

单因素配伍剂量对大黄甘草汤药效组分的影响

武亚楠¹, 张贵君^{1*}, 刘亮², 彭慧², 向丽¹, 杨颜芳¹, 许洪亮¹

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102; 2. 淄博万杰中医药研究所, 山东 淄博 255213)

[摘要] **目的:**研究大黄甘草汤中配伍饮片生大黄或生甘草剂量改变对该复方药效组分的影响,为该复方的临床合理应用和中药药效组分质量评价体系建立提供参考。**方法:**采用 HPLC-DAD 同时测定不同配伍的大黄甘草汤中通便止呕的药效组分芦荟大黄素-甘草酸-大黄酸-大黄素-大黄酚-大黄素甲醚(波长 254 nm),甘草苷-甘草素(波长 276 nm),番泻苷 B-番泻苷 A-异甘草苷-异甘草素(波长 360 nm)的含量。**结果:**大黄甘草汤中生大黄(或生甘草)配伍剂量增加时,生甘草(或生大黄)药效组分均逐渐降低。当大黄与甘草配伍剂量为经方比例 12 g/3 g 时,甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素和甘草酸的质量分数依次为(1 258.03 ± 35.52), (115.26 ± 7.88), (246.09 ± 4.02), (15.41 ± 0.20), (1 823.44 ± 23.44) μg·g⁻¹;番泻苷 B, 番泻苷 A, 芦荟大黄素, 大黄酸, 大黄素, 大黄酚和大黄素甲醚质量分数依次为(124.51 ± 0.60), (189.91 ± 7.04), (214.03 ± 6.08), (1 110.60 ± 24.36), (193.83 ± 0.95), (133.21 ± 3.28), (51.26 ± 1.00) μg·g⁻¹。**结论:**配伍剂量改变时,大黄甘草汤药效组分的溶出量与经方比较均具有显著性差异,说明其功效随配伍剂量的不同而变化。生大黄(生甘草)的配伍剂量改变对甘草(大黄)、其自身及大黄甘草汤药效组分总量均有显著影响。生甘草配伍剂量对大黄甘草汤药效组分的影响强于生大黄。

[关键词] 大黄甘草汤; 药效组分; 配伍剂量; 甘草素; 大黄; 甘草; 大黄酚

[中图分类号] R969.1; R945; R289.9; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)16-0084-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016160084

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160603.1131.014.html>

[网络出版时间] 2016-06-03 11:31

Influence of Single Factor Compatible Dose on Active Components in Dahuang Gancao Tang

WU Ya-nan¹, ZHANG Gui-jun^{1*}, LIU Liang², PENG Hui², XIANG Li¹,
YANG Yan-fang¹, XU Hong-liang¹

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;
2. Zibo Wanjie Institute of Chinese Medicine, Zibo 255213, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of dose change of Rhei Radix et Rhizoma and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma on active components alignment in Dahuang Gancao Tang by using single factor analysis, to provide scientific basis for clinical rational use of this prescription and establishing the quality standard of traditional Chinese medicine. **Method:** HPLC-DAD was employed to determine the content of aloemodin-rheinglycyrrhizic acid-emodin-chrysophanol-physcion ($\lambda = 254$ nm), liquiritin-liquiritigenin ($\lambda = 276$ nm), sennoside B-sennoside A-isoliquiritin-isoliquiritigenin ($\lambda = 360$ nm) in Dahuang Gancao Tang with different compatibility of herbs. **Result:** When compatible dose of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma or Rhei Radix et Rhizoma in Dahuang Gancao Tang increased, contents of active components in Rhei Radix et Rhizoma or Glycyrrhizae Radix et Rhizoma reduced without exception. When compatible dose of Rhei Radix et Rhizoma-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma stayed 12 g/3 g, contents of liquiritin-isoliquiritin-liquiritigenin-isoliquiritigenin-glycyrrhizic acid were (1 258.03 ±

[收稿日期] 20160325(006)

[第一作者] 武亚楠,在读硕士,从事中药药效组分及药效组分质量评价体系研究,Tel:15210868837,E-mail:Fiona19931203@163.com

[通讯作者] *张贵君,教授,从事中药鉴定方法学、中药药效组分及药效组分质量评价体系研究,Tel:13501027481,E-mail:guijunzhang@163.com

