

用 2% NaHCO_3 溶液洗脱除杂,其中上样液质量浓度为 5.99 mg/ml,上样体积为 2 倍柱体积(100 ml),吸附流速为 1.1 ml/min,用 70% 乙醇洗脱,用量 5 倍柱体积(250 ml),洗脱流速为 1.0 ml/min。X-5 型大孔树脂富集和纯化人参总皂苷的容量大、效果好,且工艺简便,生产连续化程度高,适宜于工业化生产人参总皂苷的分离纯化。

参 考 文 献

[1] 毛祖林,李晓波,龚文明,等. 人参皂苷提取工艺优选[J]. 时珍国医国药,2008,19(11):2762-2763.

- [2] 丁振铎,桑咏梅,薛佳,等. 大孔树脂纯化八珍汤苷类部位的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报,2010,26(5):518-523.
- [3] 闫广军,张宝江,徐道娟. 几种常用人参提取工艺研究比较[J]. 山东医药工业,2002,21(4):88.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:8.
- [5] 郑宏钧,詹亚华. 现代中药材鉴别手册[M]. 北京:中国医药科技出版社,2001:33.
- [6] 阴健,郭力弓. 中药现代研究与临床应用[M]. 北京:学苑出版社,1994:1.

(收稿日期:2012-10-09)

(本文编辑:刘群)

煎药机煎煮时浸泡时间对旋覆代赭汤 5 种有效成分溶出量的影响

张家成 刘峰 张岩 章军 穆兰澄 郭允 彭智平 焦拥政 仝小林

【摘要】 目的 以旋覆代赭汤中人参和甘草为主要研究对象,运用高压中药煎煮机,初步探索复方中人参和甘草在高压煎煮时浸泡时间对主要成分溶出的影响。**方法** 浸泡时间:0、10、20、30、40、50、60、120 分钟。煎煮时间:30 分钟。加水量:6 倍。煎煮次数:1 次。用简单对比实验法确定煎煮工艺。每种工艺取旋覆代赭汤(人参 6 g、旋覆花 9 g、代赭石 9 g、炙甘草 6 g、清半夏 9 g、大枣 4 枚、干姜 10 g)10 剂,使用高压煎药机进行煎煮,重复 3 次。用高效液相色谱法(HPLC 法)测定其煎煮液中所含 5 种有效成分人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、甘草酸铵、绿原酸含量,计算、比较不同煎煮工艺下煎出液中各有效成分的溶出量并绘制溶出曲线。**结果** 在煎煮时间 30 分钟,加水量 6 倍药重条件下,不同浸泡时间对旋覆代赭汤中人参、甘草等主要成分的含量没有明显影响。**结论** 在煎煮时间 30 分钟,加水量 6 倍药重的高压煎煮条件下,煎煮前的浸泡时间对药材中部分成分的溶出无明显影响。

【关键词】 旋覆代赭汤; 煎药机; 煎煮工艺; 高效液相色谱; 有效成分

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.02.003

Immersion time influence on 5 major bioactive components of Xuanfu Daizhe Decoction decocted by modern decocting medicinal herbs machine ZHANG Jia-cheng, LIU Feng, ZHANG Yan, et al. Department of Endocrinology, Guang'an men Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China

Corresponding author: TONG Xiao-lin, E-mail: xiaolintong66@sina.com; LIU Feng, E-mail: liufeng3021@163.com

基金项目:国家中医药管理局 2010 年度中医药行业科研专项(201007010);国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2010CB530602)

作者单位:100053 北京,中国中医科学院广安门医院内分泌科[张家成(硕士研究生)、刘峰、张岩(硕士研究生)、郭允(硕士研究生)、彭智平(硕士研究生)、仝小林],药剂科(穆兰澄),中医男科兼科研处(焦拥政);北京中医药大学针灸推拿学院[张家成(硕士研究生)];中国中医科学院中药所(章军)

作者简介:张家成(1985-),2005 级七年制在读硕士研究生。研究方向:糖尿病临床及科研。E-mail:13426324787@163.com

通讯作者:仝小林(1956-),博士,博士生导师,主任医师,中国中医科学院首席研究员,国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目首席科学家。研究方向:中医内分泌临床及科研。E-mail: xiaolintong66@sina.com;刘峰(1979-),博士,出站博士后。研究方向:中药煎煮规范化研究。E-mail: liufeng3021@163.com。仝小林、刘峰并列本文通讯作者。

