

枳实黄酮类成分在大承气汤配伍中的变化规律

谢臻¹, 王术玲², 江滨^{2*}, 曾元儿²

(1. 广西中医学院药学院, 南宁 530001; 2. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 研究大承气汤在不同配伍方法中枳实黄酮类成分的变化规律。方法: 以君药大黄为核心, 依次配伍其他 3 味中药(厚朴、枳实和芒硝), 进行不同配伍方法设计, 共得到 7 种配伍组方。采用 HPLC 法测定不同配伍组中柚皮苷、橙皮苷的含量。结果: 大承气汤中枳实黄酮类成分在配伍环境中发生变化, 经典煎法的柚皮苷和橙皮苷含量最高, 分别为 4.45% 和 1.16%。柚皮苷在 0.168 5 ~1.164 8 μg 有良好的线性关系 ($r=0.999 5$), 平均回收率为 98.20%, RSD 为 2.26%。结论: 大承气汤全方配伍后, 在一定程度上能增加黄酮类成分含量的溶出率。所建立的柚皮苷、橙皮苷 HPLC 含量测定方法具有较好的专属性, 可用于本方质量控制和配伍指标的测定。

[关键词] 大承气汤; 配伍; 柚皮苷; 橙皮苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0057-03

Researches of Flavonoids Components Changed Regularity in Different Compatibility of Dachengqi Decoction

XIE Zhen¹, WANG Shu-ling², JIANG Bin^{2*}, ZENG Yuan-er²

(1. College of Pharmacological science, Guangxi Traditional Chinese Medicine University, Nanning 530001, China;
2. College of Chinese Material Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] Objective: To study the change of the content of active ingredient in Chinese material medicine. **Method:** Seven kinds of different compatibility of Dachengqi decoctions were made when Rhei Radix et Rhizoma was decocted with other three drugs (Magnoliae Officinalis Cortex, Aurantii Fructus Immaturus and Natrii Sulfas), then the quantitative analysis of naringin and hesperidin was determined by HPLC. **Result:** The flavonoid content was influenced by different compatibility of Dachengqi decoction. The contents of naringin and hesperidin were 4.45% and 1.16% in the traditional decoction, of which higher than those of in other decoctions. The linear range of naringin and hesperidin showed a good correlation from 0.168 5 to 1.684 8 μg ($r=0.999 8$), and from 0.022 8 to 0.228 0 μg ($r=0.999 5$), respectively. Their average recoveries were 98.85% (RSD = 1.36%) and 98.20% (RSD = 2.26%), respectively. **Conclusion:** The flavonoid content was increased when all drugs were decocted. The HPLC method was well specified for determination of the contents of naringin and hesperidin, which could be applied to the quality control and active ingredient determination of compatibility of Dachengqi decoction.

[Key words] Dachengqi decoction; compatibility; naringin; hesperidin

[收稿日期] 20100806(006)

[基金项目] 国家中医药管理局 2006-2007 年度国家科学技术
专项基金(06-07ZP 38)

[第一作者] 谢臻, 博士, 讲师, 主要从事中药质量控制、中药复
方配伍研究, Tel: 0771-3137585, E-mail: xie_zhen@
126.com

[通讯作者] * 江滨, 教授, 博士生导师, Tel: 020-36585521, E-
mail: gzjiangbin@hotmail.com

大承气汤为《伤寒论》名方, 本方的经典配伍煎煮方法为“先煎厚朴、枳实, 去滓, 纳大黄, 更煮, 去滓, 纳芒硝”。研究报道, 在药味组成、剂量配比完全相同的情况下, 以不同煎法制成的大承气汤药效差异甚大^[1-2], 不同煎煮方法和煎煮时间对大黄单味药及大承气汤中大黄蒽醌类成分的溶出量和保存量有明显的影响, 且与其药效相关^[3-6]。在其他的研究中

