

四妙勇安汤中哈巴昔提取率的拆方分析

张恩惠, 王翀, 刘斌*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] **目的:**考察四妙勇安汤不同拆方中哈巴昔的提取率变化,探讨其配伍规律。**方法:**将四妙勇安汤拆方分为 8 组,采用 HPLC 测定哈巴昔含量,色谱条件为 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,分析哈巴昔的提取率变化。**结果:**哈巴昔回归方程 $Y = 1.22 \times 10^6 X + 3\ 218.75$ ($r = 0.999\ 8$),线性范围 0.065 3 ~ 0.457 μg,平均回收率 96.81% (RSD 1.83%);哈巴昔提取率顺序为全方 > 玄参 > 拆方。**结论:**四妙勇安汤不同拆方均使哈巴昔的提取率降低,显示出全方合煎的优势,哈巴昔可能是四妙勇安汤发挥药效的有效组分之一。

[关键词] 四妙勇安汤; 拆方; 配伍; 哈巴昔; 提取率

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0045-03

[doi] 10.11653/syjf2013130045

Separated Recipes Analysis on Extraction Rate of Harpagide in Simiao Yong'an Decoction

ZHANG En-hui, WANG Chong, LIU Bin*

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

[Abstract] **Objective:** To investigate extraction rate variation of harpagide in different separated recipes of Simiao Yong'an decoction, and explore its regularity of compatibility. **Method:** Extraction rate of harpagide from 8 separated recipes of Simiao Yong'an decoction was determined by HPLC, using a SunFire™ C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), acetonitrile-water containing 0.1% H₃PO₄ in gradient elution as mobile phase, the detection wavelength was set at 250 nm, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, column temperature of 35 °C, then extraction rate variation of harpagide was analyzed. **Result:** The regression equation of harpagide was $Y = 1.22 \times 10^6 X + 3\ 218.75$ ($r = 0.999\ 8$) with the liner range of 0.065 3-0.457 μg, the average recovery was 96.81% with RSD of 1.83%. Extraction rate of harpagide from different separated recipes was in order of the original prescription > *Scrophularia ningpoensis* > other separated recipes. **Conclusion:** All these seven separated recipes of Simiao Yong'an decoction reduced extraction rate of harpagide, which showed a distinct advantage of the original prescription. And harpagide may be one of effective components in Simiao Yong'an decoction.

[Key words] Simiao Yong'an decoction; separated recipes; compatibility; harpagide; extraction rate

现代医学对中药复方组方原理及配伍理论的认识还十分有限,因为中药复方化学成分复杂,成分间可能存在协同作用或拮抗作用,导致在煎煮时发生

成分的变化^[1]。研究复方中化学成分的变化规律是从根本上揭示中药配伍理论的重要基础。四妙勇安汤最早见于华佗《神医秘传》,由金银花、玄参、当归、甘草(3:3:2:1)4味药组成,为治疗脱疽的古方,具有清热解毒、滋阴养血、活血化瘀之功效^[2]。现代临床上用于治疗热毒型血栓性脉管炎^[3]、糖尿病足^[4]和结节性红斑^[5]等疾病。化学成分研究表明四妙勇安汤主要含有黄酮、皂苷、环烯醚萜、有机酸

[收稿日期] 20130115(018)

[第一作者] 张恩惠,在读硕士,从事中药复方有效物质基础研究, Tel:010-84738629, E-mail: fly100per@sina.com

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

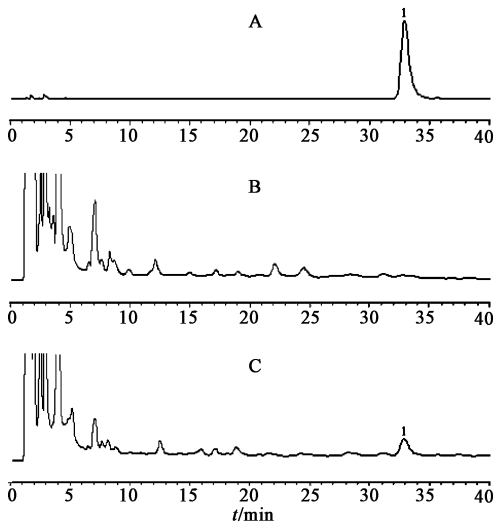
和植物甾醇等成分^[6-7]。本实验通过测定不同拆方配伍中玄参的主要成分哈巴苷含量,分析哈巴苷提取率的变化规律,为进一步阐明四妙勇安汤的配伍规律提供实验依据。

