

• 质量标准 •

半夏厚朴汤君臣佐使配伍对和厚朴酚 与厚朴酚含量的影响

徐群¹, 欧阳臻², 常钰², 傅冬生³, 孔令东^{1*}

(1. 南京大学医药生物技术国家重点实验室, 江苏南京 210093; 2. 江苏大学药学院, 江苏镇江 212013;
3. 南京大学数学系, 江苏南京 210093)

[摘要] 目的: 研究半夏厚朴汤君臣佐使相关配伍对抗抑郁有效成分和厚朴酚与厚朴酚含量的影响, 以期分析与抗抑郁成分变化的关系。方法: 采用高效液相色谱法测定半夏厚朴汤及其君臣佐使相关配伍水煎液中和厚朴酚及厚朴酚的含量。结果: 佐以茯苓后提高了君臣配伍中和厚朴酚与厚朴酚含量, 佐以生姜则降低君臣配伍中和厚朴酚与厚朴酚含量。使以紫苏叶未显著影响君臣配伍中和厚朴酚与厚朴酚含量。而在半夏厚朴汤全方君臣佐使配伍中缺少佐、使药之一时, 其和厚朴酚与厚朴酚含量却明显降低。结论: 半夏厚朴汤君臣佐使配伍与其抗抑郁有效成分含量存在一定的内在关系。

[关键词] 半夏厚朴汤; 配伍; 和厚朴酚; 厚朴酚; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)10-0001-03

Principal, Assistant, Complement, Guide Compatibility of Banxiahoupo Decoction on Contents of Honokiol and Magnolol

XU Qun¹, OUYANG Zhen², CHANG Yu², FU Dong-sheng³, KONG Ling-dong^{1*}

(1. State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;
3. School of Maths, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of principal, assistant, complement, guide compatibility of Banxiahoupo decoction on contents of honokiol and magnololin and to analysis the internal relationship of its antidepressant compositions. **Method:** The HPLC method was used to determine honokiol and magnolol contents in water extracts of Banxiahoupo decoction and its principal, assistant, complement, guide compatibility. **Results:** One of the Assistants-Indian Bread enhanced the contents of honokiol and magnolol in principal and assistant compatibility, while the effects of other Complement Fresh Ginger were less than that of Indian Bread. The guide-Perilla Leaf produced no significant effects on honokiol and magnolol contents in principal and assistant compatibility. The contents of honokiol and magnolol would be significantly decreased when any of the complement and guide drugs was missing in principal, assistant, complement, guide compatibility of Banxiahoupo decoction. **Conclusion:** These findings suggested that there was an internal relationship between principal, assistant, complement, guide compatibility of Banxiahoupo decoction and its antidepressant composition changes.

[Key words] Banxiahoupo decoction; compatibility; honokiol; magnolol; HPLC

[收稿日期] 2008-01-31

[基金项目] 国家自然科学基金重大研究计划中医药学几个关键问题的现代研究项目(90409009)

[通讯作者] * 孔令东, Tel: (025) 83594691; E-mail: kongld@nju.edu.cn

半夏厚朴汤由半夏、厚朴、茯苓、生姜和紫苏叶 5 味中药组成。本课题组前期研究结果表明半夏厚朴汤具有一定的抗抑郁作用^[1], 初步确定了和厚朴酚与厚朴酚是半夏厚朴汤抗抑郁主要活性成分。本文以和厚朴酚与厚朴酚含量为指标, 采用 HPLC 法分析半夏厚朴汤及其君臣佐使相关配伍水煎液中和厚朴酚与厚朴酚含量的变化, 以期研究半夏厚朴汤君臣佐使配伍与抗抑郁成分变化的关系, 为深入阐明半夏厚朴汤配伍规律提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料 中药饮片半夏(070412, 贵州)、厚朴(070412, 四川)、茯苓(060908, 安徽)和紫苏叶(060921, 江苏)均购于江苏省药材公司, 生姜购于超市(山东莱芜)。和厚朴酚(批号: 0730-9204)及厚朴酚(批号: 0729-200006), 均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司), 实验用水为娃哈哈纯净水。

1.2 供试品的制备 选择半夏厚朴汤原方 5 倍量的中药饮片(半夏 60 g, 厚朴 45 g, 生姜 45 g, 茯苓 60 g 和紫苏 30 g)作为供试品, 分别按全方、君臣(半夏+厚朴)、君臣与佐(半夏+厚朴+茯苓)、半夏+厚朴+生姜、君臣与使(半夏+厚朴+紫苏)等进行配伍。另外, 在半夏厚朴汤全方中各缺失佐和使药进行配伍(半夏+厚朴+茯苓+紫苏、半夏+厚朴+紫苏+生姜、半夏+厚朴+茯苓+生姜)。称取各饮片, 分别加 10 倍量水浸泡 0.5 h 后热回流煎煮 1 h, 用纱布粗滤, 其药渣再加入 10 倍量同前煎煮、粗滤。合并滤液, 再用滤纸过滤, 并定容至药液浓度为 0.05 g 生药/mL。各供试品平行制备 3 份, 并存于 4 °C 冰箱。在 2 d 内完成 HPLC 检测。在进行 HPLC 测定前将供试品取出, 经超声、离心后用 0.45 μm 微孔滤膜滤过、进样。

