

# 黄芩配伍知母后黄芩中主要黄酮类成分的含量变化

史芳, 李清, 陈晓辉, 刘莉, 张天虹, 毕开顺\*

(沈阳药科大学 药学院, 沈阳 110016)

[摘要] 目的: 考察黄芩与知母配伍后黄芩中主要黄酮类成分含量的变化。方法: 采用反相高效液相色谱法, Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm), 流动相甲醇-乙腈-0.2% 磷酸溶液梯度洗脱, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 276 nm, 柱温 30 °C。结果: 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素分别在 9.76 ~ 195.2 ( $r = 0.999\ 2$ ), 3.960 ~ 79.20 ( $r = 0.999\ 9$ ), 1.600 ~ 32.00 ( $r = 0.999\ 5$ ), 1.536 ~ 30.72 mg·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.999\ 9$ ) 与峰面积线性关系良好; 平均加样回收率 ( $n = 9$ ) 均在 96.8% ~ 103.0%, RSD 均小于 1.7%。结论: 黄芩与知母配伍后使黄芩水煎液中的 4 种黄酮类成分含量显著增加。

[关键词] 黄芩; 知母; 药对; 配伍; 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(2011)17-0084-04

## Influence on Main Flavone Ingredients in *Scutellaria* after Compatibility with Rhizome *Anemarrhenae*

SHI Fang, LI Qing, CHEN Xiao-hui, LIU Li, ZHANG Tian-hong, BI Kai-shun\*

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** Studying changes of main flavone ingredients in *Radix Scutellariae* after compatibility with *Rhizoma Anemarrhenae*; determining the amount of main flavone ingredients in the decoction. **Method:** A Kromasil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with a mobile phase of methanol-acetonitrile-0.2% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> in gradient elution. The flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was at 276 nm and the column temperature was maintained at 30 °C. **Result:** The linear range of baicalin, wogonoside, baicalein and wogonin were 9.76-195.2 ( $r = 0.999\ 2$ ), 3.960-79.20 ( $r = 0.999\ 9$ ), 1.600-32.00 ( $r = 0.999\ 5$ ), 1.536-30.72 mg·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.999\ 9$ ) respectively. The average recoveries ( $n = 9$ ) of the four components were 96.8% -103.0%, RSD < 1.7%. **Conclusion:** *Rhizoma Anemarrhenae* combination with *Scutellaria Baicalensis* have important impact on the main flavone ingredients in *Radix Scutellariae*, which made the four flavone ingredients increasing significantly.

[Key words] *Radix Scutellariae*; *Rhizoma Anemarrhenae*; couple of traditional chinese medicine; compatibility; HPLC

中药配伍是中医用药的精髓, 中药黄芩和知母在临床上经常作为泻肺止咳的药对使用。黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi. 的干燥根, 味苦, 性寒, 具有清热燥湿、除火解毒、止血安胎

的作用, 其主要成分是黄酮类化合物<sup>[1]</sup>。知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge. 的干燥根茎, 味苦、甘, 性寒, 具有清热泻火、生津润燥的功效, 其主要成分是芒果苷、新芒果苷和皂苷类成分<sup>[1]</sup>。目前对黄芩中主要黄酮类成分含量测定的报道很多<sup>[2-6]</sup>, 而关于此药对配伍后化学成分是否发生变化, 尚未见报道。为进一步探明两药配伍规律, 本研究对黄芩配伍知母后黄芩中 4 种主要黄酮类成分的含量变化进行了研究。

[收稿日期] 20110317(015)

[第一作者] 史芳, E-mail: shifangxinxiang@163.com

[通讯作者] \* 毕开顺, Tel: 024-23986016, E-mail: bikaishun@yahoo.com

## 1 材料与仪器

日本 L-2000 日立高效液相色谱仪(包括 Hitachi L-2130 泵、QT-330 柱温箱、Hitachi L-2400 紫外检测器、D-2000Elite 色谱数据工作站),BS110S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