也看到中药配伍的物理化学变化具有一定的普遍性^[7-9]。因此,中药复方配伍所呈现的结果,可能为各药物所含有的成分之间产生物理化学和化学作用而影响主要有效成分的数量,进而影响其药效。大承气汤传统煎煮采用水煎液,为了更好地进行复方配伍研究,已对大承气汤提取工艺进行了优化,较佳的提取溶剂为 60% 乙醇,回流提取 90 min。本试验测定大承气汤不同配伍组合、药对不同配伍、不同煎法中黄酮类成分的含量,研究大承气汤在不同配伍方法中枳实黄酮类成分的变化规律,探讨其复方配伍科学内涵的化学机制,为中药复方配伍的化学成分研究提供科学依据。

1 材料

LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津仪器有限公司);N2010 色谱工作站(浙江大学智达信息工程有限公司);AEG-220 电子分析天平(日本岛津仪器

有限公司);大黄、厚朴、枳实、芒硝饮片购于广州致信中药饮片有限公司,均由广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定。柚皮苷(naringin)批号 110722-200309,供含量测定用);橙皮苷(hesperidin)批号 110721-200613,供含量测定用,中国药品生物制品检定所提供。

2 试验方法

2.1 配伍试验设计 本试验从大承气汤君、臣、佐、使配伍关系出发,以君药大黄为核心,依次配伍其他 3 味中药,进行不同配伍方法设计,共得到 7 种配伍组方,见表 1。

按处方比例(大黄 0.24 g,厚朴 0.48 g,枳实 0.24 g,芒硝 0.18 g),取枳实、厚朴,精密称定,按表 1 配伍设计表安排试验的配伍方法,加热回流,滤过,提取药液经减压浓缩干燥,得干浸膏粉,备用。

表 1 大承气汤配伍设计表

| 分组 | 配伍 | 煎煮方法 |
|----|--------------------|---|
| 1 | 大黄 + 枳实 | 取大黄、枳实,加入 60% 乙醇 25 mL,回流提取 90 min |
| 2 | 大黄 + 枳实(大黄后下) | 取枳实,加入 60% 乙醇 25 mL,回流提取 70 min,滤过,提取液加大黄,再回流提取 20 min |
| 3 | 大黄 + 厚朴 + 枳实 | 取大黄、厚朴、枳实,加入 60% 乙醇 25 mL,回流提取 90 min |
| 4 | 大黄 + 厚朴 + 枳实(大黄后下) | 取厚朴、枳实,加入 60% 乙醇 25 mL,回流提取 70 min,滤过,提取液加大黄,再回流提取 20 min |
| 5 | 合煎法 | 取大黄、厚朴、枳实、芒硝,加入 60% 乙醇 25 mL,回流提取 90 min |
| 6 | 经典法 | 取厚朴、枳实,加入 60% 乙醇 25 mL,回流提取 90 min,滤过,提取液加大黄,再回流提取 10 min,滤过,提取液加芒硝,微沸 10 min |
| 7 | 分煎法 | 分取大黄、厚朴、枳实、芒硝 4 味药,各加入 60% 乙醇 25 mL,回流提取 90 min,合并各提取液 |

3 柚皮苷、橙皮苷 HPLC 含量测定方法

3.1 色谱条件 Hypersil ODS2 C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-水(23/77);流速 1 mL·min⁻¹;柱温 30 °C;检测波长 283 nm;进样量 5 μL。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷对照品、橙皮苷对照品适量,加甲醇分别制成每 1 mL 含柚皮苷 0.337 mg、橙皮苷 0.045 6 mg 的溶液,摇匀,即得。见图 1。

3.3 供试品溶液制备 取大承气汤干膏 0.1 g,精密称定,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声提取 30 min,用甲醇补足质量,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。见图 1。

