

金针酸枣袋泡剂与煎剂的水溶性浸出物、总黄酮含量的比较研究[△]

王婷*,孙伟宁,崔勇,付晓芸,罗晓煜,万军,周霞[#](西南交通大学生命科学与工程学院,成都610031)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)25-3542-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.25.26

摘要 目的:比较金针酸枣袋泡剂与其煎剂的质量控制指标,探讨该袋泡剂对煎剂的补充替代性。方法:分别采用热浸法和水煎法制备金针酸枣袋泡剂和煎剂供试品溶液,测定并比较2种制剂中水溶性浸出物和总黄酮的含量;另考察袋泡剂浸泡不同时间(0、5、10、15、20、25、30 min)的浸出率以优化浸泡时间。结果:袋泡剂与煎剂中水溶性浸出物平均含量分别为50.56%、44.45%($P<0.05$),总黄酮含量分别为0.64、0.69 mg/g($P<0.05$)。袋泡剂在前20 min溶出量不断增加、浸出率升高,25 min后逐渐达到平衡状态。结论:综合考虑袋泡剂的便捷性及各指标的考察结果,认为2种制剂在主要的质量控制指标上差异不大,袋泡剂可作为煎剂的补充。

关键词 金针酸枣袋泡剂;金针酸枣煎剂;水溶性浸出物;浸出率;总黄酮

Comparative Study on Water Soluble Extract and Total Flavonoid Content between Jinzen Suanzao Teabag and Decoction

WANG Ting, SUN Weining, CUI Yong, FU Xiaoyun, LUO Xiaoyu, WAN Jun, ZHOU Xia (College of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the quality control index between Jinzen Suanzao teabag and decoction, and explore the alternative supplement of teabag to decoction. METHODS: The test sample solutions of Jinzen Suanzao teabag and decoction were prepared by hot-maceration method and water-decoction method. The contents of water-soluble extract and total flavonoids were determined and compared between 2 kinds of preparation. The leaching rates of teabag were investigated at different soak time (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min) to optimize soaking time. RESULTS: The average content of water-soluble extract were 50.56% and 44.45% ($P<0.05$) respectively for the teabag and decoction. The total flavonoids content were 0.64 mg/g and 0.69 mg/g ($P<0.05$). The dissolution amount of teabag were increasing and leaching rate increased within first 20 min, and reached balance gradually 25 min later. CONCLUSIONS: According to the convenience of use and results of each index, the difference in quality control index is not great between 2 kinds of preparation. Teabag can be as the supplement of decoction.

KEYWORDS Jinzen Suanzao teabag; Jinzen Suanzao decoction; Water soluble extract; Leaching rate; Total flavonoids

金针酸枣袋泡剂系张仲景经方酸枣仁汤加减化裁而来,由金针菜、酸枣仁、茯苓、佛手、甘草、大枣、粳米等药材和食材构成,为临床验方,主要用于辅助治疗以失眠为主要表现的抑郁症。方中金针菜性味甘、凉,利水凉血、安神明目;酸枣仁以其甘、酸,养心益肝、安神,主虚烦不眠、惊悸怔忡;二者合为君药,养血安神。佛手辛行苦泄、疏肝解郁、理气和中,主肝气郁结之胁痛、胸闷;茯苓宁心安神;二者合为臣药。佐以大枣,补中益气、养血安神;配甘草、粳米益气和中,润燥缓急,调和诸药为使。七者合用,共凑补中益气、疏肝解郁、养血安神的功效。《金匮要略》记载:“虚劳虚烦不得眠,酸枣仁汤主之”。中医临床治疗抑郁症需要长期服用煎剂,但煎剂服用量大,使用较麻烦。中药袋泡剂与煎剂比较,具有体积小、服用和携带方便等特点^[1],更符合现代人生活节奏,是一种更具有开发前景的新剂型。为探索其与煎剂中的有效成分的等同性,课题组

△ 基金项目:四川省中医药管理局科研项目(No.2015ys007);四川省大学生科研创新训练计划项目(No.2015101)

* 本科生。研究方向:制药工程。E-mail: wangtswjtu@163.com

通信作者:讲师,博士。研究方向:中药制剂与炮制。电话:028-87603202。E-mail: wwangyidi@126.com

拟从水溶性浸出物及总黄酮含量等方面对二者进行比较研究,为袋泡剂作为煎剂的有益补充提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

