

# 配伍对黄芩汤中甘草酸溶出率的影响

陈建真\*, 吕圭源, 罗小敏, 叶 磊  
(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

[摘要] 目的: 建立黄芩汤各配伍煎液中甘草酸的 HPLC 含量测定方法, 研究配伍对甘草酸含量的影响。方法: 采用  $L_8(2^7)$  正交设计法, 以 HPLC 法测定各配伍样品中甘草酸含量。结果: 黄芩、白芍和大枣对甘草酸的含量影响差异不显著, 两两交互作用不显著。结论: 黄芩、白芍、大枣对甘草酸含量无显著影响。

[关键词] 黄芩汤; 配伍; 甘草酸; 高效液相色谱

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0035-03

## Influence of Compatibility on Glycyrrhetic acid in Huangqin Decoction

CHEN Jian-zhen\*, LV Gui-yuan, LUO Xiao-min, YE Lei  
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a quantitative method for determination of glycyrrhetic acid in decoctions prepared from various combinations of the recipe named Huangqin Decoction and to investigate the content changes of glycyrrhetic acid in different decoctions. **Methods:** Eight decoctions of Radix Et Rhizome Glycyrrhizae either alone or in combination with one or more of the other three components were prepared. The contents of glycyrrhetic acid in the eight

[收稿日期] 2007-09-17

[基金项目] 浙江省教育厅课题(20030953)

[通讯作者] \* 陈建真, Tel: (0571) 86613657; E-mail: chjz102@yahoo.com.cn

decoctions were determined by RP-HPLC. **Results:** For Radix Scutellariae, Radix Paeoniae Alba and Fructus Jujubae, The difference of glycyrrhetic acid contents is insignificant statistically in 8 decoctions. **Conclusion:** Effect of other 3 herbal components on the contents of glycyrrhetic acid is not obvious.

[ **Key words** ] Huangqin Decoction; compatibility; glycyrrhetic acid; HPLC

黄芩汤由黄芩、芍药、甘草、大枣组成,具有清热止痢、和中止痛的功效。方中甘草其主要有效成分甘草酸具有镇痛、解痉、抗炎及免疫调节等作用<sup>[1,2]</sup>,为方中主要有效成分之一。本实验采用正交试验法研究复方不同配伍对甘草酸含量的影响,以从化学角度探讨黄芩汤配伍组方机制。

### 1 仪器和试剂

美国 Waters 高效液相色谱仪, METTLER TOLEDO AG 135 电子天平(瑞士)。甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。甘草酸单铵盐对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所,批号 110731-200423)。药材购自浙江中医药大学中药饮片厂,经浙江中医药大学黄真教授鉴定黄芩为唇形科植物黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的干燥根,白芍为毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根,甘草为豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)的干燥根及根茎,大枣为鼠李科植物枣(*Ziziphus jujuba* Mill.)的干燥成熟果实。

### 2 方法和结果

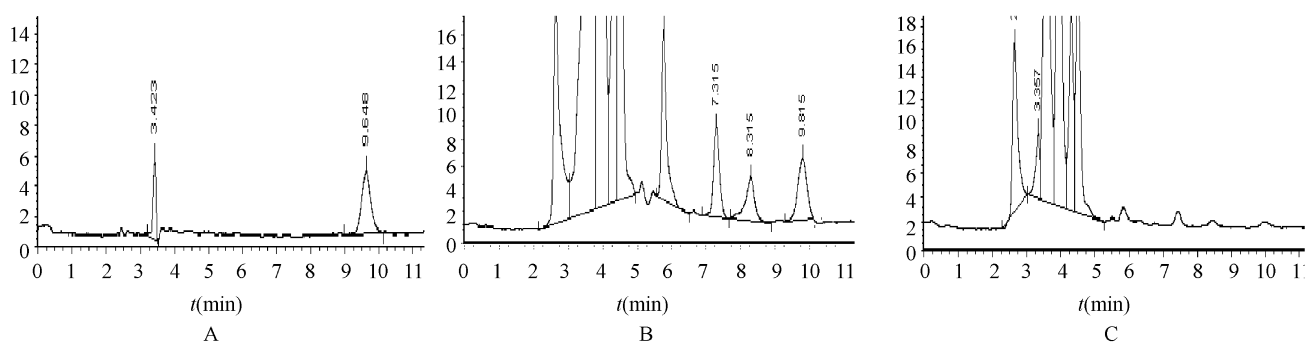


图 1 甘草酸色谱图

A. 甘草酸 B. 样品 C. 阴性样品

**2.1.4 线性关系考察** 精密吸取  $0.104 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液 40, 50, 100, 125, 200, 500  $\mu\text{L}$  置于 1 mL 容量瓶中加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 5  $\mu\text{L}$  注入色谱仪,测定峰面积,以甘草酸浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得回归方程为  $Y = 2.83 \times 10^3 X - 6.89 \times 10^2$ ,  $r = 0.9997$ ,甘草酸在(4.16~ 52.00)  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间呈良好的线性关系。

#### 2.1 黄芩汤中甘草酸含量测定<sup>[3]</sup>

**2.1.1 色谱条件** 色谱柱: Hypersil BDS  $\text{C}_{18}$ (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 甲醇-水-磷酸盐缓冲溶液(70: 29: 1); 检测波长: 250 nm; 柱温: 25  $^{\circ}\text{C}$ ; 流速: 1  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 进样量: 5  $\mu\text{L}$ 。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取在 60  $^{\circ}\text{C}$  减压干燥 4 h 的甘草酸单铵盐对照品 2.61 mg, 置 25 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,制成每 mL 含 0.104 mg 的对照品溶液。

