

六味地黄配方颗粒与传统汤剂中6种有效成分的比较研究

王杰, 刘冰, 周军, 邵建强*, 唐素芳

天津市药品检验所, 天津 300070

摘要: 目的 比较六味地黄配方颗粒与传统汤剂6种有效成分的量。方法 采用HPLC法在不同色谱条件下测定六味地黄配方颗粒与传统汤剂中毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚、尿囊素、茯苓酸、23-乙酰泽泻醇B的量。结果 传统汤剂中毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚、尿囊素、茯苓酸和23-乙酰泽泻醇B的质量分数分别为304.5、2 473.6、3 135.1、708.8、5.9、104.4 $\mu\text{g/g}$, 对应配方颗粒分别为298.6、3685.7、706.5、714.2、17.4、217.8 $\mu\text{g/g}$; 传统汤剂与对应配方颗粒中毛蕊花糖苷和尿囊素的量基本一致; 马钱苷、茯苓酸和23-乙酰泽泻醇B的量, 配方颗粒明显高于传统饮片; 丹皮酚的量配方颗粒明显低于传统饮片。结论 配方颗粒与传统汤剂中化学成分量的高低与其组分化学性质有关。

关键词: 六味地黄汤; 配方颗粒; 传统汤剂; 毛蕊花糖苷; 马钱苷; 丹皮酚; 尿囊素; 茯苓酸; 23-乙酰泽泻醇B

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)19-2887-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.19.012

Comparison on six active constituents between formula granule and traditional decoction of Rehmanniae Decoction of six ingredients

WANG Jie, LIU Bing, ZHOU Jun, SHAO Jian-qiang, TANG Su-fang

Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To compare the content of chemical components in each drug in formula granule and traditional decoction of Rehmanniae Decoction with six ingredients. **Methods** By using high performance liquid chromatography analysis and various chromatographic conditions, the contents were determined respectively, which were listed as follows: acteoside, loganin, paeonol, allantoin, pachymic acid and alisol B 23-acetate. **Results** The contents of acteoside, loganin, paeonol, allantoin, pachymic acid and alisol B 23-acetate in traditional decoction were 304.5, 2 473.6, 3 135.1, 708.8, 5.9, and 104.4 $\mu\text{g/g}$, and they were 298.6, 3 685.7, 706.5, 714.2, 17.4, and 217.8 $\mu\text{g/g}$ correspondingly in formula granule. The contents of acteoside and allantoin were basically the same between them; The contents of loganin, pachymic acid, and alisol B 23-acetate in formula granule were significantly higher than those in the traditional decoction; The content of paeonol in formula granule was significantly lower than that in the traditional decoction. **Conclusion** The content difference of the chemical components is related to its chemical character between formula granule and traditional decoction.

Keywords: Rehmanniae Decoction with six ingredients; formula granule; traditional decoction; acteoside; loganin; paeonol; allantoin; pachymic acid; alisol B 23-acetate

汤剂为传统中药剂型, 由于煎煮不便、质量不稳定等问题限制了其临床应用, 中药配方颗粒是对传统中药饮片进行剂型改革的一类新产品, 具有可直接冲服、服用剂量小、起效快等诸多优点^[1]。传统汤剂与中药配方颗粒中主要化学成分基本一致, 但其量不尽相同。六味地黄汤方出自钱乙《小儿药

证直诀》, 是滋阴补肾的祖方^[2]。由熟地、酒萸肉、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻6味药组成, 毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚、尿囊素、茯苓酸和23-乙酰泽泻醇B是本方中各味药的有效成分^[3-6]。本实验通过对这6种有效成分进行定量比较, 以探讨中药配方颗粒在中药复方配伍中应用的可行性。

收稿日期: 2015-09-01

基金项目: 天津市科技支撑计划重点项目, 生物医药领域(12ZCZDSY01000)——“天津市配方颗粒质量标准研究”

作者简介: 王杰(1962—), 男, 主任药师, 研究方向为中药质量与安全。Tel: (022)23374076 E-mail: tjyjsjie@sina.cn

