Chinese materia medica (CMM) are often used in the type of formula, which indicates that the utilized space of ACA resources is larger, ACA has the obvious effect of correspondence, and the quality standard of CMM should be marked ACA and medicinal components of biological potency as indicators.

Key words: *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*; compatibility carrier; active components alignment; changing rules; liquiritin-liquiritigenin-glycyrrhizin acid-isoliquiritinin

收稿日期: 2014-02-13

基金项目: 中药新产品开发与产业化及中药资源保护利用研究, 课题名称: 蚕砂药效组分中药研究(桂科攻 10124008-14)

作者简介: 李景松(1987—), 男, 河北石家庄人, 2011 届硕士研究生, 研究方向为中药药效组分及药效组分质量评价体系研究。

Tel: 18810467049 E-mail: Xiao_853801792@qq.com

*通信作者 张贵君, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药鉴定方法学研究, 中药药效组分及药效组分质量评价体系研究, 中药基原与药效组分资源研究。E-mail: guijunzhang@163.com

本实验在中药药效组分理论的指导下^[1],研究炙甘草补脾益气药效组分的变化规律。在炙甘草用量和剂型稳定的前提下,分析了炙甘草及其配伍组分中其药效组分甘草苷-甘草素-甘草酸-异甘草苷的存在状态,揭示了药效组分与配伍、剂型的对应性关系。

四君子汤作为治疗脾胃气虚证的常见方剂始载于《太平惠民和剂局方》,在中医内科脾胃气虚证的治疗中得到了广泛的运用^[2]。四君子汤在临床治疗中,主要起到益气健脾的作用,常用于治疗脾胃气虚证。炙甘草甘温,益气和中,调和诸药。人参甘温益气,即可大补脾胃之气,又可补益肺气。两药合用,主治脾胃气虚证。炙甘草甘温,益气和中,调和诸药。白术,苦温健脾燥湿。人参益气健脾为主,辅助白术,既可健脾,又能渗湿止泻。临床常用于脾虚夹湿证。饮食不化、胸脘痞闷、肠鸣泄泻、四肢乏力、形体消瘦、面色萎黄、舌淡苔白腻、脉虚缓。四君子汤以人参为君药,人参具有大补元气和补脾益肺的功效,且具有广泛的药理作用,尤其对中枢神经系统的兴奋和抑制过程能起到双向调节作用^[3]。甘草酸和异甘草苷是生物活性较强的物质,现代药理学认为甘草酸具有肾上腺皮质激素样作用,可增强内耳听觉、抗炎、抗变态反应等作用;

甘草苷和异甘草苷具有抗溃疡、抗菌、抗炎^[4]、解痉、镇痛等作用^[5]。甘草素有抗氧、抗过敏、抗霉菌、防止皮肤老化、有效清除超氧离子等作用^[6]。因此选择了《中国药典》2010年版中规定量高且具有明显药理活性的甘草苷、甘草酸,以及甘草素和异甘草苷作为定量成分。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪, HP 真空脱气泵, HP 四元泵, HP 自动进样, HP 柱温箱, HP DAD 检测器; WRX—1S 型 BP110S 电子分析天平; Sartorius BT25S 型电子分析天平; Agela Venusil HPLC Columns (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱。

甘草苷(质量分数 99%, 批号 111208)、甘草素(质量分数 99%, 批号 120302)、甘草酸(质量分数 99%, 批号 111201), 异甘草苷(质量分数 99%, 批号 120112), 四川维克奇生物科技有限公司。

供试品见表 1, 均经北京中医药大学中药学院张贵君教授鉴定, 炙甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle* (GRRPM) 为内蒙古野生炙甘草饮片、人参 *Ginseng Radix et Rhizoma* (GRR) 为吉林的人参片饮片、白术 *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma* (AMR) 为浙江炒白术饮片、茯苓 *Poria* 为云南茯苓的饮片。

表 1 炙甘草及其药对、复方供试品来源

Table 1 Sources of test samples of GRRPM, their medicine pairs, and medicine compounds

名称	剂量 / g	比例	基原	厂家
炙甘草	6.03	—	内蒙古野生	河北长城饮片厂
炙甘草-人参	6.01-10.02	3 : 5	《太平惠民和剂局方》	河北长城饮片厂 安国祁新饮片公司
炙甘草-炒白术	6.00-6.02	1 : 1	《太平惠民和剂局方》	河北长城饮片厂 安国祁新饮片公司
四君子汤(炙甘草-人参-炒白术-茯苓)	6.02-10.03-6.01-6.02	3 : 5 : 1 : 1	《太平惠民和剂局方》	河北长城饮片厂 安国祁新饮片公司

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取适量对照品甘草苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸^[6], 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 分别得到质量浓度为 86、10、20、250 μg/mL 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

