

四妙勇安汤当药苷、马钱苷提取率的拆方分析

季新宇, 王翀, 刘斌*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] **目的:**研究四妙勇安汤不同配伍组合对当药苷、马钱苷提取率的影响。**方法:**将四妙勇安汤拆方后,采用 HPLC 法, SunFire™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 0.1% 磷酸水-乙腈梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 35 °C, 分析当药苷、马钱苷含量并计算其提取率。**结果:**测定了原方及拆方后共 8 组样品中当药苷、马钱苷的含量并计算相应提取率, 当药苷、马钱苷的回归方程分别为 $Y = 1\ 179\ 101.85X - 28\ 583.08$ ($r = 0.999\ 2$) 和 $Y = 1\ 353\ 095.24X - 4\ 113.75$ ($r = 0.999\ 1$); 线性范围分别为 0.191 2 ~ 1.338 4, 0.026 4 ~ 0.184 8 μg; 平均加样回收率分别为 101.19% (RSD 2.83%), 102.59% (RSD 2.30%)。**结论:**与单味金银花相比, 其他拆方组当药苷和马钱苷提取率均有不同程度的提高, 全方合煎后 2 种成分的提取率最高, 进而佐证了配伍的优越性和科学性。

[关键词] 四妙勇安汤; 拆方; 配伍; 当药苷; 马钱苷; 提取率

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0102-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170102

Decomposition Analysis on Sweroside and Loganin Extraction Rate Changes in Simiao Yongan Tang

JI Xin-yu, WANG Chong, LIU Bin*

(School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** This study was carried out to investigate the influence of different compatibility combinations of Simiao Yongan tang on the extraction efficiency of sweroside and loganin. **Method:** The extraction rates of sweroside and loganin were determined by HPLC, using a SunFire™ C₁₈ analytical column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) in prescription dismantling of Simiao Yongan tang. The mobile phase was composed of aqueous phosphoric acid (0.1%) and acetonitrile using a gradient elution. Analytes were performed at 35 °C with a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ and a UV detection at 250 nm. **Result:** The sweroside and loganin in eight groups from the original prescription and dismantlement were detected and analyzed. The regression equations for sweroside and loganin were $Y = 1\ 179\ 101.85X - 28\ 583.08$ ($r = 0.999\ 2$) and $Y = 1\ 353\ 095.24X - 4\ 113.75$ ($r = 0.999\ 1$), respectively. The liner ranges were 0.191 2-1.338 4 μg for sweroside and 0.026 4-0.184 8 μg for loganin. The average recoveries of sweroside and loganin were 101.19% (RSD 2.83%) and 102.59% (RSD 2.30%), respectively. **Conclusion:** Compared with single Lonicerae Japonicae Flos, the extraction rates of sweroside and loganin were improved in other compatibilities of Simiao Yongan tang. The whole prescription was superior to the other groups, which indicated that compatibility was preponderant and reasonable.

[Key words] Simiao Yongan tang; prescription dismantlement; compatibility; sweroside; loganin; extraction rate

[收稿日期] 20140422(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173520)

[第一作者] 季新宇, 在读硕士, 从事中药(复方)有效物质基础研究, Tel:010-84738629, E-mail:jixinyu0323@163.com

[通讯作者] *刘斌, 博士, 教授, 从事中药(复方)有效物质基础研究, Tel:010-84738629, E-mail:liubinyn67@163.com

中药复方是中医临床用药的主要形式。复方各单味药之间常相互影响,或协同发挥疗效,或拮抗降低毒副作用,其疗效多优于各单味药疗效的简单相加^[1]。四妙勇安汤源自《验方新编》卷二,由金银花、玄参、当归和甘草组成,具有清热解毒、活血止痛的功效,为临床治疗脱疽的有效方剂^[2],现常用于治疗栓闭塞性脉管炎^[3]、动脉粥样硬化^[4]和糖尿病足坏疽^[5]等。方中君药金银花具有清热解毒、抗菌消炎的功效,其主要有效成分绿原酸、异绿原酸等有机酸类化合物具有清热解毒作用^[6],当药苷、马钱苷等环烯醚萜类化合物有较强的抗炎、抗病毒、抗氧化作用^[7]。刁玉林等^[8]通过对四妙勇安汤进行拆方分析,发现甘草与金银花、玄参、当归配伍均能明显降低甘草酸的提取率,张恩惠等已研究了四妙勇安汤拆方后哈巴苷提取率的变化^[9],发现拆方均降低其提取率,而全方煎煮能提高其提取率。本文继续研究四妙勇安汤不同拆方中金银花中当药苷和马钱苷提取率的差异,为四妙勇安汤的制备工艺优化和进一步开发利用提供依据。