*通信作者 邵建强(1965—), 男, 主任药师, 研究方向为药品安全与质量控制。Tel: (022)23511859 E-mail: scda@eyou.com

1 仪器与材料

高效液相色谱仪, 包括 LC-10A 型高效液相色谱仪、SPD-10A 紫外检测器、Anastar 色谱工作站, 天津奥特赛恩斯仪器有限公司。

对照品毛蕊花糖苷 (批号 111530-201310, 质量分数 93.3%)、马钱苷 (批号 111640-201005, 质量分数 99.2%)、尿囊素 (批号 111501-200202, 质量分数 >98%)、丹皮酚 (批号 110708-200506, 质量分数 >98%)、23-乙酰泽泻醇 B (批号 111846-201203, 质量分数 99.5%), 均购于中国食品药品检定研究院; 茯苓酸 (批号 20140801, 天津丹溪国药研究所提供, 质量分数 >98%)。

熟地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 干燥块根的炮制加工品、酒萸肉为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 除去杂质和残留果核、牡丹皮为毛茛科植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 的干燥根皮、茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核、山药为薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎、泽泻为泽泻科植物泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎, 均购于天津饮片厂, 由天津药物研究院魏吉城研究员鉴定。甲醇、乙腈为色谱纯, 水为蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 处方、配方颗粒及汤剂的制备

2.1.1 处方组成 熟地黄 16 g、酒萸肉 8 g、牡丹

皮 6 g、山药 8 g、茯苓 6 g、泽泻 6 g。

2.1.2 配方颗粒的制备 取上述处方中的 6 味饮片, 分别按煎煮、浓缩、干燥、制粒的工艺制成配方颗粒。每 1 克配方颗粒相当于饮片的量: 熟地黄 2.5 g、酒萸肉 3.3 g、牡丹皮 5.0 g、山药 6.7 g、茯苓 6.7 g 和泽泻 5.0 g。

2.1.3 传统汤剂的制备 按处方比例称取以上 6 味饮片, 加水 200 mL, 浸泡 30 min, 煎煮 45 min, 倒出煎液, 药渣加水 150 mL 煎煮 45 min, 合并煎液, 调整体积至 200 mL, 备用。

2.1.4 配方颗粒汤剂的制备 称与饮片相当量的配方颗粒, 混合, 加 80~100 °C 的水 150 mL, 搅拌溶解, 冷却后加水至 200 mL, 备用。

2.2 定量测定

2.2.1 色谱条件^[7-10] 毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚、尿囊素、茯苓酸、23-乙酰泽泻醇 B 的色谱条件及系统适应性试验见表 1。对照品、供试品溶液色谱图见图 1。进样量均为 10 μL。体积流量均为 1.0 mL/min。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别取毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚、尿囊素、茯苓酸和 23-乙酰泽泻醇 B 对照品适量, 精密称定, 加流动相、甲醇或乙腈稀释, 制成质量浓度分别为 12.3、8.7、7.7、14.5、0.9、2.2 μg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 分别精密量取传统汤剂和配方颗粒汤剂 5、2、2 mL 至 10、25、25 mL 量瓶中, 再分别加甲醇、3 mL 水与甲醇、甲醇稀释

表 1 色谱条件及系统适应性试验

Table 1 Chromatographic conditions and system suitability test

检测指标	色谱条件及系统适应性试验
毛蕊花糖苷	色谱柱为 Diamonsil C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液 (33:67); 检测波长 334 nm。理论板数按毛蕊花糖苷峰计算应不低于 5 000
马钱苷	色谱柱为 Diamonsil C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (15:85); 检测波长 240 nm。理论板数按马钱苷峰计算应不低于 5 000
丹皮酚	色谱柱为 Diamonsil C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (45:55); 检测波长 274 nm。理论板数按丹皮酚峰计算应不低于 5 000
尿囊素	色谱柱为 Kromsil NH ₂ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (75:25); 检测波长 224 nm。理论板数按尿囊素峰计算应不低于 5 000
茯苓酸	色谱柱为 Diamonsil C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.5%磷酸水溶液 (83:17); 检测波长 210 nm。理论板数按茯苓酸峰计算应不低于 5 000
23-乙酰泽泻醇 B	色谱柱为 Diamonsil C ₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (73:27); 检测波长 208 nm。理论板数按 23-乙酰泽泻醇 B 峰计算应不低于 3 000

