

以黄芩苷溶出量探讨黄芩与半夏配伍药性变化

李平¹, 杨应勇², 李江^{3*}, 肖书伟²

(1. 贵阳中医学院第二附属医院, 贵阳 550002; 2. 贵州神奇药业集团苗药工程中心, 贵阳 550002;
3. 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的:通过 HPLC 测定黄芩和半夏不同配伍比例后黄芩苷溶出量的变化,以探讨中药药性配伍的科学内涵。方法:采用 Diamonsil C₁₈(2)柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),乙腈-0.4% 磷酸溶液(26:74)为流动相,检测波长 280 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃。建立黄芩与半夏配伍[以寒为主(9:6);寒热各半(9:9);以热为主(6:9)]后黄芩苷的含量测定方法,并比较不同配伍后黄芩苷溶出量的大小。结果:黄芩苷质量浓度在 0.010 25~0.102 5 g·L⁻¹线性关系良好($r=0.999\ 9$),平均回收率 99.21% ($n=9$),RSD 2.0%;黄芩配伍半夏后[以寒为主(9:6)、寒热各半(9:9)、以热为主(6:9)]和黄芩单煎后黄芩苷平均含量分别为 64.018,63.680,50.581,62.529 mg·g⁻¹。结论:黄芩配伍半夏后黄芩苷的 HPLC 检测方法可靠、稳定、重复性好。不同比例配伍后黄芩苷的溶出量有较大差异,尤其是以热为主配伍(6:9)对黄芩苷的溶出影响最大,溶出最低,体现了中药药性配伍中以半夏的温热之性抑制黄芩之寒凉之性的科学内涵。

[关键词] 黄芩;法半夏;黄芩苷;药性配伍

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)17-0119-04

Medicine Property Variation in Different Proportional Combinations of Scutellariae Radix and Prepared Pinellia Tuber through Determination Leaching Quantity of Baicalin by HPLC

LI Ping¹, YANG Ying-yong², LI Jiang^{3*}, XIAO Shu-wei²

(1. Second Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;
2. Department of Experimental Center of Miao National Medicine, Guizhou Shenqi Pharmacy Co. Ltd., Guiyang 550002, China; 3. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** Determination the leaching quantity of baicalin in different prop-ortional combinations of Scutellariae Radix and Prepared Pinellia tuber by HPLC, explore the scientific content about the compatibility of traditional Chinese medicine properties. **Method:** The HPLC separ-ation was performed on Diamonsil-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with a mixture acetonitrile-0.4% phosphate acid solution (26:74) as mobile phase and detection wavelength of 280 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the column temperature was 30 ℃. The experiments are 3 groups, the proportional combinations of Scutellariae Radix and Prepared Pinellia tuber are 9:6, 9:9, 6:9 and comp-aring the leaching quantity of baicalin. **Result:** For baicalin, the linear rang was 0.010 25-0.102 5 g·L⁻¹ ($r=0.999\ 9$), and the average recovery rate was 99.21% ($n=9$) with an RSD of 2.0%. Basis on the Scutellariae Radix equivalent, the Scutellariae Radix and Prepared Pinellia tuber are 9:6, 9:9, 6:9 and single Scutellaria, the average content of baicalin are 64.018, 63.680, 50.581, 62.529 mg·g⁻¹. **Conclusion:** This HPLC reliable, stable and reproducibile. The leaching quantity of baicalin has larger differences in different proportional combinations, especially the group of 6:9 has the largest influence on leaching quantity, the leaching quantity is

[收稿日期] 20110323(008)

[通讯作者] *李江,教授, Tel:0851-5601305, E-mail:lijiang2005zy@126.com

minimum. It reflects the scientific content about the properties of hot and warm of Prepared Pinellia tuber inhibition the properties of cool and cold of Scutellariae Radix.

[Key words] Scutellariae Radix; Prepared Pinellia tuber; baicalin; compatibility

黄芩与半夏配伍是中医治疗寒热错杂之痞证常用的基础方,其中最具代表性的是半夏泻心汤。在半夏泻心汤中以半夏为君,散结除痞、降逆止呕,臣以黄芩之苦寒以泄热开痞,从而起到平调寒热、消痞散结的作用,方中黄芩与半夏寒少热多、以热为主(黄芩-半夏,6:9)^[1-3]。小柴胡汤中黄芩为臣,半夏为佐以解少阳证的寒热往来,方中黄芩与半夏寒热各半(黄芩-半夏,9:9)^[4]。黄芩加生姜半夏汤中黄芩为君,解少阳之里热,半夏为佐,散结除痞,方中黄芩与半夏寒多热少、以寒为主(黄芩-半夏,9:6)^[5]。本实验通过黄芩与半夏不同比例配伍,即寒多热少、以寒为主(黄芩-半夏,9:6);寒热各半(黄芩-半夏,9:9)以及寒少热多、以热为主(黄芩-半夏,6:9)3个配比对黄芩苷溶出量的影响,从中药药性角度探讨中药复方配伍的组方规律及科学内涵。

