

• 质量标准 •

黄芪、白术、防风单煎、合煎对玉屏风煎剂 HPLC 指纹图谱的影响

尹雪¹, 黄月纯^{2*}, 魏刚¹

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

[摘要] 目的: 研究不同配伍对玉屏风煎剂中主要特征指纹峰的影响。方法: 采用 HPLC 法分析单煎及不同配伍煎剂样品, 色谱柱为 Hypersil ODS; 流动相为乙腈-水(梯度洗脱); 检测波长为 220 nm; 流速为 1 mL·min⁻¹; 柱温为 30 °C。结果: 全方煎剂的特征指纹峰基本为各药味特征峰的加和, 未产生明显的新特征峰, 不同配伍对玉屏风煎剂中主要特征峰的峰面积有不同影响, 但总体影响不大。玉屏风汤剂中共标示出 11 个共有峰, 分别以黄芪、防风药材单煎为基准, 计算配伍后的均值相似度, 结果表明不同配伍玉屏风汤剂与黄芪单煎的主要特征成分的相似度在 0.97 以上; 与防风单煎的主要特征成分相似度在 0.98 以上, 说明配伍对黄芪、防风特征峰的影响不明显。结论: 本研究为玉屏风煎剂配伍规律及物质基础研究提供了一定参考。

[关键词] 玉屏风煎剂; 黄芪; 防风; 白术; 指纹图谱; 高效液相

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)03-0001-03

Research on the Influence of Various Compatibility on Fingerprint of Yupingfeng Decoction by HPLC

YIN Xue¹, HUANG Yue-chun^{2*}, WEI Gang¹

(1. Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of various compatibilities on fingerprint in the decoctions. **Methods:** HPLC with Hypersil ODS was used, acetonitrile-water (gradient elution) as a mobile phase and detection wavelength at 220 nm, flow rate was 1 mL·min⁻¹, and column temperature was 30 °C. **Results:** The characteristic peaks were the summation. Various influence on characteristic peaks were found in various compatibilities of the decoctions, but there was no new characteristic peaks. 11 common peaks were separated in Yupingfeng Decoction. There was not obviously influence about correlation of various compatibilities. **Conclusion:** The study provides a reference for the rules of the compatibility and material base of Yupingfeng Decoction.

[Key words] yupingfeng decoction; compatibility; radix astragali; radix saposhnikoviae; Rhizoma atractylodis macrocephalae fingerprint; HPLC

玉屏风源于元代《丹溪心法》, 由黄芪、白术(炒)、防风三味药组成。功能益气固表, 止汗, 用于

表虚不固, 自汗恶风, 面色㿠白, 或体虚易感风邪者。黄芪主要含异黄酮、皂苷、氨基酸及多糖类等有效成分, 防风主要含色原酮、挥发油、氨基酸及多糖类等有效成分, 白术主要含内酯类、挥发油及多糖类等有效成分。目前对黄芪、防风、白术的质量分析已有相关文献报导^[1-2]。本研究已建立了玉屏风煎剂的 HPLC 指纹图谱分析方法^[3], 因此, 本文拟进一步研

[收稿日期] 2008-07-16

[基金项目] 广东省科技计划项目(2007B060401010)

[通讯作者] * 黄月纯, Tel: (020) 36591724; E-mail: huangyuechun@163.com

究不同配伍对玉屏风煎剂中主要特征峰的影响, 并对各药味配伍之间的相互作用进行分析, 为玉屏风煎剂配伍规律及物质基础研究提供一定参考。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(HP-1100, 安捷伦), 二极管阵列检测器(DAD, 安捷伦); 毛蕊异黄酮苷对照品、毛蕊异黄酮对照品购自上海中药标准化研究中心; 升麻素苷对照品(批号: 11152-200405)、亥茅酚苷对照品(批号: 111714-200501)、升麻素对照品(批号: 111710-200501)、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品(批号: 111523-200405), 购自中国药品生物制品检定所; 黄芪、防风、炒白术饮片, 分别购于广州市药材公司、广东康美药业公司和广东杏林药业公司, 经广州中医药大学第一附属医院黄月纯副主任中药师鉴定, 黄芪为豆科蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的根, 防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk 的根, 白术为伞形科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的根的麸炒品; 乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3] 采用 Hypersil ODS 柱(250 mm × 4.0 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水梯度洗脱(见表 1); 流速 1 mL·min⁻¹; 柱温为 30 °C; 检测波长为 220 nm。

表 1 乙腈-水梯度洗脱表

时间/min	乙腈/%	水/%
0	5	95
3	5	95
10	15	85
30	40	60
45	80	20
50	83	17

2.2 对照品溶液的制备 分别取毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、升麻素苷、升麻素、5-O-甲基维斯阿米醇苷、亥茅酚苷对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解分别配制成每 1 mL 含 0.1 mg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备^[3] 按中国药典的处方配比, 取药材饮片黄芪 45 g、炒白术 15 g、防风 15 g, 加水 500 mL, 浸泡 30 min, 加热煮沸后文火慢煎 40 min, 取出, 趁热用 4 层纱布滤过, 药渣再加水 300 mL 加热煮沸后文火慢煎 30 min, 取出, 趁热滤过, 合并 2 次煎液, 放冷, 置 500 mL 量瓶中, 加水至刻度, 得全