1.3 仪器 JASCO LC-1500 高效液相色谱系统, 日本分光工业株式会社, 包括: UV-1575 紫外/可见检测器; 汉邦 C18 分析柱及 Inertsil ODS-3 保护柱; N2000 色谱工作站, 浙江大学信息智能研究所; METTLER AE240 分析天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司。

2 方法和结果

2.1 色谱条件和系统适应性实验 色谱柱: HiQsil C₁₈ 分析柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)及 ODS₃ 保护柱(4.6 mm × 10 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(78: 22);

流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 35 °C; 紫外检测波长: 294 nm; 进样量: 10 μL。在此色谱条件下, 和厚朴酚与厚朴酚两峰达到基线分离, 峰形较好, 理论塔板数均不低于 5 000。不含厚朴的半夏厚朴汤阴性供试品无干扰。见图 1。

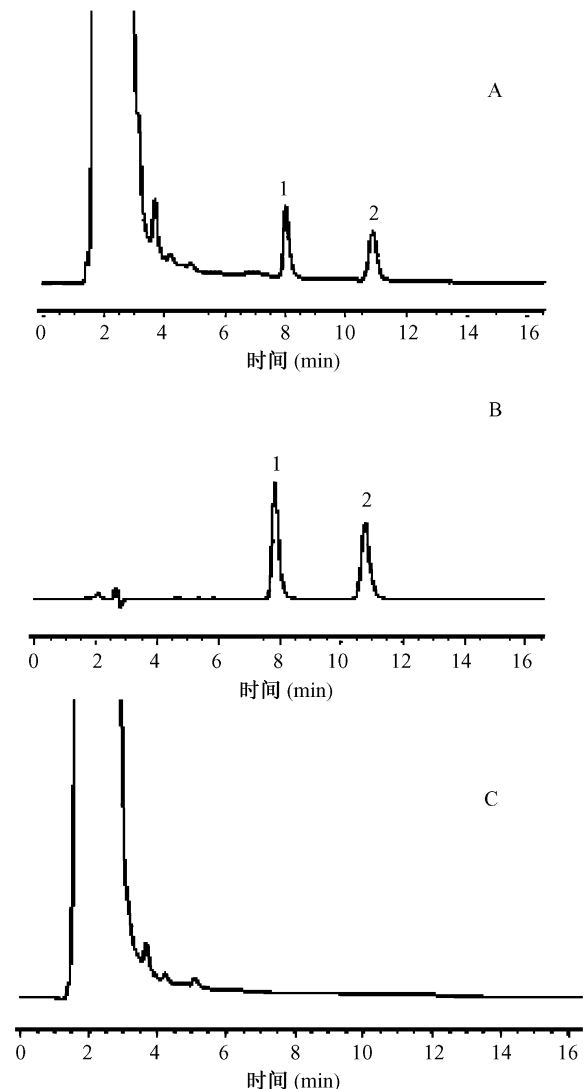


图 1 半夏厚朴汤、对照品、阴性 HPLC 色谱图

A. 半夏厚朴汤; B. 对照品; C. 阴性; 1. 和厚朴酚; 2. 厚朴酚

2.2 对照品溶液的制备 精密称取和厚朴酚对照品 2.4 mg, 厚朴酚对照品 2.0 mg, 用甲醇分别溶于 10 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 得各自的对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 5.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 得和厚朴酚 0.12 mg·L⁻¹, 厚朴酚 0.1 mg·mL⁻¹ 的混合对照品储备液。

2.3 线性关系考察 精密量取“2.2”中制备的对照品储备液 1.0 mL, 采用倍比稀释法制成 5 个浓度的对照品混合溶液, 在“2.1”色谱条件下, 分别取各浓度对照品溶液 10 μL 进样, 测定。以对照品进样浓度 X 为横坐标, 测得峰面积 Y 为纵坐标, 进行线性回归, 得和厚朴酚与厚朴酚回归方程及相关系数分