35.52), (115.26 ± 7.88), (246.09 ± 4.02), (15.41 ± 0.20), (1 823.44 ± 23.44) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; contents of sennoside B-sennoside A-aloeemodin-rhein-glycyrrhizic acid-emodin-chrysophanol-phycion were (124.51 ± 0.60), (189.91 ± 7.04), (214.03 ± 6.08), (1 110.60 ± 24.36), (193.83 ± 0.95), (133.21 ± 3.28), (51.26 ± 1.00) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. **Conclusion:** As compatible dose of Rhei Radix et Rhizoma and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma dose changing, dissolution of active components alignment in Dahuang Gancao Tang is significantly different by comparing with classic compatibility, efficacy of Dahuang Gancao Tang changes with compatible dose. Changes of compatible dose of Rhei Radix et Rhizoma (Glycyrrhizae Radix et Rhizoma) have significant influence on active components alignment in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma (Rhei Radix et Rhizoma), itself and Dahuang Gancao Tang. Influence of dose of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma on active components alignment in Dahuang Gancao Tang is stronger than that of Rhei Radix et Rhizoma.

[Key words] Dahuang Gancao Tang; active components; compatible dose; liquiritigenin; Rhei Radix et Rhizoma; Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; chrysophanol

中药的质量标准应当与其功效相对应,以其与功效相关的药效组分为标准物质,研究中药复方的药效组分,需要对“配伍-药效组分-功效”三者的内在关系进行探究^[1-3]。大黄甘草汤组方简单,始载于《金匱要略·呕吐下利病脉证治》第 17 条,大黄 4 两,甘草 1 两,主食已即吐,通便止呕的功效明确。经历代临床实践证明该方配伍饮片及剂量改变时,功效和临床应用也随之不同,这取决于其药效组分的差别。《千金要方》治食已即吐时配伍剂量改为大黄(12 g)-甘草(6 g);《圣济总录》用炒大黄、炙甘草,各半两,治疗水黄;《张氏医通》中“治痘为痰闷,不得发出。大黄(一倍),甘草(生,减半)”^[4-7]。现代临床上,刘孟安等^[8]用大黄 9~25 g 和甘草 6~10 g 治疗腹部手术后的呃逆;周建宣^[9]总结大黄 20 g 和甘草 4 g 配伍可治疗食已吐水;大黄 15 g 和炙甘草 15 g 可用于抗衰老。

目前对该方药效组分的研究甚少,且多局限于其某个或某类化学成分,忽略了复方作用的整体性。有研究表明甘草和甘草酸均与大黄蒽醌类成分间切实存在相互影响^[10-12],但各研究的成分较局限且结果各不相同。本实验在传统中医药理论和中药药效组分理论的指导下,筛选出了大黄甘草汤通便止呕的药效组分,建立了 12 种药效组分的 HPLC-DAD 多波长组分测定方法,分别以大黄及甘草的配伍剂量为单因素,以经方大黄甘草汤为对照,同时测定不同配伍组合的大黄甘草汤中芦荟大黄素-甘草酸-大黄酸-大黄素-大黄酚-大黄素甲醚(254 nm),甘草苷-甘草素(276 nm),番泻苷 B-番泻苷 A-异甘草苷-异甘草素(360 nm)的含量,分析经方大黄甘草汤中大黄或甘草剂量改变对药效组分的影响,阐明了其“药效组分-配伍剂量”的对应关系,为大黄甘草汤

的临床合理应用提供依据,并为其药效组分质量标准的建立提供参考。

1 材料

UltiMate 3000 系列高效液相色谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司],JA5003N 型电子天平(上海菁海仪器有限公司)。甘草酸、甘草素、异甘草素、异甘草苷、大黄酸、芦荟大黄素、大黄酚、大黄素、大黄素甲醚、番泻苷 A 和番泻苷 B 对照品(成都普菲德生物技术有限公司,批号分别为 150407, 150511, 141020, 150714, 150528, 140425, 140522, 150318, 141214, 140807, 140906),甘草苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 111610-201106),水为娃哈哈纯净水,乙腈、甲醇色谱纯,其他试剂均为分析纯。大黄、甘草饮片(批次 150204)均购自安国市万联中药饮片公司,经北京中医药大学中药学院中药鉴定系张贵君教授鉴定分别为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* 的干燥根和根茎、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的干燥根及根茎。