1 材料

岛津高效液相色谱仪(SPD-20A 检测器、LC-20AT 泵、SIL-20A 自动进样器、CTO-10AS 柱温箱),JA10003N 型分析天平(上海民桥精密科学仪器有限公司),AHL-0501-P 型纯化水处理器(艾科浦),CLB Model 9960A 型超声波震荡仪,TA-816 型光波炉。

黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号110715-200815),乙腈(色谱纯),甲醇(分析纯),磷酸(分析纯),黄芩、法半夏药材(经贵阳中医学院生药教研室刘芄教授鉴定为 Pinelliae Rhizoma Preparatum 符合2010年版《中国药典》规定),超纯水(纯化水处理器取用)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Diamonsil C₁₈ (2) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 乙腈-水 (含 0.4% 的磷酸) (26:74), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 280 nm。

2.2 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量,精密称定,用甲醇制得每 1 mL 含 52.93 μg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取黄芩和法半夏各 50.0 g,加入 8 倍量的水,提取 2 h,滤过,滤液冷却到室温,定量取出 1/5 后用水定容至 250 mL,摇匀,精密取

1.0 mL,置 50 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 (250 W, 50 Hz) 15 min,再用甲醇稀释至刻度,摇匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。其他配伍比例同法制备,保证取样后黄芩药材量保持均一。

2.4 阴性样品溶液的制备 按供试品的制备方法制得缺黄芩的阴性样品溶液。

2.5 专属性考察 依上述色谱条件,依次吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液和溶剂各 10 μL,分别进样。在对照品溶液和供试品溶液色谱图相应位置上,有相同保留时间的色谱峰,而阴性样品溶液和溶剂在此无吸收,证明其无干扰。

2.6 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品 10.25 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,精密取 0.5,1.0,2.0,3.0,5.0 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,制得黄芩苷质量浓度为 0.010 25,0.020 5,0.041,0.061 5,0.102 5 g·L⁻¹,分别精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,测定色谱峰面积。以色谱峰面积为纵坐标,黄芩苷质量浓度为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程为 $Y = 3243927X + 5195$ ($r = 0.9999$)。表明黄芩苷质量浓度在 0.010 25 ~ 0.102 5 g·L⁻¹ 线性关系良好。经计算得测量值与真实值之间的误差小于 1%,故本试验可以用外标一点法进行计算。

2.7 精密度考察 取供试品溶液,注入液相色谱仪,进样体积为 10 μL,连续进样 6 次,考察精密度。计算得 RSD 0.6% (<3%),表明仪器精密度良好。

2.8 稳定性试验 取同一对供试品溶液,分别在时间 0,1,2,6,8,24 h 进样,进样量为 10 μL,考察稳定性。结果表明,在 24 h 内供试品溶液稳定性良好, RSD 1.6% (<3%)。

2.9 重复性试验 精密取上述 2.3 供试品制备,平行处理 6 个样品,依次注入液相色谱仪,进样量为 10 μL,计算含黄芩苷的含量。计算 RSD 为 0.9%,表明重复性良好。

2.10 回收率实验 精密取样品溶液 0.5 mL,共 9 份,按供试品制备方法制备,分别按照供试品中含黄芩苷的量约 (1:0.8,1:1,1:1.2) 加入黄芩苷对照品溶液 (低、中、高 3 个浓度),按上述方法测定。计算

回收率和 RSD, 结果见表 1。

表 1 样品中黄芩苷加样回收率试验 (n=9)

样品中 含量/ μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1 143.75	793.95	1 919.60	97.72	100.78	3.0
1 143.75	793.95	1 943.70	100.76		
1 143.75	793.95	1 968.36	103.86		
1 143.75	1 058.60	2 179.78	97.87	96.94	1.0
1 143.75	1 058.60	2 170.63	97.00		
1 143.75	1 058.60	2 159.37	95.94		
1 143.75	1 332.80	2 449.42	97.96	99.91	1.9
1 143.75	1 332.80	2 474.63	99.86		
1 143.75	1 332.80	2 502.18	101.92		

2.11 样品含量测定 按 2.3 方法制备 4 种不同比例的黄芩与法半夏的取样量的供试品溶液(取比例分别为 9:6, 9:9, 6:9 及黄芩单煎), 各取 10 μL 注入色谱仪, 测得黄芩中黄芩苷的溶出量, 结果分别为 64.018, 63.680, 50.581, 62.529 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 0.1%, 0.5%, 0.1%, 0.3%。

