

补阳还五汤常压煎煮工艺优选

张源¹, 周琴妹¹, 刘顺¹, 朱其辉¹, 蔡宝昌^{2*}

(1. 南京中医药大学附属医院制剂部, 南京 210029; 2. 南京中医药大学, 南京 210046)

[摘要] **目的:**考察两煎常压煎药机不同煎煮条件对补阳还五汤剂质量的影响。**方法:**采用单因素试验考察加水量水平,以总固体、阿魏酸及黄芪甲苷含量为综合评价指标,通过正交试验考察加水量、浸泡时间、煎煮次数及煎煮时间对煎煮工艺的影响,利用 HPLC 测定阿魏酸及黄芪甲苷含量。**结果:**方差分析表明各因素对煎煮工艺的影响顺序为煎煮次数 > 加水量 > 煎煮时间 > 浸泡时间,其中煎煮次数具有显著性影响,其余 3 个因素均无显著性影响。最佳常压煎煮工艺为加 8~10 倍量水浸泡 30 min,煎煮 2 次,每次 60 min。**结论:**优选的工艺稳定可行,为两煎常压煎药机制备含黄芪甲苷及阿魏酸的中药汤剂提供理论依据。

[关键词] 补阳还五汤; 常压煎药机; 工艺优选; 正交试验; 高效液相色谱; 阿魏酸; 黄芪甲苷

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0005-04

[doi] 10.11653/syfy2013190005

Optimization of Atmospheric Pressure Boiling Technology of Buyang Huanwu Decoction

ZHANG Yuan¹, ZHOU Qin-mei¹, LIU Shun¹, ZHU Qi-hui¹, CAI Bao-chang^{2*}

(1. Department of Preparations, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effects of different boiling conditions on quality of Buyang Huanwu decoction by double decocting non-pressurized machine. **Method:** A single factor test was adopted to investigate levels of adding water, with the contents of total solids, ferulic acid and astragaloside as comprehensive evaluation index, effects of soaking time, the amount of water, boiling times and time on technology were investigated by orthogonal test. The contents of ferulic acid and astragaloside were determined by HPLC. **Result:** Analysis of variance showed that effect of factors on boiling technology was in order of decoction times > the amount of water > decoction time > soaking time, only decoction times had significant impact. Optimum non-pressurized boiling technology was as following: soaked 30 min with 8-10 times the amount of water, decoction for 2 times, 60 min per time. **Conclusion:** Optimized technology was stable and feasible, it provided theoretical basis for ferulic acid and astragaloside as main ingredients in traditional Chinese medicine decoctions.

[Key words] Buyang Huanwu decoction; atmospheric pressure decoction machine; technology optimization; orthogonal test; HPLC; ferulic acid; astragaloside

[收稿日期] 20130307(004)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201007010)

[第一作者] 张源,主任中药师,从事中药制剂研究, Tel: 025-86614204, E-mail: 2217764733@qq.com

[通讯作者] * 蔡宝昌,教授,从事中药炮制机制与饮片质量分析研究, Tel: 025-86798281, E-mail: becai@126.com

补阳还五汤载于《医林改错》,由黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红花组成。在前期研究基础上^[1-2],本实验采用正交试验优选补阳还五汤煎药机常压煎煮工艺,选用的新型两煎常压煎药机(容量 2 万 mL),具有常压煎煮、自动搅拌、变化的文武火力及自动二煎等功能^[3],操作更简便、安全,更符合传统的中药煎煮原理^[4]。

1 材料

LZK-2000 型两煎智能煎药包装机(天津三延精密机械有限公司),1260 型高效液相色谱系统(美国 Agilent 公司),XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 美国 Welch Materials 公司),e2695 型高效液相色谱系统(美国 Waters 公司),Hedera ODS-3 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 江苏汉邦科技有限公司)。

黄芪等药材(由南京海昌中药集团海源中药饮片有限公司提供,经南京中医药大学附属医院药学部袁加才副主任中药师鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》相关项下要求),阿魏酸、黄芪甲苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110773-9910,110781-200512),甲醇、乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 加水量考察

2.1.1 吸水量的测定 按处方比例称取补阳还五汤的各饮片 7 份,每份 143 g,分别加水 850 mL(室温 20 ℃,相对湿度 29%)浸泡,于 0,1,2,3,4,5,6 h 测定浸出液体积分别为 850,680,660,650,640,630,630 mL,表明处方量补阳还五汤的饮片最大吸水量 220 mL,吸水率 153.8%。

