

加水量与煎煮时间对葛根芩连汤主要成分溶出量的影响

张家成^{1,2}, 章军³, 刘峰^{1*}, 穆兰澄¹, 郭允¹, 王跃生³, 仝小林^{1*}

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053;
2. 北京中医药大学, 北京 100029; 3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

〔摘要〕 目的:以葛根芩连汤为研究对象,对影响煎煮质量的加水量、煎煮时间等相关参数与主要成分溶出量之间的关系进行综合研究,得出葛根芩连汤的最佳煎煮工艺。方法:煎煮时间 20,35,50,65,80 min;加水量 6,9,12,15,18 倍;煎煮次 1 次;用全面实验法,对以上参数进行排列组合确定煎煮工艺。每种工艺取选定葛根芩连汤加味方 1 剂煎煮 3 次。用 HPLC 测定煎煮液中主要成分含量,比较不同煎煮工艺对溶出量的影响。结果:①在相同煎煮时间、相同煎煮次数的条件下,主要成分的溶出量随着加水量的增多而呈现上升趋势。明显改变的点为 9 倍水时。②相同加水量、相同煎煮次数、不同煎煮时间,主要成分的溶出量随着煎煮时间的延长而呈现上升趋势。明显改变的点为 50 min 时。结论:确定葛根芩连汤煎煮最低加水量为 9 倍量,煎煮时间 50 min。

〔关键词〕 葛根芩连汤; 煎煮次数; 加水量; 煎煮时间; HPLC
〔中图分类号〕 R283.6 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)01-0013-05

Influence of Decocting Time and Water Amount on Dissolution of Main Ingredients from Gegen Qinlian Decoction

ZHANG Jia-cheng^{1,2}, ZHANG Jun³, LIU Feng^{1*}, MU Lan-cheng¹,
GUO Yun¹, WANG Yue-sheng³, TONG Xiao-lin^{1*}

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;
2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

〔Abstract〕 Objective: Taking Gegen Qinlian decoction as study object, To study comprehensively on relationship between parameters which influence quality of decoction (such as water amount, decocting time, et al.) and dissolution of main ingredients, and obtain optimum decocting process of Gegen Qinlian decoction. Method: Decocting time had 20, 35, 50, 65, 80 min; the amount of water were 6, 9, 12, 15, 18 times; decocting times of one time; Decocting process was determined by permutation and combination of the above parameters with comprehensive experimental method. Each process of modified Gegen Qinlian decoction took one formula to decoct three times. The content of main ingredients were determined by HPLC, and influence of different decocting processes on dissolution was compared. Result: ① Under the same decocting time and decocting times, dissolution of main ingredients showed a upward trend with increasing of water amount, significant changeed at 9 times the amount of water. ② Under the same water amount and decocting times, while different decocting time, dissolution of main ingredients showed a upward trend with extension of decocting time,

〔收稿日期〕 20111110(770)
〔基金项目〕 国家重点基础研究发展“973”计划(2010CB530602)
〔第一作者〕 张家成, 硕士, 从事糖尿病临床及科研, Tel:13426324787, E-mail:13426324787@163. com
〔通讯作者〕 * 仝小林, 博士, 博士生导师, 主任医师, 首席研究员, “973”计划项目首席科学家, Tel:13910662116, E-mail: xiaolintong66@sina. com; * 刘峰, 博士, 从事中药煎煮规范化研究, Tel:13810604805, E-mail: liufeng3021@163. com

obvious change point at 50 min. **Conclusion:** The minimum amount of water for Gegen Qinlian decoction was 9 times, decocting time was 50 min.

