

## 提取溶剂对柴黄颗粒中主要成分的影响

吴冬梅<sup>1</sup>, 刘卫红<sup>2</sup>, 姚蓝<sup>3</sup>, 麻印莲<sup>3</sup>, 顾雪竹<sup>3</sup>, 张村<sup>3\*</sup>

(1. 河南省中医院, 郑州 450002; 2. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000;  
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** **目的:**比较不同提取溶剂对柴黄颗粒 HPLC 图谱及对主要成分色谱峰面积的影响,为改进和完善柴黄颗粒的质量标准提供依据。**方法:**以 HPLC 对照品比对法对主要色谱峰进行归属;以检出色谱峰的相对峰面积、色谱峰面积总量,以及主要成分的相对比值及总量对水、甲醇以及 70% 甲醇等 3 种提取溶剂的 HPLC 图谱进行比较分析。**结果:**共指认了黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等 4 个色谱峰,3 种提取溶剂的 HPLC 图谱基本一致,但主要色谱峰的峰面积及总峰面积有较大差异,黄芩苷等 4 种主要成分的相对比值及总量也有较大差异。在建立的色谱条件下,3 种提取溶剂的成分含量有明显差异,以水为提取溶剂主要成分含量最高。**结论:**本研究为改进柴黄颗粒的含量测定方法提供了有益的参考。

**[关键词]** 柴黄颗粒; 黄芩苷; 汉黄芩苷; 黄芩素; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0071-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240071

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141106.1445.015.html>

**[网络出版时间]** 2014-11-06 14:45

## Comparison on Effective Components of Chaihuang Granules Among Three Different Extracting Solvents

WU Dong-mei<sup>1</sup>, LIU Wei-hong<sup>2</sup>, YAO Lan<sup>3</sup>, MA Yin-lian<sup>3</sup>, GU Xue-zhu<sup>3</sup>, ZHANG Cun<sup>3\*</sup>

(1. Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450002, China;

2. The First Affiliated Hospital of Henan College of TCM, Zhengzhou 450000, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the differences of HPLC profile and the main components among 3 different solvents so as to provide the basis for improving the quality standard of Chai-huang granules. **Method:** HPLC was employed to identify the main chromatographic peaks, which also was taken to compare the relative peak amounts, total amounts as well as the relative ratio among water, methanol and 70% methanol solvent extracts. **Result:** Four peaks (baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin) were identified. HPLC profiles of 3 extract solvents were almost same, however there were exhibited the significant varieties of the peak amounts, total amounts and the relative ratio of 4 major components. The contents of 3 extract solvents had substantial differences, and water as extracting solvent was highest. **Conclusion:** This study could offer the useful reference for determination method of Chai-huang granules.

**[Key words]** Chai-huang granules; baicalin; wogonoside; baicalein; HPLC

柴胡、黄芩为一组经典药对,为和解少阳方剂中最具有代表意义的配伍。柴黄与黄芩合用,首见于《伤寒论》小柴胡汤方中,均见柴胡、黄芩配伍。《金

匱要略》中柴胡方 7 首,有柴胡、黄芩药对者 6 方。《本草汇言》云:“清肌退热,柴胡最佳,然无黄芩不能凉肌达表”。柴胡苦凉而气轻清,性主升散,善于

**[收稿日期]** 20140616(016)

**[第一作者]** 吴冬梅, 硕士, 副主任药师, 从事医院药学工作, Tel:0371-60908833, E-mail:wdm.z@163.com

**[通讯作者]** \* 张村, 研究员, 博士生导师, 从事中药化学、中药炮制研究, Tel:010-84018690, E-mail:zhc95@163.com

疏散少阳之邪,开气分之结,解表而和里;黄芩苦寒,善清气分之热,清泄少阳郁火。二药配伍,疏散与清泄并施<sup>[1]</sup>。

柴黄颗粒收载于《部颁药品标准》中药成方制剂第十册(标准号 WS3-B-2009-95)<sup>[2]</sup>,由柴胡、黄芩提取物组成,具有清热消炎之功,用于上呼吸道感染、感冒发热,临床疗效确切。现代药理学研究证明柴黄颗粒具有解热、抗炎、抗病毒作用,柴黄颗粒配合抗病毒药物治疗老年患者风热型感冒发热效果优于单纯应用抗菌素与抗病毒药物治疗<sup>[3-6]</sup>。黄芩主要含黄芩苷、汉黄芩苷等黄酮类成分,尤以黄芩苷含量较高。柴黄颗粒原标准项下亦以分光光度法测定黄芩苷的含量,但测定结果误差较大。高效液相色谱法测定柴黄颗粒中黄芩苷的含量,多采用水、70% 甲醇等为提取溶剂<sup>[7-9]</sup>。本文以 HPLC 法结合对主要色谱峰的归属,考察不同提取溶剂对柴黄颗粒中主要成分的影响,以期完善柴黄颗粒的质量控制方法提供实验参考。