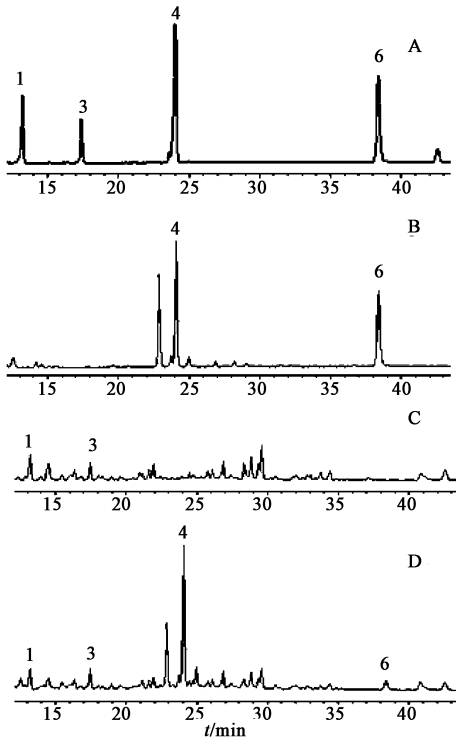
2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取番泻苷 B 及番泻苷 A 对照品适量,分别加 80% 甲醇配成质量浓度为 0.196, 0.184 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液;精密称取其其余对照品适量,分别加甲醇配成甘草苷、甘草酸、甘草素、异甘草苷、异甘草素、大黄素、大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚和芦荟大黄素质量浓度为 0.920, 1.500, 0.980, 1.040, 1.380, 0.208, 0.096, 0.206, 0.100, 0.212 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的单一对照品溶液。依次量取上述 12 种对照品溶液 2, 2, 3, 2, 3, 0.6, 0.2, 0.1, 2, 30, 2, 3, 2 mL 置于同一 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得混合对照品溶液,置 4 °C 冰箱内保存。

2.2 供试品溶液的制备 称取各种配伍组合的饮

片,加10倍量水浸泡30 min,煮沸25 min后过滤;加10倍量水煎煮20 min并过滤。合并2次煎液并浓缩至0.1 g·mL⁻¹。取该浓缩液2 mL至10 mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,静置30 min,取上清液,即得^[13]。

2.3 色谱条件 Hypersil Gold-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相0.05%磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~5 min,14%~17% B;5~9 min,17%~19% B;9~15 min,19%~23% B;15~25 min,23%~32% B;25~30 min,32%~34% B;30~35 min,34%~36% B;35~50 min,36%~42% B;50~65 min,42%~50% B;65~80 min,50%~70% B;80~90 min,70%~75% B;90~95 min,75%~14% B),流速0.8 mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量15 μL,检测波长分别为254 nm(芦荟大黄素、甘草酸、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚),276 nm(甘草苷、甘草素),360 nm(异甘草苷、异甘草素、番泻苷B和番泻苷A)。见图1~3。

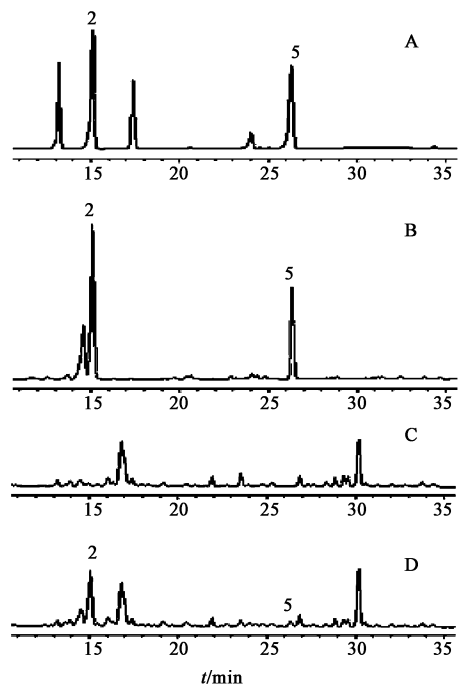


A. 混合对照品;B. 甘草水煎液;C. 大黄水煎液;D. 供试品;1. 番泻苷B;3. 番泻苷A;4. 异甘草苷;6. 异甘草素

图1 大黄甘草汤水煎液在360 nm处的HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Dahuang Gancao Tang at 360 nm