BS110S电子天平(德国赛多利斯公司);SL302K电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司);HX-200高速中药粉碎机(浙江省永康市溪岸五金药具厂);DHG-9030A电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);DK-98-1电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂);TU-1901双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.2 药材与试剂

酸枣仁、佛手、茯苓、甘草、大枣均为中药饮片(于2015年9月1日购于四川北京同仁堂有限责任公司);金针菜、粳米(均于2015年9月1日购于成都沃尔玛超市,并系符合质量要求的产品);芦丁(成都曼斯特生物科技有限公司,批号:MUST-15010707,纯度: $\geq 98.0\%$);其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 袋泡剂制备方法

2.1.1 处方 金针菜(干品)20 g,酸枣仁(炒)19 g,佛手5 g,

茯苓7 g,甘草(炙)7 g,大枣(去核)47 g,粳米(炒)7 g。

2.1.2 制法 取以上7味药材和食材,75℃干燥2 h,取出,晾凉,粉碎成粗粉,过筛(10~20目),混匀,70℃干燥,装入袋泡茶滤纸袋,每袋4 g,即得。

2.2 袋泡剂和煎剂供试品溶液的制备

2.2.1 袋泡剂供试品溶液 取袋泡剂3袋(12 g),加入600 ml沸蒸馏水,90℃水浴中保温20 min(此过程加水适量并保持体积不变),得头汁,用纱布过滤后保留;再加沸水600 ml,浸泡20 min(此过程加水适量并保持体积不变),得二汁,用纱布过滤;合并2次浸泡液即得。

2.2.2 煎剂供试品溶液 按处方比例取12 g药材,加水600 ml,浸泡20 min,煎煮20 min,滤过;药渣再加水600 ml,煎煮20 min,滤过;合并2次煎液即得^[1]。

2.3 水溶性浸出物的测定

分别取3份袋泡剂和煎剂供试品溶液60 ml移至恒质量蒸发皿中,水浴蒸干后放入烘箱中,105℃干燥3 h,放入干燥器冷却30 min后称质量。按公式计算水溶性浸出物含量^[2~4]:(恒质量后总质量-恒质量后蒸发皿质量)/样品质量×1 200/60×100%;并用SPSS 22.0软件进行t检验分析,结果见表1。

表1 袋泡剂与煎剂水溶性浸出物含量

Tab 1 Content of water soluble extract between teabag and decoction

样品	编号	水溶性浸出物含量, %	均值, %	t	P
袋泡剂	1	50.00	50.56	-0.388 8	0.040
	2	51.67			
	3	50.00			
煎剂	1	46.67	44.45	-4.45	0.000
	2	45.00			
	3	41.67			

由表1可见,袋泡剂水溶性浸出物平均含量高于煎剂(t检验结果显示P=0.040<0.05)。

2.4 总黄酮含量测定

本试验重点关注金桔酸枣袋泡茶与煎剂中总黄酮的含量差异,故方法学考察选取袋泡剂进行研究。

2.4.1 袋泡剂待测溶液的制备 按“2.2.1”项下的制备方法量取袋泡剂供试品溶液,置于蒸发皿中,水浴蒸干,得固体物;加7 ml 70%乙醇充分溶解,移至10 ml量瓶中,超声(300 W,40 kHz)处理5 min,用70%乙醇定容至刻度,即得。

2.4.2 对照品溶液的制备 取干燥至恒质量的芦丁对照品约10 mg,精密称定,置于25 ml量瓶中,加70%乙醇适量,超声处理使溶解,放冷,加70%乙醇至刻度,摇匀。精密量取20 ml,置于50 ml量瓶中,加70%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4.3 阴性对照溶液的制备 取方中不含黄酮类的药材和食材,按“2.2”项下方法制备得阴性对照溶液。

2.4.4 最大吸收波长的选择 选取300~800 nm波长范围,对芦丁对照品溶液、袋泡剂待测溶液、阴性对照溶液进行光谱扫描,筛选最大吸收波长。结果显示,芦丁对照品溶液在506 nm波长有最大吸收,袋泡剂待测溶液在508 nm波长处有最大吸收,阴性对照溶液在507、508 nm波长处未见吸收,故本试验选择507 nm为检测波长。3种溶液的紫外光谱扫描结果见图1。