### 1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(岛津,包括 CBM-20ALite 四元泵, SIL-20A 自动进样器, SPD-M20A DAD 检测器, DGU-20A5 在线脱气机和 CTO-10ASvp 柱温箱等, 甲醇, 乙腈为色谱纯, 水为纯净水, 使用前均经 0.45 μm 滤膜滤过; 其他试剂均为分析纯。

对照品黄芩苷(110715-200514)、黄芩素(111595-200905)、汉黄芩素(111514-200403)供含量测定用,均由中国食品药品检定研究院提供;汉黄芩苷(A0595,纯度 > 98%)购于成都曼斯特生物科技有限公司;柴黄颗粒由河南灵佑药业有限公司出品(批号,4 g/袋)。

### 2 方法与结果

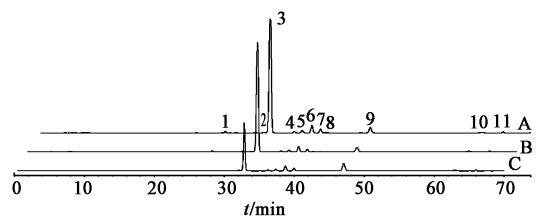
**2.1 色谱条件** Agilent TC(2) C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇(A)-水(B)梯度洗脱(0 ~ 20 ~ 36 ~ 56 ~ 66 ~ 70 min, 15% ~ 47% ~ 52% ~ 52% ~ 100% ~ 100% A), 柱温 35 °C, 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>。在此条件下样品色谱峰分离较佳。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品各适量, 分别加甲醇适量制成对照品溶液; 过微孔滤膜(0.45 μm), 备用。

**2.3 样品溶液的制备** 将本品研细, 过 40 目筛, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入水、70% 甲醇、甲醇溶液各 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用相应溶剂补

足减失的质量。摇匀, 用微孔滤膜(0.22 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4 主要色谱峰指认和归属** 取各对照品溶液, 依法进样分析, 按照同一化合物在相同的色谱条件下, 相同的保留时间处具有相同的紫外光谱图原则, 归属指认了柴黄颗粒中 3, 6, 9, 10 号等 4 个主要色谱峰, 分别为黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素(见图 1)。



A. 水; B. 70% 甲醇; C. 甲醇

3. 黄芩苷; 6. 汉黄芩苷; 9. 黄芩素; 10. 汉黄芩素

图 1 不同提取溶剂柴黄颗粒的 HPLC

**2.5 不同提取溶剂柴黄颗粒的 HPLC 图谱比较** 精密吸取上述样品溶液各 10 μL, 依法测定。由图 1 明显看出, 在 280 nm 检测波长下, 3 种提取溶剂的柴黄颗粒 HPLC 整体图貌基本一致, 共能检测出 11 个主要色谱峰, 该 8 个色谱峰占总峰面积的 95% 以上, 基本可代表该检测波长下的主要物质组成。不同提取溶剂的色谱峰高和峰面积有较大差异, 以水为提取溶剂的色谱峰强度最大, 以甲醇提取的色谱峰强度最低。但色谱峰的相对比例有明显差异。

**2.6 不同提取溶剂对柴黄颗粒中主要成分的影响** 以选择的流动相进行梯度洗脱, 以溶剂甲醇的取样量、各色谱峰面积及总峰面积分别校正计算, 将 70% 甲醇和水提取样品进行相应的折算, 以保留时间标定共有指纹峰, 相对峰面积比较主要成分的含量差异(见表 1、图 2)。

由表 1、图 2 可知, 不同提取溶剂对柴黄颗粒中主要成分影响不尽一致。整体上来看, 峰 1 ~ 8(峰 3 为黄芩苷, 峰 6 为汉黄芩苷)、峰 10 及色谱峰面积总量均以水提取率最高、70% 甲醇次之, 甲醇最低; 峰 11 相对峰面积差异不大, 说明 3 种提取溶剂对该峰未有显著性影响; 峰 9 为黄芩素以甲醇提取率最高, 而 70% 甲醇和水提取仅相当于甲醇提取的 63% 和 72%, 此与黄芩素为苷元类成分, 在甲醇中提取率高一致。

从主要成分占总峰面积的相对比值来看(图 3), 甲醇提取溶剂中黄芩苷(0.66) > 黄芩素(0.15) > 汉黄芩苷(0.08) > 汉黄芩素(0.01), 黄芩苷的相对比值

表1 不同提取溶剂柴黄颗粒的相对峰面积及相对总峰面积比较

峰号	归属成分	提取溶剂相对峰面积		
		甲醇	70% 甲醇	水
1		1.00(-)	6.51(-)	9.40(-)
2		1.00(0.01)	1.03(-)	1.10(-)
3	黄芩苷	1.00(0.66)	2.88(0.86)	3.44(0.85)
4		1.00(0.01)	1.23(0.01)	1.61(0.01)
5		1.00(0.02)	1.21(0.01)	1.66(0.01)
6	汉黄芩苷	1.00(0.08)	1.09(0.04)	1.53(0.05)
7		1.00(0.04)	1.12(0.02)	1.61(0.02)
8		1.00(-)	2.01(-)	2.95(-)
9	黄芩素	1.00(0.15)	0.63(0.04)	0.72(0.04)
10	汉黄芩素	1.00(0.01)	0.99(0.01)	1.06(0.01)
11		1.00(0.01)	1.07(-)	1.18(-)

