

煎煮方法对参芪养血方制剂质量的影响

吴剑坤¹, 韩旭阳², 陈占功¹, 许照¹, 彭冰², 王宏², 曾祖平^{2*}

(1. 首都医科大学附属北京中医医院, 北京 100010; 2. 北京市中医研究所, 北京 100010)

[摘要] 目的:研究不同煎煮方法对参芪养血方制剂质量的影响,为补益类方药的制备方法选择提供依据。方法:以出膏率、正丁醇提取物和黄芪甲苷含量为评价指标。采用超高效液相色谱-四级杆串联飞行时间质谱联用法测定黄芪甲苷含量,采用 ACQUITY™ C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm),流动相乙腈-0.1% 甲酸水,梯度洗脱,流速 0.45 mL·min⁻¹,柱温 40 °C,质谱条件采用电喷雾离子化方式,在负离子模式下对黄芪甲苷进行含量测定, [M + COOH]⁻, m/z 829.45。结果:黄芪甲苷进样量在 0.098 ~ 9.8 ng 线性关系良好 (r = 0.999 0),平均加样回收率 100.32%;参芪养血方 3 种制剂黄芪甲苷含量 0.193 ~ 1.976 mg/剂,固含量 31.297 ~ 103.077 g/剂,正丁醇提取物 6.11 ~ 14.55 g/剂。结论:参芪养血方 3 种制剂的出膏率、正丁醇提取物含量和黄芪甲苷含量存在较大差异,制备工艺对评价指标影响较大;参芪养血方以真空浓缩机煎煮法制备为佳。

[关键词] 参芪养血方; 黄芪甲苷; 固含量; 正丁醇提取物; 液质联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)04-0075-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016040075

Effect of Different Decoction Methods on Quality of Shenqi Yangxue Preparations

WU Jian-kun¹, HAN Xu-yang², CHEN Zhan-gong¹, XU Zhao¹,
PENG Bing², WANG Hong², ZENG Zu-ping^{2*}

(1. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100010, China;
2. Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of different decoction methods on the quality of Shenqi Yangxue preparations, and provide the evidence for choosing the preparation method of tonifying recipes. **Method:** Ratio of extraction, *n*-BuOH extract content and astragaloside IV content were used as the evaluation indexes. UPLC-Q-TOF-MS method was adopted to determine the astragaloside IV content. ACQUITY™ C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) column was used with acetonitrile-0.1% formic acid water as the mobile phase for gradient elution. The flow rate was set to 0.45 mL·min and the column temperature was 40 °C. The mass spectra were obtained by Xevo G2 Q-TOF with electrospray ionization source in negative ion mode to determine the content of astragaloside IV [M + COOH]⁻, m/z 829.45. **Result:** astragaloside IV had good linear relationship within the range of 9.8 × 10⁻⁵ - 9.8 × 10⁻³ μg (r = 0.999 0) with an average recovery rate of 100.32%. The astragaloside IV contents of 3 kinds of Shenqi Yangxue preparations were 0.193-1.976 mg/dose, with total solid weight of 31.297-103.077 g/dose and *n*-BuOH extract content of 6.11-14.55 g/dose. **Conclusion:** 3 preparation methods had significant difference in ratio of extraction, *n*-BuOH extract content and astragaloside IV content, so the preparation process had great effect on the evaluation indexes. The preparation method by vacuum concentrated machine had the best effect.

[Key words] Shenqi yangxue preparation; astragaloside IV; solid content; *n*-butyl extract content; LC-MS

汤剂(合剂)是中医临证(病)治疗使用最多的一种重要剂型,因为汤剂最能体现中医辨证施治,随证(病)化裁的用药特点。清代名医徐灵胎云:“煎药之法,最易深究,药之效不效,全在于此”。如何让中药汤剂发挥最大药效,研究煎煮中药的方法是十分重要的。目前临床对汤剂煎煮的方法主要有传统煎煮及煎药机煎煮两种。传统煎煮法火候和煎出量易掌握,能做到药物的先煎和后下,具有能通过中医辨证论治随证加减、临床疗效明确等优点。煎药机煎药煎煮效率高,药汁均匀,不易变质,携带方便,能够自动过滤分装^[1-3]。两种方法各有利弊,最终还是要用临床疗效来评价,但随着现代社会的发展、生活节奏的加快,机器煎药是中医药发展趋势^[4]。