1 材料

Waters 高效液相色谱仪(1525 型二元高压梯度泵系统,2998 型 PDA 检测器,2414 型柱温控制系统,2707 型自动进样系统,美国 Waters 公司),Sartorius BT 25S 型 1/10 万电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司),KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。当药苷(批号 111742-200501)和马钱苷(批号 111640-200604)对照品均购自中国食品药品检定研究院。乙腈(Merck 公司,色谱纯),屈臣氏重蒸水(液相用水),其他为分析纯。金银花(产地河南,批号 081225)、玄参(产地浙江,批号 081218)、当归(产地甘肃,批号 090112)、甘草(产地内蒙古,批号 090112)均购自(2009 年 5 月)河北光明饮片有限公司,经北京中医药大学刘春生教授鉴定金银花为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾;玄参为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根;当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 的干燥根;甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥成熟子根及根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 SunFire™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 240 nm,柱温 35 ℃,流动相 0.1% 磷酸水溶液-乙腈梯度洗脱(95:5 ~ 90:10)(50 min)。

2.2 样品制备 按四妙勇安汤处方单味药比例(金银花-玄参-当归-甘草 3:3:2:1),按表 1 所示,称取各组饮片,分别加水 12 倍量,浸泡 1 h,回流提取 1 h,趁热过滤,药渣加水 10 倍量回流提取 45 min,合并 2 次提取液,回收溶剂至 0.5 g·mL⁻¹,加入 95% 乙醇,调节乙醇质量分数为 70%,静置过夜,离心,取上清液减压回收溶剂,残留物减压干燥得干膏,称重,计算干膏得率(表 1),备用。

表 1 不同拆方样品及干膏得率

| 样品 | 饮片配伍 | 干膏得率/% |
|----|------------------------------------|--------|
| 1 | 金银花 15 g, 玄参 15 g, 当归 10 g, 甘草 5 g | 55.56 |
| 2 | 金银花 15 g, 玄参 15 g, 当归 10 g | 42.50 |
| 3 | 金银花 15 g, 玄参 15 g, 甘草 5 g | 45.71 |
| 4 | 金银花 15 g, 当归 10 g, 甘草 5 g | 48.33 |
| 5 | 金银花 15 g, 玄参 15 g | 26.67 |
| 6 | 金银花 15 g, 当归 10 g | 52.00 |
| 7 | 金银花 15 g, 甘草 5 g | 27.50 |
| 8 | 金银花 15 g | 12.34 |

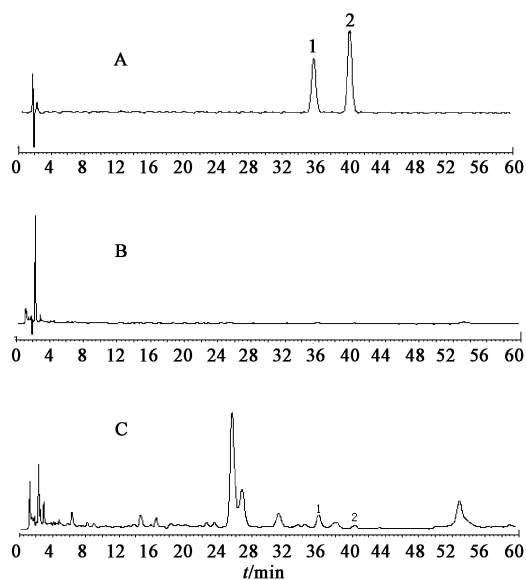
2.3 对照品溶液制备 分别精密称取当药苷和马钱苷对照品适量,分别加 50% 甲醇溶解,制成每 1 mL 含当药苷 0.095 6 mg、马钱苷 0.013 2 mg 的对照品溶液。

2.4 供试品溶液制备 取每个样品干膏约 100 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,加 50% 甲醇超声(100 kHz, 30 min)溶解,放冷,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。

2.5 阴性样品溶液制备 按四妙勇安汤组方 4 味药的剂量比例,称取玄参、当归和甘草适量,按照 2.2 和 2.4 项下方法,制备金银花阴性样品溶液。

2.6 空白试验 采用 2.1 项下色谱条件,分别精密吸取当药苷和马钱苷对照品溶液、供试品溶液(1 号样品)、金银花阴性样品溶液各 20 μL,分别进样。在对照品溶液和供试品溶液色谱图相应位置上,有相同保留时间的色谱峰,而阴性样品溶液色谱图相应位置无色谱峰(图 1)。

