

补阳还五汤高压煎药机煎煮工艺优选

刘顺¹, 张源¹, 周琴妹¹, 朱其辉¹, 蔡宝昌^{2*}

(1. 江苏省中医院制剂部, 南京 210029; 2. 南京中医药大学, 南京 210046)

[摘要] **目的:**考察高压煎药机不同煎煮条件对补阳还五汤剂质量的影响, 确定最佳煎煮工艺。**方法:**采用正交试验法对煎煮加水量、浸泡时间、煎煮时间及煎煮温度进行考察, 以总固体、阿魏酸及黄芪甲苷含量为考核指标。HPLC 测定阿魏酸及黄芪甲苷含量。**结果:**正交试验方差分析表明, 各因素影响顺序为加水量 > 温度 > 浸泡时间 > 煎煮时间, 4 个因素对提取工艺均无显著性影响。补阳还五汤的最佳煎煮工艺为药材饮片加 12 倍量水浸泡 30 min, 煎煮 60 min, 煎煮温度 120 ℃。**结论:**该优选工艺及技术参数为高压煎药机制备黄芪甲苷及阿魏酸类为主要成分的中药汤剂提供了理论依据。

[关键词] 补阳还五汤; 高压机器煎煮; 正交试验; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0029-04

Optimization of Boiling Technology for Buyang Huanwu Decoction by High-pressure Decocting Machine

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

(1. Department of Preparations, Jiangsu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of different boiling conditions on quality of Buyang Huanwu decoction by high-pressure decoction machine, and optimize boiling process. **Method:** With total solid content, the content of ferulic acid and astragaloside as indexes, orthogonal test was used to analyze effect of four factors including soaking time, the amount of water, boiling time and boiling temperature. The content of ferulic acid and astragaloside were determined by HPLC. **Result:** Orthogonal test analysis of variance showed that order of influence factors: the amount of water > boiling temperature > soaking time > decoction time, none of these factors had significant impact on extraction technology. Optimum boiling technology of Buyang Huanwu decoction was: medicinal pieces soaked 30 min with 12 times the amount of water, decoction time 60 min, boiling temperature of 120 ℃. **Conclusion:** This optimized technology and technical parameters provided theoretical basis for traditional Chinese medicine decoction with ferulic acid and astragaloside as main ingredients, which was prepared by high-pressure decoction machine.

[Key words] Buyang Huanwu decoction; high-pressure decoction machine; orthogonal test; HPLC

中药汤剂是中医临床最早被广泛应用的一种剂

型,其特点在于易随症加减药物,组方灵活,便于实现个体化给药。中药汤剂的煎煮质量直接影响到临床疗效,药材的浸泡,煎药的工、火候、加水量及煎煮时间等均会影响汤剂的疗效。现代中药多采用全不锈钢电煎药机煎煮,以其操作简单、携带及服用方便、包装卫生等优点被越来越多的患者接受。因此有必要研究其与传统煎煮方法的利弊关系,以使其更加合理规范,从而更好地保证中药的煎煮质量,以充分发挥疗效。

[收稿日期] 20120507(020)

[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] 刘顺, 中药师, 从事医院制剂研究, E-mail: liushun12@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 蔡宝昌, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制规范化与标准化研究, E-mail: bccai@126.com

本试验旨在对补阳还五汤(方由黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红花组成)高压煎药机的煎煮工艺进行优选。采用新型两煎高压煎药机(容量 20 L),具有高压煎煮、自动搅拌、自动加水、变化的文武火力及自动两煎等功能^[1],在操作上更简便、安全,符合传统的中药煎煮原理^[2]。

1 材料

YFDL-20 型 10 功能自动煎药机(北京东华原医疗设备有限公司),1260 型高效液相色谱系统(美国 Agilent),column XB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm, Welch Materials),e2695 型高效液相色谱系统(美国 Waters),Hedera ODS-3 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm,江苏汉邦科技有限公司)。

补阳还五汤原载于《医林改错》,由处方饮片黄芪、当归、赤芍、地龙、川芎、桃仁、红花组方(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,组方饮片均符合 2010 年版《中国药典》相关项下要求),阿魏酸、黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110773-9910,110781-200512),甲醇、乙腈均为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 正交设计 在预试验基础上,选取加水量、浸泡时间、煎煮时间及煎煮温度为考察因素,按 L₈(4 × 23)正交表安排试验,因素水平见表 1。

