

HPLC 法研究配伍对麻黄汤中苦杏仁苷含量的影响

吴昭晖, 罗佳波, 胡晓添*

(第一军医大学 中药新药研究重点实验室, 广东 广州 510515)

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定麻黄汤各配伍煎液中苦杏仁苷含量的分析方法, 研究配伍对汤剂中苦杏仁苷含量的影响。方法 采用 $L_8(2^7)$ 正交设计和统计方法(统计软件 SPSS 10.00), 以 HPLC 法测定苦杏仁苷的含量。结果 该法简便、准确、灵敏, 复方中其他成分对测定无干扰, 可用于麻黄汤中苦杏仁苷的含量测定, 麻黄、桂枝、甘草对方中苦杏仁苷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。结论 麻黄、桂枝、甘草对麻黄汤中苦杏仁苷含量影响没有显著性。

关键词: 麻黄汤; 配伍; 苦杏仁苷; 高效液相色谱

中图分类号: R 283.2; R 286.022

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)03-0269-03

Study on influence of compatibility on amygdalin in Mahuang Decoction* by HPLC

WU Zhao-hui, LUO Jia-bo, HU Xiao-tian

(Key Laboratory of Research of Traditional Chinese Medicine and New Drug,

First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: **Object** To set up the quantitative method of amygdalin in decoctions prepared from various combinations of the recipe named Mahuang Decoction by HPLC and to determine the change of amygdalin contents in different decoctions and study the influence of compatibility on the contents of amygdalin in decoctions. **Methods** By $L_8(2^7)$ orthogonal design and statistic analysis (SPSS 10.0), eight decoctions with *Seneciojaceae Amaranthaceae* were prepared and analyzed, their amygdalin contents were determined by HPLC. **Results** The method was simple, accurate, and sensitive and was not interfered by other constituents in the prescription, it can be used to determine the contents of amygdalin in Mahuang Decoction. Influence of *Herba Ephedrae*, *Ramulus Cinnamomi*, and *Radix Glycyrrhizae* on the contents of amygdalin in decoctions were insignificant. Interactions between two of three separately were insignificant too. **Conclusion** The content of amygdalin in Mahuang Decoction is not markedly influenced by *Herba Ephedrae*, *Ramulus Cinnamomi*, and *Radix Glycyrrhizae*.

Key words: Mahuang Decoction; compatibility; amygdalin; HPLC

* Mahuang Decoction is a Chinese herbal prescription. It is composed of *Herba Ephedrae*, *Ramulus Cinnamomi*, *Seneciojaceae Amaranthaceae*, and *Radix Glycyrrhizae*.

麻黄汤出自《伤寒论》,由麻黄 9 g、桂枝 6 g、苦杏仁 6 g、甘草 3 g 组成,具有发汗解表、宣肺平喘之功效。麻黄汤药味不多,组方简明,麻黄为君药,桂枝为臣药,杏仁为佐药,甘草为使药。苦杏仁苷是苦杏仁的主要效应成分,但苦杏仁苷在方中的地位作用如何?麻黄汤中君药、臣药、使药对佐药的主要效应成分苦杏仁苷有何影响?这方面的研究尚未见文献报道。本实验以苦杏仁苷为指标成分,采用 HPLC 法测定麻黄汤各配伍水煎液中苦杏仁苷含量的变化,从佐药苦杏仁的主要效应成分苦杏仁苷的变化层面上阐述麻黄汤配伍的意义,为深入研究麻黄汤

配伍规律提供依据,并为以麻黄汤为基础的中药新制剂和新剂型研究提供参考。

1 仪器与试药

美国惠普 HP1100 高效液相色谱仪-UV 可变波长检测器;甲醇(色谱纯和分析纯);苦杏仁苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 820-200002);麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎,桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝,苦杏仁为蔷薇科植物山杏 *Prunus amariaca* L. var. *ansu* Maxim. 的干燥成熟种子,甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis*

* 收稿日期: 2003-09-05

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(30030150): 麻黄汤配伍规律的研究

作者简介: 吴昭晖(1964—),女,福建省漳州市人,1985年厦门大学化学系毕业,现为第一军医大学中药新药研究重点实验室高级工程师,研究方向为中药现代分析。Tel: (020)61648265

Fisch 的干燥根及根茎; 饮片购自广东省药材公司中药饮片厂、广州市执信药业有限公司, 经第一军医大学中医系刘传明讲师鉴定。

2 方法与结果

2.1 麻黄汤中苦杏仁苷含量的测定

2.1.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil ODS 柱 (4.0 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (15 : 85); 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 210 nm; 进样体积: 10 μL。