参芪养血方具有益气、健脾、养血之功,为我院经验方,延用多年。目前临床使用的参芪养血方主要有 3 种制备方法,即传统煎煮法、煎药机煎煮法和真空浓缩机煎煮法。病人与医生对这 3 种制备方法所得药物的评价很是不一,这一点与许多文献报道的结果相近^[5-9]。为了寻找最佳制备方法,向临床提供稳定药物,本实验选择 3 个评价指标即黄芪甲苷含量、固含量和正丁醇提取物对 3 种制备方法进行比较,初步判别制备方法的优劣。

1 材料

ACQUITYTM UPLC 系统(美国 Waters 公司), Xevo G2 Q-TOF 型质谱仪[配有 Look-spray 接口,电喷雾离子源(ESI),MASSLYNX 4.1 质谱工作站软件,美国 Waters 公司];XS205 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo),MilliQ 超纯水系统(美国 Millipore),SK7210HP 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司),YZN50 型液体真空浓缩煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司),YJD20-GL 型十功能自动煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司)。

黄芪甲苷(批号 110781-200613,中国食品药品检定研究院),甲醇、乙腈均为色谱级,正丁醇为分析级纯,实验用中药饮片(北京市杏林药业责任有限公司)。

2 方法与结果

2.1 黄芪甲苷含量测定

2.1.1 色谱分析条件 ACQUITYTM UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 7 min, 24% ~ 35% A; 7 ~ 8 min, 35% ~ 100% A; 8 ~ 11 min, 100% A; 11 ~ 11.5 min, 100% ~ 24% A; 11.5 ~

14 min, 24% A),流速 0.45 mL·min⁻¹,柱温 40 °C。

2.1.2 质谱条件 ESI 源,扫描方式 ESI⁻ 模式,毛细管电压 2.5 kV,锥孔电压 40 V,离子源温度 100 °C,脱溶剂器温度 350 °C,锥孔气流量 50 L·h⁻¹,脱溶剂器流量 800 L·h⁻¹;数据采集速率 0.2 s/scan,质量扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 000;采用质量锁定(lock-mass)技术测定准确质量数,2 mg·L⁻¹ 的亮氨酸-脑啡肽(LE, ESI⁻; *m/z* 554.261 5)溶液为锁定质量溶液,其流速为 10 μL·min⁻¹,切换频率为 20 s/次;选择离子监测黄芪甲苷[M + COOH]⁻, *m/z* 829.45。

2.1.3 样品制备 按处方量的 3 倍投料。分别按我院煎药室制备相应煎剂的操作流程制备出制剂 1(传统手工煎煮法),制剂 2(煎药机煎煮法)和制剂 3(真空浓缩机煎煮法)。

供试品溶液制备 分别取上述制剂 1 和制剂 2 各 5 mL,加水稀释至 40 mL,均匀后超声处理 30 min,离心处理 5 min(3 000 r·min⁻¹),过 0.2 μm 滤膜,收集滤液,分别为供试液 1 和供试液 2。取上述制剂 3 2 mL,加水稀释至 40 mL,以下操作与供试液 1 和供试液 2 相同,得供试液 3。

2.1.4 对照品溶液制备 取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成 0.009 8 g·L⁻¹ 的对照品储备液。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取上述对照品储备液各 1 mL,分别置于 5 mL 和 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液 1 和对照品溶液 2。分别取对照品溶液 1 的 0.5, 1.5, 3.5, 5.0 μL 和对照品溶液 2 的 0.5, 1.0, 2.5 μL 进样,在上述色谱-质谱联用技术条件下分析,黄芪甲苷总离子流图和质谱图见图 1。以对照品溶液进样质量为横坐标(*X*),峰面积值为纵坐标(*Y*),绘制标准曲线,其回归方程为 $Y = 735\ 561X + 113.64$ ($r = 0.999\ 0$),结果表明黄芪甲苷在 0.000 098 ~ 0.009 8 μg 线性关系良好。

