

人参、葛根药对配伍前后化学成分变化研究*

李孟璇¹, 孙林¹, 孟兆青^{1,2}, 丁岗¹, 王振中¹, 萧伟^{1**}

(1. 江苏康缘药业股份有限公司 连云港 222001; 2. 中国药科大学中药学院 南京 210009)

摘要:目的:以人参、葛根药对为研究对象,分析人参、葛根单煎液与合煎液的化学成分变化。方法:Hypersil ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相为乙腈-水,梯度洗脱;检测波长为 203 nm;柱温为 25℃;流速为 1 mL·min⁻¹。结果:对人参、葛根合煎液 HPLC 指纹图谱中主要峰进行了归属,经对比,人参、葛根单煎液与合煎液未见明显差异。结论:人参与葛根配伍后对化学成分含量无明显影响,其配伍原理可能与配伍前后有效成分吸收、代谢以及药效变化有关。

关键词:人参 葛根 药对 化学成分 高效液相色谱法

doi: 10.11842/wst.2014.10.028 中图分类号:R284.2 文献标识码:A

药对是复杂方剂的基础单位,研究药对物质基础有助于剖析中药配伍理论及其药理作用机制^[1],而中药共煎煮后的化学成分并非各单味药物化学成分的简单相加,其不同之处必然与药对疗效不同于单味药的事实有着本质联系^[2-5],运用现代科技手段从药效物质基础、代谢过程、作用机制、临床配伍应用等方面对药对的配伍展开系统深入的研究,对寻找药对组成规律具有重要意义,且对复方配伍规律的研究具有重要示范价值^[6]。

中药人参与葛根药对,主治气虚不升症候,早在《神农本草经》中已有对二者应用的记载,临床上二者常配伍应用^[7]。目前,围绕人参、葛根单味药材的物质基础及药理活性研究较多^[8,9],但对其配伍前后化学成分变化的研究很少,因此本研究以人参、葛根药对为对象,对人参、葛根药对合煎液的主要色谱峰进行了归属,并比较人参、葛根合煎液与单煎液化学成分及含量的差异,以期从化学成分的角度初步揭示人参、葛根药对配伍的科学内涵。

1 仪器和材料

1.1 仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,配备二元梯度泵,自动进样器、柱温箱和 VWD 检测器(Agilent 科技有限公司);AL204 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);Hypersil ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱;Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

1.2 试剂

甲醇(分析纯,南京化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯,美国 TEDIA 公司);超纯水由 Milli-Q 超纯水系统制得。

1.3 药品

人参、葛根药材由康缘大药房提供,经江苏康缘药业股份有限公司王振中研究员鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* C.A. Mey 的干燥根和豆科多年生落叶藤本植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi Benth. 的干燥根;人参皂苷 Rc、人参皂苷 Rd 对照品购自成都菲普德科技有限公司;葛根素、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₂、人参皂苷 Rg₁、人

收稿日期:2013-12-19

修回日期:2014-10-18

* 科学技术部国家重大新药创制专项(2013ZX09402203):现代中药创新集群与数字制药技术平台,负责人:王振中。

** 通讯作者:萧伟,本刊编委,研究员,高级工程师,博士生导师,主要研究方向:中药新药的研究与开发。

参皂苷 Rf (鉴别用)、人参皂苷 Rb₂ 对照品购自中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)—水(B), 梯度洗脱: 0—35 min, 乙腈 5%—35%; 35—40 min, 乙腈 35%; 40—80 min, 乙腈 35%—95%; 检测波长: 203 nm; 柱温: 25 °C; 流速: 1 mL·min⁻¹, 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定经干燥过的葛根素与人参皂苷 Rd、Rc、Rb₁、Rb₂、Re、Rg₁、Rf 对照品各 10.0 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 制成混合对照品储备液, -4 °C 冰箱放置, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

