

正交试验法优选八珍汤水煎煮工艺

金仲达*, 朱惠中, 赵劲草

(苏州医学院附属常熟第一人民医院, 江苏常熟 215500)

[摘要] 目的: 优选八珍汤水煎煮工艺。方法: 以芍药苷、总多糖、浸出物含量为指标, 采用正交试验法, 考察浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数、加水量对八珍汤水煎煮工艺的影响。结果: 最佳水煎煮工艺为浸泡 30 min, 加 10 倍量水煎煮 2 次, 每次 30 min。结论: 优选的水煎煮工艺稳定合理, 为八珍汤的生产提供参考。

[关键词] 八珍汤; 芍药苷; 总多糖; 水煎煮工艺; 正交试验

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0039-03

Optimization of Water Boiling Technology for Bazhen Decoction by Orthogonal Design Method

JIN Zhong-da*, ZHU Hui-zhong, ZHAO Jing-cai

(Changshu No. 1 People's Hospital, Suzhou Medical College, Changshu 215500, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize water boiling technology of Bazhen decoction. **Method:** With the content of paeoniflorin, total polysaccharides and extracts as indexes, Orthogonal design was performed to investigate influence of soaking time, decocting time, decocting times and the amount of water on water boiling technology. **Result:** The best decocting progress was: soaked 30 minutes, add 10 times amount of water, decocted 2 times and 30 minutes per time. **Conclusion:** This optimized process was stable and reasonable, it could provide a reference for production of Bazhen decoction.

[Key words] Bazhen decoction; paeoniflorin; total polysaccharides; water boiling process; orthogonal test

八珍汤源自明代《正体类要》, 由人参(或党参)、白术、茯苓、当归、川芎、熟地黄、白芍、甘草 8 味中药组成, 是四君子汤和四物汤的合方, 经古今广泛临床实践证明具备补气补血双重功效的经典方剂^[1], 主治气血两虚诸证, 以气短乏力、心悸失眠、头目眩晕、舌淡、脉细无力为证治要点。根据各单味药化学成分分析, 其中发挥主要生物活性作用的是总苷类和总皂苷类, 尤其芍药苷^[2]、人参皂苷具有改善血液流变学、改善血虚动物的贫血症状、抗氧化和抗衰老等作用^[3-4]。八珍汤方中君药党参、熟地、臣药炒白术、茯苓、当归等, 以及使药炙甘草均富含

多糖类物质, 可提高机体免疫能力、刺激造血系统、增强造血母细胞的增殖^[6]。本试验选择芍药苷和总多糖为指标。研究按相同加水量, 提取时间等对多味中药材进行提取, 结果证明在相同时间内, 煎药机煎煮中药成分溶出率明显优于传统砂锅^[6-10]。本实验选取浸泡时间、加水量、煎煮时间、煎煮次数 4 个因素, 通过煎药机煎煮优选出合理的提取工艺, 为八珍汤水煎煮提取工艺参数的选择提供参考。

1 材料

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), FA1104N 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司), 石英自动双重纯水蒸馏器(江苏金城国胜实验仪器厂), 752 型紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司), DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司), YJ13B-G 型密闭煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司)。

[收稿日期] 20120524(015)

[基金项目] 常熟市科技发展计划项目(CS200920)

[通讯作者] * 金仲达, 主任医师, 从事中医药理学研究, Tel: 13601575621, E-mail: oadtdxhoho_love@163.com

芍药苷, D-无水葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为 110736-201035, 110833200503), 党参、熟地黄、炒白术等饮片均购于安徽丰原铜陵中药饮片有限公司, 经南京中医药大学陈建伟教授鉴定, 均符合《中国药典》2010 年版相关项下要求。乙腈、甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 正交试验设计 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 选取浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数、加水量为考察因素。设定煎药机温度 110 °C, 压力 0.12 MPa, 以芍药苷含量、总多糖含量及浸出物的得率为评价指标, 进行水煎煮最佳工艺参数的确定。因素水平见表 1。按处方配比称取党参、熟地黄、炒白术等饮片共 9 份, 每份 300 g, 按相应的因素水平进行加水煎煮, 水煎液过滤, 减压浓缩成浸膏, 备用。