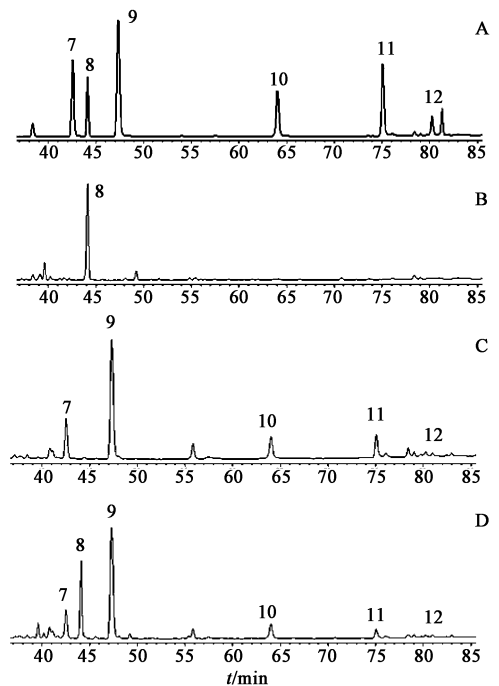
2.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液1, 2, 5, 10, 15, 20, 40, 60 μL 分别进样,以进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,结果见表1。



A. 混合对照品;B. 甘草水煎液;C. 大黄水煎液;D. 供试品;2. 甘草苷;5. 甘草素

图2 大黄甘草汤水煎液在276 nm处的HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of Dahuang Gancao Tang at 276 nm



A. 混合对照品;B. 甘草水煎液;C. 大黄水煎液;D. 供试品;7. 芦荟大黄素;8. 甘草酸;9. 大黄酸;10. 大黄素;11. 大黄酚;12. 大黄素甲醚

图3 大黄甘草汤水煎液在254 nm处的HPLC

Fig. 3 HPLC chromatograms of Dahuang Gancao Tang at 254 nm

2.5 精密度考察 取大黄-甘草(12:3)配伍饮片,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.3项下条件

表 1 大黄甘草汤中 12 种药效组分的标准曲线方程和线性范围
Table 1 Standard curve equations and linear ranges of 12 kinds of active components in Dahuang Gancao Tang

药效组分	标准曲线方程	R ²	线性范围/μg
番泻苷 B	Y = 11.468X + 0.041 0	0.999 9	0.007 84 ~ 0.156 8
甘草苷	Y = 26.790X + 1.007 2	0.999 9	0.055 2 ~ 2.208
番泻苷 A	Y = 5.389X + 0.031 0	0.999 0	0.014 72 ~ 0.147 2
异甘草苷	Y = 62.819X + 0.258 9	0.999 2	0.004 16 ~ 0.249 6
甘草素	Y = 43.777X + 0.000 6	0.999 9	0.011 76 ~ 0.235 2
异甘草素	Y = 105.800X - 0.074 9	0.999 6	0.002 76 ~ 0.041 4
芦荟大黄素	Y = 77.583X + 0.014 5	0.999 9	0.008 48 ~ 0.127 2
甘草酸	Y = 10.144X + 0.464 0	0.999 4	0.069 ~ 4.14
大黄酸	Y = 46.361X + 0.390 7	0.999 9	0.057 6 ~ 3.456
大黄素	Y = 53.179X + 0.209 7	0.999 6	0.008 32 ~ 0.332 8
大黄酚	Y = 74.517X + 0.002 4	0.999 9	0.008 24 ~ 0.494 4
大黄素甲醚	Y = 37.381X - 0.044 7	0.999 9	0.006 ~ 0.36

重复测定 6 次,结果番泻苷 B,甘草苷,番泻苷 A,异甘草苷,甘草素,异甘草素,芦荟大黄素,甘草酸,大黄酸,大黄素,大黄酚及大黄素甲醚峰面积的 RSD 依次分别为 1.6%, 0.3%, 1.6%, 0.9%, 2.6%, 2.9%, 0.8%, 0.7%, 0.2%, 0.7%, 2.2%, 1.7%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性考察 取大黄-甘草(12:3)配伍饮片,按 2.2 项下方法制备供试品溶液 5 份,按 2.3 项下条件测定,结果番泻苷 B,甘草苷,番泻苷 A,异甘草苷,甘草素,异甘草素,芦荟大黄素,甘草酸,大黄酸,大黄素,大黄酚及大黄素甲醚峰面积的 RSD 依次分别为 1.7%, 2.6%, 2.9%, 1.6%, 2.5%, 1.9%, 2.8%, 2.7%, 0.5%, 1.2%, 2.7%, 2.3%。表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性考察 取大黄-甘草(12:3)配伍饮片,