人参、葛根按 1:2 (人参取 50 g, 葛根取 100 g) 混和后, 用 10 倍量水浸泡 60 min 后, 煎煮 2 次, 每次 1 h; 合并两次煎煮液, 过滤, 加水补足至 20 倍量, 即得人参、葛根合煎液; 制备人参、葛根单煎液, 方法同上; 将两种单煎液按 1:2 混合, 即为人参葛根合并液。精密量取合煎液、合并液与单煎液各 100 mL, 水浴 60 °C 挥干后, 加入适量 50% 甲醇溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加入甲醇至刻度, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验

取人参、葛根合煎液, 连续进样 5 次, 记录色谱峰, 选择有效成分峰进行比较, 结果各色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 各色谱峰相对峰面积的 RSD 均小于 2.0%, 表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验

取同一批人参、葛根药材按“2.3”项下方法平行操作, 制备 5 份人参、葛根合煎供试品溶液, 记录色谱峰, 结果各色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 各色谱峰相对峰面积 RSD 均小于 3.0%, 表明该方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验

取同批人参、葛根合并液, 分别于 0、4、8、12、24 h 进样测定, 对各色谱峰进行比较, 结果

各色谱峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%, 各色谱峰的相对峰面积 RSD 均小于 3.0%, 且色谱峰数目无变化, 表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.5 主要化学成分色谱峰归属

通过对比对照品、人参单煎液、葛根单煎液中各色谱峰保留时间, 对人参、葛根合煎液中 13 个色谱峰进行来源归属 (见表 1 和图 1)。

2.6 人参、葛根药对合并液与合煎液对比

将人参、葛根合煎液与合并液的图谱进行比较, 发现两者无明显差异 (见表 2 和图 2)。

3 结论与讨论

本实验采用高效液相色谱法比较了人参与葛根

表 1 人参、葛根合煎液色谱峰归属

色谱峰编号	保留时间/min	来源与成分	化合物名称
1	10.533	人参	未知
2	13.025	人参、葛根共有	未知
3	18.223	葛根	葛根素
4	18.892	葛根	未知
5	22.136	葛根	未知
6	25.849	人参	未知
7	27.672	人参	未知
8	29.209	人参	未知
9	29.628	人参	人参皂苷 Rg ₁
10	38.013	人参	人参皂苷 Re
11	40.080	人参	人参皂苷 Rf
12	41.411	人参	人参皂苷 Rb ₁
13	43.349	人参	人参皂苷 Rc

表 2 人参、葛根合并液与合煎液峰面积

色谱峰编号	保留时间/min	合并液峰面积	合煎液峰面积
1	10.533	523.6	536.0
2	13.025	173.1	171.1
3	18.223	1 099.8	1 109.8
4	18.892	189.8	191.8
5	22.136	104.6	101.6
6	25.849	28.1	27.1
7	27.672	132.9	132.3
8	29.209	136.3	138.3
9	29.628	359.9	363.2
10	38.013	53.1	51.1
11	40.080	191.5	190.5
12	41.411	91.4	89.4
13	43.349	65.8	67.8