表 1 八珍汤水煎煮工艺优选正交试验因素水平

水平	A 浸泡时间 /min	B 煎煮时间 /min	C 煎煮数 /次	D 加水量 /倍
1	15	20	1	8
2	30	30	2	10
3	45	40	3	12

2.2 芍药苷含量测定^[7]

2.2.1 色谱条件 依利特 Hypersil ODS2 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (14:86), 检测波长 230 nm, 流速 1 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL, 柱温 30 °C。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品适量, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇制成 0.062 7 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取约相当于 0.2 g 白芍饮片的稠膏, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇 35 mL, 超声处理 (功率 240 W, 频率 45 kHz) 30 min, 放冷, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取芍药苷对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 分别置于 1 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别吸取 10 μL 进样, 测定峰面积值, 以峰面积均值为纵坐标, 进样浓度为横坐标, 得回归方程 $Y = 17\,757.85X + 27.02$ ($r = 0.999\,6$)。结果表明芍药苷进样量在 0.062 7 ~

0.627 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.3 总多糖含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 取经 105 °C 干燥至恒重的无水葡萄糖对照品 33 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.2 标准曲线的制备 精密量取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mL, 分别置 10 mL 具塞刻度试管中, 各加水至 2.0 mL, 摇匀, 在冰水浴中缓缓滴加 0.2% 蒽酮-硫酸溶液至刻度, 混匀, 放冷, 置水浴中保温 10 min, 取出, 立即置冰水浴中冷却 10 min, 取出, 以相应试剂为空白。照紫外-可见分光光度法, 于 582 nm 波长处测定吸光度 (A)。以 A 为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 得回归方程 $Y = 6.796\,9X + 0.094\,6$ ($r = 0.990\,1$)。结果表明总多糖在 0.016 5 ~ 0.099 g·L⁻¹ 呈良好线性关系。

2.3.3 供试品溶液的制备 取各试验号样品稠膏约 1 g, 置圆底烧瓶中, 加 80% 乙醇 150 mL, 置水浴中加热回流 1 h, 趁热滤过, 残渣用 80% 热乙醇洗涤 3 次, 每次 10 mL, 将残渣及滤纸置烧瓶中, 加水 150 mL, 置沸水浴中加热回流 1 h, 趁热滤过, 残渣及烧瓶用热水洗涤 4 次, 每次 10 mL, 合并滤液与洗液, 放冷, 转移至 250 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 浸出物得率测定 精密称取各试验号样品稠膏 2 g, 置于已干燥至恒重的蒸发皿中, 于 105 °C 烘箱中干燥 3 h, 取出置干燥器内冷却 30 min, 迅速精密称重, 计算浸出物得率。正交试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3 ~ 5。

由表 3 结果可知, A 因素对芍药苷含量具有极显著性影响, 其他因素对试验结果未见明显影响; 由表 4, 5 结果可知, 各因素对总多糖含量、水提浸出物的含量影响均不显著。综合芍药苷含量、总多糖含量及水提浸出物得率的方差分析结果, 结合实际成本等因素, 确定最佳水提工艺条件为 $A_2B_2C_2D_2$, 即饮片加 10 倍量水浸泡 30 min, 煎煮 2 次, 每次煎煮 30 min。

2.5 验证试验 按处方比例取党参、熟地黄、炒白术等处方各 3 份, 按最佳水煎煮工艺进行高压煎药机的煎煮, 合并水提液, 浓缩至浸膏, 取样测定浸膏中芍药苷分别为 31.01, 31.83, 31.50 mg; 总多糖含量分别为 1 260.79, 1 290.53, 1 325.62 mg, 浸出物得率分别为 33.26%, 34.08%, 34.03%, 说明该工艺稳定、可行。