按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于制备后 0, 4, 8, 10, 12, 24 h 按 2.3 项下条件测定,结果番泻苷 B,甘草苷,番泻苷 A,异甘草苷,甘草素,异甘草素,芦荟大黄素,甘草酸,大黄酸,大黄素,大黄酚及大黄素甲醚峰面积的 RSD 依次分别为 2.1%, 0.2%, 1.7%, 0.6%, 1.9%, 1.4%, 0.4%, 0.6%, 0.2%, 0.7%, 2.1%, 1.6%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 精密吸取已知含量的大黄-甘草(12:3)水煎液 1 mL,平行 6 份,分别精密加入各对照品溶液适量,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.3 项下条件测定,计算番泻苷 B,甘草苷,番泻苷 A,异甘草苷,甘草素,异甘草素,芦荟大黄素,甘草酸,大黄酸,大黄素,大黄酚及大黄素甲醚的平均回收率依次为 98.39%, 100.99%, 100.30%, 100.94%, 98.07%, 101.51%, 102.55%, 99.32%, 98.81%, 97.95%, 101.67%, 99.77%, RSD 依次为 1.7%, 0.2%, 2.4%, 0.9%, 1.3%, 2.0%, 1.5%, 0.7%, 0.5%, 1.2%, 1.3%, 3.2%。

2.9 样品测定 不同配伍的大黄甘草汤分别按 2.2 项下方法制备 3 份供试品溶液,每份供试品溶液连续进样 3 次,进样量 15 μL,计算各组分含量。采用 SPSS 17.0,运用单因素方差分析进行多组间的比较,组间差异采用 LSD 法和 SNK 法。

2.9.1 大黄剂量改变对甘草药效组分的影响 单因素大黄配伍剂量由 3 g 增至 21 g 时,大黄甘草汤中甘草药效组分甘草苷-异甘草苷-甘草素-异甘草素-甘草酸的含量变化趋势基本相同,均随大黄剂量增加而逐渐降低,组间比较具有显著性差异(P < 0.05)。表明大黄的药效组分可能与甘草的药效组分发生了某些物理或化学作用,抑制了甘草药效组分溶出。见表 2。

表 2 大黄剂量改变对大黄甘草汤中甘草药效组分的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

大黄/g	甘草苷	异甘草苷	甘草素	异甘草素	甘草酸
3	3 261.69 ± 0.35	431.17 ± 0.09	314.50 ± 3.47	30.86 ± 0.26	5 623.26 ± 2.46
6	2 534.41 ± 0.68	279.10 ± 0.16	291.36 ± 1.74	23.48 ± 0.24	3 934.90 ± 0.05
9	1 892.72 ± 0.19	161.61 ± 0.16	280.84 ± 0.47	20.54 ± 0.31	3 058.61 ± 4.21
12	1 258.03 ± 35.52	115.26 ± 7.88	246.09 ± 4.02	15.41 ± 0.20	1 823.44 ± 23.44
15	1 234.14 ± 0.90	117.34 ± 0.08	193.42 ± 0.80	14.60 ± 0.32	1 718.36 ± 2.14
18	1 077.58 ± 0.13	111.27 ± 0.11	169.78 ± 2.11	12.60 ± 0.15	1 622.40 ± 1.77
21	885.63 ± 0.32	63.62 ± 1.25	107.19 ± 0.66	10.91 ± 0.22	1 278.67 ± 3.46

注:甘草用量均为 3 g。

2.9.2 甘草剂量改变对大黄药效组分的影响 单因素生甘草配伍剂量由 0.1 g 增加到 12 g 时,大黄的药效组分番泻苷 B-番泻苷 A-芦荟大黄素-大黄酸-大黄素-大黄酚-大黄素甲醚的含量变化趋势相同,均随之逐渐降低,且具有显著性差异($P < 0.05$),见表 3。原因可能为①甘草的药效组分影响了大黄药效组分的理化性质如溶解度等;②甘草解

毒的机制一般认为是甘草酸可与生物碱、蒽醌、金属离子等结合产生沉淀或极性较大且难以被胃肠吸收的大分子络合物,甘草剂量增大时,大黄的药效组分可能与甘草酸生成沉淀,使其溶出量减少;③甘草促进了煎煮时以番泻苷 B 和番泻苷 A 为代表的结合蒽醌类成分的水解;④甘草剂量变化改变了煎煮加水量,也可能影响大黄药效组分的溶出程度。