2.1.2 失水量的测定 称取各饮片 8 份,分别加 6,8,10,12 倍量水煎煮 30,60,120 min,滤过,测定所得药液体积,计算失水量,结果见表 1,表明处方量药材在常压机器煎煮过程中,煎煮 30 min 失水量 180~250 mL,煎煮 60 min 失水量 300~450 mL,煎煮 120 min 失水量 500~600 mL。

表 1 补阳还五汤处方量药材饮片常压机器煎煮失水量考察

No.	加水量 /mL	煎煮所得 药液量 /mL	总失水量 /mL	煎煮失水量 (总失水量 - 浸泡 吸水量)/mL	煎煮时间 × 煎煮次数 /min × 次
1	3 430	1 820	1 610	730	30 × 1
2	8 600	5 000	3 600	2 500	60 × 2
3	4 580	2 520	2 060	1 180	60 × 1
4	9 160	6 540	2 620	1 740	30 × 2
5	5 720	3 500	2 220	1 340	60 × 1
6	11 440	9 100	2 340	1 460	30 × 2
7	6 870	5 000	1 870	990	30 × 1
8	13 740	10 400	3 340	2 460	60 × 2

2.2 正交试验设计 在单因素试验基础上,选取加水量、浸泡时间、煎煮次数及煎煮时间为考察因素,

以总固体、黄芪甲苷及阿魏酸含量为指标^[5-9],按 L₈(4 × 2⁴) 正交表进行试验,因素水平见表 2。

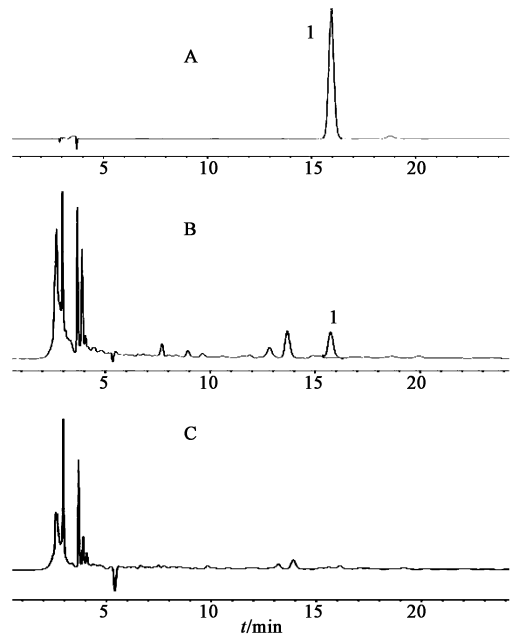
表 2 补阳还五汤煎煮机常压煎煮工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量 /倍	B 浸泡时间 /min	C 煎煮数 /次	D 煎煮时间 /min
1	6	30	1	30
2	8	60	2	60
3	10			
4	12			

2.3 总固体含量的测定^[4] 用量筒分别测量 1~8 号各样品的体积,分别精密量取每份药液 25 mL,水浴蒸干,105 ℃干燥 3 h,称重,计算总固体含量。

2.4 阿魏酸的含量测定

2.4.1 色谱条件 XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.085% 磷酸水溶液(17:83),检测波长 316 nm,柱温 35 ℃,进样量 10 μL,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 阿魏酸

图 1 补阳还五汤煎煮液中阿魏酸的 HPLC

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品 12.46 mg,加 70% 甲醇定容至 25 mL,即得。

2.4.3 供试品溶液的制备^[4] 分别精密量取 1~8 号补阳还五汤煎煮液 25 mL,置蒸发皿中,水浴蒸干,残渣用 70% 甲醇溶解,定容于 10 mL 量瓶中,微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4.4 线性关系考察 精密量取对照品溶液 5 份,

分别配制系列对照品溶液,进样,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,计算回归方程 $Y = 259.32X + 48.707$ ($r = 0.9999$),表明阿魏酸在 $0.255 \sim 5.085 \mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.4.5 精密度试验 取 $25.475 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿魏酸对照品溶液 $10 \mu\text{L}$,重复进样 6 次,结果峰面积的 RSD 0.28% 。