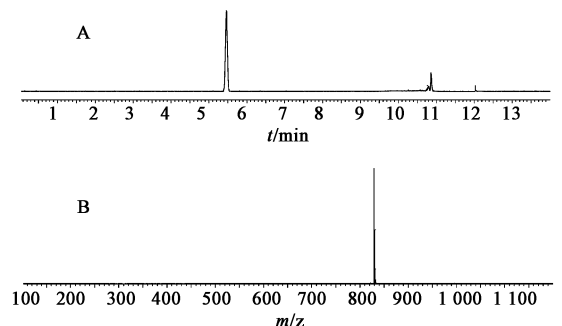


图 1 黄芪甲苷总离子流(A)和质谱(B)
Fig. 1 Total ion and MS of astragaloside IV

2.1.6 精密度试验 精密吸取供试液 3 2 μL 注入色谱仪,按照上述色谱条件测定峰面积。连续进样 6 次,测定峰面积,结果 RSD 2.5%,表明精密度良好。

2.1.7 重复性试验 精密吸取同批次制剂 3 供试液 2 μL ,共 6 份,按 2.1.3 项下的方法制成供试品溶液,以上述分析条件进样,测定峰面积,进样 3 μL ,峰面积 RSD 2.7%,表明本测定方法的重复性良好。

2.1.8 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 3,分别在 0,1,2,4,8,12,24 h 进样,每次进样 3 μL ,在上述分析条件下测定黄芪甲苷的含量,其峰面积 RSD 2.3%,表明供试品溶液在实验条件 24 h 内稳定性良好。

2.1.9 加样回收率试验 精密吸取同批次供试品溶液 3 共 5 份,每份 1.0 mL,分别精密加入对照品储备液 1.6 mL($0.0098 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),按上述色谱条件测定黄芪甲苷含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 黄芪甲苷加样回收率试验

Table 1 Recovery test of astragaloside IV

样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.013 5	0.015 7	0.029 9	104.46		
0.013 5	0.015 7	0.028 5	95.54		
0.013 5	0.015 7	0.029 0	98.73	100.26	3.4
0.013 5	0.015 7	0.029 6	102.55		
0.013 5	0.015 7	0.029 2	100.00		

2.1.10 样品测定 按处方量的 3 倍(3 剂)投料,按上述 3 种制备方法制备 3 种制剂,每种 3 批。按前述方法制备供试液 1,供试液 2 和供试液 3 各 3 批。按上述分析条件测定每批黄芪甲苷含量。提取的离子流图见图 2,结果见表 2。

2.2 固含量测定 精密吸取制剂 1 和制剂 2 各 100 mL,制剂 3 50 mL,分别置于已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重,称定质量,计算并折算得到每付的固含量,结果见表 3。

2.3 正丁醇提取物含量测定 精密吸取制剂 1、制剂 2 各 1.0 mL,制剂 3 0.5 mL,分别加水稀释至 20 mL,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次,每次 30 mL,合并正丁醇液,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 3 h,移至干燥器中,冷却 30 min,迅速精密称定质量,计算并折算得到每付的正丁醇提取物含量,结果见表 4。

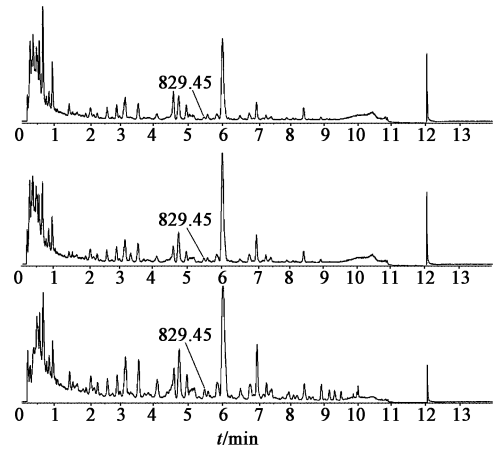


图 2 3 种制剂供试品的提取离子流

Fig. 2 Ion chromatography of Shenqi Yangxue preparation

表 2 3 批参芪养血方中黄芪甲苷含量测定

Table 2 Determination of astragaloside IV in Shenqi Yangxue preparation

制剂 编号	制备方法	批号	黄芪甲苷质量 (mg/付)	平均值 (mg/付)
1	传统手工煎煮法	1	0.035 8	0.038 5
		2	0.049 2	
		3	0.030 6	
2	煎药机煎煮法	1	0.103 8	0.098 1
		2	0.091 6	
		3	0.099 0	
3	真空浓缩机煎煮法	1	0.379 6	0.395 1
		2	0.396 2	
		3	0.409 6	