方煎剂。精密吸取煎剂 25 mL, 浓缩至约 10 mL, 上 D₁₀₁ 大孔树脂柱(内径 1.8 cm × 12 cm), 先用水 150 mL 洗脱, 弃去水洗脱液, 再用 95% 乙醇 150 mL 洗脱, 收集 95% 乙醇洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容至 5 mL。分别取单味、不同配伍药材饮片, 同法制得各配伍煎剂供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密密度试验 分别吸取同一全方煎剂供试品溶液各 5 μL, 按拟定的方法连续进样 5 次, 结果 11 个共有峰的相对保留时间与单峰面积大于 5% 的共有峰的相对峰面积的 RSD 值均小于 3.0%。

2.4.2 稳定性试验 取同一供试品溶液 5 μL, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样 6 次。结果 11 个共有峰的相对保留时间与单峰面积大于 5% 的共有峰的相对峰面积的 RSD 值均小于 3.0%, 提示 24 h 内供试品溶液稳定性较好。

2.4.3 重复性试验 取同一批黄芪、防风、白术饮片各 5 份, 按全方煎剂的制备及供试品溶液的制备, 各取供试品溶液 5 μL, 依法进样分析, 结果 11 个共有峰的相对保留时间与单峰面积大于 5% 的共有峰的相对峰面积的 RSD 值均小于 3.0%。

2.5 样品的测定 精密吸取各供试品溶液 5 μL, 按拟定的方法进样分析。不同配伍玉屏风煎剂的 HPLC 指纹图谱见图 1。

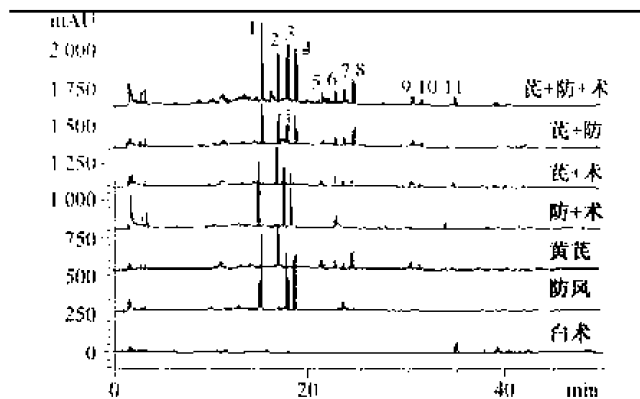


图 1 不同配伍玉屏风煎剂的 HPLC 指纹图谱

2.6 指纹图谱分析

2.6.1 按拟订的方法分析玉屏风不同配伍煎剂供试品溶液, 玉屏风全方煎剂中标定了 11 个特征指纹峰, 其中峰 2、峰 5、峰 6、峰 8、峰 9、峰 10 为黄芪特征峰, 峰 1、峰 3、峰 4、峰 7 为防风特征峰, 峰 11 为白术特征峰。经对照品定位及紫外光谱对照, 鉴定了其中 6 个特征峰, 峰 1 为升麻素苷、峰 2 为毛蕊异黄酮苷、峰 3 为升麻素、峰 4 为 5-O-甲基维斯阿米醇苷、

峰 7 为 亥 茅 酚 苷, 峰 8 为 毛 蕊 异 黄 酮。

2.6.2 分别以单味黄芪各特征峰的峰面积、单味防风各特征峰的峰面积为基准, 计算不同配伍对黄芪、防风的峰面积变化率, 结果见表 2。变化率 < 5% 属于误差范围, 认为配伍对该峰没有影响; 5% < 变化率 < 10%, 认为配伍对该峰有轻微影响; 变化率 > 10%, 认为配伍对该峰有显著影响。

配伍对黄芪特征指纹峰的影响结果表明, 黄芪配伍防风与白术后, 6 个特征峰中峰 2、峰 10 的峰面积降低, 其中峰 2 变化率大于 10%, 峰 5、峰 6、峰 9 的峰面积均升高, 且变化率大于 10%, 差异显著, 峰 8 的变化率在 5% ~ 10% 之间, 认为有轻微影响; 黄芪配伍防风后, 峰 2 的峰面积降低, 变化率小于 10%, 有轻微影响, 其余 5 个峰的峰面积均升高, 其中峰 8、峰 9 的峰面积变化率大于 10%; 黄芪配伍白术后, 峰 2、峰 10 的峰面积降低, 变化率小于 10%, 差异不显著, 峰 5、峰 6、峰 8、峰 9 的峰面积有所升高, 除峰 6 变化率大于 10% 外, 其余变化均不显著。