别为: $Y = 17.19X + 4.97$, $r = 0.9991$; $Y = 17.17X + 3.186$, $r = 0.9993$ 。结果表明和厚朴酚在 1.20~12.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好, 厚朴酚在 1.00~10.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.4 精密度实验 取混合对照品溶液(和厚朴酚 120.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 厚朴酚 100.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 按上述色谱条件重复进样 5 次, 每次 10 μL , 记录峰面积。测得和厚朴酚峰面积 RSD 为 1.56%, 厚朴酚峰面积 RSD 为 1.41%。

2.5 重复性试验 取半夏厚朴汤全方, 按“1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定峰面积并计算含量, 和厚朴酚与厚朴酚的含量 RSD 分别为 1.30% 与 0.97%, 表明重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一份半夏厚朴汤全方供试液, 按“2.1”项下方法分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 测定, 其和厚朴酚与厚朴酚的含量标准偏差(RSD) 分别为 1.01% 与 2.21%。表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.7 回收率试验 取半夏厚朴汤全方水煎液 6 份, 每份加入一定量厚朴酚及厚朴酚对照品, 并按“2.1”项方法进行测定, 结果显示, 和厚朴酚及厚朴酚加样回收率分别为 99.87% 与 101.02%, 其 RSD 分别为 2.65% ($n = 6$) 与 1.26% ($n = 6$)。半夏厚朴汤和厚朴酚、厚朴酚回收率试验结果分别见表 1、2。

表 1 半夏厚朴汤和厚朴酚回收率试验结果

样品含量 (g)	加入量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
0.128	0.092	0.223	102.92	99.87	2.65
0.123	0.092	0.212	97.08		
0.118	0.115	0.229	96.49		
0.124	0.115	0.240	101.12		
0.113	0.138	0.254	102.08		
0.116	0.138	0.253	99.53		

表 2 半夏厚朴汤厚朴酚回收率试验结果

样品含量 (g)	加入量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
0.109	0.081	0.192	102.65	101.02	1.26
0.108	0.081	0.188	99.15		
0.112	0.101	0.213	100.19		
0.115	0.101	0.217	101.41		
0.121	0.121	0.245	102.08		
0.117	0.121	0.240	101.25		

2.8 样品测定与结果 按“2.1”色谱条件分别对半夏厚朴汤各配伍水煎液供试品进行测定, 采用外标法计算。半夏厚朴汤各配伍供试品中和厚朴酚及厚朴酚含量结果见表 3。

表 3 HPLC 方法测定半夏厚朴汤各配伍样品中和厚朴酚与厚朴酚含量 ($n = 3$)

组别	配伍	含量 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	
		和厚朴酚	厚朴酚
半夏厚朴汤	君臣佐使	6.59	6.99
半夏+厚朴	君臣	7.20	6.82
半夏+厚朴+茯苓	君臣+佐1	8.14	7.52
半夏+厚朴+生姜	君臣+佐2	6.42	5.87
半夏+厚朴+紫苏叶	君臣+使	7.18	6.85
半夏+厚朴+生姜+紫苏叶	全方缺佐1	4.02	3.94
半夏+厚朴+茯苓+紫苏叶	全方缺佐2	4.04	3.71
半夏+厚朴+茯苓+生姜	全方缺使	4.28	4.62

3 讨论和结论

本文采用 HPLC 法有效地分离了半夏厚朴汤中和厚朴酚与厚朴酚两个成分, 且该方中其它成分对其测定无明显干扰。该法简便、准确、灵敏, 可作为研究半夏厚朴汤及其配伍对和厚朴酚与厚朴酚含量变化的方法。

在以半夏厚朴汤抗抑郁有效成分和厚朴酚与厚朴酚含量为指标进行相关配伍分析, 发现半夏与厚朴君臣配伍中和厚朴酚与厚朴酚含量与半夏厚朴汤全方相近, 表明君臣配伍在一定程度上代表了全方。佐以茯苓后提高了君臣配伍中和厚朴酚与厚朴酚含量, 佐以生姜则降低君臣配伍中和厚朴酚与厚朴酚含量。使以紫苏叶未显著影响君臣配伍中和厚朴酚与厚朴酚含量。而在半夏厚朴汤全方中即君臣佐使配伍中缺少佐、使药之一时, 其和厚朴酚与厚朴酚含量却明显降低, 尤其表现在缺失佐药上, 提示缺失佐、使药的配伍可能不利于半夏厚朴汤中有效成分的煎出, 君臣佐使完整配伍在复方药效发挥上将起到关键作用。结果在一定程度上表明半夏厚朴汤君臣佐使配伍与抗抑郁有效成分变化存在一定的内在关系, 初步证实了半夏厚朴汤配伍严谨、组方精良。

[参考文献]

[1] Li J M, Kong L D, Wang Y M, et al. Behavioral and biochemical studies on chronic mild stress models in rats treated with a Chinese traditional prescription Banxiahoupu decoction[J]. Life Sci, 2003, 74(1): 55.