表 1 补阳还五汤高压煎药机煎煮工艺优选正交试验因素水平

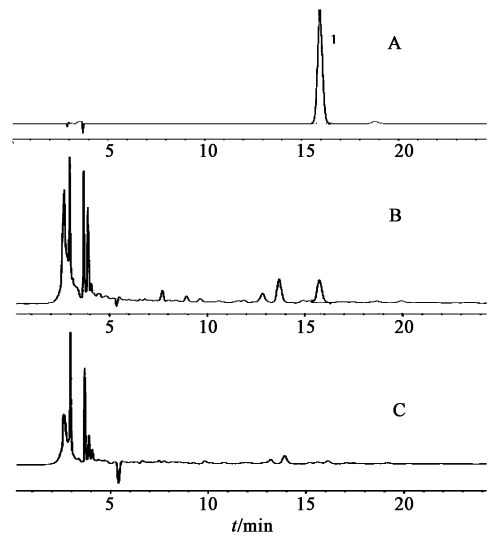
水平	A 加水量/倍	B 浸泡 时间/min	C 煎煮 时间/min	D 煎煮 温度/℃
1	6	30	30	110
2	8	60	60	120
3	10			
4	12			

2.2 样品的制备 取全方药材,平行称取 8 份,每份 858 g,按正交表安排用自动煎药机进行高压煎煮 1 次,制得 1~8 号样品。

2.3 总固体含量的测定^[3] 用量筒分别测量 1~8 号各样品体积 V_总,分别精密量取每份药液 25 mL,水浴蒸干,105℃干燥 3 h,称定质量,按总固体含量 W = [(W_总 - W_皿)/25] × V_总 计算,即得。

2.4 阿魏酸含量测定

2.4.1 色谱条件 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. 阴性样品; 1. 阿魏酸

图 1 补阳还五汤阿魏酸 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 0.498 4 g·L⁻¹对照品储备液。

2.4.3 供试品溶液的制备^[3] 分别精密量取 1~8 号补阳还五汤药液 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 阴性干扰试验 按处方同法制备缺当归、川芎的阴性供试品溶液。

2.4.5 线性关系考察 精密吸取阿魏酸对照品溶液 2,5,10,15,20 μL,按上述色谱条件分别进样测定峰面积。以峰面积与对照品质量进行回归^[4],得回归方程 Y = 259.32X + 48.707 (r = 0.999 9),线性范围 0.996 8 ~ 9.968 μg。

2.4.6 精密度试验 取阿魏酸对照品溶液,重复进样测定 6 次,结果 RSD 0.28%,说明仪器精密度良好。

2.4.7 稳定性试验 取同一供试品溶液 10 μL,分别于 0,4,8,12,16,24 h 测定,结果 RSD 0.02%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

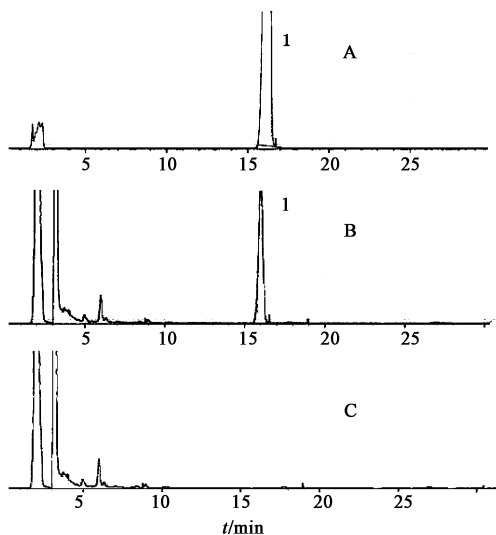
2.4.8 重复性试验 精密量取同一供试品 6 份,依法测定,结果 RSD 0.72%。说明重复性良好。

2.4.9 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 0.249 2 g·L⁻¹阿魏酸对照品溶液 1 mL 混合,水浴蒸干,残渣加 70% 甲醇,定容至 5 mL,作为加样回收的供试品溶液。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%,表明该方法可靠。