黄芩苷(批号 110715-200815,纯度以 95.2%)购自中国药品生物制品检定所,汉黄芩苷(批号 1119-090905,纯度  $\geq 98.0\%$ ),黄芩素(批号 1150-080815,纯度  $\geq 98.0\%$ ),汉黄芩素(批号 1120-081025,纯度  $\geq 98.0\%$ )购自中药固体制剂制造技术国家工程研究中心。乙腈、甲醇为色谱纯(山东禹王实业有限公司),磷酸为分析纯(沈阳市新西试剂厂),水为重蒸水。黄芩、知母药材购自沈阳四方大药房,经沈阳药科大学中药学院贾英副教授鉴定,为唇形科植物黄芩 *S. baicalensis* 的干燥根和百合科植物知母 *A. asphodeloides* 干燥根茎。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱 Kromasil C<sub>18</sub>(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 A 为甲醇, B 为乙腈, C 为 0.2% 磷酸水溶液,梯度洗脱程序: 0 ~ 30 min, A-B(18:20), 30 ~ 60 min, 18% ~ 40% A, 20% ~ 30% B, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 276 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。

在上述色谱条件下取供试品溶液进样分析,理论塔板数按黄芩苷计算不低于 5 000。黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素与相邻色谱峰的分度度 > 1.5,拖尾因子在 0.95 ~ 1.05。

### 2.2 溶液的制备

#### 2.2.1 供试品溶液的制备

单煎供试液 取黄芩、知母药材各 3 g,精密称定,分别置 100 mL 圆底烧瓶中,加 8 倍量水,浸泡 30 min,煎煮 3 次,每次 40 min,过滤,合并滤液置 250 mL 量瓶中,用少量蒸馏水分次洗涤烧瓶和残渣,洗涤液滤入同一量瓶中并用蒸馏水定容至刻度,摇匀。取 1 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,作为单煎供试液。

混煎供试液 按表 1 所示质量称取不同比例配伍的黄芩知母药对,提取方法同药材的单煎提取方法。煎液置 250 mL 量瓶中并用蒸馏水定容至刻度,取 1 mL 置 10 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,作为混煎供试品溶液。

#### 2.2.2 对照品溶液的制备

取黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品适量,精密称定,分别加甲

表 1 混煎供试液药材配伍比例

黄芩药材/g	知母药材/g	配伍比例(质量比)
3	0	1:0
3	3	1:1
3	6	1:2
3	9	1:3
3	1.5	2:1
3	4.5	2:3
3	1	3:1
3	2	3:2

醇溶解制成浓度分别为 488, 396, 400, 384 mg·L<sup>-1</sup> 的单一对照品储备液,分别精密量取上述对照品储备液 10, 5, 2, 2 mL 置同一 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得混合对照品溶液。

### 2.3 线性关系考察

分别精密量取上述混合对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 8.0, 10.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件进样测定,以峰面积 *Y* 对质量浓度 *X* 进行线性回归,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的线性回归方程分别为  $Y = 6.510 \times 10^4 X - 4.991 \times 10^5$  ( $r = 0.9992$ );  $Y = 7.386 \times 10^4 X - 7.374 \times 10^4$  ( $r = 0.9999$ );  $Y = 1.003 \times 10^5 X - 9.85 \times 10^4$  ( $r = 0.9995$ );  $Y = 1.229 \times 10^5 X - 1.280 \times 10^3$  ( $r = 0.9999$ ); 线性范围分别为 9.76 ~ 195.2, 3.960 ~ 79.20, 1.600 ~ 32.00, 1.536 ~ 30.72 mg·L<sup>-1</sup>。4 种成分分别在其线性范围内线性关系良好。

### 2.4 精密度试验

取混合对照品溶液,重复测定 6 次,测得黄芩苷,汉黄芩苷,黄芩素,汉黄芩素峰面积的 RSD 分别为 1.4%, 1.1%, 1.4%, 1.3%, 表明仪器的精密度良好。

### 2.5 重复性试验

取同一批黄芩药材 6 份,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,测得黄芩苷,汉黄芩苷,黄芩素,汉黄芩素含量的 RSD 分别为 1.8%, 2.7%, 2.4%, 1.9%, 表明方法的重复性良好。

### 2.6 稳定性试验

取供试品溶液,室温下放置,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样分析。测得黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰面积的 RSD 分别为 1.8%, 1.6%, 1.7%, 1.7%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

### 2.7 加样回收率试验

精密吸取已知含量的黄芩

供试品溶液 9 份, 3 份为 1 组, 每份 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 分别精密加入对照品储备液适量, 制成低、中、高 3 种质量浓度的供试品溶液, 按含量测定方法测定, 计算加样回收率, 结果黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的加样回收率分别为 101.7%, 103.0%, 96.8%, 101.1%, 其 RSD 分别为 0.9%, 0.8%, 1.7%, 1.1%。

**2.8 样品测定** 取样品分别按 2.2.1 项下制备供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 计算黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量, 测定结果见表 2, 图 1。

