论著。

慢性咽炎协定处方代茶饮两种制备方法的比较

张婧 张晋京 苏爽 郑金凤 王景红

【摘要】目的 测定两种不同方法制备的慢性咽炎协定处方代茶饮其主要指标含量差异,探索适当的制备条件,为指导患者合理用药提供依据。方法 采用单因素考察法比较该处方水煎煮和水泡服两种方法制备的代茶饮水溶性浸出物的情况;采用紫外分光光度法测定两种代茶饮水溶液吸光度的变化;采用高效液相色谱法测定两种代茶饮水溶液中绿原酸和木犀草苷的含量变化;采用微生物限度检查法测定两种代茶饮水溶液的细菌、霉菌、酵母菌和大肠埃希菌染菌情况。结果水泡服代茶饮出膏率21.46%,紫外吸光度在326 nm 下为1.052,主要成分绿原酸、木犀草苷含量总和为141.11 mg,微生物检查情况为细菌90 cfu/mL、霉菌<10 cfu/mL、未检出大肠埃希菌;水煎煮代茶饮出膏率28.38%,紫外吸光度在326 nm 下为1.162,主要成分绿原酸、木犀草苷含量总和为131.21 mg,微生物检查情况为细菌70 cfu/mL、霉菌<10 cfu/mL,未检出大肠埃希菌。结论 水煎煮代茶饮在出膏率和吸光度上占有优势,水泡服代茶饮在主要成分溶出率占有优势,二者均符合微生物限量检查标准。

【关键词】 代茶饮; 泡服; 煎煮; 含量测定; 绿原酸; 木犀草苷 【中图分类号】 R284 【文献标识码】 A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.12.005

The comparison of two preparation methods of chronic pharyngitis agreement prescription herbal tea ZHANG Jing, ZHANG Jin-jing, SU Shuang, et al. Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100102, China

Corresponding author: WANG Jing-hong, E-mail: wangjinghong2002@126.com

[Abstract] Objective To detect the content difference of the main indexes in two different preparation methods of chronic pharyngitis on prescription herbal tea, to explore the proper preparation conditions and guide the rational use of drugs in patients. Methods The single factor investigation method was used to compare the water-soluble extractives of two kinds of the herbal tea by soak and decoction. The ultraviolet spectrophotometry was used to compare the absorbance of two kinds of the herbal tea. The high performance liquid chromatography was used to measure the content change of chlorogenic acid and galuteolin in the two kinds of the herbal tea. The microbial limit tests were used to measure the bacteria, mycete, saccharomycete, and escherichia coli (e. coli) in the two kinds of the herbal tea. Results For the herbal tea by soak, the extract rate was 21.46%, the ultraviolet absorbance under 326 nm was 1.052, the total content of chlorogenic acid and galuteolin was 141.11 mg, the bacteria was 90 cfu/mL, the mycete was less than 10 cfu/mL, and e. coli was not detected. For the herbal tea by decoction, the extract rate was 28.38%, the ultraviolet absorbance under 326 nm was 1.162, the total content of chlorogenic acid and galuteolin was 131.21 mg, the bacteria was 70 cfu/mL, the mycete was less than 10 cfu/mL, and e. coli was not detected. Conclusion The herbal tea by decoction has the advantages on the extract rate and absorbance, and the advantages of the herbal tea by soak is dissolution rate of main ingredients. They both are accord with standard of microbial limit examination.

作者单位: 100102 北京,中国中医科学院望京医院药学部

作者简介: 张婧(1984-),女,本科,主管药师。研究方向:临床药学。E-mail:zhangjing10132003@126.com 通讯作者: 王景红(1965-),女,本科,主任药师。研究方向:医院药学。E-mail:wangjinghong2002@126.com

[Key words] Herbal tea; Soak; Decoction; Content determination; Chlorogenic acid; Galuteolin