2.4.10 样品测定 分别取高压机器煎煮样品1~8号,依法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,进样量为10 μL 。

2.5 黄芪甲苷含量测定

2.5.1 色谱条件 流动相乙腈-水(35:65),蒸发管温度80 $^{\circ}\text{C}$,雾化温度50 $^{\circ}\text{C}$,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 μL 。色谱图见图2。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性样品;1. 黄芪甲苷

图2 补阳还五汤黄芪甲苷 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,加甲醇溶解并定容至25 mL,即得。

2.5.3 供试品溶液的制备 分别精密量取1~8号补阳还五汤药液40 mL,水浴加热蒸至5~10 mL,转移至分液漏斗中,加水饱和并正丁醇振摇提取3次,每次20 mL,合并3次正丁醇液至分液漏斗中,加入氨试液洗涤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^[5] 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液3,5,10,15,20,25,30,35 μL ,按上述色谱条件分别进样测定峰面积。以峰面积与对照品质量进行回归,得回归方程 $Y = 1.6403X + 5.497$ ($r = 0.9994$)。线性范围1.257~14.665 μg 。

2.5.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液进样6次,依法测定得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,测得RSD 1.50%,表明对照品溶液于12 h内稳定。

2.5.7 重复性试验 精密量取同一供试品6份,依法测定,得RSD 1.41%。

2.5.8 样品测定 分别取高压机器煎煮样品1~8号,依法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,进样量20 μL 。

2.6 正交试验分析^[6-7] 参照文献方法,用多指标试验全概率法进行数据处理,设 B_i 为第 i 号试验, A_j 为第 j 个指标, $i = 1, 2, 3 \dots n; j = 1, 2, 3 \dots k$,且 $A_1, A_2, A_3 \dots A_n$ 互不相容,又设各指标的重要程度之比为 $A_1 - A_2 - A_3 \dots - A_r = M_1 - M_2 \dots - M_r$,则:

$$P(A_j) = M_j/N, j = 1, 2, 3 \dots k \quad (1)$$

以 X_{ij} 表示第 j 个指标下的第 i 个测定值,以 S_j 表示第 j 个指标下各次(n 次)试验结果的和。即:

$$S_j = \sum_{i=1}^n X_{ij} \quad i = 1, 2, 3 \dots n \quad j = 1, 2, \dots, k; \quad (2)$$

$$P(B/A_1) = X_i/S_j$$

$$P(B_i)_{j=1}^k = \sum P(A_j)P(B_i/A_j) \quad i = 1, 2, 3 \dots, n \quad (3)$$

(3)式即为同时兼顾各指标综合效应的全概率公式分。以总固体物、阿魏酸及黄芪甲苷含量的加

表2 补阳还五汤高压煎药机煎煮工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	F(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	187.57	252.49	168.25	0.24
2	1	2	2	2	2	124.22	326.82	185.56	0.23
3	2	1	1	2	2	239.25	444.94	238.51	0.35
4	2	2	2	1	1	226.58	481.02	231.7	0.35
5	3	1	2	1	2	252.94	486.76	323.32	0.41
6	3	2	1	2	1	235.41	554.39	328.78	0.42
7	4	1	2	2	1	299.44	681.87	408.22	0.52
8	4	2	1	1	2	246.76	595.49	413.48	0.47
K_1	0.235	0.380	0.370	0.370	0.383				
K_2	0.350	0.386	0.379	0.382	0.367				
K_3	0.415								
K_4	0.495								
R	0.260	0.013	0.008	0.015	0.016				

和为综合评分,三者权重系数相同。综合分值公式用下式计算:

$$P(B_i) = P(B_i/A_1) + P(B_i/A_2) + P(B_i/A_3), i = 1, 2, 3, \dots, n, \text{ 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。}$$

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.072	3	2.00	>0.05
B	0.000	1	0.00	>0.05
C	0.000	1	0.00	>0.05
D	0.000	1	0.00	>0.05
E(误差)	0.07	6		