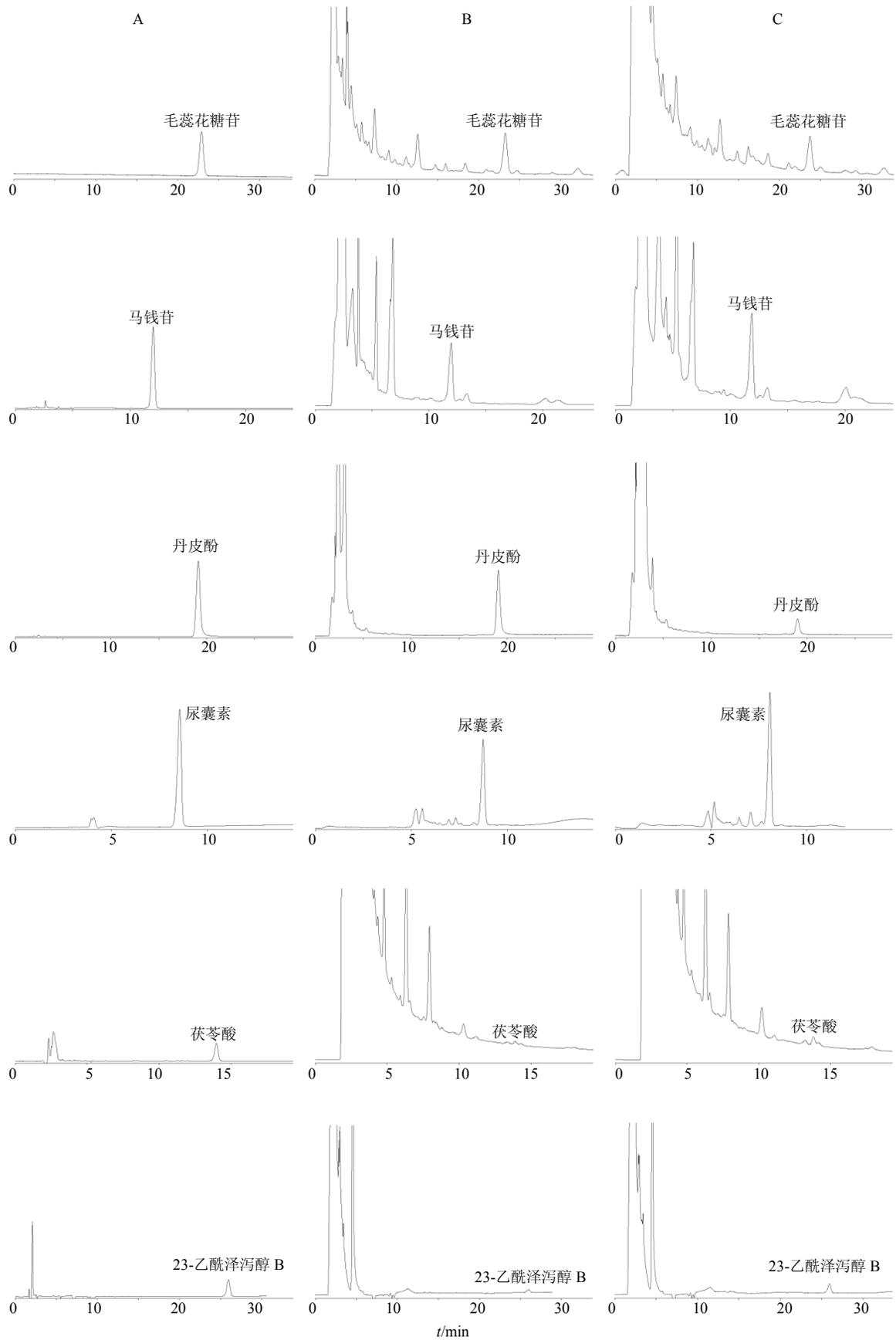


图1 对照品 (A)、传统汤剂 (B) 和配方颗粒 (C) 的 HPLC 图
 Fig. 1 HPLC of references (A), traditional decoction (B) and formula granule (C)