本试验是考察不同比例的法半夏与黄芩配伍对黄芩苷溶出量影响的单因素考察试验。经方差齐性检验, 得到 4 组试验的结果方差齐性, 再经单因素方差分析, 得到统计结论因 $F = 597.77 > F_{0.01}(3, 4) = 16.69$ 。所以 $P < 0.01$, 认为半夏与黄芩的比例对黄芩苷的溶出量有极显著性差异。方差分析如表 2。

表 2 半夏-黄芩配伍的方差分析

来源	SS	f	MS	F	P
组间	249.27	3	83.09	597.77	<0.01
组内	0.56	4	0.14		
总和	249.83	7			

注: 临界值为 16.69。

为客观的得到哪些差异是有显著意义, 对 4 组结果在用 q 检验法进行检验。经计算得到 $DT_{(0.05)} = 1.518$, $DT_{(0.01)} = 2.417$, 将 4 个结果均数两两间差数的绝对值列如下, 逐个比较, 以免不漏不重, 见表 3。

表 3 4 组结果的 q 检验

$ \bar{x}_i - \bar{x}_j $	$\bar{x}_2 = 63.680$	$\bar{x}_3 = 50.581$	$\bar{x}_4 = 62.529$
$\bar{x}_1 = 64.018$	0.338	13.437 ¹⁾	1.489
$\bar{x}_2 = 63.680$		13.099 ¹⁾	1.151
$\bar{x}_3 = 50.581$			11.948 ¹⁾

注: ¹⁾ $P < 0.01$ 。

从上表 2, 3 可以得知, 黄芩与法半夏配伍比例在 9:6, 9:9 和黄芩单煎时对黄芩苷的溶出量都无显著性意义, 而在比例为 6:9 时具有极显著性意义。

2.12 3 个不同批次药材黄芩与半夏配伍对黄芩苷溶出量的测定 从表 4, 5 实验数据, 采用 2.11 项下

数理统计方法, 分别进行单因素方差分析、 q 检验法检验, 结果黄芩与半夏配伍比例在 9:6, 9:9 和黄芩单煎时对黄芩苷的溶出量都无显著性意义, 而在比例为 6:9 时均具有极显著性意义。

表 4 第 1 批次药材黄芩与半夏配伍对黄芩苷溶出量测定 (n=2)

药材批次	黄芩与半夏比例	黄芩苷 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
黄芩	寒热配伍, 以寒为主 (9:6)	69.778	0.1
(20100713)	寒热配伍, 寒热各半 (9:9)	69.396	0.1
黄芩	寒热配伍, 以寒为主 (9:6)	53.141	0.1
(20100719)	寒热配伍, 寒热各半 (9:9)	51.780	0.6
半夏	寒热配伍, 以热为主 (6:9)	55.531	0.2
(20101115)	黄芩单煎	68.786	0.3
半夏	寒热配伍, 以热为主 (6:9)	40.584	0.7
(20101124)	黄芩单煎	51.613	0.6

表 5 第 3 批次药材黄芩与半夏配伍对黄芩苷溶出量测定 (n=2)

药材批次	黄芩与半夏比例	黄芩苷 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD /%
黄芩	寒热配伍, 以寒为主 (9:6)	58.635	0.4
(20100917)	寒热配伍, 寒热各半 (9:9)	59.503	0.4
半夏	寒热配伍, 以热为主 (6:9)	45.604	0.6
(20101202)	黄芩单煎	58.399	0.3

3 讨论

黄芩与法半夏配伍过程中, 寒热配伍, 以寒为主 (9:6); 寒热各半 (9:9); 以热为主 (6:9) 及黄芩单煎过程中, 以热为主 (6:9) 时对黄芩苷的溶出具有极显著的差异; 以寒为主及黄芩单煎没有显著性差异。从单味黄芩到以热为主的配伍中, 随着半夏比例的上升, 黄芩苷的溶出量逐渐下降, 验证了传统的药性配伍理论。黄芩苷是黄芩中有效成分, 其抗菌和抗病毒作用也是其寒凉之性的表现, 因此本次研究结果体现了中药药性配伍中以半夏的温热之性抑制黄芩之寒凉之性的科学内涵。

[参考文献]

- [1] 邓中甲, 李冀, 连建伟. 方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 88.
- [2] 张晓东. 半夏泻心汤不同煎法对黄芩苷的影响 [J]. 中医临床杂志, 2007, 19(5): 495.
- [3] 李妍, 李晓波, 奉建芳. 半夏泻心汤提取工艺研究 [J]. 中成药, 2004, 26(7): 528.
- [4] 庞政, 朱晓娟. 小柴胡汤的临床应用 [J]. 中国社区医师·医学专业, 2009, 11(23): 189.
- [5] 熊曼琪. 伤寒学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2002: 185.

[责任编辑 邹晓翠]