[**Key words**] Gegen Qinlian decoction; decocting times; water amount; decocting time; HPLC

中药汤剂制备过程中煎煮用具、药材浸泡、煎煮加水量、煎煮温度、煎煮时间、煎煮次数等因素对汤剂的质量都有重要影响,正如徐灵胎在《医学源流论》中说:“煎药之法,最宜深讲,药之效与不效,全在于此。方虽中病,而煎法失度,药必无效。”李时珍《本草纲目》云:“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。”本课题组为探讨不同煎煮因素搭配所组成的不同煎煮工艺对方剂主要成分溶出量的影响,选择药味较少、方中药物所含化学成分明确、临床常用的葛根芩连汤加味方进行示范性研究。

葛根芩连汤出自《伤寒论》第 34 条:“太阳病,桂枝证,医反下之,利遂不止,脉促者,表未解也,喘而汗出,葛根黄芩黄连汤主之”。其组成为:“葛根半斤,甘草二两(炙),黄芩三两,黄连三两。”本方治疗太阳表邪内陷所致热下利证。导师全小林教授临床善用此方,对脾胃湿热证的早中期 2 型糖尿病患者屡见降糖奇效^[1-2]。本方药味较少,诸药间作用明确,临床应用广泛,并被赋予了更多新的适应病症,一直是现代研究的热点^[3]。

1 材料

药材饮片由北京市双桥燕京中药饮片厂提供,经中国中医科学院中药所何养荣药师鉴定,葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根,来源河南(批号 1005090);黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,来源北京(批号 1006062);黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根茎,来源四川(批号 1005080);炙甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 的干燥根及根茎,来源内蒙古(批号 1006009);干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rose. 的干燥根茎,来源四川(批号 1005089)

LC-20 A 型高效液相色谱仪,LC solution 工作站(岛津);舒美 KQ-3200 E 超声清洗器(功率 150 W);Sartorius BP211D 型电子天平。

乙腈为 Fisher, HPLC 级;水为娃哈哈高纯水;磷酸,含量 85%,分析纯;磷酸二氢钾,分析纯;其余试剂均为优级醇。对照品葛根素(批号 752-200108)、甘草苷(批号 111610-200604)、黄芩苷(批号 110715-200815)、巴马汀(批号 110732-200907)、甘

草酸铵(批号 0731-9704)、大豆苷(批号 111738-200501)购自中国食品药品检定研究院;黄连碱(批号 1413-091027)、药根碱(批号 1444-091127)、小檗碱(批号 1370-090805)、汉黄芩苷(批号 1119-090203)、黄芩素(批号 1150-080923)、汉黄芩素(批号 1120-091205)购自中药固体制剂制造技术国家工程研究中心。

2 方法与结果

2.1 供检样品制备 明火加热,不锈钢锅 Φ = 260 mm;药材均浸泡 30 min;覆盖锅盖,每 5 min 用玻璃棒搅拌一次;煎煮 1 次;加水量选取每剂药质量倍数:6,9,12,15,18;煎煮时间选取(min):20,35,50,65,80;记录沸腾前时间,沸腾后时间;火候:武火煎沸后改文火。武火为家用煤气灶最大火量,文火取目测略有少许沸腾点,水面下 1 cm 处温度(99 ± 1)℃。

运用全面实验法对所选时间与加水量进行组合确定煎煮工艺,每种工艺取葛根芩连汤加味方一剂进行煎煮,重复 3 次,记录煎出液量以及液面下温度、煎后药渣质量、沸腾前时间等数据。煎出液用 4 层医用纱布过滤,取样待测。为简明起见,分别从加水量与煎煮时间两方面论述,每一方面选两组数据说明。所选因素水平如表 1。

表 1 因素水平煎煮工艺

No.	煎煮时间/min	加水量/倍
1	35	6
2	35	9
3	35	12
4	35	15
5	35	18
6	65	6
7	65	9
8	65	12
9	65	15
10	65	18
11	20	9
12	50	9
13	80	9
14	20	15
15	50	15
16	80	15

2.2 含量检测 采用 HPLC 同时测定葛根芩连汤中葛根素、大豆苷、甘草苷、黄连碱、药根碱、黄芩苷、

小檗碱、巴马汀、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和甘草酸铵 12 个有效成分的含量^[4]。