至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得供毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚定量测定用供试品溶液; 分别精密量取传统汤剂和配方颗粒汤剂 5、10、5 mL, 蒸干, 用流动相、甲醇、乙腈溶解并转移至 10、5、10 mL 量瓶中, 再用相应溶媒稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得供尿囊素、茯苓酸、23-乙酰泽泻醇 B 定量测定用供试品溶液。

2.2.4 线性关系试验 分别取毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚、尿囊素、茯苓酸、23-乙酰泽泻醇 B 对照品适量, 精密称定, 用流动相或甲醇或乙腈制成质量浓度为 102.2、144.2、127.6、120.5、89.9、217.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。将 6 种对照品储备液制成一系列不同质量浓度的对照品溶液, 按上述色谱条件进样分析, 以进样量为横坐标, 相应的峰面积值为纵坐标, 进行线性回归, 结果分别为毛蕊花糖苷 $A=524\ 195.2\ C-295.4$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 81.76~408.80 ng; 马钱苷 $A=919\ 871.7\ C+929.8$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 57.68~288.40 ng; 丹皮酚 $A=2\ 522\ 429.7\ C-353.8$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 25.52~255.20 ng; 尿囊素 $A=149\ 169.3\ C-615.4$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 48.2~771.2 ng; 茯苓酸 $A=603\ 465.0\ C+73.0$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 3.60~35.96 ng; 23-乙酰泽泻醇 B $A=550\ 586.5\ C-32.6$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 17.39~86.96 ng。

2.2.5 精密度试验 分别吸取“2.2.2”项下对照品溶液, 按上述色谱条件重复进样 6 次, 测定峰面积值, 其 RSD 值分别为 0.43%、0.48%、0.33%、0.55%、0.61%、0.48%, 结果表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 分别精密吸取同一传统饮片

汤剂供试品溶液, 按上述色谱条件分别在 0、2、4、6、8、24 h 进样, 测定峰面积值, 其 RSD 值分别为 0.57%、0.57%、0.46%、0.57%、0.70%、0.51%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 分别取“2.2.6”项下同一六味地黄方传统饮片汤剂, 按“2.2.3”项下供试品溶液制备方法操作, 平行制备 6 份, 按上述色谱条件测定峰面积值, 计算平均质量浓度及 RSD 值。结果分别为 21.8 $\mu\text{g/mL}$ 及 1.03%、107.1 $\mu\text{g/mL}$ 及 1.12%、9.5 $\mu\text{g/mL}$ 及 1.08%、28.3 $\mu\text{g/mL}$ 及 0.90%、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 及 1.28%、5.2 $\mu\text{g/mL}$ 及 1.11%。

2.2.8 回收率试验 分别精密量取“2.2.6”项下同一六味地黄方传统饮片汤剂, 再对应添加毛蕊花糖苷对照品溶液 (102.2 $\mu\text{g/mL}$) 0.5 mL、马钱苷对照品溶液 (28.8 $\mu\text{g/mL}$) 4.0 mL、丹皮酚对照品溶液 (2.6 $\mu\text{g/mL}$) 4.0 mL、尿囊素对照品溶液 (24.1 $\mu\text{g/mL}$) 3.0 mL、茯苓酸对照品溶液 (0.9 $\mu\text{g/mL}$) 3.0 mL、23-乙酰泽泻醇 B 对照品溶液 (4.3 $\mu\text{g/mL}$) 3.0 mL, 分别按“2.2.3”项下供试品溶液制备方法操作, 平行制备 6 份, 按上述色谱条件测定峰面积值, 计算回收率及 RSD 值。结果平均回收率及 RSD 分别为 99.59% 及 1.25%、100.21% 及 1.54%、100.25% 及 1.45%、100.13% 及 1.28%、99.83% 及 1.44%、99.79% 及 1.43%。

