

石膏对麻杏石甘汤中5个主要成分含量的影响

姜丽¹, 李佳¹, 李冰涛¹, 李惠兰¹, 饶毅², 王跃生^{2,3}, 徐国良^{1*}
(1. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心, 南昌 330004;
2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**研究石膏对麻杏石甘汤中麻黄碱、伪麻黄碱、苦杏仁苷、甘草苷、甘草酸5种成分含量的影响。**方法:**采用HPLC测定麻杏石甘汤整方及缺石膏麻杏石甘汤两种汤剂中麻黄碱、伪麻黄碱、苦杏仁苷、甘草苷、甘草酸的含量。选用Agilent ZORBAX SB-Aq C₁₈色谱柱,流动相乙睛-0.1%磷酸梯度洗脱,柱温30℃,于207 nm波长处测定麻黄碱、伪麻黄碱和苦杏仁苷,237 nm处测定甘草苷和甘草酸,流速1 mL·min⁻¹。**结果:**麻杏石甘汤整方/缺石膏麻杏石甘汤中麻黄碱、伪麻黄碱、苦杏仁苷、甘草苷、甘草酸含量分别为197.80/183.08, 64.32/54.57, 448.05/368.79, 56.81/50.34, 119.76/143.92 mg·L⁻¹,两组中各成分含量均具有显著性差异($P < 0.01$)。**结论:**石膏可影响麻杏石甘汤中其他药味成分含量,增加麻黄碱、伪麻黄碱、苦杏仁苷、甘草苷含量,降低甘草酸含量。

[关键词] 麻杏石甘汤; 石膏; 麻黄碱; 伪麻黄碱; 苦杏仁苷; 甘草苷; 甘草酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0056-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170056

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140715.1338.013.html>

[网络出版时间] 2014-07-15 13:38

Gypsum's Effects on 5 Main Ingredients in Maxingshigan Decoction

JIANG Li¹, LI Jia¹, LI Bing-tao¹, LI Hui-lan¹, RAO Yi², WANG Yue-sheng^{2,3}, XU Guo-liang^{1*}
(1. Research Center for Differentiation and Development of Traditional Chinese Medicine (TCM) Basic Theory, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China; 2. The National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China;
3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** The purpose of this article study the effects of gypsum on the contents of ephedrine, pseudoephedrine, amygdalin, liquiritin and glycyrrhizic acid in Maxingshigan decoction. **Method:** HPLC method was employed to determine the five components in both decoctions with and without gypsum. The Agilent ZORBAX SB-Aq C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) maintained at 30 °C with a gradient mobile phase system consisting of ACN-0.1% phosphoric acid solution was used for sample analysis. The wavelength of the UV detector was set at 207 nm for ephedrine, pseudoephedrine and amygdalin, while 237 nm for liquiritin and glycyrrhizic acid with a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** The concentration of ephedrine, pseudoephedrine, amygdalin, liquiritin and glycyrrhizic acid were 197.80, 64.32, 448.05, 56.81, 119.76 mg·L⁻¹ in traditional Maxingshigan decoction with gypsum while in the case of gypsum-free, the concentrations of the five componts were 183.08, 54.57, 368.79, 50.34, 143.92 mg·L⁻¹ in Maxingshigan decoction without gypsum, respectively. **Conclusion:** Gypsum had influence on the contents of other constituents. It could significantly increase the

[收稿日期] 20140108(007)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2010CB530602, 2010CB530603)

[第一作者] 姜丽, 讲师, 从事中药药代动力学研究, Tel:15270034170, E-mail:jiangli1009@126.com

[通讯作者] * 徐国良, 教授, 硕士生导师, 从事中药药理及药代动力学研究, Tel:0791-87118576, E-mail:xuguoliang6606@126.com

contents of ephedrine, pseudoephedrine, amygdalin, liquiritin but reduce the content of glycyrrhizic acid.