2.2.1 色谱条件 Merck Chromolith, RP-18e 色谱柱(4.6 mm×100 mm),流动相 0.05% 磷酸(含 0.01 mol·L⁻¹磷酸二氢钾)(A),乙腈(B)梯度洗脱(0~15 min,8%~14% B;15~25 min,14%~16% B;25~45 min,16%~38% B),流速 2 mL·min⁻¹,柱温 35℃,进样量 10 μL,检测波长葛根素、大豆苷、甘草酸铵为 250 nm,甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素为 275 nm 同,黄连碱、药根碱、小檗碱、巴马汀为 345 nm;理论塔板数均不低于 3 000。见图 1。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取葛根素、大豆苷、甘草苷、黄连碱、药根碱、黄芩苷、小檗碱、巴马汀、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和甘草酸铵对照品适量,加 50% 甲醇配制成每 mL 分别含 483.6,36.28,14.64,76.32,16.82,444.4,380.0,77.60,71.36,35.80,15.26,14.03 μg 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取饮片水煎液,摇匀,精密量取混悬液 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇 14 mL,超声处理 30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.4 样品测定 所得 3 次测定结果求得平均值进行比较,见表 2(为方便比较,表中只选取已测 12 种主要成分中的 7 种)。

相同煎煮时间、相同煎煮次数、不同加水量,加水量越多,主要成分溶出量越多,曲线上升斜率随煎

煮时间加长而减小。当加水量超过 9 倍药物质量时,曲线产生拐点。

通过对实验样品 1,2,3,4,5 的数据分析,煎煮 35 min 1 次,不同加水量(6,9,12,15,18 倍)所煎出主要成分含量如图 2。

通过对实验样品 6,7,8,9,10 的数据分析,煎煮 65 min 1 次时,不同水量(6,9,12,15,18 倍)所煎出主要成分含量如图 3。

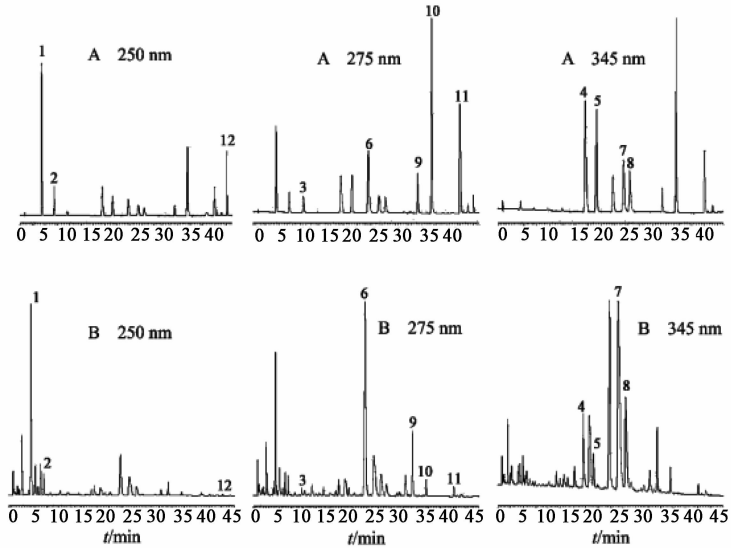
相同加水量、相同煎煮次数、不同煎煮时间,煎煮时间越长,主要成分溶出量越多,曲线斜率随煎煮时间加长而减小。当煎煮时间超过 50 min 时,曲线产生拐点。

通过对实验样品 2,7,11,12,13 的数据分析,加 9 倍水煎煮 1 次时,不同煎煮时间(20,35,50,65,80 min)所煎出主要成分含量如图 4。

通过对实验样品 4,9,14,15,16 的数据分析,加 15 倍量水煎煮 1 次时,不同煎煮时间(20,35,50,65,80 min)所煎出主要成分含量如图 5。