表 3 甘草剂量改变对大黄甘草汤中大黄药效组分的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

生甘草/g	番泻苷 B	番泻苷 A	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
0.1	191.16 ± 0.47	293.08 ± 0.66	215.69 ± 1.98	1 207.03 ± 7.95	185.04 ± 1.85	98.05 ± 0.25	50.11 ± 0.35
0.3	181.77 ± 1.75	260.67 ± 0.74	212.91 ± 0.03	1 193.97 ± 6.04	164.84 ± 0.11	122.15 ± 1.03	47.80 ± 0.03
1	152.64 ± 0.27	216.87 ± 1.26	211.50 ± 0.22	1 169.04 ± 0.65	170.68 ± 0.23	113.85 ± 0.36	46.88 ± 0.90
3	124.51 ± 0.60	189.91 ± 7.04	214.03 ± 6.08	1 110.60 ± 24.36	193.83 ± 0.95	133.21 ± 3.28	51.26 ± 1.00
6	119.74 ± 0.10	215.52 ± 0.66	176.74 ± 1.30	1 028.14 ± 0.46	199.01 ± 0.74	155.29 ± 0.71	53.03 ± 0.64
9	100.56 ± 1.25	188.58 ± 1.92	144.38 ± 3.21	1 002.14 ± 0.23	189.13 ± 0.16	153.55 ± 0.76	46.83 ± 0.73
12	60.07 ± 0.43	182.09 ± 2.10	107.91 ± 0.26	646.56 ± 0.09	109.01 ± 0.14	71.19 ± 0.38	28.78 ± 0.18

注:生大黄用量均为 12 g。

2.9.3 大黄及甘草的剂量改变对其自身药效组分的影响 甘草及大黄剂量逐渐增加时,甘草 5 种药效组分及大黄 7 种药效组分的含量均随之增加,组间具有显著性差异($P < 0.05$),但与其剂量间不存

在倍数关系,见表 4,5。这可能与大黄药效组分和甘草药效组分间发生了相互作用或加水量的改变等有关。提示中药复方中各配伍单味药的药效组分含量与其剂量间没有线性关系。

表 4 大黄剂量改变对大黄甘草汤中大黄药效组分的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

大黄/g	番泻苷 B	番泻苷 A	芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚
3	56.61 ± 0.31	175.22 ± 0.70	110.41 ± 0.01	680.19 ± 0.11	102.84 ± 0.31	58.48 ± 0.31	26.70 ± 0.67
6	114.96 ± 0.16	213.54 ± 2.23	153.08 ± 0.27	965.68 ± 0.50	171.62 ± 0.85	109.47 ± 0.04	39.70 ± 0.15
9	121.45 ± 1.17	194.95 ± 1.05	160.78 ± 1.33	984.77 ± 14.89	175.25 ± 0.52	114.43 ± 0.28	39.52 ± 1.34
12	124.51 ± 0.60	189.91 ± 7.04	214.03 ± 6.08	1 110.60 ± 24.36	193.83 ± 0.95	133.21 ± 3.28	51.26 ± 1.00
15	116.50 ± 0.49	201.17 ± 1.27	178.67 ± 0.76	1 195.27 ± 22.32	170.79 ± 1.00	112.37 ± 0.18	43.84 ± 0.08
18	126.15 ± 1.56	248.79 ± 2.14	171.31 ± 1.14	1 248.57 ± 5.14	174.04 ± 0.42	109.24 ± 0.24	46.34 ± 0.56
21	134.62 ± 1.91	294.71 ± 0.70	189.38 ± 0.02	1 293.64 ± 2.52	190.96 ± 0.19	110.10 ± 2.79	47.02 ± 0.17

注:生甘草用量均为 3 g。

2.9.4 单因素配伍剂量改变对复方药效组分总量的影响 大黄剂量由 3 g 增至 21 g 时,大黄甘草汤中 12 种药效组分的总量(以生药量计,下同)分别为(10 871.94 ± 0.19), (8 831.31 ± 1.57), 7 205.46 ± 8.77), (5 475.56 ± 32.00), (5 296.45 ± 21.05), (5 118.08 ± 7.11), (4 606.44 ± 11.42) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。大黄剂量增加时,甘草药效组分含量降低,而大黄药效组分含量增加,大黄甘草汤药效组分总量呈降低趋势,见图 4。甘草剂量由 0.1 g 增加到 12 g 时,大黄甘