[Key words] Maxingshigan decoction; gypsum; ephedrine; pseudoephedrine; amygdalin; liquiritin; glycyrrhizic acid

麻杏石甘汤出自医圣张仲景《伤寒论》,由麻黄、苦杏仁、石膏、甘草组成。方中麻黄宣肺解表而平喘,苦杏仁降气止咳、兼助化痰,石膏清泄肺胃之热以生津,甘草顾护胃气,调和诸药,四药共奏辛凉宣泄,清肺平喘之功效。该方配伍精当,简单易行,被后世医家广泛应用于咳嗽诸症中,特别适用于咳嗽属热邪在肺者。

麻黄、苦杏仁、甘草主要成分分别为生物碱、黄酮类和皂苷类。石膏属矿物类药物,其主要成分为含水硫酸钙($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),另还含有锌、铜、铁、锰等丰富的微量元素,有报道石膏的解热作用与硫酸钙无关,可能与所含的微量元素有关^[1]。虽然石膏的药效作用已被临床证实,但其在麻杏石甘汤中的地位问题一直是历代医家争论的焦点,且石膏对其他药味成分的影响也不得而知。

本文从有效成分入手,采用 HPLC 同时测定了麻杏石甘汤整方及缺石膏麻杏石甘汤中麻黄碱、伪麻黄碱、苦杏仁苷、甘草苷、甘草酸 5 个有效成分的含量,比较各成分在两种汤剂中的含量差异,探讨矿物药石膏对麻杏石甘汤中有效成分的影响,间接反映了石膏在方中的重要性。

1 材料

1260 系列高效液相色谱仪(包括 G1311C 四元泵、G1316A 柱温箱、G1365D 紫外检测器,美国安捷伦科技有限公司),SZ-97A 型自动三重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂),TGA358 型 1/万及 1/10 万分析天平(北京 Sartorius 仪器系统有限公司)。

麻黄(批号 1304140131)为麻黄科植物木贼麻黄 *Ephedra equisetina* Bge. 的干燥草质茎,苦杏仁(批号 1203405101)为蔷薇科植物山杏 *Prunus armeniaca* L var. *ansa* Maxim 的干燥成熟种子,生石膏(批号 1305620191)为硫酸盐类矿物硬石膏族石膏 *Gypsum Fibrosum*,炙甘草(批号 1307668111)为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎,以上药材由江西中医药大学药学院中药固体制剂制造技术国家工程研究中心饶毅教授鉴定并提供;麻黄碱(批号 171237-201208)、伪麻黄碱(批号 171241-201007)、苦杏仁苷(批号 110820-201305)、甘草苷(批号 111610-201106)、甘草酸铵(批号 110731-201116)对照品均购自中国食品药品

检定研究院,甲醇、乙腈(色谱纯,美国 TEDIA),娃娃哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 药材含量测定 参照《中国药典》2010 年版一部测定各药材含量,结果麻黄药材中麻黄碱平均质量分数为 2.46%,伪麻黄碱平均质量分数为 1.07%,总量为 3.53%,符合《中国药典》规定(总量不得少于 0.80%);苦杏仁药材中苦杏仁苷平均质量分数为 3.71%,符合《中国药典》规定(不得少于 3.0%);石膏中含水硫酸钙平均质量分数为 99.56%,符合《中国药典》规定(不得少于 95%);甘草中甘草苷平均质量分数为 0.59%,符合《中国药典》规定(不得少于 0.50%);甘草酸平均质量分数为 2.19%,符合《中国药典》规定(不得少于 2.0%)。

2.2 色谱条件 采用 Agilent ZORBAX SB-Aq C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B)梯度洗脱(表 1),流速 1 mL·min⁻¹,207 nm 处检测麻黄碱、伪麻黄碱及苦杏仁苷,237 nm 处检测甘草苷和甘草酸铵,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样量 10 μL 。