按上述色谱条件, 取苦杏仁苷对照品溶液、麻黄汤全方与缺苦杏仁阴性对照溶液各进样 10 μL, 结果见图 1。苦杏仁苷与杂质峰达到基线分离, 麻黄、桂枝、甘草对苦杏仁苷测定无干扰。

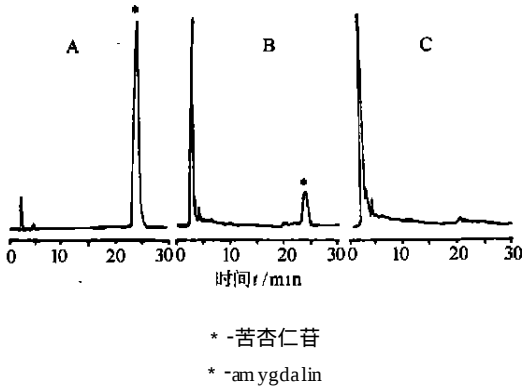


图 1 苦杏仁苷对照品(A)、麻黄汤全方(B)和缺苦杏仁阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC chromatograms of amygdalin reference substance (A), Mahuang Decoction (B), and negative sample without Herba Ephedrae (C)

2.1.2 对照品溶液的制备: 精密称取苦杏仁苷对照品适量, 用 80% 甲醇配制得 0.503 mg/mL 的苦杏仁苷对照品贮备液。精密移取对照品贮备液适量, 用流动相稀释, 得 100.6 μg/mL 的苦杏仁苷对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备: 按正交设计取组成含苦杏仁的 8 个配伍组方, 分别称取 3 付汤剂剂量各组方配伍的药材 (苦杏仁除外) 置于三颈烧瓶中, 加水 1 000 mL, 浸泡 30 min, 加热回流 30 min 时, 迅速加入 3 付汤剂剂量的苦杏仁, 继续回流 20 min。停止加热, 取出烧瓶, 摇匀, 即得各配伍水煎液。精密移取各配伍水煎液 5 mL 于 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。放置 2 h 后离心, 精密移取上清液 5.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得各配伍供试品溶液。

按上述方法制备不含苦杏仁的阴性对照溶液。

2.1.4 标准曲线的制作: 取苦杏仁苷对照品贮备液适量, 分别配制成 10.06, 50.3, 100.6, 201.2,

402.4, 503.0 μg/mL 系列溶液, 分别进样 10 μL, 测定峰面积。以峰面积 Y 对进样量 X 进行线性回归, 得回归方程: $Y = 2.003\ 445X - 18.072\ 588$, $r = 0.999\ 99$ 。结果表明苦杏仁苷在 0.101~ 5.030 μg 与峰面积线性关系良好。

2.1.5 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 结果苦杏仁苷峰面积 RSD 为 0.25%。

2.1.6 重现性试验: 取麻黄汤全方水煎液 1 份, 按 2.1.3 项下“精密移取……用 0.45 μm 微孔滤膜滤过”平行制备 5 份麻黄汤全方供试品溶液, 依法测定, 结果苦杏仁苷峰面积 RSD 为 1.26%。

2.1.7 稳定性考察: 取麻黄汤全方供试品溶液, 分别在制备后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 测定, 结果苦杏仁苷峰面积 RSD 为 1.88%, 表明 24 h 内溶液稳定。

2.1.8 回收率试验: 平行移取已知含量的麻黄汤全方水煎液 5 份, 分别加入苦杏仁苷对照品贮备液 1.7 mL, 依法操作, 测定, 结果平均回收率为 98.5%, RSD 为 1.17%。

2.1.9 样品测定: 按上述色谱条件分别对各配伍供试品溶液进行测定, 采用外标法计算。

2.2 配伍对麻黄汤中苦杏仁苷含量的影响

2.2.1 正交设计: 选麻黄 (因素 A)、桂枝 (因素 B)、甘草 (因素 C) 作为 3 个因素, 选用药和不用药为 2 个水平, 因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A	B	C
1	用药	用药	用药
2	不用药	不用药	不用药

2.2.2 实验安排: 考虑两两交互作用的 $L_8(2^7)$ 进行实验安排, 测定, 结果见表 2。

表 2 $L_8(2^7)$ 正交设计及结果 (n= 3)

Table 2 $L_8(2^7)$ orthogonal design and result (n= 3)

配 伍	A	B	A × B	C	A × C	B × C	空白	苦杏仁苷 (mg · 剂 ⁻¹)
麻黄汤全方	1	1	1	1	1	1	1	222.5
杏仁+ 麻黄+ 桂枝	1	1	1	2	2	2	2	222.1
杏仁+ 麻黄+ 甘草	1	2	2	1	1	2	2	222.2
杏仁+ 麻黄	1	2	2	2	2	1	1	241.4
杏仁+ 桂枝+ 甘草	2	1	2	1	2	1	2	228.4
杏仁+ 桂枝	2	1	2	2	1	2	1	227.4
杏仁+ 甘草	2	2	1	1	2	2	1	215.5
杏仁	2	2	1	2	1	1	2	228.8