3 结论

煎煮次数为 1 次的曲线图表明,当加水量超过药物质量的 9 倍时,主要成分的溶出曲线形成拐点。方中各主要成分的溶出量在 6 倍水时明显低于其他,到 9 倍水时明显增高,而后随加水量增加曲线上升缓慢;故 9 倍水笔者称其为加水量低阈,当加水量低于此值时会明显影响饮片主要成分的析出,造成煎煮质量的下降,进而影响临床疗效。对煎煮次数为 1 次的曲线图来说,曲线上升程度明显改变的点



1. 葛根素; 2. 大豆苷; 3. 甘草苷; 4. 黄连碱; 5. 药根碱; 6. 黄芩苷; 7. 小檗碱; 8. 巴马汀; 9. 汉黄芩苷; 10. 黄芩素; 11. 汉黄芩素; 12. 甘草酸铵

图 1 对照品(A)及供试品(B)在 3 个检测波长下 HPLC

表 2 不同煎煮工艺下 7 种有效成分煎出总量平均值 (n=3) mg

No.	葛根素	汉黄芩苷	小檗碱	大豆苷	甘草酸铵	甘草苷	巴马汀
1	736.33	328.83	546.78	92.51	47.78	29.29	121.09
2	1 212.60	453.40	811.28	172.22	65.68	39.27	177.49
3	1 297.09	552.31	882.70	196.10	86.49	50.89	196.40
4	1 349.18	533.77	933.91	199.38	74.36	40.30	206.18
5	1 421.64	568.45	1 026.37	218.39	91.60	60.42	219.52
6	737.50	273.63	521.89	116.92	46.36	25.42	111.89
7	1 435.15	515.74	974.82	243.95	100.71	61.67	211.65
8	1 455.83	454.76	956.25	254.02	92.23	52.83	214.17
9	1 590.08	518.87	964.43	284.85	99.61	56.51	218.14
10	1 746.11	579.23	1 070.40	305.93	111.45	74.36	235.87
11	1 052.11	452.53	684.00	145.34	58.69	32.91	153.20
12	1 421.39	506.36	994.01	229.31	83.89	47.05	214.94
13	1 362.69	483.21	798.84	234.11	85.11	38.56	184.02
14	1 164.46	526.28	825.41	169.33	69.07	48.13	174.28
15	1 674.60	561.48	1 003.00	225.04	93.89	59.22	197.87
16	1 691.64	567.75	1 122.75	324.68	106.49	58.50	233.88

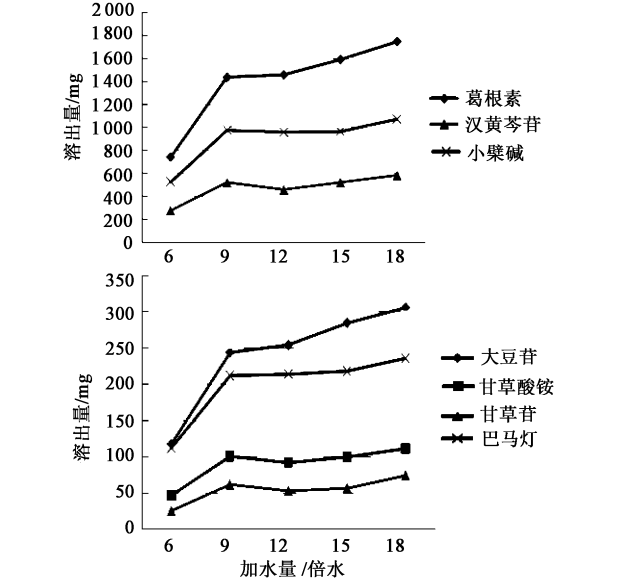
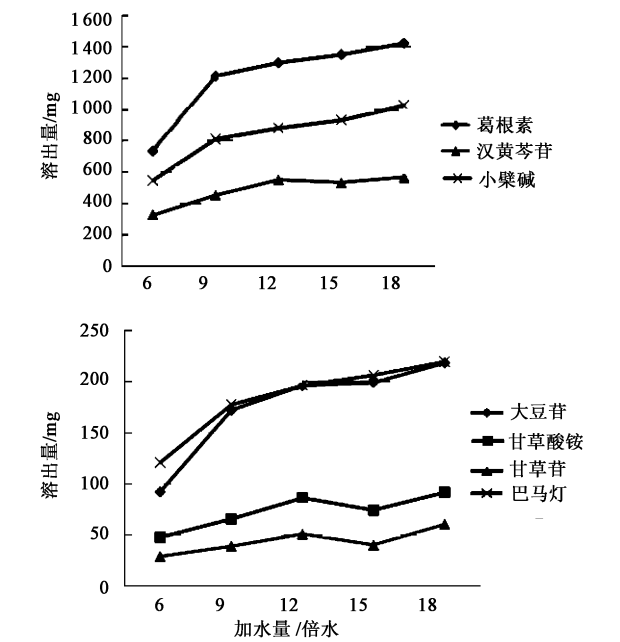