中药的煎煮方法已有2000多年的历史,历代名医都十分重视。煎药的器具、煎药用水、服用的方法等都非常考究,在古书中均有详细的记载。李时珍阐述了药液煎煮不当的不良后果:"凡服汤药,虽品物专精,修治如法,而煎药者鲁莽造次,水火不良,火候失度,则药亦无功。"《医药源流改》曰:"病之愈不愈,不但方中病,方虽中病,而服之不得其法,则非特无功,而反有害,此不可不知也。"古人已认识到中药煎煮过程中有许多因素影响煎煮质量,其煎煮质量的好坏直接影响药物治病的疗效;正确的煎煮和服药方法可增加中药的治疗功效,达到事半功倍的效果,有助于疾病的治疗,更能够充分地发挥药物的功效。

中药代茶饮始于三国时期,清代中药代茶饮发展最为迅速,成为清宫皇室防治疾病的重要剂型之一。近年来,随着大众对中医养生的喜爱,代茶饮的应用更加的广泛,但对于代茶饮的具体服用方法并没有统一的标准可循。中国中医科学院望京医院治疗慢性咽炎的代茶饮处方使用频率较高,为呼吸科及耳鼻喉科常用处方,该处方为:菊花 10 g、金银花3 g、胖大海3 g、麦冬6 g、甘草3 g,方中菊花清热宣肺为君药;金银花和胖大海清热解毒共为臣药;麦冬养阴利咽为佐药;甘草调和诸药为使药。为比较此代茶饮处方泡服和煎煮效果,提高药物临床治疗效果、指导患者合理用药,避免中草药资源的浪费,故对此协定处方代茶饮两种制备方法进行比较研究。

1 材料与方法

1.1 仪器

Agilent 1200 Series 高效液相色谱仪(G1312B四元梯度泵、G1322A脱气机、G1316B柱温箱、G1329B自动进样器、G1315C二极管阵列紫外检测器)、UV-2450紫外分光光度仪(日本岛津)、1810A摩尔原子型超纯水器(上海摩勒科学仪器有限公司)、赛多利斯 Bp211DAG 电子天平(德国Sartorius)、DHG-9246A电热恒温鼓风干燥箱(上海江华仪器有限公司)、HH-2恒温水浴锅(金坛市新航仪器)。

1.2 药材

菊花 Chrysanthemum morifolium Ramat(产地:浙

江, 批号: 141181791), 金银花 Lonicera japonica Thunb(产地:河南,批号: 141280441), 胖大海 Sterculia lychnophora Hance(产地:云南,批号: 140182061), 麦冬 Ophiopogon japonicus(L.f) Ker-Gawl(产地:四川,批号: 141281701), 甘草 Glycyrrhiza uralensis Fisch(产地:内蒙古,批号: 141282091)均由康美药业股份有限公司北京分公司提供。

1.3 药品与试剂

绿原酸(110753-201314)、木犀草苷(111720-201408)均由中国食品药品生物制品检定研究院提供;色谱乙腈(美国 Fisher 公司);水为超纯水(实验室自制),其他试剂均为分析纯。

1.4 代茶饮制备工艺研究

1.4.1 泡服温度考察 (1)样品制备:按处方量称取中药饮片置于500 mL 烧杯中,分别加入80℃、90℃、100℃的纯化水400 mL,浸泡30分钟后,纱布过滤,滤液冷却至室温后定容至500 mL 即得。(2)水溶性浸出物测定:精密量取上述滤液25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于105℃干燥3小时,置干燥器中冷却30分钟,迅速精密称定重量,计算水溶性浸出物的含量。(3)水溶性浸出物紫外吸光度的测定:精密量取上述滤液1 mL,置于25 mL容量瓶中,用纯水稀释至刻度。在紫外分光光度计下进行全波段扫描(200~800 nm),得最大吸收波长信息,并在该波长下,测定不同温度下代茶饮水溶性浸出物吸光度。