表2 八珍汤水煎煮工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	芍药苷 含量/mg	总多糖 含量/mg	浸出物 得率 /%
1	1	1	1	1	22.18	965.94	29.83
2	1	2	2	2	24.58	1 087.80	30.43
3	1	3	3	3	45.25	1 250.26	34.92
4	2	1	2	3	88.73	1 002.29	33.67
5	2	2	3	1	94.20	1 014.53	33.49
6	2	3	1	2	91.05	1 037.41	32.07
7	3	1	3	2	94.90	1 117.95	34.25
8	3	2	1	3	91.51	997.26	32.02
芍药苷							
K_1	92.02	205.82	204.75	196.86			
K_2	273.98	210.30	193.80	210.53			
K_3	266.89	216.78	234.35	225.50			
R	7 082.30	20.25	293.37	136.75			
总多糖							
K_1	3 304.00	3 086.18	3 000.62	3 057.05			
K_2	3 054.23	3 099.59	3 166.68	3 243.17			
K_3	3 191.79	3 364.25	3 382.73	3 249.81			
R	10 433.50	16 394.36	24 473.85	7 982.26			
浸出物							
K_1	95.18	97.74	93.92	94.99			
K_2	99.23	95.93	95.76	96.75			
K_3	97.94	98.66	102.66	100.61			
R	2.85	1.28	14.14	5.52			

表3 芍药苷方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	7 082.30	2	3541.15	349.70	<0.01
C	293.37	2	146.69	14.49	>0.05
D	136.75	2	68.38	6.75	>0.05
B(误差)	20.25	2	10.13		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00, F_{0.01}(2,2) = 99.00$ (表4~5同)。

表4 总多糖方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
C	24 473.85	2	12 236.93	3.07	>0.05
B	16 394.36	2	8 197.18	2.05	>0.05
A	10 433.50	2	5 216.75	1.31	>0.05
D(误差)	7 982.26	2	3 991.13		>0.05

表5 水提浸出物方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
C	14.14	2	7.07	11.01	>0.05
D	5.52	2	2.76	4.30	>0.05
A	2.85	2	1.43	2.22	>0.05
B(误差)	1.28	2	0.64		

3 讨论

本课题组比较了高压和常压煎药机对成分的影响,结果发现高压煎煮所得的总多糖含量高于传统方法,说明高压煎药机更有利于多糖类成分的煎出。具有增强免疫功能的多糖类成分与八珍汤的补益功效密切相关,可见高压煎药机应用于补益方剂的煎煮具有一定的实用价值。在进一步推广中药煎药机的道路上,未来研究方向不能仅仅局限于传统煎煮法与煎药机煎煮法的比较,或者局限于单药的煎煮条件研究,而应该针对不同煎煮要求的复方汤剂,在煎药机煎药的工艺条件改进上做进一步研究,制定一套针对不同煎煮要求复方汤剂的规范化煎煮工艺,以求取得理想的临床疗效。

[参考文献]

- [1] 黄梓平,张泽瑜,王钦和. 八珍汤与四物汤治疗缺血性贫血疗效比较[J]. 中医研究,2004,11(2):24.
- [2] 彭珍香,黄海定,邓时贵. 芍药苷对大鼠离体胸主动脉搏管环的作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):190.
- [3] 潘洪平. 八珍汤的药理研究和临床应用[J]. 中成药,2003,25(11):22.
- [4] 冯晓,高秀芝,刘太国. 八珍汤药理研究与临床应用近况[J]. 国医论坛,2004,19(4):55.
- [5] 张超,南莉莉,孙志,等. 八珍汤物质基础及其药理学研究进展[J]. 上海医药,2008,29(6):273.
- [6] 李毅民,许丽雯,章崇仪,等. 机器与传统方法煎药效果的比较[J]. 中国医院药学杂志,1999,19(11):697.
- [7] 梁卫青,郑军献,浦锦宝,等. 煎药机煎药与传统方法煎药煎出率的比较[J]. 浙江中医杂志,2005,40(9):404.
- [8] 金仁达. 中药煎药机对中药有效成分溶出的研究[J]. 基层中药杂志,1999,13(2):41.
- [9] 穆兰澄,曹京梅,程慧平,等. 中药煮散与自动煎药机煎煮液的煎出率比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18):39.
- [10] 中国药典. 一部[S]. 2010:96.

[责任编辑 仝燕]