表 1 麻杏石甘汤中含量测定流动相梯度洗脱程序

t/min	A/%	B/%
0 ~ 15	1	99
15 ~ 40	1 ~ 8	99 ~ 92
40 ~ 52	8 ~ 30	92 ~ 70
52 ~ 55	30 ~ 35	70 ~ 65
55 ~ 68	35 ~ 51	65 ~ 49
68 ~ 70	51 ~ 70	49 ~ 30
70 ~ 75	70 ~ 1	30 ~ 99

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液配制 取麻黄碱(E)、伪麻黄碱(PE)、苦杏仁苷(Am)、甘草苷(GL)、甘草酸铵(GA)各对照品适量,精密称定,加 1.44% H_3PO_4 -MeOH(1:4)的混合溶液(稀释液)溶解后作为对照品储备液。精密量取各储备液适量,置同一量瓶中,加稀释液定容,摇匀,得 E, PE, Am, GL, GA 分别为 498.5, 199.8, 2145.0, 234.3, 698.3 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液制备

2.3.2.1 麻杏石甘汤整方 称取麻黄 6 g、苦杏仁 6 g、石膏 24 g、炙甘草 6 g,加入方药总量 8 倍(336 mL)水,温水浸泡 30 min,回流提取,至沸腾时计时,微沸 40 min,趁热过滤,即得麻杏石甘汤整方,平行制备 3 份。

2.3.2.2 缺石膏麻杏石甘汤 称取麻黄 6 g、苦杏仁 6 g、炙甘草 6 g,加水 336 mL,温水浸泡 30 min,回流提取,至沸腾时计时,微沸 40 min,趁热过滤,即得缺石膏麻杏石甘汤汤剂,平行制备 3 份。

2.4 提取方法学考察

2.4.1 专属性试验 分别吸取各成分对照品混合溶液和供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件,分别进样测定,记录色谱图。结果表明,在上述色谱条件下,E, Pe, Am, GL, GA 保留时间分别约为 10.1, 11.9, 37.75, 53.2, 62.6 min, 5 种成分分离良好,见图 1。

187.4, 140.6, 70.3, 46.9, 23.4, 11.0 mg·L⁻¹, GA 分别为 698.3, 558.6, 419, 209.5, 139.7, 69.8, 32.5 mg·L⁻¹。按上述色谱条件进样测定,记录色谱图。以对照品质量浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得各成分线性方程 EA = 20.56 C + 18.26, 线性范围 24.9 ~ 498.5 mg·L⁻¹; A_{PE} = 22.71C - 0.42, 线性范围 10.0 ~ 199.8 mg·L⁻¹; A_{Am} = 9.87C + 40.53, 线性范围 107.3 ~ 2 145.0 mg·L⁻¹; A_{GL} = 18.40C + 34.43, 线性范围 11.0 ~ 243.3 mg·L⁻¹; A_{GA} = 5.26C + 12.25, 线性范围 32.5 ~ 698.3 mg·L⁻¹。各成分相关系数均 > 0.999。

2.4.3 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,测定峰面积, E, PE, Am, GL, GA 峰面积的 RSD 分别为 1.40%, 0.86%, 1.49%, 2.14%, 1.20%, 1.40%, 表明仪器的精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0, 12, 24 h 按上述色谱条件进样分析,测定峰面积, E, PE, Am, GL, GA 峰面积 RSD 分别为 1.77%, 1.01%, 1.30%, 1.41%, 1.67%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 重复性试验 取同一批麻黄、苦杏仁、石膏、甘草饮片各 6 份,按 2.3.2 项下的方法制备供试品溶液,依法测定,计算各成分含量。结果表明, E, PE, Am, GL, GA 含量的 RSD 分别为 3.71%, 4.82%, 2.96%, 4.58%, 4.71%, 表明方法重复性良好。