2.2.3 统计分析: 采用 SPSS 10.0 统计分析软件, 结果表明麻黄、桂枝、甘草对苦杏仁苷含量的影响差

异无显著性,且两两交互作用影响差异也不显著。

2.2.4 配伍规律:麻黄汤各组方配伍,对佐药苦杏仁的主要效应成分苦杏仁苷的影响具有一定的规律性。从表2可以看出:当麻黄与苦杏仁配伍时,麻黄可增加汤剂中苦杏仁苷的含量,但影响不显著,相应苦杏仁亦增加麻黄碱的含量^[1],提示麻黄与苦杏仁的配伍可增强药效,佐药苦杏仁与君药麻黄配伍是合理的,与中医组方理论的相须、相使配伍一致;当甘草与苦杏仁配伍时,甘草可降低汤剂中苦杏仁苷的含量,但影响差异不显著,提示甘草可通过降低苦杏仁苷的含量而降低苦杏仁的毒性,从而起到调和药性、降低毒性的作用;而桂枝与苦杏仁配伍,对苦杏仁苷几乎没有影响。统计分析结果表明:麻黄、桂枝、甘草对麻黄汤中苦杏仁苷含量影响差异没有显著性,且两两交互作用不显著。

2.2.5 关于新物质:在本实验条件下,各组合配伍没有发现新物质色谱峰。

3 讨论

3.1 测定方法选择:《中华人民共和国药典》2000年版一部采用滴定方法间接测定苦杏仁中苦杏仁苷含量,操作烦琐,灵敏度低。针对中药复方汤剂中成分复杂的情况,本实验采用反相高效液相色谱法有效地分离了复方中的各成分,复方中其他成分对苦

杏仁苷测定无干扰,该法简便、准确、灵敏,可作为苦杏仁药材及其制剂的质量监控方法。

3.2 流动相选择:曾以不同比例的甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水作为流动相,结果发现流动相中加入乙腈峰形变差,而甲醇-水体系中苦杏仁苷的峰形好,故选择甲醇-水为流动相。

3.3 柱温选择:曾将柱温设置为25、30、35℃,发现柱温在25℃时,缺苦杏仁阴性对照溶液干扰严重,提高柱温,可改变苦杏仁苷和干扰成分的选择性,当柱温为35℃,苦杏仁苷和干扰成分可达到基线分离,复方中其他成分对苦杏仁苷测定无干扰。

3.4 药材与取样:针对中药材粗细大小不一、组份在药材中含量不均的情况,本实验除了对药材进行剪切、捣碎等必要的处理,鉴于单付处方剂量小,引入误差大,还采用了每次煎煮3付药,增加了取样量,降低了药材不匀的误差,使取样更具代表性,水煎液制备的平行性更高,使测定结果更准确地反映出配伍因素引起的化学变化。

References

- [1] Li J L, Chen F L, Liu C M, et al. Determination of ephedrine and pseudoephedrine in MAHUANG TANG by GC-MS and effect of compatible medicinal herbs on concentration of components in decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(4): 307-309.

阿克苏黄芪中多糖成分的分析

赵文¹, 黄亚东¹, 任永凤², 许华¹, 郑青^{1*}

(1. 暨南大学 医药生物技术研究开发中心, 广东 广州 510632;

2. 新疆维吾尔自治区药物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830002)

摘要:目的 分析阿克苏黄芪中多糖的组份及含量。方法 利用纸色谱分析了多糖组份并采用分光光度法测定了多糖含量。结果 阿克苏黄芪多糖的组成为葡萄糖, 生药中多糖含量为2.10%。结论 阿克苏黄芪中所含多糖为葡聚糖。同时测得其相对分子质量为 5.7×10^4 。

关键词: 阿克苏黄芪; 多糖; 分光光度法

中图分类号: R284.1; R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2004)03-0271-03

Analysis of polysaccharide in *Astragalus aksuensis*

ZHAO Wen¹, HUANG Ya-dong¹, REN Yong-feng², XU Hua¹, ZHENG Qing¹

(1. Biopharmaceutical Research and Development Center of Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830002, China)

Key words: *Astragalus aksuensis* Bunge; polysaccharide; spectrophotography

收稿日期: 2003-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39660082)

作者简介: 赵文(1962—), 女, 副研究员, 主要从事植物化学、天然药物和药物化妆品研究。