图 2 煎煮 35 min 1 次,不同加水量对主要成分含量的影响

为 50 min 处:煎煮 20 min 时,由于煎煮时间太短,饮片本身没有被“煎透”,其主要成分的溶出明显低于其他,到 35,50 min 时明显增高,之后随煎煮时间增加曲线上升程度逐渐变缓,在 80 min 时某些主要成分溶出量甚至会降低。

4 讨论

中药汤剂的煎煮是以水为溶媒,促进饮片中主要成分溶出的过程。汤剂煎煮质量的优劣直接影响到临床疗效的高低。在传统煎煮方法下,汤剂煎出液的质量受加水量、煎煮时间、煎煮次数、煎煮火候等多种因素的影响。其中加水量是饮片吸水量、煎

图 3 煎煮 65 min 1 次,不同加水量对主要成分含量的影响

煮时蒸发量及煎出药液量的总和,是煎煮质量极为重要的影响因素,煎煮中药时所用的加水量直接影响饮片中主要成分的析出,加水量越多,饮片与溶媒的接触面越大,饮片外围主要成分的浓度越低,越有利于中药主要成分的析出。

在加水量为 6 倍水时,会明显影响饮片在水中“翻腾”继而影响到饮片自身与溶媒的接触程度;同时由于水量较少,饮片外围主要成分的浓度较高,不利于其主要成分的析出。在 9 倍水时出现明显拐点,说明加水量至少在 9 倍水时才能对药材较好的利用。当加水量逐步增加至 12,15,18 倍时,煎出液中主要成分的增加率逐渐减低,有略微升高也不排除因其加水量增多使得沸腾前时间增长(约每增加

