

温脾汤附子先煎 大黄后下的研究

刘 春海, 杨永华, 王实强*

(湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006)

摘要: 目的 探讨温脾汤先煎后下的条件。方法 采用 HPCE法测定了温脾汤中乌头碱及大黄游离蒽醌的含量。结果 附子先煎 30 min, 乌头碱的含量能达到安全限量; 大黄先浸泡 30 min 并于汤剂煎好前 10 min 加入, 大黄游离蒽醌的含量最高。结论 温脾汤中附子应先煎, 而大黄宜后下。
关键词: 温脾汤; 先煎 后下; 乌头碱; 大黄游离蒽醌; 高效毛细管电泳色谱 (HPCE)
中图分类号: R283. 2; R286. 02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003) 06- 0514- 03

Study on first decocted *Radix Aconiti Preparata* and later decocted *Radix et Rhizomea Rhei* in Wenpi Decoction

LIU Chun-hai, YANG Yong-hua, WANG Shi-qiang
(Hunan Academy of TCM, Changsha 410006, China)

Abstract **Object** To study the condition of Wenpi Decoction (WPD) with being decocted first and later added medicinal materials. **Methods** Contents of aconitine and free anthraquinone in WPD were determined by HPCE. **Results** Aconitine could reach the safe limit after *Radix Aconiti Preparata* being decocted 30 min first and the content of free anthraquinone was the highest after *Radix et Rhizomea Rhei* being decocted 10 min later. **Conclusion** *Radix Aconiti Preparata* should be decocted first and *Radix et Rhizomea Rhei* should be decocted later in WPD.

Key words Wenpi Decoction (WPD); be decocted first /later added; aconitine; free anthraquinone; HPCE

温脾汤处方来源于《备急千金要方》^[1], 处方组成为大黄 9 g, 附子 9 g, 党参 6 g, 干姜 6 g, 甘草 3 g。温脾汤功能温补脾阳, 攻下冷积。方中附子含有乌头碱类毒性成分, 为了降低其毒性, 需进行先煎, 而大黄含有蒽醌类成分, 对热不稳定, 宜后下。本实验采用了毛细管电泳色谱法测定了温脾汤中乌头碱及大黄 4 种游离蒽醌的含量, 探讨了附子先煎对温脾汤中乌头碱含量的影响及大黄后下对温脾汤中 4 种游离蒽醌含量的影响。

1 仪器与试药

HPCE-3D 高效毛细管电泳仪 (美国惠普公司), 二级管阵列检测器; 乌头碱、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酸对照品均由中国药品生物制品检定所提供; 磷酸为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。试验药材购自湖南省药材公司, 并由本院生药室温俊达副研究员鉴定, 附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum armichaeli* Debx. 子根的炮制加工器 (白附片), 大黄为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum*

palmatum L. 的干燥根茎。

2 附子先煎的试验研究

2.1 供试品溶液的制备: 取 2 倍于汤剂处方量的药材, 加 10 倍量水进行煎煮, 附子分别先煎 0, 15, 30, 45, 60 min 后, 再与余药混煎 30 min, 过滤, 药液分别浓缩、定容至 100 mL, 依次编号为 1# ~ 5#; 另取附子单味药材 18 g, 加水煎煮 30 min, 过滤, 药液浓缩、定容至 100 mL, 编号为 6#。精密吸取药液 30 mL, 加浓氨水调至碱性, 用乙醚萃取 3 次 (30, 30, 20 mL), 挥干乙醚, 残渣加氯仿 30 mL 溶解, 用 5% 盐酸溶液提取 2 次 (30, 20 mL), 弃去氯仿液, 酸液层加浓氨水调至 pH 9~10, 用氯仿提取 3 次 (30, 20, 20 mL), 弃去氨液, 氯仿液蒸干, 残渣加无水乙醇溶解并定容至 2 mL。挥干有机溶剂后, 加入 0.1 mol/L 盐酸溶液 2 mL 溶解, 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 即得。

2.2 色谱条件: 缓冲液: 0.3 mol/L 磷酸缓冲液 (pH=6.8); 毛细管柱: 内径 50 μ m, 有效长度 56

* 收稿日期: 2002-05-21

作者简介: 刘春海 (1972-), 男, 湖南溆浦人, 助理研究员, 1994 年获湖南大学工学学士学位, 2002 年获湖南中医学院中药学专业理学硕士学位, 1994 年至今工作于湖南省中医药研究院, 研究方向为中药新制剂、新技术。Tel (0731) 8881651

cm;检测波长: 230 nm;温度: 25℃;电压: 20 kV;进样量: 100 mbar° s

2.3 标准曲线的制备:精密称取乌头碱对照品,加无水乙醇配成 58μg/mL的对照品溶液。精密吸取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5μL进样,以峰面积为纵坐标,乌头碱浓度为横坐标作标准曲线,得回归方程: $Y=1.00551X-2.26619, r=0.9998$ 乌头碱浓度在 58~ 290μg/mL呈良好的线性关系