**2.1.3 供试品溶液及阴性对照溶液的制备** 按处方配比称取黄芩汤各味药饮片(黄芩 6 g, 白芍、甘草、大枣各 4 g)及缺甘草阴性方,分别加全方生药量的 12 倍水,煮沸煎煮 3 次,每次 1 h,过滤,合并滤液,浓缩至 100 mL,离心,备用。精密吸取上述样品液 0.5 mL 置 10 mL 容量瓶,加甲醇定容至刻度,离心(4 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 5 min,上清液经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,配制成供试品溶液。依法进样测定,对照品、供试品、阴性对照色谱图见图 1。

**2.1.5 精密度试验** 吸取同一供试品溶液,重复测定 6 次,每次 5  $\mu\text{L}$ ,甘草酸峰面积积分值 RSD 为 1.29% ( $n = 6$ ),表明精密度良好。

**2.1.6 重复性试验** 取黄芩汤处方药材,按供试品溶液制备方法处理,制成 6 份供试品溶液,按上述色谱条件进样测定,结果平均含量为  $0.629 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , RSD 为 2.99% ( $n = 6$ )。

**2.1.7 稳定性试验** 吸取同一供试品溶液,于 0, 2,

4, 8, 12, 24 h 进样测定, 每次 5  $\mu$ L, 甘草酸峰面积 RSD 为 1.65%, 表明 24 h 内甘草酸稳定性良好。

**2.1.8 加样回收率试验** 吸取已知含量的同批样品液 0.2 mL, 共 6 份, 分别准确加入甘草酸对照品 0.115 mg, 制成供试品溶液, 进样测定, 测得平均回收率为 98.98%, RSD 为 2.68% ( $n=6$ )。

**2.2 不同配伍条件对甘草酸含量的影响**

**2.2.1 正交设计<sup>[4]</sup>** 以黄芩(A)、白芍(B)和大枣(C)作为 3 个因素, 选用药和不用药为两个水平, 并考虑两两交互作用, 因素水平见表 1。

表 1 因素水平表

水平	因素		
	A 黄芩	B 白芍	C 大枣
1	用药	用药	用药
2	不用药	不用药	不用药

**2.2.2 试验安排** 采用  $L_8(2^7)$  正交试验表(见表 2), 根据表 2 的安排, 按照 2.1.3 项下方法操作, 制备各配伍供试品溶液, 照 2.1.1 色谱条件进样测定, 计算各样品液中甘草酸含量, 结果见表 2。

表 2  $L_8(2^7)$  正交设计及结果

试验号	1	2	3	4	5	6	7	甘草酸含量 (mg)
	A	B	A×B	C	A×C	B×C	空白	
1	1	1	1	1	1	1	1	63.07
2	1	1	1	2	2	2	2	35.36
3	1	2	2	1	1	2	2	59.50
4	1	2	2	2	2	1	1	49.20
5	2	1	2	1	2	1	2	49.70
6	2	1	2	2	1	2	1	46.32
7	2	2	1	1	2	2	1	66.30
8	2	2	1	2	1	1	2	67.09
均值 1	51.78	48.61	57.96	59.64	59.00	57.27	56.22	
均值 2	57.35	60.52	51.18	49.49	50.14	51.87	52.91	
极差	5.57	11.91	6.78	10.15	8.86	5.40	3.31	

**2.2.3 结果分析** 对测定结果进行直观分析, 见表

2, 以空白列作为误差项进行方差分析, 结果各因素均无显著性影响, 由于 A 和 B×C 列的偏差平方和较小, 因此将该两列和空白列合并为一项做误差的估计值, 再进行方差分析, 见表 3。从表 2、表 3 可知, 黄芩、白芍和大枣 3 因素对甘草酸含量的影响程度大小为: 白芍> 大枣> 黄芩, 黄芩、白芍在用药水平时, 甘草酸含量低于不用药水平; 大枣在用药水平时, 甘草酸含量高于不用药水平, 但均无显著性差异, 两两交互作用也无显著影响。

表 3 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F 值	$F_{0.05}$	显著性
A	62.05	1	1.31	10.10	
B	283.70	1	5.99	10.10	
A×B	91.80	1	1.94	10.10	
C	206.05	1	4.35	10.10	
A×C	156.82	1	3.31	10.10	
B×C	58.21	1	1.23	10.10	
空白	21.91	1	0.46	10.10	
误差	142.17	3			

**3 讨论**

中医理论认为芍药苦酸微寒, 柔肝缓急; 甘草甘缓和中, 芍药相伍, 酸甘化阴, 滋阴养血, 有加强缓解挛急之功, 并有止痛作用。黄芩汤能产生非常明显的镇痛作用, 主要是芍药配伍甘草的作用。

由于甘草酸和芍药苷均有镇痛作用, 提示黄芩汤配伍后镇痛作用增强不一定和甘草酸含量成比例, 可能和这两种成分的药效协同作用有关, 因此如能结合不同配伍组合在药效学方面的研究, 将有助于更全面地阐述复方配伍的作用机制。

**[参考文献]**

[1] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994. 670.  
 [2] 李 麟, 金亦涛, 邱蓉丽. 甘草酸类药物的研究进展及应用[J]. 抗感染药学, 2004, 1(3): 103-106.  
 [3] 扈本荃, 程建峰, 刘 梅, 等. 反相高效液相色谱法测定甘草酸脂质体中甘草酸的含量[J]. 中国药房, 2006, 17(9): 692-693.  
 [4] 吴昭晖, 奚林明, 戴开金, 等. 配伍对葛根芩连汤中小檗碱含量的影响[J]. 中草药, 2004, 35(1): 33-35.