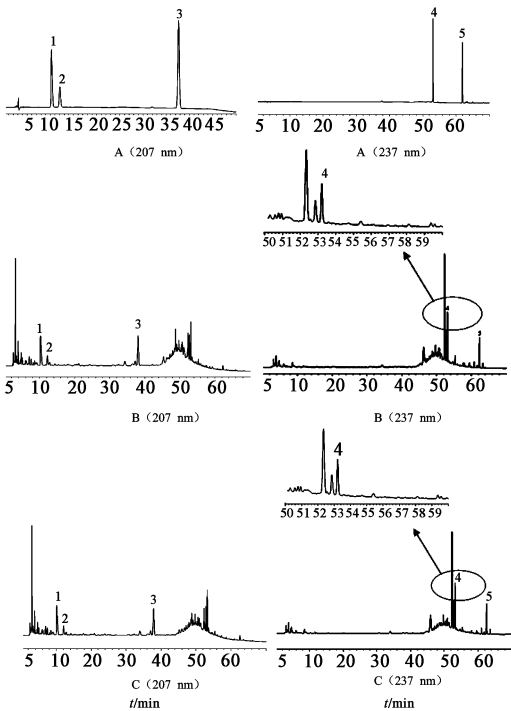
2.4.6 加样回收率试验 取已知含量的同一批麻杏石甘汤溶液,分别加入低、中、高浓度各 3 份对照品适量,按上述色谱条件进样分析,计算平均加样回收率,结果表明, E, PE, Am, GL, GA 平均加样回收率分别为 98.88%, 99.03%, 98.18%, 97.31%, 97.78%, 表明本法具有较好的回收率,见表 2。

2.4.7 样品测定 取麻杏石甘汤整方和缺石膏麻杏石甘汤,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤,按上述色谱条件进样测定,计算两方中 E, PE, Am, GL, GA 含量,采用 SPSS 17.0 (SPSS 公司,美国)对数据进行统计分析,两方中各成分含量差异分析采用 t 检验,结果见表 3。

由表 3 可知,与麻杏石甘汤整方相比,缺石膏方中 5 个成分含量均有显著性差异,石膏可显著增加方中 E, PE, Am, GL 含量,而降低 GA 含量。

3 讨论

曾尝试乙睛-0.1% 三乙胺水溶液、甲醇-0.4%



A. 对照品; B. 供试品; C. 缺石膏样品;

1. 麻黄碱; 2. 伪麻黄碱; 3. 苦杏仁苷; 4. 甘草苷; 5. 甘草酸

图 1 麻杏石甘汤 HPLC

2.4.2 线性关系考察 精密量取不同体积的混合对照品溶液,用稀释液定量稀释,制得 7 个不同质量浓度的混合对照品溶液,其中 E 分别为 498.5, 398.8, 299.1, 149.6, 99.7, 49.9, 24.9 mg·L⁻¹, PE 分别为 199.8, 159.8, 119.9, 59.9, 40.0, 20.0, 10.0 mg·L⁻¹, Am 分别为 2 145.0, 1 716.0, 1 287, 643.5, 429.0, 214.5, 107.3 mg·L⁻¹, GL 分别为 243.3,

表2 麻杏石甘汤中各成分加样回收率

成分	样品中量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 %	平均值 /%	RSD /%
E	5.81	2.10	7.89	99.05	98.88	1.46
	5.81	7.13	12.75	97.34		
	8.71	16.05	24.80	100.25		
PE	1.52	0.53	2.03	96.23	99.03	2.51
	1.52	1.83	3.37	101.09		
	2.28	4.11	6.38	99.76		
Am	12.94	2.75	15.57	95.64	98.18	2.21
	12.94	11.24	24.12	99.47		
	19.42	25.29	44.57	99.45		
GL	1.61	0.44	2.03	95.45	97.31	1.81
	1.61	1.92	3.48	97.40		
	2.41	4.32	6.69	99.07		
GA	4.50	1.08	5.53	95.37	97.78	2.41
	4.50	5.22	9.73	100.19		
	6.76	11.74	18.24	97.79		