2.7 线性关系考察 精密吸取对照品溶液(每 1 mL 含当药苷 0.095 6 mg、马钱苷 0.013 2 mg)各 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 μL 注入液相色谱仪,测定色谱峰峰面积。以对照品进样量(X)为横坐标,色谱峰峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得当药苷、马钱苷回归方程分别为: $Y = 1\ 179\ 101.85X - 28\ 583.08, r = 0.999\ 2 (n = 7)$; $Y = 1\ 353\ 095.24X - 4\ 113.75, r = 0.999\ 1 (n = 7)$,表明当药苷、马钱苷进



A. 对照品; B. 阴性; C. 供试品; 1. 当药苷; 2. 马钱苷

图1 对照品、阴性样品及供试品 HPLC

样量分别在 0.191 2 ~ 1.338 4, 0.026 4 ~ 0.184 8 μg 线性关系良好。

2.8 精密度试验 称取 1 号样品 100 mg, 精密称定, 按 2.4 项下方法处理, 精密吸取 20 μL , 连续进样 6 次, 测定当药苷、马钱苷色谱峰峰面积, 计算 RSD 值分别为 0.89%, 2.62%, 表明精密度良好。

2.9 重复性试验 取同一 1 号样品 6 份, 每份约 100 mg, 精密称定, 按 2.4 项下方法制备供试品溶液, 精密吸取 20 μL , 测定色谱峰峰面积, 计算含量。计算当药苷、马钱苷的平均质量分数分别为 0.237% (RSD 2.87%), 0.021% (RSD 2.91%), 表明该方法重复性良好。

2.10 稳定性考察 称取 1 号样品 100 mg, 精密称定, 按 2.4 项下方法制备, 精密吸取 20 μL , 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样, 测定当药苷、马钱苷色谱峰峰面积, 计算 RSD 分别为 0.81%, 2.85%。表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.11 加样回收率试验 称取已知含量的 1 号样品 (当药苷、马钱苷的平均质量分数分别为 0.237 2%, 0.021 32%) 6 份, 每份约 50 mg, 精密称定, 分别置 5 mL 量瓶中, 精密加入当药苷对照品溶液 (0.095 6 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 1.25 mL, 马钱苷对照品溶液 (0.013 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 0.8 mL, 按 2.4 项下方法制得供试品溶液, 分别精密吸取 20 μL , 注入液相色谱仪, 测定各色谱峰峰面积, 计算当药苷、马钱苷含量和回收率。当药苷平均回收率为 101.19%, RSD 2.83%; 马钱苷平均回收率为 102.59%, RSD 2.30%。见表 2 ~ 3。

表 2 当药苷加样回收率测定

| 称样量 /mg | 样品中量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|------------|-------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 50.63 | 0.120 1 | 0.241 0 | 101.18 | | |
| 49.62 | 0.117 7 | 0.242 3 | 104.30 | | |
| 50.40 | 0.119 5 | 0.240 5 | 101.23 | 101.19 | 2.83 |
| 49.82 | 0.118 2 | 0.242 8 | 104.29 | | |
| 50.19 | 0.119 1 | 0.237 5 | 99.14 | | |
| 50.53 | 0.119 9 | 0.235 8 | 96.99 | | |

注: 加入量均为 0.119 5 mg。

表 3 马钱苷加样回收率测定

| 称样量 /mg | 样品中量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|------------|-------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 50.63 | 0.010 79 | 0.021 07 | 97.35 | | |
| 49.62 | 0.010 58 | 0.021 66 | 104.96 | | |
| 50.40 | 0.010 75 | 0.021 75 | 104.17 | 102.95 | 3.00 |
| 49.82 | 0.010 62 | 0.021 58 | 103.73 | | |
| 50.19 | 0.010 70 | 0.021 85 | 105.55 | | |
| 50.53 | 0.010 77 | 0.021 54 | 101.93 | | |

注: 加入量均为 0.010 56 mg。

2.12 样品含量测定 分别取 3 批 1 ~ 8 号样品各 3 份, 每份约 100 mg, 精密称定, 置 5 mL 量瓶中, 按 2.4 项下方法制备供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液 20 μL , 当药苷和马钱苷对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 测定色谱峰面积, 按外标一点法计算当药苷、马钱苷含量和提取率, 见表 4。

表 4 不同拆方样品含量测定

| 当药苷 | | 马钱苷 | |
|------|--------|-------|--------|
| 质量分数 | 提取率 | 质量分数 | 提取率 |
| 0.24 | 102.77 | 0.021 | 106.75 |
| 0.29 | 86.14 | 0.016 | 54.84 |
| 0.32 | 87.77 | 0.029 | 91.65 |
| 0.34 | 85.75 | 0.013 | 36.31 |
| 0.41 | 56.44 | 0.019 | 30.60 |
| 0.39 | 87.90 | 0.022 | 56.51 |
| 0.50 | 47.79 | 0.021 | 22.81 |
| 0.68 | 23.47 | 0.033 | 13.26 |