按照单味药、各配伍比例^[7]及四君子汤复方称取炙甘草及其他饮片, 加 10 倍量水后煎煮 2 次, 第 1 次 30 min, 第 2 次 20 min, 合并煎液, 趁热滤过, 滤液浓缩至每 1 毫升相当于饮片 0.1 g 的浓缩液, 取

浓缩液 1 mL 至 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 静置, 分出上清液, 使用带有 0.45 μm 滤膜的注射器滤过并注入液相瓶, 制成相对质量浓度为 10 mg/mL 的溶液, 即为供试品溶液。

2.3 色谱条件^[8-9]

色谱柱为 Agela Venusil HPLC Columns 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液, 梯度洗脱: 0~8 min, 19%乙腈; 8~11 min, 23%乙腈; 11~21 min, 24%乙腈; 21~44 min, 50%乙腈; 44~45 min, 100%乙腈; 45~50 min, 19%乙腈。体积流量 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL; 柱

温为室温 (30 ℃); 检测波长为 237 nm (甘草苷、甘草素和甘草酸)、360 nm (异甘草苷)。

2.4 线性关系考察

为了使炙甘草的 4 种药效组分的标准曲线更准确, 根据其质量浓度分别采用合适的进样量。甘草苷对照品溶液分别进样 3、6、9、12、18 μL, 异甘草苷对照品溶液分别进样 1、4、8、12、16、20 μL, 甘草素对照品溶液分别进样 1、3、6、9、12、18 μL, 甘草酸对照品溶液分别进样 0.5、4、8、12、16、20 μL。以对照品质量浓度为横坐标 (x), 峰面积为纵坐标 (y) 进行线性回归。甘草苷回归方程 $y=148.19x$, $r^2=0.999\ 3$, 在 25.8~154.8 ng 线性关系良好; 异甘草苷回归方程 $y=28.25x-1.177$, $r^2=0.999\ 6$, 在 10.0~200.0 ng 线性关系良好; 甘草素回归方程 $y=45.61x-0.022$, $r^2=0.999\ 6$, 在 20.0~360.0 ng 线性关系良好; 甘草酸回归方程 $y=75.32x-0.398$, $r^2=0.999\ 8$, 在 125.0~5 000.0 ng 在线性关系良好。

2.5 精密度试验

分别精密吸取甘草苷、甘草素、甘草酸、异甘草苷对照品溶液, 连续进样 6 次, 按各成分的色谱条件测定峰面积, 其 RSD 分别为 1.04%、1.51%、1.69%、1.19%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

称取炙甘草供试品 6.00 g, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 室温放置, 分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 按上述方法测定, 甘草苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸峰面积的 RSD 依次分别为 1.93%、

1.69%、1.46%、2.73%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重复性试验

按“2.2”项下的样品制备分别按照配比制备炙甘草、炙甘草-人参、炙甘草-白术与四君子汤供试品溶液。

精密吸取同一批供试品溶液, 进样 10 μL, 依照标准曲线测定方法连续测定 6 次, 根据峰面积计算其质量浓度的 RSD 值, 得到 4 种组分质量浓度的 RSD 值分别为 1.84%、1.77%、1.64%、2.24%, 表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取炙甘草饮片 6 份, 按“2.2”项下方法制备, 分别精密加入相应的 4 种对照品: 甘草苷 7.012、7.123、7.112、7.234、7.331、7.542 mg; 异甘草苷 1.401、1.367、1.324、1.474、1.401、1.429 mg; 甘草素 3.421、3.453、3.383、3.238、3.322、3.348 mg; 甘草酸 9.452、9.573、9.612、9.083、9.713、9.562 mg。注入液相色谱仪进行定量测定, 计算得甘草苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸的平均回收率分别为 100.55%、99.79%、101.00%、98.89%, RSD 分别为 1.78%、1.71%、1.90%、1.36%。

2.9 炙甘草及其配伍载体中 4 种药效组分测定

分别制备 3 批供试品溶液, 每个供试品连续进样 3 次, 进样量 10 μL, 按“2.3”项测定峰面积, 根据外标法计算各组分的量及各组分的比例, 结果见表 2、3。

表 2 炙甘草及其配伍载体中 4 种药效组分测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Determination of four active components alignment in GRRPM and their compatibility carrier ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	质量浓度 / (mg·mL ⁻¹)				
	甘草苷	甘草素	甘草酸	异甘草苷	组分总量
炙甘草	12.14±0.31	3.25±0.19	38.75±1.77	1.40±0.25	55.54±0.12
炙甘草-人参	2.87±0.04	0.74±0.02	6.42±0.18	0.37±0.03	10.40±0.03
炙甘草-白术	5.99±0.01	2.16±0.09	22.40±1.80	0.77±0.02	31.32±0.08
四君子汤	2.99±0.03	0.81±0.04	10.05±0.31	0.32±0.03	14.17±0.25