【Abstract】 Objective Taking Xuanfu Daizhe Decoction as the main research object, we study synthetically on the relationship between the dissolving-out quantity of the active ingredients and the immersion time which influence the quality of decoction in the modern decocting medicinal herbs machine. Through this way, optimum immersion time for preparation of Xuanfu Daizhe Decoction by machine is obtained which will guiding the clinic better. **Methods** Immersion time (min): 0,10,20,30,40,50,60,120. decoction time(min): 30. water addition(multiple): 6. extraction times;1. Determine the decocting process by simple comparison method. Using the hospital's decocting medicinal herbs machine, each process take 10 formula of Xuanfu Daizhe Decoction(RenShen 6 g、XuanFuHua 9 g、DaiZheShi 9 g、ZhiGan-Cao 6 g、QingBanXia 9 g、Dazao 12 g、GanJiang 10 g) to decoct three times. HPLC method was applied to quantify and compare the dissolve quantity of 5 major bioactive components (Ginseng saponins Re, Ginseng saponins Rg₁, Ginseng saponins Rb₁, ammonium glycyrrhetate, chlorogenic acid) in the decoction of each process. Then we will draft the curves of dissolutions and arrive to a final conclusion. **Results** Using decocting medicinal herbs machine to decoct herbs, immersion time has no obvious effect on dissolving-out quantity of active ingredients. **Conclusion** Recognize initially that it needn't steep before we use the decocting medicinal herbs machine to decoct Xuanfu Daizhe Decoction if the water addition and the decoction time is reasonable arranged.

【Key words】 Xuanfu Daizhe Decoction; Decocting medicinal herbs machine; Decocting process; HPLC; Active ingredients

一般认为,煎煮前浸泡一定程度上能提高煎煮质量。杨丽玲等^[1]以人参皂苷 Rb₁, Rg₁, Re 为考察指标,采用高效液相色谱法测定红参须不同浸泡时间提取物的皂苷含量,结果发现浸泡时间对红参须有效成分提取含量有影响,但对不同单体影响不一,三种单体浸泡 48 小时含量均为最高。玛依热等^[2]采用高效液相色谱法测定板蓝根中表告依春在不同浸泡时间下含量的变化,结果发现浸泡时间是影响板蓝根药材中表告依春含量的主要因素。金玉琴等^[3]以贝母素甲、贝母素乙作为指标成分,研究不同浸泡时间对浙贝母有效成分提取的影响,结果发现浙贝母饮片用常规煎煮方法很难煮透,至少应先浸泡 1 小时,才能使有效成分较好地溶出,发挥更好的药效。但对于煎药机煎煮时的浸泡时间鲜有学者进行系统研究。

本研究选用《伤寒论》旋覆代赭汤中的人参和甘草为研究对象,以煎药机所煎出药液中人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、甘草酸铵、绿原酸等有效成分为观察指标,选取其在煎煮过程中的浸泡时间为主要观察因素,探讨煎煮前浸泡对复方中人参和甘草主要成分含量的影响。

1 材料

1.1 饮片

由南京海源中药饮片有限公司提供,经鉴定均符合《中华人民共和国药典》2010 年版药材质量要

求。处方组成:人参 6 g、旋覆花 9 g、代赭石 9 g、炙甘草 6 g、清半夏 9 g、大枣 4 枚、干姜 10 g。药材生产日期、规格、批号、产地分别为:人参,2011-08-16,1 kg/袋,110815,吉林;旋覆花,2011-01-07,0.5 kg/袋,110406,安徽;代赭石,2011-05-17,1 kg/袋,110516,安徽;炙甘草,2011-03-16,1 kg/袋,110315,内蒙;清半夏,2011-04-08,1 kg/袋,110407,四川;大枣,2011-04-01,1 kg/袋,110331,山西;干姜,2011-04-23,1 kg/袋,110427,四川。

1.2 仪器

北京东华原十功能自动煎药机 YJD20-GL;岛津 LC-20A 高效液相色谱仪,LC solution 工作站;天平 Sartorius BP211D。

1.3 试药

对照品均为含量测定用,购买单位及批号见表 1;乙腈为 Fisher, HPLC 级;水为娃哈哈高纯水;磷酸,含量 85%,分析纯;甲醇为优级醇。

表 1 对照品信息

名称	生产厂家	批号
人参皂苷 Rg ₁	中药固体制剂制造技术 国家工程研究中心	1270-090207
人参皂苷 Re	中国食品药品检定研究院	0754-200013
人参皂苷 Rb ₁ (纯度 92.6%)	中国食品药品检定研究院	110704-200921
甘草酸铵	中药固体制剂制造技术 国家工程研究中心	1234-091020
绿原酸	中国食品药品检定研究院	110753-200413

