

不同煎煮方法对六味地黄汤浸出物及主成分含量的影响

谭家华, 罗君*, 贺祝英, 张建玲, 于佳
(贵阳中医学院第一附属医院, 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 考察煎药机煎法对中药复方汤剂总浸出物及有效成分的影响, 为科学评价煎药机煎药和中药饮片“后下”提供依据。方法: 以经典方“六味地黄汤”为代表方, 以汤剂浸出物和汤剂中丹皮酚的含量为指标, 评价汤剂质量。结果: 丹皮酚在煎药机煎液中的含量为 $0.0187 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 显著高于传统煎液, 而总浸出物则相反。结论: 传统煎法与煎药机煎法煎煮的六味地黄汤剂在质量上存在较大差异。

[关键词] 煎煮方法; 六味地黄汤; 总浸出物; 丹皮酚

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0085-03

The Impact of Different Decocting Methods for Liuwei Dihuang Decoction's Extract and Active Ingredients

TAN Jia-hua, LUO Jun*, HE Zhu-ying, ZHANG Jian-lin, YU Jia

(The First Affiliated Hospital of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the impact of machine-boiling decoction on TCM prescription's total extracts and active ingredients, to provide a basis for the scientific evaluation of the extracting machine and the theory of Chinese Herbal medicine or 'decocted later' to provide a basis. **Method:** The classic prescription 'Liuwei Dihuang decoction' was used as the representative, and the content of the two decoctions was analyzed with RP-HPLC using paeonol as indicator was analyzed. This result was used to evaluate the quality of decoctions. **Result:** Paeonol in the decoctions of the machine-boiling was significantly higher than that of the traditional one.

[收稿日期] 20111031(006)

[基金项目] 贵阳中医学院基金项目([2010]30号)

[第一作者] 谭家华, 学士, 副主任药师, 从事中药质量控制与新药研究, Tel:0851-8612596, E-mail:53011402@qq.com

[通讯作者] *罗君, 硕士, 药师, 从事中药质量控制与新药研究, Tel:0851-8612596, E-mail:luojun031009@163.com

[4] Feng C, Ruan J L, Cai Y L. Simultaneous Determination of 10 active components in traditional Chinese medicine "YIGONG" Capsule by RP-HPLC-DAD [J]. J Pharm Bio Anal, 2008, 47(2): 442.

[5] Guan X Y, Li H F, Yang W Z, et al. HPLC-DAD-MS (n) analysis and HPLC quantitation of chemical constituents in Xian-ling-gu-bao capsules [J]. J Pharm Bio Anal, 2011, 55(5): 923.

[6] 卢闻, 贺浪冲, 杨广德, 等. 白川降压胶囊 HPLC 指纹图谱定性定量分析方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1999.

[7] Gao Y, Gao W Y, Guo P, et al. Simultaneous determination of nine active components in Traditional

Chinese Medicine 'Xue-Fu-Zhu-Yu' capsule by HPLC-ELSD [J]. Latin American J of pharmacy, 2011, 30(2): 281.

[8] Kasawar G B, Farooqui M N. Development and validation of HPLC method for the determination of pregabalin in capsules [J]. Indian J pharm sciences, 2010, 72(4): 517.

[9] Batista AND, Colombo R, de Pascoli IC, et al. Development and validation of a HPLC method for standardization of herbal and commercial extracts of Myrcia uniflora [J]. Revista brasileira de farmacognosia-brazilian J of pharmacognosy, 2011, 21(3): 402.

[责任编辑 蔡仲德]

But the result is opposite to the total extracts. **Conclusion:** The significant quality difference of ‘Liuwei Dihuang decoction’ is between the tradition-boiling method and the machine one.