2.4 结果:测定结果见表 1和图 1

表 1 不同样品中乌头碱的含量

Table 1 Content of aconitine in different samples		
样品	先煎时间 /min	乌头碱 μg
1#	0	157
2#	15	155
3#	30	117
4#	45	99
5#	60	65.5
6#	单煎	246.6

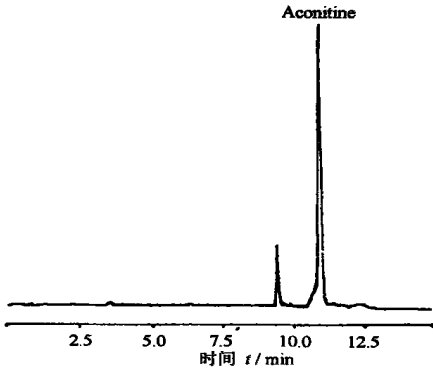


图 1 温脾汤中乌头碱的 HPCE 图谱

Fig. 1 HPCE chromatogram of aconitine in WPD

结果表明,随着煎煮时间的增加,乌头碱含量也随之降低,经换算,汤剂中乌头碱含量明显低于《中华人民共和国药典》2000年版一部乌头碱限量规定(以 1# 样品为例: 157÷ 18= 8.72μg/g < 167μg/g,即小于 0.016%)。由于目前各医院调配处方所用附子一般均为炮制后的附片,毒性已较生品大为降低,经先煎 15~ 60 min,再经复方煎煮,乌头碱含量已远低于安全限量,综合考虑,认为附子入汤剂以先煎 30 min为宜

3 大黄后下的试验研究

3.1 供试品溶液的制备:称取温脾汤 2倍处方量的药材,附子先煎 30 min后,再与其他药味煎煮 30 min,大黄浸泡 30 min,分别于汤剂煎好前 5, 10, 15, 20, 25 min后下,药液分别浓缩 定容至 200 mL,样品编号为 1# ~ 5#。精密吸取 30 mL药液分别加入浓盐酸 5 mL,置水浴上加热 30 min,立即冷

却,用乙醚萃取 3次 (30, 30, 20 mL),乙醚液水浴蒸干,残渣加氯仿溶解,定容至 5 mL,以 0.45μm的微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液

3.2 色谱条件^[2]:缓冲液: 0.05 mol/L十二烷基硫酸钠-0.03 mol/L磷酸二氢钠溶液 (pH= 10);检测波长: 254 nm,温度: 25℃;进样量: 40 mbar° s

3.3 标准曲线的制备:分别精密称取大黄素、大黄酚、大黄素甲醚、大黄酸对照品,配制成不同浓度的对照品溶液。按上述色谱条件进行测定,以峰面积为纵坐标,对照品浓度为横坐标作标准曲线,得回归方程,结果见表 2

表 2 大黄游离蒽醌的线性关系

Table 2 Linear relation of free anthraquinone				
名称	回归方程	r	线性范围 (μg·mL ⁻¹)	
大黄素	$Y=10.63507X+14.19081$	0.9993	14~ 70	
大黄酚	$Y=6.12074X+9.23614$	0.9995	18~ 90	
大黄素甲醚	$Y=2.49371X+1.84086$	0.9996	20~ 100	
大黄酸	$Y=19.10231X-28.92939$	0.9994	12~ 60	

3.4 校正因子的测定:以 1 mg/mL的对氨基苯磺酸溶液为内标,与对照品溶液按 1: 9比例混合,进行测定,结果见表 3

表 3 大黄游离蒽醌校正因子 (n= 5)

Table 3 Corrected factors of free anthraquinone (n= 5)		
名称	校正因子	RSD %
大黄素	0.2603	2.23
大黄酚	0.4649	1.97
大黄素甲醚	1.0990	2.47
大黄酸	0.1512	2.56

3.5 结果:测定结果见表 4和图 2

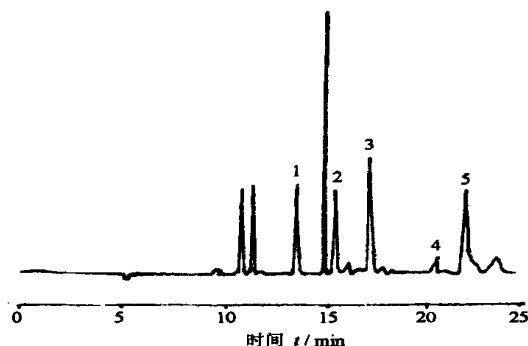
表 4 大黄游离蒽醌含量 μg

Table 4 Content of free anthraquinone μg					
样品	后下时间 /min	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚	大黄酸
1#	5	1535.25	1964.25	462.74	568.15
2#	10	1915.65	2528.90	511.66	802.10
3#	15	1796.25	1980.60	447.42	660.65
4#	20	1360.65	1205.25	322.55	549.25
5#	25	604.35	705.90	215.34	377.45