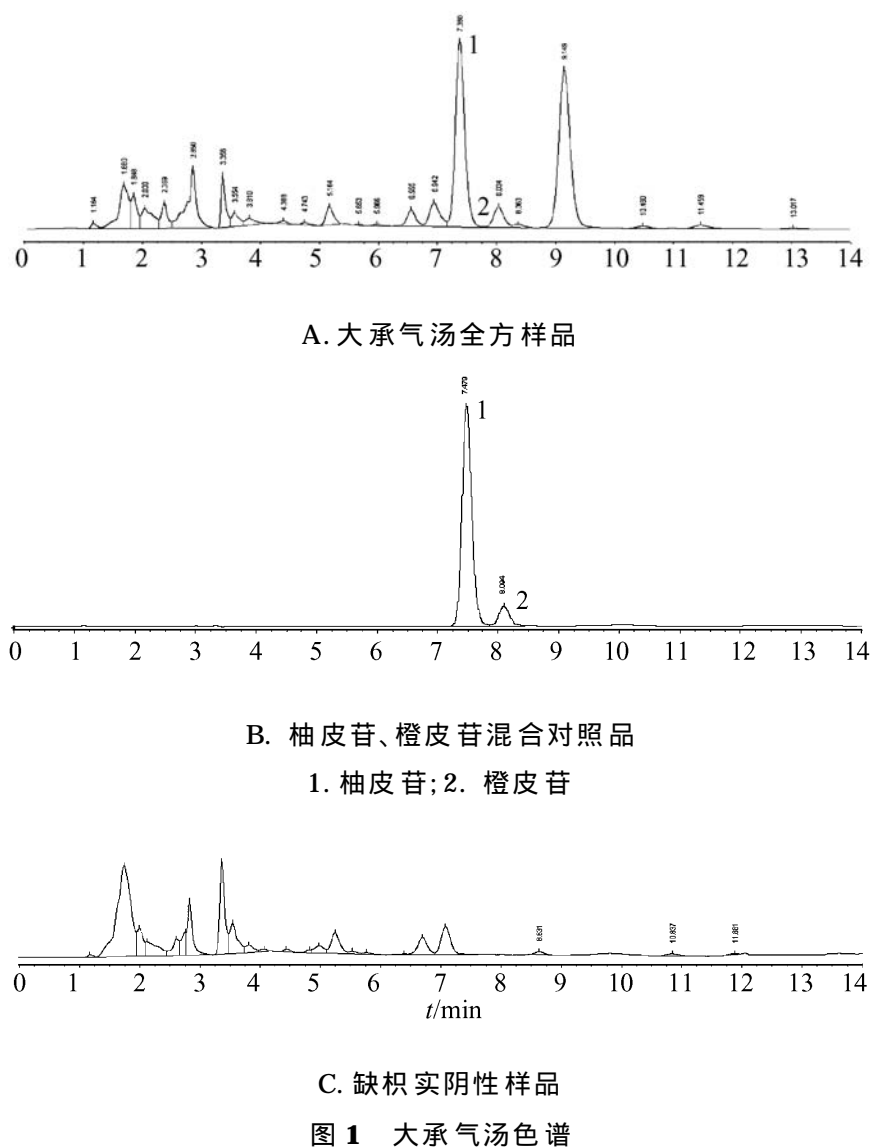
3.4 阴性对照试验 按 2.1 项下“经典法”煎煮方法,制备不含枳实的阴性样品,按 3.3 项下方法制备阴性对照溶液,依法测定,结果阴性对照无干扰,见图 1。

3.5 线性关系考察 按上述色谱条件,以峰面积积分值 A 为纵坐标,对照品量 X(μg) 为横坐标,绘制标准曲线,分别得柚皮苷、橙皮苷标准曲线方程为 $A = 2.7848 \times 10^6 X - 49400.57$, $r = 0.9998$; $A = 2.1907 \times 10^6 X - 8858.02$, $r = 0.9995$; 线性范围分别为 0.168 5 ~ 1.684 8 μg, 0.022 8 ~ 0.228 0 μg。

3.6 精密度试验 取柚皮苷、橙皮苷对照品溶液 5 μL,连续进样 6 次,测定柚皮苷、橙皮苷峰面积值,结果各峰面积的 RSD 分别为 1.64%, 1.41%。

3.7 稳定性试验 取供试品溶液于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 分别进样 5 μL,测定柚皮苷、橙皮苷峰面积值,结果各峰面积的 RSD 分别为 1.00%, 1.03%。

3.8 重复性试验 取同一批大承气汤干膏约 0.1 g,精密称定,共取 6 份,按供试品溶液制备方法制备,测定柚皮苷、橙皮苷含量,结果各含量的 RSD 分别为 2.80%, 1.35%。