[**Key words**] different decoction; Liuwei Dihuang decoction; total extractives; paeonol

汤剂是方剂中应用最为广泛的药物剂型,因可随临床需要实现个体化给药一直延用至今,汤剂质量的优劣直接影响中药复方的疗效。中药煎药机改善了煎药条件,简化了煎药程序,提高了煎药效率,极大地方便了患者。因其在煎煮过程中为密闭性一次煎煮,故其在设计上就无法实现有些中药需“后下”的煎煮方式;同时,煎药机煎液的色泽较传统煎液色泽淡,其煎液质量也受到了质疑。六味地黄汤原载于《小儿药证直决》,是中医“滋补肾阴”的经典代表名方,现广泛应用于临床。丹皮酚为六味地黄丸和牡丹皮的主要有效成分之一^[1]。为进一步比较传统煎法与煎药机煎法的煎药质量,本试验对 2 种不同煎煮方法煎煮的六味地黄汤浸出物中有效成分丹皮酚的含量进行了对比研究,以期传统煎法与煎药机煎法的煎剂质量及科学评价煎药机煎药和中药“后下”提供依据。

1 仪器与试药

东华 YFY-13 型煎药机(北京东华医疗设备有限公司),AF-254 型梅特勒电子分析天平,Agilent-1100 型高效液相色谱仪(美国惠普公司),丹皮酚对照品(批号 110708-200506) 购自中国药品生物制品检定所,六味地黄汤(熟地黄 24 g、山茱萸 12 g、山药 12 g、泽泻 9 g、茯苓 9 g、丹皮 9 g 组方)药材均购于贵州济仁堂医药公司,经贵阳中医学院第一附属医院张建玲主任药师鉴定,均符合《中国药典》(2010 年版)各药项下规定。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 六味地黄汤煎液的制备

2.1.1 传统煎液 称取处方 6 倍量,加 10 倍量水浸泡 30 min,用武火加热。至沸后改为文火,煎煮 30 min,滤出煎液。药渣再加 8 倍量水煎煮 30 min。滤出煎液,合并 2 次煎液,浓缩至 3 000 mL,作为供试品储备液。

2.1.2 煎药机煎液 称取处方 6 倍量,用无纺布袋包裹,加 10 倍量水浸泡 30 min,加热。待压力达到 0.1 MPa,温度达到 100 ℃时,记时,煎煮 30 min,放出煎液。用蒸馏水定容至 3 000 mL,作为供试品储备液。同法制备缺牡丹皮阴性试品储备液。

2.2 总浸出物含量测定 分别取上述两储备液,置

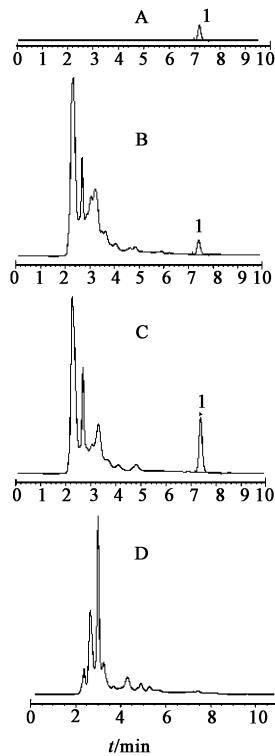
已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴锅上浓缩至干,按 2010 年版《中国药典》(一部)浸出物测定法测定,结果见表 1。

表 1 两组六味地黄汤总浸出物含量、煎出率及丹皮酚的含量(n=3)

组别	总浸出物量	煎出率	丹皮酚含量	RSD
	/g	/%	/g·L ⁻¹	/%
传统煎液	154.5	11.44	0.004 8	2.08
煎药机煎液	135	10	0.018 7	2.42

2.3 六味地黄汤煎液中丹皮酚的含量测定

2.3.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水(65:35),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 274 nm,柱温 25 ℃,色谱图见图 1。



A. 对照品;B. 传统煎液样品; C. 煎药机煎液样品;D. 缺牡丹皮阴性样品; 1. 丹皮酚

图 1 对照品及六味地黄汤煎液的 HPLC

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取丹皮酚对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.090 7 mg 的溶液,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密吸取六味地黄汤