磷酸、甲醇-0.1%磷酸(含0.1%三乙胺)作为流动相,结果发现基线不稳定,分离效果不理想。而选用乙睛-0.1%磷酸进行梯度洗脱,采用双波长可实现对麻杏石甘汤中多个有效成分进行同时测定,方中除甘草苷外,其余各成分均达到基线分离。因且方法简单易行,结果可靠。

本实验选用水煎的提取方法,同时为了控制实验条件,采取回流方法提取,且石膏采用与他药共煎的方法。石膏为矿石类药物,因《本草备要》中论其“味淡难出,若入煎剂,须先煮数十沸”,故2010年版《中国药典》和全国高等中医药院校规划教材《中药学》均注明石膏“先煎”,但从临床看,古今用石膏入汤先煎者甚少。如张仲景在《伤寒论》、《金匮要略》中用石膏者,只强调石膏宜打碎入药,无须先煎;善用石膏者张锡纯亦无先煎之论;现代中医泰斗蒲辅周用石膏,也未见有先煎石膏之方。

现代研究表明,麻黄碱和伪麻黄碱具有解热、发汗、利尿、镇咳、平喘等作用^[2],苦杏仁苷可在体内被酶分解,产生微量氢氰酸而达到镇咳平喘效

表3 麻杏石甘汤整方和缺石膏麻杏石甘汤中成分含量比较($\bar{x} \pm s, n=3$)mg·L⁻¹

组别	E	PE	Am	GL	GA
整方	197.80 ± 9.15	64.32 ± 2.80	451.39 ± 12.42	56.80 ± 2.45	119.76 ± 3.92
缺石膏方	183.08 ± 5.15 ¹⁾	54.57 ± 2.19 ¹⁾	368.79 ± 13.41 ¹⁾	50.34 ± 3.33 ¹⁾	143.92 ± 6.82 ¹⁾

注:¹⁾与整方比较 $P < 0.01$ 。

应^[3],甘草苷和甘草酸具有抗病毒、抗炎作用^[4]。通过统计分析,缺石膏汤剂与麻杏石甘汤整方比较,上述5个成分含量间均有显著性差异,石膏可增加E,PE,Am,GL含量,降低GA含量,这是否与重用石膏,处方偏重于止咳平喘,宣肺而不助热的功效有关,有待药效学进一步探讨。

有报道^[5],麻杏石甘汤中石膏可降低Am的含量,这与本实验研究结果正好相反,一方面可能是处方量不一样(文献中麻黄9g,杏仁9g,炙甘草6g,石膏18g,本实验中麻黄6g,杏仁6g,炙甘草6g,石膏24g),另一方面为提取方法不一样。石膏可低GA含量,这与武孔云^[6]报道一致,推测由于石膏中的Ca²⁺与GA形成络合物或沉淀,导致GA含量降低。

基于石膏加入与否对麻杏石甘汤中上述5个成分含量有显著性影响,本课题组将进一步考虑随着处方中石膏剂量的增加对方中各成分的影响,以期更好

地说明石膏作为矿物药在麻杏石甘汤中的重要性。

[参考文献]

- [1] 苏达世,万邦莉. 石膏中无机元素的研究概况[J]. 中国医院药学杂志, 1989, 9(4):166.
- [2] 陈晓城. 麻黄的药理作用研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2005, 21(1):58.
- [3] 邢国秀,李楠,杨美燕,等. 天然苦杏仁苷的研究进展[J]. 中成药, 2003, 25(12):1007.
- [4] 高鸿霞,邵世和,王国庆. 中药甘草研究进展[J]. 井冈山医学学报, 2004, 11(5):8.
- [5] 周斌,高文远,张铁军,等. 配伍对麻杏石甘汤中苦杏仁苷含量的影响[J]. 上海中医药杂志, 2006, 40(9):73.
- [6] 武孔云,梁光义,贺祝英,等. 石膏对麻杏石甘汤中甘草酸含量影响的研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2008, 10(2):89.

[责任编辑 顾雪竹]