3 讨论

根据中药药效组分理论, 确定炙甘草为供试品, 依据剂型确定药效组分的组成即: 甘草苷-甘草素-甘草酸-异甘草苷。并依据配伍和剂型研究其药效组分的变化情况, 结合功效分析药效组分的变化规律。中药多以配方的形式使用, 说明药效组分资源利用空间较大。而由于复方才是作为发挥疗效的关键,

并非一种或某几种成分, 而是多种成分的相互作用, 所以, 单纯地把某一单体或几个单体的量作为质量检测标准有欠妥当, 而应该把疗效与质量标准联系起来, 将药效组分作为质量控制的多指标, 有利于炙甘草中药的用药安全。

从供试品药效组分测定结果来看, 在剂型固定的条件下, 配伍不同, 药效组分的差异很大, 炙甘

表3 4种药效组分在单味药、药对、复方中的比例

Table 3 Proportion of four active components alignment in GRRPM, their medicine pairs, and medicine compounds

样品	比例			
	甘草苷	甘草素	甘草酸	异甘草苷
炙甘草	8.67	2.32	27.67	1
炙甘草-人参	7.76	2.00	17.35	1
炙甘草-白术	7.78	2.81	29.09	1
四君子汤	9.34	2.53	31.41	1

草药效组分的总量是配伍组分的3倍,说明配伍影响药效组分的存在,配伍不同、药效组分不同,有效性和安全性不同。

配伍不同单味药炙甘草与药对(炙甘草-人参)的补脾和胃药药效组分(甘草苷-甘草素-甘草酸-异甘草苷)比例相差最大,横向比较炙甘草与药对,从质量浓度最大的甘草酸(38.75 ± 1.77) mg/mL的量相差22.4,而质量浓度最小的异甘草苷(1.40 ± 0.25) mg/mL相差1.03;从炙甘草(67:2.32:27.67:1)与炙甘草-人参(7.76:2:17.35:1);的补脾和胃药效比例区间相比,甘草苷、甘草素和异甘草苷比例量两两相差在1.0附近,甘草酸的例相差10.0以上。

配伍对药效组分有显著影响,说明组分与药效具有明显的对应性。4个供试品中炙甘草药效组分变化规律基本一致:炙甘草>炙甘草-白术>四君子汤>炙甘草-人参;药效组分(甘草苷-甘草素-甘草酸-异甘草苷)比例的变化区间是(7.76~9.34):(2.00~2.81):(17.35~31.4):1。

炙甘草与炙甘草-炒白术、炙甘草-人参、复方四君子汤是水煎煮液,符合中医药传统的使用中药的习惯。分析结果表明:各样品中炙甘草药效组分变化规律基本一致:炙甘草>炙甘草-白术>四君子

汤>炙甘草-人参。

炙甘草与炙甘草-炒白术、炙甘草-人参、四君子汤的补脾和胃药效组分比例区间为(8.67:2.32:27.67:1)、(7.76:2:17.35:1)、(7.78:2.81:29.09:1)、(9.34:2.53:31.41:1),比例的定量区间趋于常数,因此,炙甘草的质量标准应依据配伍的不同分别制定。配伍不同,药效组分不同,功效不同。

参考文献

- [1] 张贵君, 罗容, 王奕洁. 中药药效组分理论与中药组分子学[J]. 中药材, 2007, 30(2): 125-126.
- [2] 高永珍, 武瑞珍, 陈永利. 四君子汤在中医内科疾病脾胃气虚证中的运用[J]. 中国民族民间医药, 2013(3): 52.
- [3] 王涛, 江滨, 曾元儿. 四君子汤合、单煎液中甘草酸含量的测定[J]. 广东药学, 2002, 12(4): 8-9.
- [4] 张明发, 沈雅琴. 甘草及其活性成分抗炎与抗炎机制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(4): 261-268.
- [5] 刘晓娜, 高彦华, 乔喜芹, 等. 复方甘草片中甘草酸、异甘草苷、异甘草素的测定[J]. 黑龙江医药, 2006, 19(1): 1-3.
- [6] Zou K, Fu N W. Antioxidant constituents from *Glycyrrhiza inflata* Bat. root[J]. *J Chin Pharm Sci*, 1996, 5(4): 182-185.
- [7] 刘萍, 王平, 刘松林, 等. 基于药对探讨中药复方配伍规律的思考[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(9): 1833-1835.
- [8] 李伟, 王跃飞, 文红梅, 等. HPLC-DAD同时分析甘草中7种有效成分[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(24): 1914-1918.
- [9] Liu Y, Yang J S. Determination of liquiritigenin, liquiritin, isoliquiritigenin and isoliquiritin in extract of traditional Chinese medicine Sijunzi Decoction by high performance liquid chromatography[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2005, 14(4): 227-230.