配伍对防风特征指纹峰的影响结果表明, 防风配伍黄芪与白术后, 防风的 4 个特征指纹峰的峰面积均有不同程度的降低, 其中峰 1、峰 3 的变化率大于 10%, 差异显著, 峰 4 的变化率在 5% ~ 10% 之间, 认为有轻微影响; 防风配伍黄芪后, 4 个特征峰峰面积均降低, 峰 1、峰 4 变化率在 10% ~ 15% 之间, 差异显著, 峰 2、峰 3 变化率在 10% 以内, 差异不显著; 防风配伍白术后, 峰 1 的峰面积降低在 10% 左右, 其余 3 个特征峰的峰面积的变化率在 5% 以内, 差异性不显著。

表 2 玉屏风煎剂配伍共有峰峰面积及变化率 (%)

峰号	峰面积/变化率					
	芪	芪+ 术	芪+ 防	芪+ 术+ 防	防术	防
1	—	—	3 011/- 12.90	3 096/- 10.44	3 103/- 10.24	3 457/0
2	2 350/0	2 214/- 5.79	2 198/- 6.47	2 098/- 10.72	—	—
3	—	—	2 811/- 3.83	2 622/- 10.30	2 997/2.53	2 923/0
4	—	—	2 231/- 13.06	2 376/- 7.40	2 629/2.46	2 566/0
5	343/0	354/3.21	362/5.54	386/12.54	—	—
6	464/0	554/19.40	489/5.39	521/12.28	—	—
7	—	—	769/- 5.88	800/- 2.08	793/- 2.94	817/0
8	1 067/0	1 076/0.84	1 375/28.87	1 163/9.00	—	—
9	549/0	576/4.92	815/48.45	706/28.60	—	—
10	291/0	289/- 0.69	306/5.15	281/- 3.44	—	—

2.6.3 相似度计算 分别以黄芪、防风药材单煎为基准, 采用国家药典委员会中药指纹图谱相似度软件 2004A 版计算配伍后的均值相似度, 结果见表 3。结果表明不同配伍玉屏风煎剂与黄芪单煎的主要特

征成分具有较高的相似度(0.97 以上), 说明配伍对黄芪特征峰的影响不大; 不同配伍玉屏风煎剂与防风单煎的主要特征成分亦具有较高相似度(0.98 以上), 说明配伍对防风特征峰的影响亦不明显。

表 3 不同配伍玉屏风汤剂与黄芪单煎的相似度结果

配伍	相似度(以黄芪单煎为对照)	配伍	相似度(以防风单煎为对照)
芪	1	防	1
芪+ 防	0.976	芪+ 防	0.992
芪+ 术	0.999	芪+ 术	0.985
芪+ 防+ 术	0.992	芪+ 防+ 术	1

3 讨论

经主要特征峰的紫外光谱分析、对照品定位以及参考文献资料^[1-3], 不同配伍含黄芪的煎剂基本能提取出黄芪的 6 个主要异黄酮类成分, 不同配伍含防风的煎剂基本能提取出防风所含的 4 个主要色原酮成分, 亦提示含黄芪或防风的中药复方煎剂, 基本能保留黄芪或防风单煎所能提取的主要特征成分。因此, 本研究不仅为玉屏风煎剂的配伍规律提供了一定依据, 同时为含黄芪或防风的中药复方煎剂的研究亦提供了一定参考。

不同配伍玉屏风煎剂指纹图谱的分析表明, 配伍未丢失原来的主要特征峰, 亦未产生明显的新特征峰, 全方煎剂的特征峰基本为各单味药煎剂特征峰的加和。配伍对玉屏风煎剂中主要特征峰的峰面积有不同影响, 但总体影响不大。以黄芪单煎为对照, 配伍对黄芪的 6 个特征峰峰面积的影响呈升高或降低的趋势, 其中配伍对峰 2 的降低有轻微影响或显著影响; 对峰 5、6、8、9 的升高有轻微影响或显著影响; 对峰 10 无影响或轻微影响。以防风单煎为对照, 不同配伍对防风的 4 个特征峰峰面积主要呈降低趋势, 配伍对峰 1 的降低有显著影响, 对峰 3、峰 4 的降低有轻微影响或显著影响, 对峰 7 的降低无影响或轻微影响。白术特征成分的提取率则非常低, 不同配伍煎剂均只有 1 个白术特征峰, 因此配伍对白术指纹图谱的影响未作进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 胡芳弟, 赵建雄, 封士兰, 等. 黄芪的高效液相指纹图谱及主成分含量测定[J]. 中药材, 2004, 27(11): 831-834.
- [2] 李 丽, 肖永庆, 刘元艳. 防风饮片的 HPLC 指纹图谱[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(15): 1284-1285.
- [3] 黄月纯, 尹 雪, 魏 刚. 玉屏风方饮片与汤剂 HPLC 指纹图谱的相关性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(4): 315-320.