可见,大黄后下以煎煮 10 min为宜,此时 4种大黄游离蒽醌的含量均较高

4 讨论

4.1 附子属乌头类中药,现代药理研究证明^[3],乌头类中药具有镇静、镇痛、强心、抗炎、抗肿瘤等作用,由于其主要活性成分乌头碱为剧毒的双酯型生物碱,而且治疗量与中毒量接近,临床上为保证用药安全,常采用炮制、久煎等方法以降低其毒性,但随着毒性降低,其疗效也随之减弱



1-内标 2-大黄素 3-大黄酚 4-大黄素甲醚 5-大黄酸
1-internal standard 2-emodin 3-chrysophanol 4-physcion 5-rhein
图 2 温脾汤中大黄游离蒽醌的 HPCE 图谱

Fig. 2 HPCE chromatogram of free anthraquinone in WPD

4.2 试验结果表明,附子先煎 15~60 min 后,再经复方煎煮,其乌头碱含量已远低于《中华人民共和国药典》2000 年版一部乌头碱限量规定,日服汤剂中乌头碱的总量也低于口服乌头碱的中毒限量^[4]。综合考虑,认为附子以先煎 30 min 为宜,能保证临床用药的安全有效。

4.3 比较了附子单煎与混煎对乌头碱含量的影响,结果表明混煎液中乌头碱含量明显低于单煎液,说明在复方煎煮过程中有可能发生化学反应,导致乌头碱含量降低,从而为附子与干姜、甘草共煎可降低其毒性的理论提供了试验依据。

4.4 温脾汤复方中大黄的后下试验结果与单味大黄煎煮的结果基本一致^[5],表明大黄无论是单味煎煮,还是在复方后下,煎煮时间都不宜过长。考虑到大黄若不经浸泡,直接投入煮沸的水中,容易产生“寒热隔”的效应^[6],因此在本试验中大黄均浸泡 30 min 后再入汤剂。

4.5 内标物选择对氨基苯磺酸,是由于其在水中的溶解度较大,且在 254 nm 处有较大吸收,对各待测成分峰不产生干扰,重现性好。

References

- [1] Xu J Q. *Prescriptions of Traditional Chinese Medicine* (方剂学) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1995.
- [2] Zhong Y Y, Yu M T, Zhu Z Q, et al. Micellar electrokinetic capillary chromatography separation and determination of Chinese traditional medicine—several *Rheum* Species [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(8): 594-597.
- [3] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Application of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与应用) [M]. Vol III. Beijing: Xueyuan Press, 1998.
- [4] Jin A P. Study on toxicity and decoction time of *Radix Aconiti Preparata* [J]. *Shizhen J Tradit Chin Med Res* (时珍国药研究), 1997, 2(4): 367.
- [5] Jin Y L, Liu C H, Li S Y. Study on the effect of decocting condition of *Radix et Rhizomea Rhei* on chrysophanol content with orthogonal design [J]. *J China Pharm* (中国药房), 1997, 8(6): 254-255.
- [6] Wang Q X, Qu M. Experimental observation of *Radix et Rhizomea Rhei* be decocted later [J]. *Shandong J Tradit Chin Med* (山东中医杂志), 1996, 15(8): 371-372.

甘草皂苷生物转化的研究

吴少杰¹, 杨志娟¹, 朱丽华¹, 金凤燮^{2*}

(1. 华北煤炭医学院, 河北唐山 063000; 2. 大连轻工业学院, 辽宁大连 114001)

摘要: 目的 对甘草皂苷糖链进行有选择的部分水解,以得到单葡萄糖醛酸基甘草皂苷元。方法 生物酶水解法和液体发酵转化法。结果 利用试验菌最佳产酶条件所产的酶水解甘草皂苷,获得产物的产率为 23.7%。在液体发酵法中,产物的产率约为 10%。产物可用 85% 乙醇从 HP20 树脂柱上洗脱下来,同时未转化的甘草皂苷可用 50% 乙醇洗脱而循环利用。结论 该方法简洁方便,提高了甘草皂苷的转化率。

关键词: 甘草皂苷;甘草皂苷元;单葡萄糖醛酸基甘草皂苷元;生物转化

中图分类号: R282.15; R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)06-0516-03

Study on biotransformation of glycyrrhizin

WU Shao-jie, YANG Zhi-juan, ZHU Li-hua, JIN Feng-xie

(1. North China Coal Medical College, Tangshan 063000, China; 2. Dalian College of Light Industry, Dalian 114001, China)

Key words glycyrrhizin; glycyrrhetic acid; monoglucuronyl-glycyrrhetic acid (MGA); biotransformation