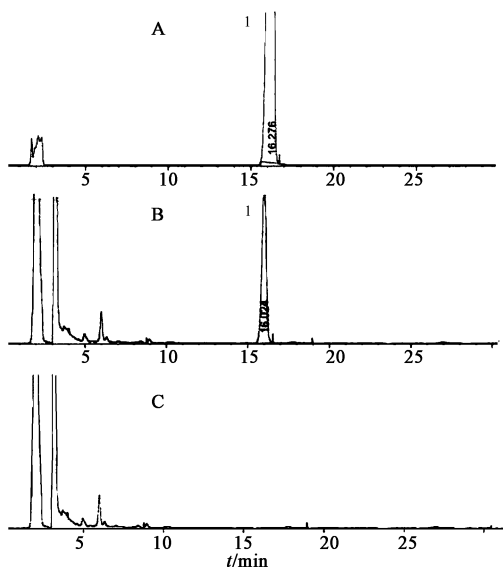
2.4.6 稳定性试验 取同一供试品溶液 $10 \mu\text{L}$,分别于 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 测定,结果峰面积的 RSD 0.02% 。

2.4.7 重复性试验 精密量取同一供试品溶液 6 份,依法测定,结果峰面积的 RSD 0.72% 。

2.4.8 加样回收率试验 精密吸取已知含量的供试品溶液 6 份,分别准确加入 $0.25475 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液 1 mL ,混合,水浴蒸干,残渣加 70% 甲醇溶液并定容至 5 mL ,按上述色谱条件测定,计算回收率,结果平均回收率 99.70% ,RSD 2.03% ,表明该方法稳定可靠。

2.5 黄芪甲苷的含量测定

2.5.1 色谱条件 Hedera ODS-3 C_{18} 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$),流动相乙腈-水 ($35:65$),蒸发管温度 $80 \text{ }^\circ\text{C}$,雾化温度 $50 \text{ }^\circ\text{C}$,空气流速 $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样量 $20 \mu\text{L}$,见图 2。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 阿魏酸

图2 补阳还五汤煎煮液中黄芪甲苷的 HPLC

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品 20.95 mg ,加甲醇定容至 25 mL ,即得。

2.5.3 供试品溶液的制备 分别精密量取 1~8 号

补阳还五汤煎煮液 40 mL ,水浴加热蒸至 $5 \sim 10 \text{ mL}$,转移至分液漏斗中,加水饱和正丁醇振荡萃取 3 次,每次 20 mL ,合并正丁醇液至分液漏斗中,加氨试液洗涤 3 次,每次 20 mL ,弃去氨试液,分取正丁醇提取液,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解并定容至 5 mL 量瓶中,微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.5.4 线性关系考察 分别精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 $3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 \mu\text{L}$ 进样,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 1.6403X + 5.497$ ($r = 0.9994$),表明黄芪甲苷在 $1.257 \sim 14.665 \mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.5.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液进样 6 次,依法测定峰面积的 RSD 2.79% 。

2.5.6 稳定性试验 精密吸取同一对照品溶液分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样,结果峰面积的 RSD 1.50% 。

2.5.7 重复性试验 精密量取同一供试品溶液 6 份,依法测定,结果峰面积的 RSD 1.57% 。

2.5.8 加样回收率试验 精密吸取已知含量的供试品溶液 6 份,分别准确加入 $0.419 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 黄芪甲苷对照品溶液 1 mL 混合,按上述色谱条件测定,计算回收率,结果平均回收率 98.90% ,RSD 2.16% ,表明该方法可靠。

2.6 试验数据分析 采用多指标试验全概率法进行数据处理^[10]。以总固体物、阿魏酸及黄芪甲苷含量的综合评分为指标,三者权重系数相同,试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。

由直观分析可知,各因素对煎煮工艺的影响顺序为 $C > A > D > B$ 。方差分析结果表明因素 C 对煎煮工艺具有显著性影响,其余三因素均无显著性影响,确定最佳煎煮工艺为加 10 倍量水浸泡 30 min ,煎煮 2 次,每次 60 min 。