草汤药效组分总量分别为(2 259.49 ± 7.49), (2 870.58 ± 0.14), (4 034.58 ± 7.74), (5 475.56 ± 32.00), (8 541.69 ± 3.42), (10 370.45 ± 6.72), (10 707.21 ± 13.98) $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。随甘草剂量增加,大黄药效组分含量降低,甘草药效组分含量增加,见图 5。结果显示大黄甘草汤水煎液中甘草的 5 种药效组分含量基本较大黄 7 种药效组分含量高,且药效组分总量随甘草剂量变化的变化率大于其随大黄剂量变化的变化率,甘草对大黄甘草汤通便止呕药效

表 5 甘草剂量改变对大黄甘草汤中甘草药效组分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

甘草/g	甘草苷	异甘草苷	甘草素	异甘草素	甘草酸
0.1	268.21 ± 0.55	0.53 ± 0.02	9.21 ± 0.13	4.55 ± 0.05	1.30 ± 0.12
0.3	479.25 ± 3.24	6.02 ± 0.18	27.16 ± 0.43	6.17 ± 0.04	167.90 ± 0.72
1	870.48 ± 2.37	70.25 ± 0.21	77.27 ± 0.29	9.80 ± 0.12	925.31 ± 2.88
3	1 258.03 ± 35.52	115.26 ± 7.88	246.09 ± 4.02	15.41 ± 0.20	1 823.44 ± 23.24
6	2 234.03 ± 0.60	258.26 ± 0.37	260.90 ± 0.55	30.00 ± 0.15	3 811.04 ± 1.88
9	2 822.20 ± 3.01	327.18 ± 0.93	278.08 ± 1.19	30.95 ± 0.41	4 954.82 ± 0.46
12	3 270.13 ± 8.16	366.32 ± 0.30	327.92 ± 1.49	34.11 ± 0.48	5 503.12 ± 4.37

注:生大黄用量均为 12 g。

组分总量的影响作用强于大黄,因本研究选择的药效组分并不全面,故这一结论还需进一步验证。

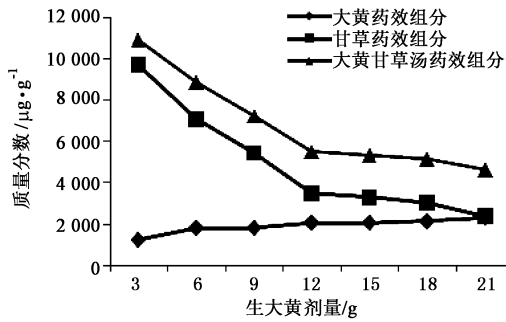


图 4 大黄剂量改变对甘草、大黄及大黄甘草汤复方药效组分总量的影响

Fig. 4 Influence of Rhei Radix et Rhizoma dose on total content of active components in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Rhei Radix et Rhizoma and Dahuang Gancao Tang

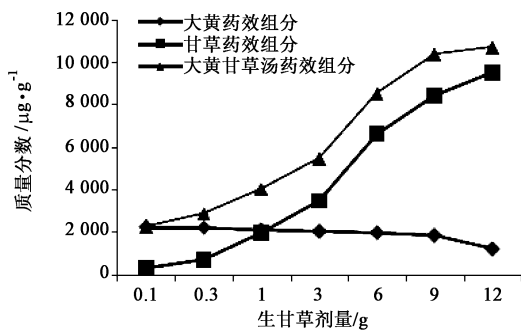


图 5 甘草剂量改变对大黄、甘草及大黄甘草汤复方药效组分总量的影响

Fig. 5 Influence of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma dose on total content of active components in Rhei Radix et Rhizoma, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and Dahuang Gancao Tang

3 讨论

综上所述,单因素大黄(甘草)配伍剂量改变对甘草(大黄),其自身及大黄甘草汤药效组分总量均有显著影响。配伍剂量改变时,大黄甘草汤药效组分随之改变,其药效也会因此产生改变。配伍剂量