2 方法

2.1 供检样品制备条件与方法

(1)煎药机高压煎煮,煎煮 1 次,温度设定 120 ℃。(2)浸泡时间:0、10、20、30、40、50、60、120 分钟。(3)加水量选取每剂药重量倍数:6 倍。(4)煎煮时间选取:30 分钟;从沸腾后开始记录。(5)简单对比实验法确定煎煮工艺;每种工艺旋覆代赈汤 10 剂进行煎煮,重复 3 次,记录煎出液量以及煎煮总时间等数据。(6)煎出液包装待测。

2.2 供试品中含量测定方法

2.2.1 色谱条件 色谱柱 Diamosil (钻石), C_{18} , 5 μm , 4.6 mm \times 250 mm;流动相以 0.1% 磷酸溶液为 A,以乙腈为 B,梯度洗脱,0 ~ 10 分钟,5% ~ 10% B;10 ~ 28 分钟,10% ~ 15% B;28 ~ 58 分钟,15% ~ 18% B;58 ~ 75 分钟,18% ~ 25% B;75 ~ 125 分钟,25% ~ 50% B;125 ~ 130 分钟,50% ~ 5% B,流速 1 ml/min;柱温 35 ℃;进样量 10 μl ;检测波长,人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 为 203 nm,甘草酸铵为 254 nm,绿原酸为 330 nm。该条件下对照品及供试品 HPLC 图见图 1、图 2。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} 、甘草酸铵和绿原酸对照品适量,加

甲醇配制成每 ml 分别含 201.28, 176.64, 174.56 (将纯度计算在内,实际含量为 161.64 μg), 200.00, 179.20 μg 的混合对照品溶液。

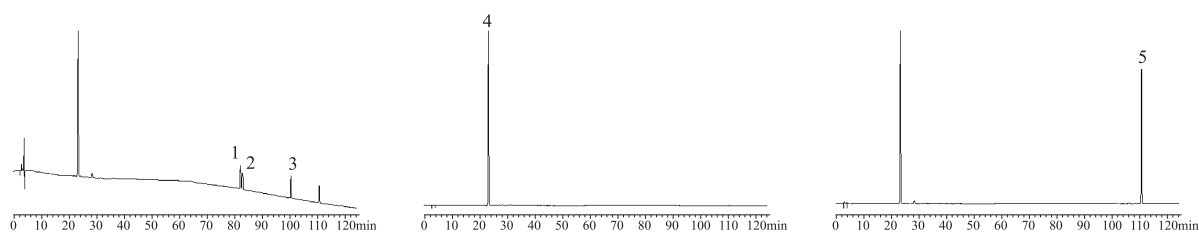
2.2.3 供试品溶液的制备 精密移取旋覆代赈汤 100 ml,旋转蒸发仪蒸干,用 80% 甲醇溶解残渣,5000 rpm 离心 5 分钟,取上清液置 10 ml 容量瓶中,加 80% 甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 测定方法 分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μl ,注入 HPLC,按 2.1 色谱条件测定,记录峰面积,以外标一点法计算供试品中各成分含量。

3 结果

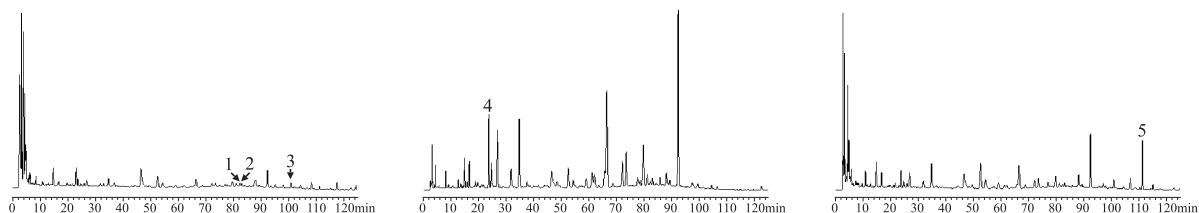
所选实验以浸泡时间:0、10、20、30、40、50、60、120 分钟,分别编号为 1#, 2#, 3#, 4#, 5#, 6#, 7#, 8#;对所测定结果进行计算得煎出液有效成分溶出总量,见表 2。经过非参数检验中的 Kruskal-Wallis 检验对所得结果进行分析,在煎药机煎煮时浸泡时间对其影响不明显。