2.7 浓缩工艺考察 由于煎药机是在包装机储液桶内底部加热浓缩药液,故采用电磁炉直接加热的方式考察浓缩对煎液质量的影响。取常压煎煮药液适量,均分为 4 份,取 3 份分别于电磁炉上浓缩至 $50, 75, 100 \text{ mL}$,得浓缩 1, 2, 3 号样品,测定原液及各样品中阿魏酸质量分别为 $61.518, 65.393, 58.633, 48.960 \text{ mg}$,黄芪甲苷质量分别为 $39.814, 37.448, 39.031, 47.528 \text{ mg}$,表明浓缩对黄芪甲苷和阿魏酸的含量略有影响。

2.8 验证试验 称取 7 倍处方量药材,平行 3 份,按优选的煎煮工艺进行试验,结果总固体物质量分别为 $317.87, 336.94, 320.34 \text{ g}$,阿魏酸质量分别为

表 3 补阳还五汤煎煮机常压煎煮工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	E(空白)	总固体物/g	阿魏酸/mg	黄芪甲苷/mg	综合评分
1	1	1	1	1	1	97.99	288.735	166.582	0.205
2	1	2	2	2	2	172.66	582.936	433.418	0.418
3	2	1	1	2	2	120.68	452.387	234.364	0.285
4	2	2	2	1	1	154.45	533.248	539.471	0.418
5	3	1	2	1	2	158.96	607.331	725.936	0.492
6	3	2	1	2	1	138.94	371.437	311.734	0.301
7	4	1	2	2	1	163.53	649.534	827.073	0.534
8	4	2	1	1	1	144.52	399.273	432.770	0.346
K_1	0.311	0.379	0.284	0.365					
K_2	0.352	0.371	0.466	0.385					
K_3	0.397								
K_4	0.440								
R	0.129	0.008	0.182	0.020					

注:综合评分 = $P(B_i) = P(B_i/A_1) + P(B_i/A_2) + P(B_i/A_3)$, 三指标加权系数相同。

表 4 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.019	3	0.442	>0.05
B	0.000	1	0.000	>0.05
C	0.066	1	4.605	<0.05
D	0.001	1	0.070	>0.05
E(误差)	0.090	6		

注: $F_{0.05}(3,6) = 3.290, F_{0.05}(1,6) = 3.780$ 。

836.400, 806.982, 930.362 mg, 黄芪甲苷质量分别为 706.143, 750.869, 682.646 mg, 表明优选的煎煮工艺稳定可行。

3 讨论

煎煮加水量理论值为饮片吸水量、煎煮过程中蒸发量及煎煮后所需药液量的总和, 但实际操作时加水量很难达精确, 应根据饮片质地疏密、吸水性能及煎煮时间长短确定。2 次煎煮时会形成新的浓度差, 使有效成分溶出增加; 煎煮加水量的多少与最终的平衡浓度有关, 对阿魏酸和黄芪甲苷浸出的影响不大。

结合临床患者服药习惯(按每剂药每日服用量 400 mL 计算)和医院煎药室实际情况(尽量避免或减少浓缩过程), 补阳还五汤采用两煎常压煎药机的最佳煎煮工艺调整为加 8~10 倍量水浸泡 30 min, 煎煮 2 次, 每次 60 min。

[参考文献]

- [1] 刘顺, 张源, 周琴妹, 等. 补阳还五汤高压煎药机煎煮工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19):29.
- [2] 周琴妹, 张源, 陈武. HPLC 定量特征图谱在补阳还五汤质量评价中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14):75.
- [3] 张小平. 高压与常压煎药机制备汤剂使用区别研究[J]. 中国农村卫生事业管理, 2006, 26(12):65.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 XA.
- [5] 张建玲, 贺祝英, 吴红梅. 正交试验优选心衰宁合剂水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7):30.
- [6] 王竹兰. 《伤寒论》汤剂煎煮法与汤剂制备规范化研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.
- [7] 陈永祥, 孙耀志, 高松, 等. 正交试验优选黄芪桂枝五物汤的水提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2):56.
- [8] 李前进. 简论中药汤剂的煎煮原则及注意事项[J]. 中医药导报, 2010, 16(7):120.
- [9] 张丹, 颜学伟, 王刚, 等. 正交试验优选盐制续断炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7):27.
- [10] 周琴妹, 陈晓斌. 用多指标试验全概率评分法研究敛疮液制备工艺[J]. 中成药, 2005, 27(3):347.

[责任编辑 全燕]