表 2 不同配伍煎液中 4 种成分测定 %

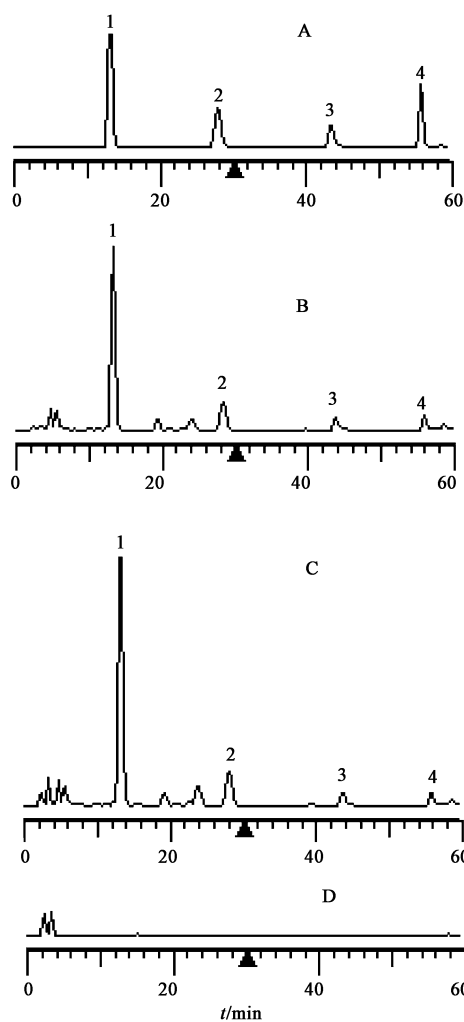
供试液	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素
黄芩单煎液	6.67	1.53	0.47	0.20
混煎液 1:1	8.80	1.81	0.71	0.21
混煎液 1:2	7.78	1.74	0.65	0.23
混煎液 1:3	7.45	1.63	0.69	0.23
混煎液 2:1	9.25	1.98	0.65	0.22
混煎液 2:3	7.83	1.78	0.73	0.24
混煎液 3:1	7.74	1.70	0.82	0.27
混煎液 3:2	8.27	1.93	0.75	0.27

注: 混煎液为黄芩和知母药材的合煎液。

**2.9 数据分析** 为判断黄芩以不同比例配伍知母前后 4 种黄酮类成分的含量是否有显著性差异, 采用 SPSS 16.0 软件进行单样本 *t* 检验, 结果显示混煎供试液中 4 种黄酮类成分比黄芩单煎液含量明显增加, 具有显著性差异。采用单因素方差分析方法分析混煎供试液组内不同的配伍比例下 4 种黄酮类成分的含量是否有显著性差异, 通过方差齐性检验, 结果显示除混煎供试液组中汉黄芩素外, 其余各组方差齐性, 单因素方差分析结果显示混煎供试液组 7 个不同配伍比例的黄芩苷、汉黄芩苷和黄芩素有显著性差异; 采用非参数检验的多个独立样本检验 Kruskal-Wallis H 方法检验混煎供试液组中汉黄芩素; 结果显示 7 个不同配伍比例混煎供试液组的汉黄芩素有显著性差异。当黄芩和知母按 2:1 配伍共煎时, 4 种黄酮类成分的总量达到最高是单煎时的 1.36 倍。

### 3 讨论

比较了甲醇-水, 乙腈-水, 甲醇-乙腈-水 3 种流动相, 结果显示甲醇-乙腈-水系统能获得较好的分离效果, 由于黄酮类成分结构中的酚羟基易离子化



1. 黄芩苷; 2. 汉黄芩苷; 3. 黄芩素; 4. 汉黄芩素

图 1 混合对照品色谱图 (A)、黄芩单煎液色谱图 (B)、混煎液色谱图 (2:1) (C)、知母单煎液色谱图 (D)

而产生扩展和拖尾现象, 需要在流动相中加入酸性改性剂加以改善, 通过比较最后选定 0.2% 的磷酸, 可有效地改善拖尾现象, 根据各化合物的紫外吸收光谱图, 确定检测波长为 276 nm。

黄芩与知母是清泻肺火的常用配伍药对, 黄芩苦寒, 清热解毒, 善清泻肺胃之火; 知母辛苦寒凉, 能上清肺, 中凉胃, 下泻肾火兼滋润肾燥。根据古方达原饮 (《瘟疫论》)、麻黄升麻汤方 (《伤寒杂病论》第二十篇)、当归拈痛汤 (《兰室秘藏》)、黄芪汤 (《刘涓子鬼遗方》) 等常用配伍比例, 本实验中设置黄芩和知母 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:3, 3:1, 3:2 等 7 个配伍比例, 来考察不同配伍比例时, 知母对黄芩中主要黄酮类成分的影响。