2.2.9 样品测定 取传统汤剂与配方颗粒, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液。按上述色谱条件测定, 并计算样品中毛蕊花糖苷、马钱苷、丹皮酚、尿囊素、茯苓酸和 23-乙酰泽泻醇 B 的量。结果见表 2。

表 2 样品的测定结果 ($n=3$)

Table 2 Determination results of samples ($n=3$)

制剂类型	质量分数/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$					
	毛蕊花糖苷	马钱苷	丹皮酚	尿囊素	茯苓酸	23-乙酰泽泻醇 B
传统汤剂	304.5	2 473.6	3 135.1	708.8	5.9	104.4
配方颗粒	298.6	3 685.7	706.5	714.2	17.4	217.8

3 讨论

从表 2 结果看, 传统汤剂与配方颗粒中毛蕊花糖苷和尿囊素的量基本一致, 这是由于毛蕊花糖苷和尿囊素的水溶性较好, 易从饮片中提取出来; 马钱苷、茯苓酸和 23-乙酰泽泻醇 B 的量, 配方颗粒明显高于传统饮片, 这是由于配方颗粒的生产工艺

所用溶媒量远远高于汤剂, 煎煮时间又远远长于汤剂, 这样提取的效率就明显高于汤剂; 丹皮酚的量, 配方颗粒明显低于传统饮片, 这是由于丹皮酚为挥发性成分, 在配方颗粒的生产过程中损失较大; 加之在传统汤剂合煎过程中, 中药中其余成分可能对丹皮酚的溶解起到促进作用, 造成配方颗粒中丹皮

酚的量比传统汤剂低。因此,针对某些含有易挥发性等不稳定成分的配方颗粒,应进行相应工艺参数的优化,达到最优的效果。

从化学成分的角度考虑,现有的配方颗粒的生产参数大多是合理的、科学的,大多可以替代传统汤剂使用,节省人力、物力、财力,方便患者,是具有前途的一类新产品。

参考文献

- [1] 叶殷殷,曾元儿,曹 骋,等. 中药配方颗粒的研究进展 [J]. 临床医学工程, 2011, 18(5): 807-809.
- [2] 张永祥. 六味地黄汤现代药理学及化学的初步研究 [J]. 基础医学及临床, 2000, 20(5): 15-19.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [4] 张 慧, 于 澎, 张 楠, 等. 毛蕊花糖苷对内毒素诱导的急性肺损伤的保护作用 [J]. 中国药理与临床, 2015, 31(3): 41-43.
- [5] 刘 凯, 许惠琴, 吴佳蕾, 等. 马钱苷、莫诺苷对 AGEs 损伤 HUVEC 的增殖的影响 [J]. 中国药理与临床, 2014, 30(3): 53-57.
- [6] 许 文, 罗奋熔, 赵万里, 等. 泽泻降糖活性提取物化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(22): 3238-3245.
- [7] 张芳芳, 李伟东, 杨光明, 等. HPLC 法测定麸炒山药饮片中尿囊素的含量 [J]. 南京中医药大学学报, 2010, 26(2): 146-148.
- [8] 方东军, 赵润琴, 张晓娟. HPLC 法测定茯苓中茯苓酸的含量 [J]. 中医药信息, 2012, 29(3): 54-56.
- [9] 陈德金, 祝晨菡, 林朝展, 等. HPLC 法测定裸花紫珠片中毛蕊花糖苷及连翘酯苷的含量 [J]. 中成药, 2011, 33(3): 449-452.
- [10] 王立新, 吴启南, 彭国平. 泽泻中 23-乙酰泽泻醇 B 的含量测定研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2002, 18(2): 105-107.