1.4.2 泡服次数考察 (1)样品制备:按处方量称取中药饮片置于500 mL烧杯中,加入100℃的纯化水浸泡5次,每次浸泡30分钟,第1次加水400 mL,2~5次加水200 mL,纱布过滤,分别收集滤液,冷却至室温后定容至500 mL即得。(2)水溶性浸出物测定:精密量取上述滤液25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于105℃干燥3小时,置干燥器中冷却30分钟,迅速精密称定重量,计算水溶性浸出物的含量。(3)水溶性浸出物紫外吸光度的测定:精密量取上述滤液1 mL,置于25 mL容量瓶中,用纯水稀释至刻度。在326 nm下,测定不同泡服次数下代茶饮水溶性浸出物吸光度。

1.5 水泡服和水煎煮两种代茶饮制备方法的比较 1.5.1 水泡服和水煎煮 两种代茶饮制备(1)水 泡服代茶饮:按筛选最佳工艺条件制备,即按处方量称取中药饮片置于500 mL 烧杯中,加入100℃的纯化水浸泡3次,每次浸泡30分钟,第1次加水400 mL,2、3次加水200 mL,纱布过滤,合并滤液,冷却至室温后定容至1000 mL 即得。(2)水煎煮代茶饮:按处方量称取中药饮片置于500 mL 烧杯中,加水煎煮3次,第一次加水400 mL,2、3次加水200 mL,每次煎煮30分钟,纱布过滤,合并滤液,冷却至室温后定容至1000 mL 即得。

- 1.5.2 两种代茶饮水溶性浸出物测定 精密量取 两种代茶饮滤液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105℃干燥 3 小时,置干燥器中冷却 30 分钟,迅速精密称定重量,计算水溶性浸出物的含量。
- 1.5.3 两种代茶饮紫外吸光度测定 精密量取上述滤液 1 mL,置于 25 mL 容量瓶中,用纯水稀释至刻度。在 326 nm 下,测定两种制备方法的代茶饮水溶性浸出物吸光度。

1.6 两种代茶饮微生物限量检查

(1)供试液的制备:取供试液 10 mL,加 pH 7.0 无菌氯化钠—蛋白胨缓冲液至 100 mL,混匀,作为供试液(1:10)。(2)检查方法:采用 10-1 薄膜过滤法,滤膜孔径为 0.45 μm,直径为 50 mm。滤膜及滤器在使用前采用 121℃高压灭菌 30 分钟。试验过程中,应保持滤膜前后的完整性。将制备好的供试液(1:10)过滤,然后用 100 mL pH 7.0 无菌氯化钠—蛋白胨缓冲液(注意保持供试品溶液覆盖整个滤膜表面)。总冲洗量不超过 1000 mL,冲洗后,用镊子取出滤膜,菌面朝上贴于营养琼脂培养基或玫瑰红钠琼脂培养基平板上培养。细菌于 34℃培养48 小时,霉菌于 26℃培养72 小时。

1.7 两种代茶饮 HPLC 含量测定

- 1.7.1 色谱条件与系统适用性 试验 Phenomenex C_{18} 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);以乙腈为流动相 A,以 0.1% 磷酸溶液为流动相 B,洗脱程序,0~11分钟,10%~18% A;11~30 分钟,18%~20% A;30~40 分钟,20% A;检测波长为 348 nm,流速为1.0 mL/min;柱温为 30℃。在选定条件下,测定理论塔板数(N)。
- 1.7.2 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品、木犀草苷对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加70%甲醇制成每1 mL 含绿原酸 125.64 μg,木犀草苷25 μg的混合溶液,即得(10℃以下保存)。

- 1.7.3 供试品溶液的制备 取 1.5.1 项下两种代 茶饮溶液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。
- 1.7.4 线性关系 考察精密吸取上述混合对照品 溶液 $10~\mu$ L 进样,测定各色谱峰峰面积。以对照品 进样量(μ g)为横坐标 X,色谱峰峰面积为纵坐标 Y, 绘制标准曲线,并拟合回归方程。
- 1.7.5 精密度试验 精密吸取上述混合对照品溶液 $10~\mu$ L,重复进样 $6~\chi$,测定绿原酸、木犀草苷峰面积,其 RSD 分别为 0.22%、0.69%,表明仪器的精密度良好。
- 1.7.6 稳定性 试验取同一供试品溶液(水泡组),分别于 0、1、2、4、8、16、24 小时进样 10 μL,测定峰面积计算。绿原酸、木犀草苷 RSD 分别为 0.90%、1.23%,结果表明供试品溶液在 24 小时内稳定。