3 讨论

由表4可知,当药苷和马钱苷提取率均在全方中最高,单味金银花中最低,说明配伍可增大2种成分的提取率。从2种成分提取率变化整体趋势看,配伍药味越多,2种成分提取率越高,说明复方各成分间的相互作用对当药苷和马钱苷提取率均产生正影响。但相同配伍药味组中,2种成分提取率的提高程度不同,随着配伍药味增多,当药苷提取率的提高程度大于或近似于马钱苷。当归、玄参、甘草对提高两成分提取率的贡献度不同,其顺序为当归>玄参>甘草,其中当归和金银花合煎,可使当药苷和马钱苷的提取率分别增加至87.90%和56.51%,提示臣药当归对君药金银花的协同增效作用强于佐、使药。玄参、甘草合用可使2种成分提取率有同等程度的提高,体现了佐使药对君药的协同、调和作用^[10]。同时发现,四妙勇安汤全方合煎时,当药苷和马钱苷的提取率超过100%,推测可能是由于4味药合煎过程中,存在着不同成分间的相互转化,如玄参或金银花中的其他环烯醚萜苷类成分转化成了当药苷和马钱苷,致使两成分含量增加,表现为提取率大幅提升,其确切原因尚有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 王忆勤,徐宏喜. 中药复方化学成分的研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2001, 35(3):45.

- [2] 李斌. 四妙勇安汤临证浅析[J]. 新疆中医药, 2012, 30(1):86.
- [3] 李娜,曲晓波,蔺爽,等. 四妙勇安汤对大鼠血栓闭塞性脉管炎的抗炎作用及其机制[J]. 吉林大学学报:医学版, 2013, 39(2):264.
- [4] 张军平,许颖智,李明,等. 四妙勇安汤对动脉粥样硬化模型抗氧化应激及炎症反应的影响[J]. 中医杂志, 2010, 51(1):72.
- [5] 崔炎,吴建萍,李晓绿,等. 四妙勇安汤对糖尿病足坏疽患者VEC、ET和致炎细胞因子水平的影响[J]. 河南中医, 2009, 29(2):151.
- [6] 席先蓉,刘光亮. 方药配伍对四妙勇安汤中绿原酸和异绿原酸溶出率的影响[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(11):694.
- [7] 杨蓓蓓,刘超,王素娟,等. 高效液相色谱法测定金银花药材中3种成分的含量[J]. 世界药物分析杂志, 2006, 26(2):168.
- [8] 刁玉林,王翀,张乐,等. 四妙勇安汤不同拆方甘草酸提取率考察[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(11):771.
- [9] 张恩惠,王翀,刘斌. 四妙勇安汤中哈巴昔提取率的拆方分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):45.
- [10] 蔺爽,李辉,于森,等. 四妙勇安汤研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(1):84.

[责任编辑 邹晓翠]

《中国医药导报》杂志 欢迎订阅 欢迎投稿

《中国医药导报》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管、中国医学科学院主办的医药卫生期刊,现为旬刊,国内统一刊号:CN11-5539/R,国际标准刊号 ISSN1673-7210,邮发代号:80-372,本刊系中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、美国化学文摘(CA)收录期刊、解放军医学图书馆中文生物医学期刊文献数据库收录期刊,所刊登的文章被万方数据、中国知网、中文科技期刊数据库全文收录。每期定价20元,全年36期优惠价540元。

本刊设专家论坛、综述、论著、实验研究、药理与毒理、临床研究、药物与临床、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、病例报告、医疗器械、中医中药、生物医药、药品检验、制剂与技术、药师与临床、不良反应监测、药物经济学、调查研究、护理研究、教育研究、科研管理、法规与标准、卫生研究、医疗管理、产业与市场、医药监管、工作探讨等栏目。是广大医药卫生科研、教育、医护、药事、经营管理等人员了解医药研究进展、发展动态,展示医药科研成果,学习先进经验,探讨工作难题,交流和提高业务学术水平的得力助手,也是发表医药学术论文的阵地。在本刊发表的论文可获得继续教育学分。本刊订户凭订阅读单复印件投稿优先发表。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-601 邮编:100025

投稿热线:010-59679061 59679063 发行热线:010-59679533

传真:010-59679056 投稿信箱:yydb@vip.163.com

网址:www.yiyadaobao.com.cn