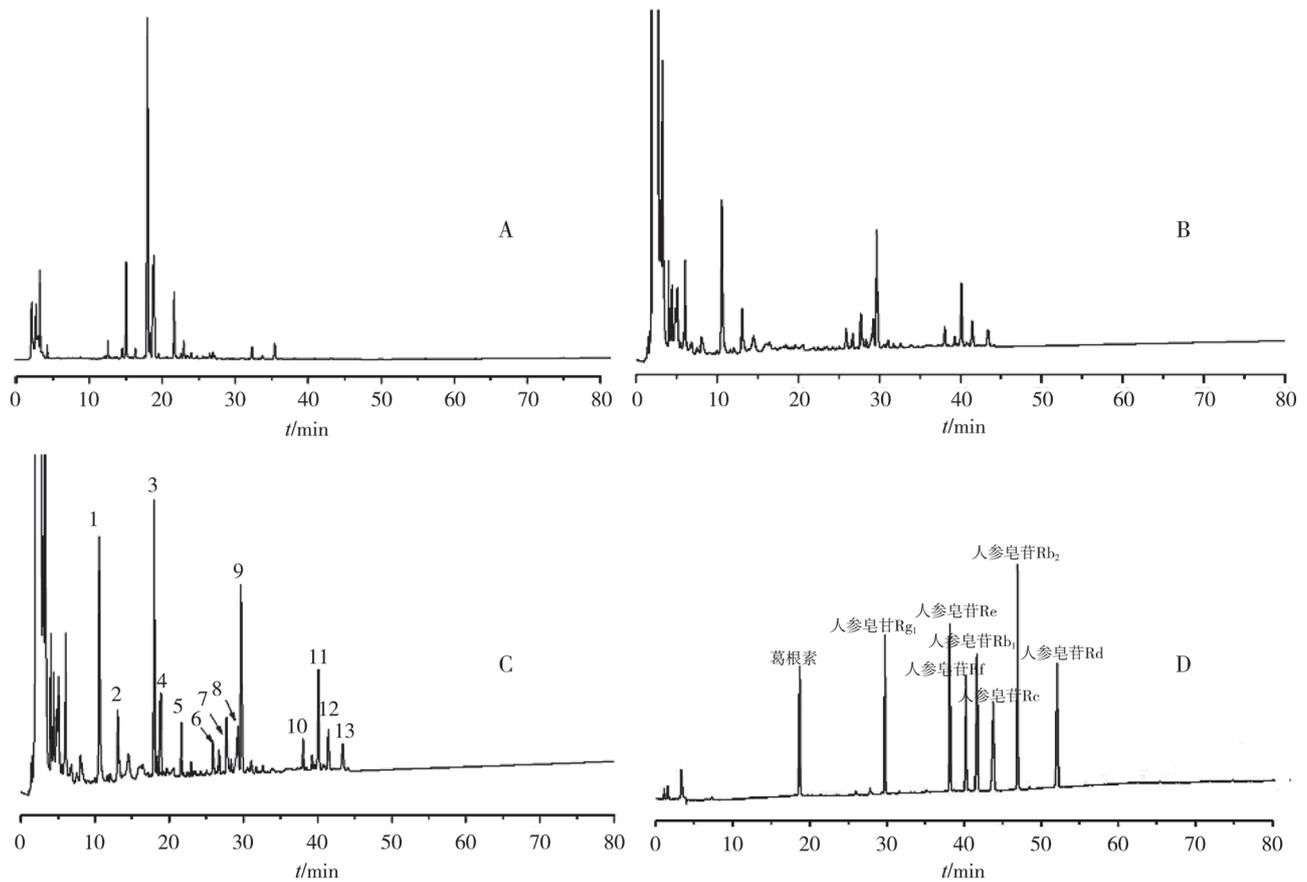


图1 供试品与标准品液相色谱图

注:A.葛根单煎液,B.人参单煎液,C.人参、葛根合煎液,D.混合标准品。

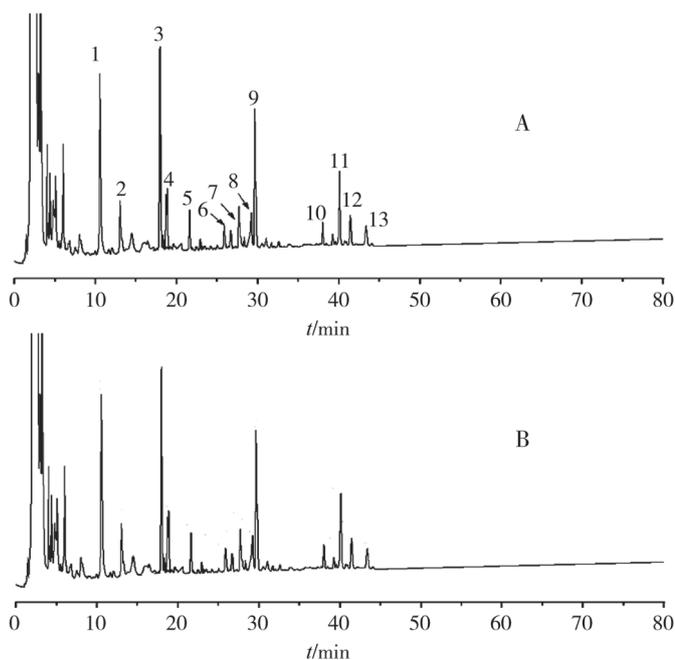


图2 人参、葛根合并液与合煎液色谱图

注:A.人参、葛根合煎液,B.人参、葛根合并液。

药对配伍前后7种人参皂苷成分与葛根素的含量的变化,发现配伍前后,人参、葛根主要化学成分含量未见明显变化,且合并液与合煎液比较后成分及含量也无明显变化。通过对比合煎液与单煎液 HPLC 色谱图,合煎未见新色谱峰出现,提示合煎可能无新的化学成分产生,该药对配伍并不能增加相关化学成分的提取率,其配伍可能需要从配伍前后主要成分的油水分配系数、吸收及代谢等方面进行阐述。

在本研究的基础上,后续可进一步研究药对不同比例配伍对化学成分的影响,从而全面反映其变化规律,还可从吸收、分布、代谢、药效等角度对人参、葛根药对配伍前后的化学成分及活性变化进行研究,从而揭示其配伍的科学内涵。

参考文献

- 1 王曼华,孙化萍,梁建卫.经方“药对”配伍理论研究概况.辽宁中医药大学学报,2008,10(1):59-61.

- 2 吴笛,刘法锦,廖彩震.中药配伍对化学成分的影响.中成药,2003,25(1):152-154.
- 3 张志伟.汤剂合煎与分煎混合所得成分之初探.中成药研究,1986,(4):41-43.
- 4 梁国刚.中药复方化学研究方法的探讨.中国中药杂志,1999,24(2):67-69.
- 5 原思通,杜海燕,夏冲.中药复方汤剂分煎合煎对溶出效果的影响.中国中医药信息杂志,1999,6(7):29-32.
- 6 孙洋,陈婷,徐强.从药对的角度考察复方配伍规律.世界科学技术-中医药现代化,2004,6(1):17-20.
- 7 张胜,秦竹,熊洪艳,等.葛根与人参配伍探析.光明中医,2009,24(3):429-431.
- 8 陈荔焜,陈树和,刘焱文.葛根资源、化学成分和药理作用研究概况.时珍国医国药,2006,17(11):2305-2306.
- 9 窦德强,靳玲,陈英杰.人参的化学成分及药理活性的研究进展与展望.沈阳药科大学学报,1999,16(2):151-156.

Studies on Content Changes of Ginseng and Radix Puerariae before and after Compatibility

Li Mengxuan¹, Sun Lin¹, Meng Zhaoqing^{1,2}, Ding Gang¹, Wang Zhenzhong¹, Xiao Wei¹

(1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China;

2. School of Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: This study was aimed to analyze differences of chemical compounds of Ginseng and Radix Puerariae before and after compatibility using HPLC. Hypersil ODS column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was adopted. The mobile phase was acetonitrile-water for gradient elution. The detection wavelength was set at 203 nm. The column temperature was 25 °C. The flow rate was 1 mL/min. The results showed that through the study of all main peaks in the finger print spectra, there was no obvious influence on extract before and after compatibility of Ginseng and Radix Puerariae. It was concluded that there were no obvious chemical changes of Ginseng and Radix Puerariae before and after compatibility. The synergistic mechanism of compatibility might mainly come from the interaction between the pharmacological actions and the absorption or the metabolism of effective constituents of the medicinal plants.

Keywords: Ginseng, Radix Puerariae, herb pair, chemical component, HPLC

(责任编辑:郭文雅,责任译审:王 晶)