1 材料

Waters 1525 型高效液相色谱仪(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)。哈巴苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111729-200602)、乙腈为色谱纯,水为屈臣氏蒸馏水,其他试剂均为分析纯。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)均购自河北光明饮片有限公司,经北京中医药大学刘春生教授分别鉴定为忍冬科植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾,玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根,伞形科植物当归 *Angelica sinensis*(Oliv.) Diels 的干燥根,豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 SunFire™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 196 nm,柱温 35 °C,流动相 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 40 min, 99% ~ 98%),见图 1。



A. 对照品; B. 阴性溶液; C. 供试品; 1. 哈巴苷

图 1 四妙勇安汤 HPLC

2.2 样品的制备 按表 1 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 10 倍量水回流提取 45 min,合并 2 次提取液,回收溶剂至生药质量浓度 0.5 g · mL⁻¹,加 95% 乙醇醇沉至乙醇体积分数 70%,静置过夜,离心,取上清液减压回收溶剂,干燥,粉碎,即得。

表 1 四妙勇安汤不同拆方的组成

样品	饮片配伍
1	金银花 15 g, 玄参 15 g, 当归 10 g, 甘草 5 g
2	金银花 15 g, 玄参 15 g, 当归 10 g
3	金银花 15 g, 玄参 15 g, 甘草 5 g
4	玄参 15 g, 当归 10 g, 甘草 5 g
5	金银花 15 g, 玄参 15 g
6	玄参 15 g, 当归 10 g
7	玄参 15 g, 甘草 5 g
8	玄参 15 g

2.3 对照品溶液的制备 精密称取哈巴苷对照品适量,加 10% 乙腈溶解,制成 0.032 6 g · L⁻¹ 的对照品溶液。

2.4 供试品溶液制备 取各样品约 50 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,加 10% 乙腈超声(100 kHz)溶解 30 min,放冷,用 10% 乙腈稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得,备用。

2.5 阴性样品溶液制备 按处方比例称取金银花、当归与甘草适量,按 2.2 项下方法制备样品,按 2.4 项下方法制备玄参阴性样品溶液。

2.6 线性关系考察 精密吸取哈巴苷对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积,以对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程 $Y = 1.22 \times 10^6 X + 3218.75$ ($r = 0.9998$),表明哈巴苷进样量在 0.065 3 ~ 0.457 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.7 精密度试验 精密称取 1 号样品 50 mg,按 2.4 项下方法处理,精密吸取 20 μL,连续进样 6 次,结果峰面积的 RSD 1.66%,表明仪器精密度良好。

2.8 重复性试验 取同一批 1 号样品 6 份,每份约 50 mg,精密称定,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,测定峰面积,结果哈巴苷平均质量分数 0.258% (RSD 1.41%),表明该方法重复性良好。

2.9 稳定性试验 精密称取 1 号样品 50 mg,按 2.4 项下制备供试品溶液,分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样,结果峰面积的 RSD 2.74%,表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的 1 号

样品 6 份,每份约 25 mg,分别置 5 mL 量瓶中,精密加入哈巴昔对照品溶液 0.8 mL。按 2.4 项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取 20 μ L 注入色谱仪,测定峰面积,计算哈巴昔含量和加样回收率,结果见表 2。

表 2 四妙勇安汤中哈巴昔加样回收率测定($n=6$)

取样量 /g	样品中 含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
0.025 2	0.065 0	0.127 5	95.73	96.81	1.83
0.024 9	0.064 2	0.127 4	96.75		
0.024 9	0.064 3	0.128 3	98.01		
0.025 3	0.065 4	0.130 5	99.73		
0.024 7	0.063 9	0.126 2	95.46		
0.025 5	0.065 7	0.127 9	95.18		