3.9 加样回收率试验 精密称取已测知含量的大承气汤干膏约 0.05 g 共 6 份, 分别精密加入一定量的对照品溶液, 按供试品溶液制备方法制备, 测定柚皮苷、橙皮苷含量, 计算得各平均加样回收率分别为 98.85%, 98.20%; RSD 分别为 1.36%, 2.26%。

3.10 测定结果 按 3.1 项下色谱条件, 测定各配伍组柚皮苷、橙皮苷含量, 结果见表 2。

表 2 不同配伍组枳实黄酮类成分含量测定结果 (n=2) %

| 分组 | 柚皮苷 | 橙皮苷 | % |
|----|------|------|------|
| 1 | 4.11 | 1.05 | 5.16 |
| 2 | 4.17 | 0.76 | 4.93 |
| 3 | 3.94 | 1.19 | 5.13 |
| 4 | 4.14 | 1.12 | 5.26 |
| 5 | 4.25 | 1.15 | 5.40 |
| 6 | 4.45 | 1.16 | 5.61 |
| 7 | 4.35 | 1.36 | 5.71 |

4 讨论

大黄与枳实相配伍, 大黄苦寒, 功在荡涤泻火, 擅下胃肠结热有形积滞。枳实下气消痞, 主泄胃肠结气之无形气痞。热结胃肠则气滞难行, 气结于中则肠垢难下, 只有二药配伍, 才能有泻热除积, 利气消痞之功。临床应用若见热势较甚, 大便秘结之证,

则以大黄为主, 少佐枳实; 若见胃肠食积化热、腹满疼痛之证, 则以枳实为主, 少用大黄^[10]。

本试验将大承气汤中的各味药, 以大黄为主, 进行不同药对配伍, 再以不同的配伍方法煎煮, 通过测定各不同配伍下柚皮苷、橙皮苷的含量, 从而研究不同配伍下大承气汤有效成分的变化规律。分组 1, 2 为大黄与枳实配伍组, 其中组 1 为大黄与枳实同下, 组 2 为大黄后下; 分组 3, 4 为大黄、厚朴和枳实配伍组, 组 3 为大黄、厚朴和枳实同下, 组 4 为大黄后下。从表 2 可以看出, 枳实黄酮类成分的含量, 组 1, 2 组 3, 4 中黄酮类成分的含量均差别不大, 说明大黄后下与否, 在煎煮过程中对枳实黄酮类成分的溶出率没有太大的影响, 但对大黄中蒽醌类成分的溶出率影响较大^[11]。组 5 ~7 为全方的配伍组, 且黄酮类成分的含量比组 1 ~4 要高, 说明在全方的整体配伍下, 能增加黄酮类成分含量的溶出率。

5 结论

大承气汤传统煎煮采用水煎液, 本试验中采用 60% 乙醇溶液作为提取溶液, 由于 60% 乙醇能更好地溶解方中的有效成分, 因此能更好地体现不同配伍的变化结果。大承气汤传统煎法要求大黄后下, 因大黄后下可以增加蒽醌类成分的溶出率, 枳实、厚朴在方中起着对大黄蒽醌分增溶的作用^[11]。从本试验的结果来看, 大承气汤中枳实黄酮类成分在配伍环境中发生变化, 其中大黄后下, 对黄酮类成分的含量影响不大, 说明本方经典的配伍方法主要是针对提高大黄在全方中的泻下作用, 但也表明了枳实在方中作为臣药进行辅助君药大黄的重要性。全方配伍后, 在一定程度上也能增加黄酮类成分含量的溶出率。

[参考文献]

- [1] 顾维彰, 白音夫, 李增晞, 等. 不同煎法对大承气汤的药理作用[J]. 中药药理与临床, 1985, 16(1): 9.
- [2] 赵雅灵, 吴招娣. 应用中医治则研究大承气汤的药理作用[J]. 中药药理与临床, 1988, 4(3): 1.
- [3] 郝淑清, 王汝龙, 何丽一. 大黄煎煮法对有效成分的影响[J]. 中草药, 1984, 15(2): 15.
- [4] 喻伟华, 王岳峰, 熊左. 中药大黄煎药时间对其有效成分的影响[J]. 药学通报, 1985, 70(1): 14.
- [5] 马鹏, 罗丽, 徐宇. HPLC 测定大黄及含大黄中成药中番泻甙 A 的含量[J]. 天然产物研究与开发, 1996, 3(3): 48.