表 3 3 批参芪养血方中固含量测定

Table 3 Determination of total solid weight in Shenqi Yangxue preparation

制剂 编号	制备方法	批号	固含量 (mg/付)	平均值 (mg/付)
1	传统手工煎煮法	1	5.35	6.53
		2	7.26	
		3	6.99	
2	煎药机煎煮法	1	4.95	6.26
		2	6.66	
		3	7.17	
3	真空浓缩机煎煮法	1	20.03	20.62
		2	20.88	
		3	20.94	

表 4 3 批参芪养血方中正丁醇提取物含量测定

Table 4 Determination of n-butyl extraction weight in Shenqi Yangxue preparation

制剂编号	制备方法	批号	正丁醇提取物质量(mg/付)	平均值(mg/付)
1	传统手工煎煮法	1	1.09	1.22
		2	1.26	
		3	1.31	
2	煎药机煎煮法	1	1.65	1.79
		2	1.80	
		3	1.93	
3	真空浓缩机煎煮法	1	2.85	2.94
		2	2.97	
		3	2.99	

3 结论与讨论

实验结果表明,3 种制剂中,黄芪甲苷含量为制剂 3 > 制剂 2 > 制剂 1;固含量为制剂 3 > 制剂 1 > 制剂 2;正丁醇提取物为制剂 3 > 制剂 2 > 制剂 1。在本实验条件下,以制剂 3 质量最佳,即真空浓缩机煎煮法最好。

产生上述结果的原因,应与煎煮时加水量、煎煮温度、时间、过滤是否加压及所用滤材等因素有关。本实验中,制剂 1 的加水量为 4 000 mL,制剂 2 为 6 000 mL,制剂 3 为 22 000 mL;煎煮温度分别为常压 100 ℃ 和 105 ℃ 左右;过滤滤材则为 2 层纱布和自动过滤。3 种煎煮法的实验结果说明增加水量,提高煎煮温度,都能提高煎剂的质量。制剂 1 用 2 层纱布过滤,使不溶性固体进入滤液,从而使固含量

高于制剂 2,但也比制剂 3 显著减少。

处方中的黄芪、红参等药味含有皂苷和其他可被正丁醇浸出的成分,故采用正丁醇提取物含量作为制剂质量的评价指标之一。实验中考察了提取次数对正丁醇提取物得率的影响,结果提取 4 次的得率达 90% 以上,即 4 次已基本提取完全。故选择提取 4 次。

[参考文献]

- [1] 龚慕辛,李朝霞,聂波,等. 煎药机与传统煎药比较研究概况[J]. 时珍国医国药,2008,19(11):2714-2715.
- [2] 芮朝松. 中药煎药机对几类中药疗效负面影响的探讨[J]. 时珍国医国药,2006,17(4):595-596.
- [3] 相恒芹. 中药机器煎煮与传统煎煮的差异性研究[J]. 大家健康,2012,6(10):16-18.
- [4] 王兆荣,李吉红,张晓丽. 机器煎药与传统煎药的差别[J]. 中国中医药咨讯,2010,2(1):197.
- [5] 袁世清,夏丽娜. 传统煎药与煎药机煎药对比研究概述[J]. 实用中医药杂志,2011,27(1):65-66.
- [6] 于忠兴,唐风雷,范正达. 自动煎药与传统煎煮法对白芍汤剂质量的影响[J]. 抗感染药学,2006,3(2):81-82.
- [7] 许保海,臧琛,张宏伟,等. 3 种方法制备的胃肠复原汤中黄芪甲苷含量的比较[J]. 中国药房,2012,23(15):1411.
- [8] 马传红,李晓英,杨斌,等. 中药汤剂 3 种不同制备方法的比较[J]. 山东中医杂志,2004,23(4):235.
- [9] 梁文能,李毓芳,李彦. 两种煎药方法对黄莲解毒汤中黄芩苷含量的研究[J]. 国际医药卫生导报,2008,14(3):72-75.

[责任编辑 顾雪竹]