2 结果

2.1 泡服温度考察结果

实验结果表明,当泡服温度为100℃时,水溶性浸出物得出率最高,在326 nm 波长处紫外吸光度也最高,故最佳泡服温度确定为100℃,结果见表1、图1。

表 1 不同温度水溶性浸出物及紫外吸光度比较(n=3)

| 温度(℃) | 出膏率(%) | 吸光度(326 nm) |
|-------|--------|-------------|
| 80 | 10.25 | 1.074 |
| 90 | 10.63 | 1.110 |
| 100 | 11.52 | 1.145 |

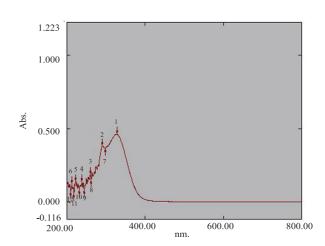


图 1 水溶性浸出物全波长扫描图

2.2 泡服次数考察结果

实验结果表明,随着泡服次数增加,代茶饮水溶性浸出物和紫外吸光度依次降低,前3次水溶性

浸出物和紫外吸光度分别为 82.3% 和 87.8%,说明基本提取完全,故选择 100 化 水泡服 3 次为宜。因此最佳泡服条件:100 化 水泡服 3 次,每次 30 分钟,第一次加水 400 mL,2、3 次 200 mL。结果见表 2、图 2。

表 2 不同泡服次数水溶性浸出物(n=3)

| 泡服次数(次) | 出膏率(%) | 吸光度(326 nm) |
|---------|--------|-------------|
| 1 | 11.64 | 1.147 |
| 2 | 5.22 | 0.447 |
| 3 | 3.84 | 0.290 |
| 4 | 2.37 | 0.154 |
| 5 | 2.08 | 0.108 |

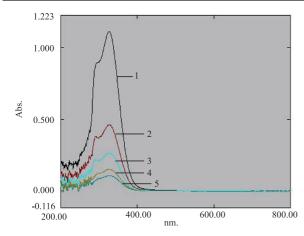


图 2 不同泡服次数紫外叠加图

2.3 水泡服和水煎煮两种代茶饮制备

水泡服和水煎煮两种代茶饮制备方法水溶性 浸出物测定和紫外吸光度测定结果见表3。

表 3 两种代茶饮水溶性浸出物及吸光度比较(n=3)

| 制备方法 | 出膏率(%) | 吸光度(326 nm) |
|------|--------|-------------|
| 水泡 | 21.46 | 1.052 |
| 煎煮 | 28.38 | 1.162 |

2.4 两种代茶饮微生物限量检查

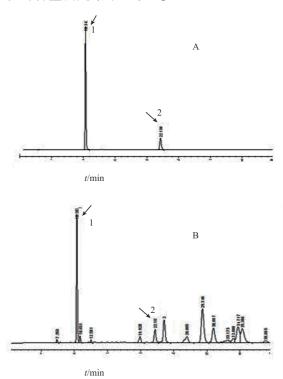
结果表明,两种制备方法样品细菌总数均不超过 100 cfu/mL,霉菌和酵母菌数不超过 10 cfu/mL,均未检出大肠埃希菌。结果见表 4。

表 4 两种方法微生物检查情况(n=3)

| 编号 | 细菌 | 霉菌 | 大肠埃希菌 |
|-----|----|-----|-------|
| 水泡法 | 90 | <10 | 未检出 |
| 水煎法 | 70 | <10 | 未检出 |