注:哈巴昔对照品加入量均为 0.065 3 mg。

2.11 样品测定 分别取 3 批 1~8 号样品各 3 份,每份约 50 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 μ L,哈巴昔对照品溶液 5 μ L 注入液相色谱仪,测定峰面积,按外标一点法计算哈巴昔提出量和提取转移率,结果见表 3。

表 3 四妙勇安汤不同拆方样品中哈巴昔的含量测定($n=3$)

样品	干浸膏 得率/%	哈巴昔 含量/%	哈巴昔 提出量/mg	哈巴昔 提取率/%
1	55.56	0.23	11.636	95.77
2	42.50	0.31	10.608	87.31
3	45.71	0.35	11.295	92.96
4	61.67	0.31	11.471	94.41
5	26.67	0.29	4.657	38.33
6	42.00	0.25	4.250	34.98
7	47.50	0.28	5.377	44.26
8	40.08	0.96	11.507	94.71

3 讨论

近年来,研究人员对四妙勇安汤的化学成分、提取和制备工艺及质量控制方法进行了探讨,但相关报道并不丰富,且多偏重于临床疗效的观察,缺少对其化学成分全貌的研究。本实验采用拆方分析,通过 HPLC 测定四妙勇安汤原方及拆方中哈巴昔的提取率,初步探讨了四妙勇安汤水提物的配伍规律。

由表 3 可知,四妙勇安汤不同配伍对玄参中哈巴昔提取率的影响不同。与单味药玄参中哈巴昔提取率比较,玄参与任意一味药两两配伍时,均明显降低了哈巴昔提取率,其降低程度为当归 > 金银花 > 甘草。玄参与任意两味药配伍时,哈巴昔提取率与单味药相比稍有降低,其中当归、甘草共同存在时,哈巴昔的提取率与单味药相比几无差异,而金银花、甘草共同存在时,哈巴昔的提取率略为降低,金银花、当归共同存在时,哈巴昔的提取率最低;甘草存在时哈巴昔的提取率略高于同类其他组,可能与甘草水煎液具有良好的表面活性有关^[8-9];当全方合煎时,哈巴昔提取率最高,达 95.77%。上述结果表明四妙勇安汤不同拆方均使哈巴昔提取率降低,显示出全方合煎的优势,推测哈巴昔可能是四妙勇安汤发挥药效的有效组分之一。但中药复方防治疾病离不开复方中各成分及其相互作用的影响,若想阐明四妙勇安汤组方的科学内涵及物质基础,尚有待于对其他成分的提取率进行系统分析。

[参考文献]

- [1] 崔景朝,赵自明. 中药配方颗粒研究进展(II)——中药单煎与合煎对比研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):240.
- [2] 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.
- [3] 蒋志斌,郭建波. 四妙勇安汤加味治疗脱疽 11 例[J]. 吉林中医药,2007,27(6):37.
- [4] 王洪武,郑纺,梁永利,等. 基于中医传承辅助系统的糖尿病足外治方剂用药规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(12):5.
- [5] 唐定书,杜茂涛,龙森. 四妙勇安汤加味治疗结节性红斑 32 例临床观察[J]. 四川中医,2007,25(11):92.
- [6] 王新为,张建烽,蒋建勤. 四妙勇安汤乙醇提取物中化学成分的分离研究[J]. 中草药,2005,36(3):352.
- [7] 陈卓,宋娟,周熙艳,等. 四妙勇安汤抗炎有效部位中总黄酮的含量测定[J]. 南京中医药大学学报,2007,23(6):385.
- [8] 马鸿雁,李霞,李楠,等. 甘草及其活性成分的表面活性比较研究[J]. 现代药物与临床,2011,26(3):227.
- [9] 杜薇. 甘草的溶解性研究[J]. 湖南中医药导报,1996,2(6):32.

[责任编辑 仝燕]