注: $F_{0.05}(3,6) = 3.29, F_{0.05}(1,6) = 3.78$

由表 2 结果可知,以综合评分为考察指标,各因素的影响顺序为 $A > D > B > C$;由表 3 方差分析可知,各因素对提取工艺无显著影响 ($P > 0.05$)。同时结合生产实际要求,确定优选工艺为 $A_4B_1C_2D_2$,即将药材加 12 倍量水浸泡 30 min,煎煮 60 min,煎煮温度 120 ℃。

2.7 验证试验 按优选的最佳工艺,取 7 剂药量进行验证试验,平行 3 份,测定总固体分别为 292.45, 290.03, 288.72 g;阿魏酸含量依次为 588.85, 588.88, 553.58 mg;黄芪甲苷含量分别为 553.05, 786.88, 740.63 mg。说明优选的煎煮工艺稳定,重复性好。

3 讨论

药理实验研究表明,补阳还五汤有效部位(黄芪总苷、多糖、生物碱等)具有良好的抗脑缺血损伤作用^[8-10]。方中黄芪用量占处方总量 83%,其主要有效成分黄芪甲苷具有强心、降压、抗心肌缺血、促进免疫功能和神经保护作用^[11];臣药当归尾具有抑制血小板聚集、抗血栓、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗心肌缺血及改善微循环的作用,其活性成分为阿魏酸^[12];故本试验以黄芪甲苷和阿魏酸 2 种成分作为含量测定的指标成分。现代学者普遍认为中药复方的疗效与方中的各个成分有关,单个活性成分的药理作用并不能完全代表整个方剂的生物活性^[13]。本研究中将宏观控制的总固体含量与黄芪甲苷、阿魏酸的含量结合起来,多指标综合评价中药汤剂煎煮的质量。本研究结果可为制订传统中药汤剂机器煎煮操作规程及汤剂的质量控制标准提供科学依据。

各因素对补阳还五汤提取工艺均没有显著性影响,可能是在 2 次煎煮时形成新的浓度差,而使有效成分溶出增加。在实验中发现当煎煮时间延长,阿

魏酸与黄芪甲苷的含量无明显下降,综合评分结果煎煮时间以 1 h 为宜。煎煮前的浸泡有利于有效成分的浸出,但长时间浸泡不利于浸出和生产,保持适当的浸泡时间,可以充分润透^[14],否则,药材表面组织所含蛋白质受热凝固、淀粉糊化,阻碍水分渗入组织内部,影响药物有效成分的煎出。但当药材有效成分完成扩散达到平衡后,时间就不起作用,且过长时间浸泡会导致大量杂质溶出,有效成分的氧化分解,从而导致含量降低。

【参考文献】

[1] 柴玉. 国家中医药管理局启动中医诊疗设备促进工程新型中药煎药机将在全国推广[J]. 中医药管理杂志, 2008, 16(10): 762.

[2] 张小平. 常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.

[3] 中国药典. 一部[S]. 2010;附录 XA.

[4] 李静, 杨博华, 杨丽娟, 等. 多指标正交试验优选复方溃疡膏最佳超临界二氧化碳萃取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 33.

[5] 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.

[6] 靳波, 刘友平, 彭月, 等. 多指标正交试验优选升麻提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 27.

[7] 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.

[8] 唐映红, 邓常青, 刘旺华, 等. 补阳还五汤 4 类有效部位对局灶性脑缺血大鼠脑梗死体积的影响[J]. 中草药, 2005, 36(2): 236.

[9] 欧明娥, 唐利文, 李花, 等. 补阳还五汤有效组分对血管内皮细胞黏附分子表达的影响及其信号转导机制[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(5): 430.

[10] 张伟, 吴露, 陈北阳, 等. 补阳还五汤及有效组分对大鼠增生血管内膜细胞外基质蛋白表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(1): 169.

[11] 徐先祥, 彭代银, 刘青云. 黄芪皂苷类成分对心血管系统的作用[J]. 北京中医药大学学报, 2000, 23(增刊): 128.

[12] 韩桂玲. 当归化学成分及活血化痰作用研究进展[J]. 中华临床医学研究杂志, 2005, 11(21): 3109.

[13] Xue T H, Rustum Roy. Studying traditional Chinese medicine [J]. Sci, 2004, 300: 740.

[14] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 154.

【责任编辑 全燕】