2.5 代茶饮两种制备方法 HPLC 含量测定结果 在选定条件下,绿原酸和木犀草苷色谱峰与

样品中其他组分色谱峰达基线分离,其理论塔板数(N)均大于4000。见图 3。绿原酸在 0.1256 ~ 2.0102 μg,木犀草苷在 0.0104 ~ 0.1664 μg 线性关系良好。水煎法和水泡法两种不同制备方法代茶饮的含量测定结果见表 5。



注:1 为绿原酸;2 为木犀草苷

图 3 对照品(A)与样品(B)HPLC图

表 5 绿原酸和木犀草苷成分含量

| 制备方法 - | 含量 | (mg) | 总和(mg) |
|--------|--------|-------|--------|
| | 绿原酸 | 木犀草苷 | |
| 水煎法 | 105.40 | 25.81 | 131.21 |
| 水泡法 | 126.82 | 14.29 | 141.11 |

3 讨论

慢性咽炎为耳鼻咽喉科常见病,本病可为局部炎症,也可为上呼吸道慢性炎症的一部分。患者主要表现为咽腔干燥、异物感、发痒感、刺激性咳嗽等,病程长,症状顽固,不易治愈。据统计^[1],慢性咽炎发病率为咽喉部疾病的 10%~12%。西药没有太好的治疗方法,通常采用服用西地碘治疗,长期服用可出现口内铜腥味、喉部烧灼感、鼻炎、皮疹等不良反应。中医治疗慢性咽炎以养阴利咽为主,辅以清热解毒、化痰散结治疗,疗效明确,各种方剂有效率均可达 90%以上^[2]。

(下转本期 1472 页)

(上接本期 1462 页)

由于该病具有周期长、容易反复发作,且日常预防极为重要的特点,通常需要长期治疗,因此临床多以中医治疗和预防为主。

中药代茶饮由于既保持了中医汤剂辨证论治加减灵活、疗效明确的特色,又克服了传统汤剂煎煮繁琐、携带不便等特点,与现代生活节奏加快的发展趋势相适应,近年来应用也日趋广泛,不但用于治疗各种疾病,还用于平时的养生保健。代茶饮在三甲医院、社区医院和乡镇医院等医疗机构中应用都非常广泛,用于治疗咽炎、高脂血症、糖尿病等疾病^[3-7],疗效明确,但对于代茶饮的具体服用方法比较混乱,没有统一的标准,目前也没有相关的实验研究。

本实验结果表明,水泡服代茶饮的最佳条件为100℃水泡服3次,每次30分钟,第一次加水400 mL,2、3次加水200 mL。水煎煮制备的代茶饮水溶液在水溶性浸出物上和紫外吸光度上较水泡服制备的代茶饮有一定优势,但在主要有效成分绿原酸和木犀草苷的含量总和溶出率上,水泡服制备

的代茶饮水溶液更胜一筹,二者都符合微生物限量 检查的规定。

参考文献

- [1] 王正敏,陆书昌. 现代耳鼻咽喉科学[M]. 北京:人民军医出版 社,2001:787.
- [2] 林明慧. 慢性咽炎的研究与防治[J]. 临床合理用药,2011,4 (12):172-173.
- [3] 丰胜利,张学智,张月苗,等. 自拟降脂代茶饮治疗痰瘀互结型血脂异常的临床观察[J]. 北京中医药大学学报,2013,20(2): 52-53.
- [4] 盛燕儿,黄海燕,章晓红,等.中药代茶饮联合穴位埋线治疗糖 尿病前期50例[J].浙江中医杂志,2014,49(3):186.
- [5] 庄学琼. 中药代茶饮配合社区干对中青年正常高值血压的控制效果观察[J]. 广西中医药大学学报,2013,16(4):33-34.
- [6] 孟兆慧,刘照娟. 黄芪代茶饮配合补液治疗羊水过少 13 例 [J]. 吉林中医药,2013,33(8):813-814.
- [7] 王莉. 麦冬代茶饮对放疗后口干症的效果观察[J]. 天津护理, 2013,21(3):211.

(收稿日期: 2016-10-13) (本文编辑: 董历华)