注:括号内数据为该峰占总峰面积的相对比值,“-”表示相对比值小于0.01。

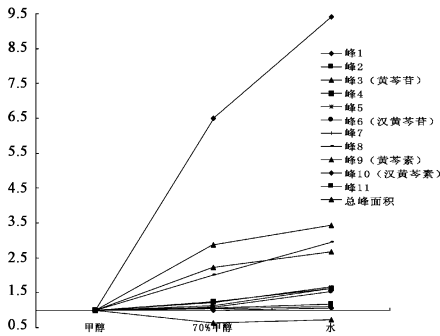


图2 不同提取溶剂对柴黄颗粒中主要成分的影响

为66%,4种成分约占总峰面积的90%;70%甲醇与水提取中4种成分的提取率相当,约为总峰面积的95%,黄芩苷的相对比值达到85%以上,其中70%甲醇为黄芩苷(0.86) > 汉黄芩苷(0.04) = 黄芩素(0.04) > 汉黄芩素(0.01),水提取相对比值为黄芩苷(0.85) > 汉黄芩苷(0.05) > 黄芩素(0.04) > 汉黄芩素(0.01)。综上所述,以70%甲醇与水提取柴黄颗粒中主要成分的相对比值最高。

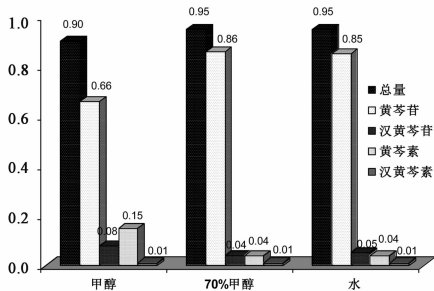


图3 不同提取溶剂柴黄颗粒中4种主要成分的相对比值及总量比较

### 3 讨论

柴黄颗粒为现代纯中药复方制剂,处方中黄芩

以黄芩提取物投料组方,并规定黄芩提取物黄芩苷的含量大于85%。现代研究表明黄芩中以黄芩苷为代表的黄酮类成分具有抗菌、消炎等多方面的药理作用,中药发挥疗效是多成分、多靶点的综合体现,因此建立中药复方多成分的质量评价体系既体现了中药复方的整体作用,又可防止不法生产企业仅以黄芩苷投料的投机行为。

本论文探讨了不同提取溶剂对柴黄颗粒中主要黄芩黄酮类成分的影响,结果表明,无论是从主要色谱峰的峰面积、总峰面积,还是从主要成分的相对比值及总量等比较分析,均以水提取含量最高,70%甲醇次之,此与黄芩提取物的水煎煮工艺一致,黄芩苷、汉黄芩苷等苷类成分在水及含水醇中溶解度大。而甲醇作为提取溶剂时,黄芩苷的含量较水和70%甲醇提取大幅降低,但黄芩素的含量最高,与黄酮苷元类成分易溶于甲醇相符。同时本研究还发现不同提取溶剂均可检出黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素等成分,建议在柴黄颗粒的质量评价体系中,增加黄芩苷、汉黄芩苷以及黄芩素的含量控制标准,为中药复方建立现代科学、可控的整体性的质量评价技术方法提供实验依据。本研究为改进柴黄颗粒的含量测定方法提供了有益的参考。

### 【参考文献】

- [1] 张智华.柴胡黄芩药对古今运用比较[C]. 郑州:中华中医药学会第二届中医方证基础研究与临床应用学术研讨会论文集,2008:109.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会编.中华人民共和国卫生部药品标准-中药成方制剂.第十册[S].北京:化学工业出版社,1995:141.
- [3] 刘亚欧,白筱璐,余悦,等.柴黄制剂的解热抗炎作用研究[J].中药药理与临床,2008,24(2):22.
- [4] 王峥,张利娟,董丽群.不同剂量柴黄颗粒治疗小儿急性上呼吸道感染风热证退热效果观察[J].中国实用儿科杂志,2012,27(7):533.
- [5] 崔建敏,裴保方,郭西凤.柴黄颗粒对不同年龄阶段上呼吸道感染患者症状的改善作用[J].新乡医学院学报,2012,29(12):958.
- [6] 许少英,黄艾,张玲.柴黄颗粒治疗老年风热型感冒发热患者的疗效观察及护理[J].现代临床护理,2009,8(4):23.
- [7] 周静波,曾冬,郭力,等.柴黄颗粒中黄芩苷的含量测定研究[J].世界科技研究与发展,2008,30(6):711.
- [8] 申去非,刘晓晖,朱铁梁,等. RP-HPLC法测定柴黄颗粒中黄芩苷含量[J].中医药信息,2009,26(3):29.
- [9] 黄妙婵.高效液相色谱法测定柴黄颗粒中黄芩苷的含量[J].今日药学,2009,19(6):43.

[责任编辑 顾雪竹]