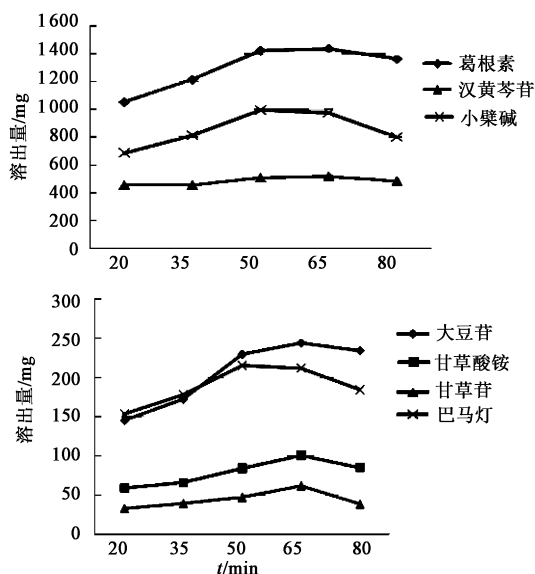


图4 加9倍量水煎煮1次,不同煎煮时间
对主要成分含量的影响

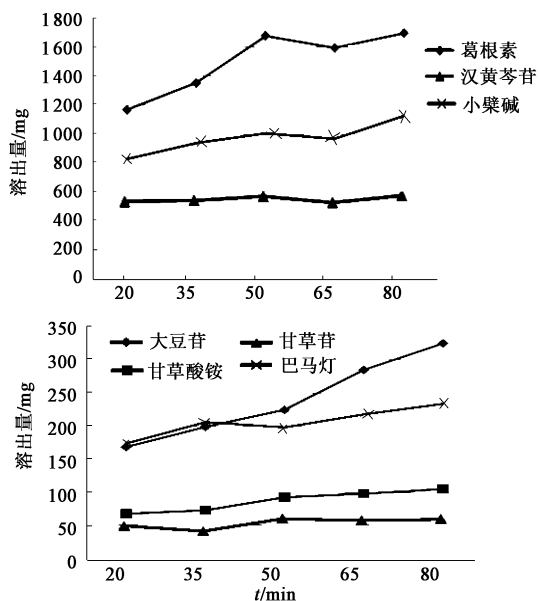


图5 加15倍量水煎煮1次,不同煎煮时间
对主要成分含量的影响

3倍水则沸腾前时间增加3~4 min),从而延长了加热总时间所致;且当加水量增加至18倍水时,其煎出液中主要成分总量的增加率明显减低,甚至为0或小于0,说明此时已没有必要再多增加溶媒量。

中药汤剂在煎煮过程中,煎煮时间的长短无疑对汤剂的质量起到决定性的作用,正确把握煎煮时间对提高药物临床疗效有重要意义。煎煮时间不

足,则药物的某些主要成分不易溶出,煎煮时间太长则药物的某些主要成分可能会进一步发生变化而丧失其有效性;根据药物所含成分及气味、质地不同,汤剂的煎煮时间亦有所不同,芳香易发挥类的药物煎煮时间应短,滋补类及质地坚实的药物宜久煎^[5]。

本方在煎煮20 min时,主要成分溶出明显较其他煎煮时间低,在煎煮50 min时明显有所增加,之后随煎煮时间的延长而逐渐增加。对以上不同煎煮时间的曲线图分析,65,80 min时多种主要成分溶出量的上升趋势并不明显,而且在80 min时有些成分的溶出会减少,说明久煎并不意味着主要成分会绝对增高,长时间的加热有可能会某些主要成分发生进一步的化学变化而损失。

以上曲线图中某些曲线不规则,除实验误差所致外,笔者认为因中药煎煮过程中各种复杂成分交错的相互作用所致,但不影响从中得出总体的曲线走势;煎煮过程中煎煮时间和加水量对主要成分的溶出影响较大,在实际操作过程中要综合考虑,如加水量增多会导致最终煎出液较多,于是减少服用量的解决方法——浓缩,即成为需要解决的问题之一;本文只对葛根芩连汤一方做较全面的煎煮工艺研究,虽不代表所有药物,但在一定程度上体现了常用根茎类中药饮片的煎煮规律,希望能对中医临床的汤剂煎煮有所帮助。

[参考文献]

- [1] 赵林华,连凤梅,姬航宇,等.全小林教授运用不同剂量葛根芩连汤治疗2型糖尿病验案[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(04):249.
- [2] Tong Xiaolin, Zhao Linhua, Lian Fengmei, et al. Clinical Observations on the dose-effect relationship of gegen qin lian decoction on 54 out-patients with type 2 diabetes[J]. J Tradit Chin Med, 2011(01):56.
- [3] 王立.经典方剂葛根芩连汤研究现状[J].黑龙江医药,2009,22(2):172.
- [4] 章军,刘宇政,王跃生,等. HPLC同时测定葛根芩连汤中12个有效成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(15):151.
- [5] 于颖.影响中药汤剂疗效的相关因素[J].中国冶金工业医学杂志,2007,24(02):148.

[责任编辑 全燕]