与药效组分间存在对应关系,提示临床处方和调剂时不能随意改变复方药味的剂量,以免影响疗效。

大黄甘草汤中大黄荡涤肠胃、清热泻火,配以甘草缓其峻猛之势,解毒而不伤正,功效为通便止呕^[14-16]。故筛选大黄具泻下作用的芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、番泻苷 A 和番泻苷 B^[17-18],甘草中有缓急止痛、解痉、解毒等功效^[19-20]的甘草酸、甘草苷、异甘草苷、甘草素和异甘草素,共 12 种与通便止呕疗效对应的药效组分作为指标,建立了其 HPLC-DAD 多波长组分测定方法,可用于大黄甘草汤的质量控制,较单类成分指标研究更为科学,符合中药复方多种药效组分协同产生作用、质量评价应与功效对应的特点。历代医家主张,大黄攻热泻下时都宜后下,提示大黄有效成分可能对热敏感^[21],故根据《金匱要略》中大黄并未后下,将大黄及甘草浸泡 30 min 后再煎煮,并对煎煮时间 40 min + 20 min, 25 min + 20 min 及 15 min + 20 min 进行考察,结果显示一煎 25 min 和二煎 20 min 时含量最高。预试验对流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液、乙腈-0.05% 磷酸水溶液、甲醇-0.05% 磷酸水溶液,流速 1, 0.8 mL·min⁻¹,柱温 25, 30, 40 °C 进行了考察,结果表明条件为乙腈-0.05% 磷酸水溶液,流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温 30 °C 时分离效果最佳。

本研究阐明了大黄甘草汤通便止呕的 12 种药效组分随配伍剂量产生的变化规律,对其临床合理应用有重要意义,大黄与甘草药效组分间有相互抑制的作用,且复方药效组分随甘草配伍剂量变化更明显。但对药效组分的选择并不全面,且仅就其通便止呕的功效进行了研究,还需进一步补充筛选药效组分,尽量完善,结合多种分析仪器及方法对其进行定性、定量分析,并通过药理学动物实验验证其疗效。

[参考文献]

- [1] 张贵君. 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] 张贵君. 中药研究的误区思考与创新研发的新思路[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(13): 1367-1369.
- [3] 崔向微, 张贵君. 中药药效组分理论与药效组分的研究模式[J]. 亚太传统医药, 2008, 4(9): 16-17.
- [4] 张仲景. 金匱要略方论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1973: 58.
- [5] 孙思邈. 备急千金要方[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1999: 237.
- [6] 赵佶. 圣济总录[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1962: 1122.
- [7] 张璐. 张氏医通[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 901.
- [8] 刘孟安, 闵凡锦, 杨陆超, 等. 大黄甘草汤治疗腹部手术后呃逆 21 例疗效观察[J]. 滨州医学院学报, 1994, 17(4): 372-373.
- [9] 周建宣. 吴光烈应用大黄甘草汤的经验[J]. 中医杂志, 1993, 34(2): 85-86.
- [10] 朱铁梁, 张静泽, 高文远, 等. 高效液相色谱法比较大黄与大黄甘草汤中蒽醌含量[J]. 武警后勤学院学报: 医学版, 2013, 22(3): 191-196.
- [11] 王彬, 韩刚, 张学俊, 等. 大黄甘草汤单煎液与合煎液中蒽醌类化合物和甘草酸煎出量的变化[J]. 中成药, 2010, 32(10): 1794-1796.
- [12] 韩刚, 金光灿, 叶小舟, 等. 大黄甘草汤中甘草酸对蒽醌类化合物提取率的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 704-705.
- [13] 朱广伟, 张贵君, 王晶娟, 等. 单因素配伍剂量对经方芍药甘草汤药效组分的影响[J]. 实用药物与临床, 2015, 18(2): 168-173.
- [14] 翟冠钰. 甘草与 大黄配伍主要化学成分在体外及体内相互作用研究[D]. 唐山: 华北煤炭医学院, 2010.
- [15] 韩刚, 康欣, 翟冠钰, 等. 甘草与 大黄配伍对 大黄酸在大鼠体内药动学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 72-74.
- [16] 苏彬, 李晓波. 配伍甘草对 大黄泻下作用影响的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4): 577-581.
- [17] 傅兴圣, 陈菲, 刘训红, 等. 大黄化学成分与药理作用研究新进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(16): 1534.
- [18] 罗培, 徐象珍, 谭正怀, 等. 大黄游离蒽醌致泻作用机制研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(3): 88.
- [19] 陆秀萍, 叶林军. 甘草的解毒作用及机理[J]. 海峡药学, 2007, 19(2): 82-83.
- [20] 凤良元, 鄢顺琴, 吴榛清, 等. 芍药甘草汤镇痛作用及机理的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(1): 23-25.
- [21] 朱萱萱, 孟蒙, 奥山武士, 等. 不同煎煮时间及方法对 大黄甘草汤质量的影响[J]. 南京中医药大学学报, 1996, 12(6): 28-30.

[责任编辑 刘德文]