本实验同时考察了单煎供试液和混煎供试液,

# 心安宁胶囊质量标准研究

曾振兴<sup>1</sup>, 顾雪竹<sup>2\*</sup>

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550001; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 研究心安宁胶囊的质量标准, 以提高其质量标准。方法: 建立了葛根和丹参的薄层鉴别方法, 并采用高效液相色谱法(HPLC)测定方中葛根及丹参酚酸 B 含量, 色谱条件为 C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:3:59); 流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温室温; 检测波长 250 nm。结果: 采用 HPLC 方法检测图谱清晰, 简便准确, 专属性强, 重复性好, 葛根素 0.004 ~ 0.163 μg 线性关系良好( $r = 0.9998$ ), 丹参酚酸 B 含量在 0.144 ~ 1.44 μg 线性关系良好( $r = 0.9999$ ), 葛根素、丹参酚酸 B 的平均回收率为 97.69%, 102.76%, RSD 别为 1.10%, 1.34%。结论: 薄层色谱法图谱清晰, 简便准确, 专属性强, 重复性好, 可有效地控制心安宁胶囊质量。

**[关键词]** 心安宁胶囊; 质量标准; 葛根素; 丹参; 薄层色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0087-03

心安宁胶囊系由丹参、葛根、何首乌、山楂、三七、冰片、珍珠粉、蟾酥、红花等药材加工而成的纯中药复方制剂, 具有养阴宁心、化痰通络、降低血脂的功效, 常用于冠心病、心绞痛、以及高血压引起的胸闷、心悸、眩晕。其中丹参、葛根为君药, 其水溶性主要有效成分为丹酚酸 B, 葛根素为其主要有效成分。心安宁胶囊由《卫生部药品标准》所载心安宁片改进剂型而来, 生产企业众多, 质量标准不统一, 原质量标准仅对丹参、牛黄和蟾酥进行了定性鉴别, 产品

质量不够稳定。为有效控制其内在质量, 本研究建立了葛根和丹参的薄层鉴别方法, 并采用高效液相色谱法测定方中葛根素及丹酚酸 B 含量。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 日本岛津公司生产的 LC-2010 型高效液相色谱仪 (SPD-20A 紫外-可见检测器, CTO-10Asvp 柱温箱, LC-10Atvp 双泵, CLASS—VP 色谱工作), Diamomil<sup>TM</sup> 钻石 C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), KQ118 超声波清洗器, 青岛海洋化工厂的硅胶

**[收稿日期]** 2011-03-22

**[第一作者]** 曾振兴, 讲师, 从事中药商品质量研究, Tel: 13985517240, E-mail: 26901840@qq.com

**[通讯作者]** \* 顾雪竹, 实习研究员, 从事中药炮制研究, Tel: 010-84076882, E-mail: 14182115@qq.com

根据样品含量测定结果来, 4 种黄酮类成分含量可能与黄芩在黄芩和知母药对中所占质量比例有关系, 但是无线性递增关系, 当黄芩比重达到最高时, 4 种黄酮类成分的含量总和并不是最高的, 可能与知母中含有的皂苷类成分的促溶作用有关, 知母所占质量比例大, 知母皂苷的促溶作用强。在黄芩与知母以 2:1 混煎时, 黄酮类成分的总量达到最高。提示黄芩与知母药对临床应用不仅有其中医理论的基础, 在化学成分的溶出上也有促进作用。

## [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:197,282.

[2] 宋双红, 张媛, 王喆之. HPLC 测定不同产地黄芩中黄

酮化合物的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7): 598.

[3] 张箭, 肖丽和, 李发美. RP-HPLC 法测定黄芩属四种药材中五个活性成分的含量[J]. 中药材, 2005, 28(5): 389.

[4] 田建红. 不同产地黄芩中的有效成分含量分析[J]. 海峡药学, 2009, 21(3): 57.

[5] 杨立新, 刘岱, 冯学锋, 等. 高效液相色谱法测定不同产地黄芩中黄酮化合物的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(3): 166.

[6] 张家辉, 杨蕊, 邓洪平. 缙云黄芩 HPLC 指纹图谱的建立以及不同部位活性成分含量研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(19): 2485.

[责任编辑 蔡仲德]