煎液 10 mL,置分液漏斗中,加乙酸乙酯萃取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,挥干,残渣加甲醇溶解,定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜,即得。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取丹皮酚对照品溶液 0.1,0.5,0.9,1.3,1.7,2.1 μL 进样,按上述色谱条件测定丹皮酚峰面积。以丹皮酚进样量为横坐标(X),丹皮酚峰面积为纵坐标(Y),得回归方程 $Y = 207.99X - 139.97$ ($r = 0.9996$),丹皮酚在 0.0091~0.1905 μg 线性关系良好。

2.3.5 精密度试验 分别精密吸取丹皮酚对照品溶液 0.5 μL,连续进样 6 次,丹皮酚峰面积的 RSD 1.3%,表明精密度良好。

2.3.6 重复性试验 精密吸取同一煎药机煎剂共 6 份,照 2.3.3 项下供试品溶液的制备方法制备,测定得丹皮酚含量的 RSD 1.87%,表明方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液分别于 0,2,4,6,8,10 h 进样,测定得丹皮酚含量的 RSD 2.39%,表明供试液至少在 10 h 内稳定。

2.3.8 加样回收率试验 取已知含量的煎药机煎剂共 6 份,精密吸取 5 mL,精密加入对照品溶液 1 mL,加入蒸馏水 4 mL,照 2.3.3 项下供试品溶液的制备方法制备,精密吸取供试品溶液 10 μL,进行测定,结果丹皮酚的平均回收率分别为 98.82%,RSD 1.71%,见表 2。

表 2 丹皮酚的加样回收率测定($n=6$)

No.	样品含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.0935	0.1836	99.38		
2	0.0935	0.1816	97.17		
3	0.0935	0.1835	99.27		
4	0.0935	0.1813	96.78	98.82	1.71
5	0.0935	0.1832	98.89		
6	0.0935	0.1855	101.4		

注:丹皮酚加入量均为 0.0907 mg。

2.4 样品测定 取不同六味地黄汤煎液,照 2.3.3 项下的方法制备供试液溶液,照 2.3.1 项下的色谱条件进行测定,记录峰面积,计算样品中丹皮酚的含量,见表 1。

3 讨论

实验中,对供试液的制备方法进行了优选,结果表明,乙酸乙酯萃取 2 次,每次 20 mL,即可将煎液中的丹皮酚萃取完全,避免了用乙醚萃取的毒性^[2],又简化了供试品溶液制备的步骤^[3],且阴性无干扰。

实验中,对不同流动相和柱温进行了优选^[1-3],流动相选用甲醇-水(65:35),柱温为 25 ℃,在此条件下丹皮酚保留时间为 7 min 左右,其峰型和分离度均好,方法简便、灵敏、选择性好。

传统煎药方法由于药液长时间暴露在空气中,药物中的蒽醌、黄酮等化合物易发生氧化反应,造成药液颜色较深;煎药机是在密闭性能良好的容器中进行煎煮,减少了发生氧化反应的可能性,这是传统煎液色泽较深的原因。

通过两种煎液 HPLC 图谱比较,乙酸乙酯萃取部分所含成分基本一致,但煎药机煎液中丹皮酚的含量明显高于传统煎液中丹皮酚的含量;有研究报道对六味地黄汤不同剂型等煎出率进行过研究^[4-5],其结果与本文一致。说明煎药机的汤液质量在某种程度上优于传统煎液。同时,在使用煎药机煎煮中药时,如有需“后下”的饮片,可与其他饮片一起煎煮。然总浸出物结果与丹皮酚含量测定结果相反,两种煎药方法对其他成分的煎出率是否有差异,尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:160.
- [2] 吴忠义,陈宗良,吴立成,等. HPLC 测定不同煎法徐长卿中丹皮酚含量[J]. 中国现代中药,2009,11(9):31.
- [3] 李冀湘,穆兰澄,牟继征,等. 六味地黄汤两种剂型煎出率的比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(7):47.
- [4] 穆兰澄,曹京梅,牟继征,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.
- [5] 穆惠慈,章仲懿,夏勤. 不同煎煮方法对六味地黄汤中丹皮酚含量的影响[J]. 中国药业,1997(8):16.

[责任编辑 蔡仲德]