(下转第 71 页)

苗药卷 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2005: 292.

[2] 孙宜春, 王祥培, 靳风云, 等. 芭蕉根有效成分的初步研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 360.

[3] 王敏. 芭蕉根外用治疗暑疖 [J]. 中国民族民间医药杂志, 1999, 7(41): 365.

[4] 余克涌, 余青俊. 芭蕉根治疗乳糜尿 [J]. 湖北中医杂志, 1989, 10(5): 16.

[5] 杨梓强. 鲜芭蕉根外敷治疗阑尾周围脓肿 [J]. 湖南中医学院学报, 1988, 8(2): 56.

[6] 左凤. 泰国芭蕉对大鼠胃溃疡的防治作用 [J]. 国外医学·中医中药分册, 2002, 24(3): 171.

[7] 朱尚勤, 莫少泽. 芭蕉茎总生物碱对犬血压的影响 [J]. 现代应用药学, 1989, 6(4): 47.

[8] 顾仁勇, 张丽, 傅伟昌, 等. 芭蕉汁的抑菌作用 [J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(3): 57.

[9] 顾采琴, 钟逸玲, 赖建平, 等. 香蕉果皮提取物抑菌特性研究 [J]. 广州大学学报: 自然科学版, 2009, 8(4): 27.

[10] Tsunashi Kamo, Nobuhiro Hirai, Kumiko Iwami, et al. New phenylphenalenones from banana fruit [J]. Tetrahedron, 2001, 57(36): 7649.

[11] Edward R Richter, Lois A Vore. Antimicrobial activity of banana puree [J]. Food Microbiol, 1989, 6(3): 179.

[12] 张倩, 常星, 康文艺. 芭蕉的 -葡萄糖苷酶抑制活性 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 125.

[13] 张倩, 康文艺. 芭蕉根活性成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(18): 2424.

[14] 洪英, 黄雁, 魏良宇. 浅谈纸片扩散法药敏试验 [J]. 福建畜牧兽医, 2004, 26(5): 56.

[15] 李希红, 陈荣, 纪付江, 等. 剑叶金鸡菊挥发油的抗菌活性研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(23): 10996.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 59 页)

[6] 苏子仁, 周华, 刘中秋, 等. 大黄在提取精制过程中的化学成分变化研究()——大黄的湿热分解机理探讨 [J]. 药物分析杂志, 1998, 18(2): 82.

[7] 苏子仁, 刘庆思, 徐必达, 等. 方药配伍对温补肾阳方君药补骨脂素、异补骨脂素煎出的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1996, 2(5): 8.

[8] 苏子仁, 徐必达, 刘庆思, 等. 磷脂对骨康补骨脂素、异补骨脂素煎出增溶作用探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(3): 5.

[9] 方洪, 苏子仁, 梁永枢, 等. 复方虎茵汤方药配伍对有效成分煎出的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(5): 1.

[10] 胥庆华, 刘丽云, 赵瑞华, 等. 中药药对大全 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1996: 174.

[11] 曾元儿, 陈丰连, 喻良文. 大黄蒽醌类在大承气汤复方配伍中的量变规律研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(1): 60.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 68 页)

根据白花丹醌对照品甲醇溶液的紫外-可见光谱测定结果, 可知白花丹醌在 209, 265, 406 nm 处有吸收, 试验结果表明, 在 406 nm 进样测定, 灵敏度高, 基线平稳, 图谱分离较好, 且阴性对照无干扰。试验中考察了流动相比例、流速、柱温的变动对分离度等结果的影响, 发现在测定条件下, 系统的轻微变动对试验结果影响不大, 系统耐用性良好。

[参考文献]

[1] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 845.

[2] 王爱民, 王永林, 李勇军, 等. 紫金莲药材的质量控制方法的研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(17): 2130.

[3] 龙海燕, 李惠, 黄晓燕, 等. HPLC 测定复方矮地茶片中岩白菜素的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 41.

[责任编辑 顾雪竹]