通过对以上实验数据进行作图分析,相同煎煮时间、加水量,不同浸泡时间所煎出有效成分含量如图 3。



1: 人参皂苷 R_{g_1} ; 2: 人参皂苷 R_e ; 3: 人参皂苷 R_{b_1} ; 4: 绿原酸; 5: 甘草酸铵

图 1 对照品 HPLC 图



1: 人参皂苷 R_{g_1} ; 2: 人参皂苷 R_e ; 3: 人参皂苷 R_{b_1} ; 4: 绿原酸; 5: 甘草酸铵

图 2 供试品 HPLC 图

表 2 旋覆待赭汤中有效成分含量结果/mg (n = 3)

样品	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Rb ₁	甘草酸铵	绿原酸
1#	92.37	96.23	109.53	79.47	10.86
2#	100.59	154.86	223.05	116.94	36.33
3#	87.93	177.23	193.15	104.98	26.68
4#	112.18	119.5	217.78	134.88	32.63
5#	116.87	133.15	218.53	130.23	30.11
6#	100.16	138.46	218.15	116.76	32.14
7#	98.13	126.45	228.3	119.43	36.90
8#	104.55	111.81	230.27	131.46	27.84

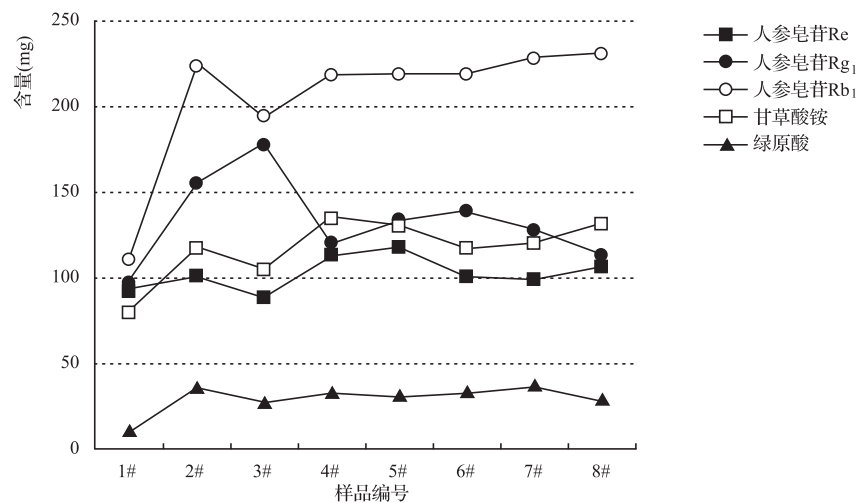


图 3 煎煮 30 分钟、加水量 6 倍,不同浸泡时间对有效成分的影响

4 小结和讨论

本研究中选择家庭煎煮常用的 6 倍药物重量为加水量,煎煮时间 30 分钟,结果显示,浸泡时间对复方中人参和甘草的成分溶出影响不大,有效成分煎出量并未与浸泡时间呈明显正相关趋势。

产生这种现象的原因可能有以下几个方面:(1)高压环境促进药材主要成分的溶出:药材的浸泡是水分子沿药材表面不断向内部渗透的过程,药材是固态结构,内部压力基本恒定,当外界压力增加时,内外压差增大,加速了水分子向药材内部的渗透,从而促进了药材内部成分的溶出。(2)加水量相对能够满足药材主要成分的溶出:药材中主要成分的溶出速率与水中该成分的密度密切相关,当水中的该成分密度低于其在水中的饱和度时,药材中的该成分才能不断的溶出,同等条件下,密度越小溶出越快。(3)煎煮时间相对能够保证药材中主要成分的溶出:药材中主要成分的溶出不是一蹴而就的,需要一定时间才能达到充分溶出的目的。在

该研究中,相应煎煮条件下,煎煮时间能够满足药材中主要成分的溶出时间需求。

总之,在煎药机高压煎煮时,对于部分中药饮片来说,煎煮前的药材浸泡,在一定条件下,对煎煮质量的影响不大,由于在本研究中只选择了加水 6 倍药重、煎煮时间 30 分钟等固定煎煮参数,当加水量不足、煎煮时间低于该参数的情况下,适当的浸泡是否对煎煮质量有一定的影响,需要进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] 杨丽玲,吴铁. 浸渍法提取人参皂苷最佳浸泡时间的研究[J]. 云南中医学院学报,2009,32(5):39-42.
[2] 玛依热,古丽斯坦·阿吾提,帕丽达. 浸泡时间对板蓝根有效成分表依春含量测定影响的考察[J]. 内蒙古中医药,2011,30(20):42.
[3] 金玉琴,曾国武,王龙虎,等. 不同浸泡时间对浙贝母有效成分提取的影响[J]. 中国药业. 2010,21(20):24-25.

(收稿日期:2012-06-13)

(本文编辑:刘群)