2.4.5 标准曲线的建立 分别精密量取0.16 mg/ml芦丁对照品溶液1、2、3、4、5、6 ml,置于25 ml量瓶中,分别加入70%乙醇溶液至6 ml,加5%亚硝酸钠溶液1 ml,摇匀,放置6 min;加10%硝酸铝溶液1 ml,摇匀,放置6 min;加4%氢氧化钠试液

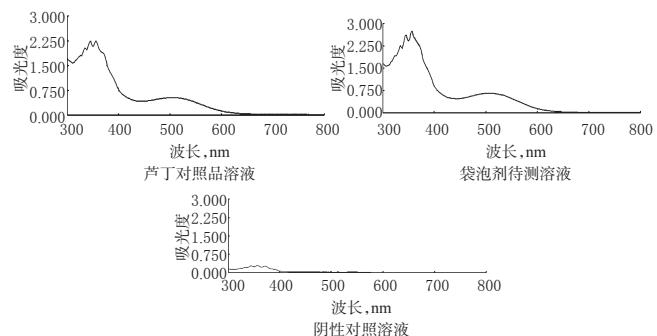


图1 紫外光谱扫描结果

Fig 1 UV scanning spectrum

10 ml,再加70%乙醇至刻度,摇匀,放置15 min。以70%乙醇为对照品,于507 nm波长处测定吸光度。以吸光度(A)为横坐标、质量浓度(c, μg/ml)为纵坐标,计算得回归方程为 $c=0.013 94-0.004 7(r=0.999 7)$,结果表明芦丁检测质量浓度线性范围为6.4~38.4 μg/ml。

2.4.6 精密度试验 取0.16 mg/ml芦丁对照品溶液,连续测定5次,记录吸光度,计算得RSD为1.31%(n=5),表明仪器精密度良好。

2.4.7 重复性试验 取同一批袋泡剂待测溶液5份,测定吸光度,计算得RSD为1.92%(n=5)。

2.4.8 稳定性试验 取同一批袋泡剂,于50 min内每隔10 min测定1次吸光度,结果RSD为2.38%(n=5),表明待测溶液在50 min内测定较稳定。

2.4.9 加样回收试验 精密量取已知成分含量的袋泡剂待测溶液3 ml 6份,分别加入一定量的芦丁对照品,按“2.4.1”项下方法制备,测定含量并计算回收率。结果平均回收率为102.52%(RSD=2.26%,n=6),表明该方法准确度较好。

2.4.10 2种样品中总黄酮含量的测定 分别精密量取2种制剂的待测溶液6 ml,置于25 ml量瓶中,其余操作同“2.4.5”项下方法。测定吸光度,计算总黄酮含量^[5~7],并对结果采用t检验。结果显示袋泡剂与煎剂中总黄酮的含量分别为0.64、0.69 mg/g(n=3),差异有统计学意义($t=-6.124, P=0.004 < 0.05$),煎剂中的总黄酮含量更高。

2.5 袋泡剂浸出率的测定

取袋泡剂7份,每份3袋,同时在600 ml热水中浸泡,并于90℃水浴中进行保温,按保温时间为0(沸水浸湿后立即取出)、5、10、15、20、25、30 min(过程中不断振摇)依次编号为1~7。按时取出,将浸泡液用纱布过滤后转移至烧杯中,用移液管精密量取30 ml,置于蒸发皿中水浴蒸干;放入烘箱在105℃条件下干燥3 h,取出;在干燥器中冷却30 min,迅速称质量,计算浸出率^[8]:(干燥后质量-蒸发皿质量)/样品质量×600/30×100%,结果见表2、图2。

表2 袋泡剂浸泡不同时间浸出率测定结果(n=3)

Tab 2 Leaching rate of teabag at different soak time(n=3)

编号	保温时间, min	蒸发皿质量, g	干燥后质量, g	浸出物质量, g	浸出率, %
1	0	60.13	60.23	0.10	16.60
2	5	51.60	51.78	0.18	30.00
3	10	91.77	91.99	0.22	36.60
4	15	58.00	58.20	0.25	41.60
5	20	66.13	66.40	0.27	45.00
6	25	103.71	103.99	0.28	46.60
7	30	59.62	59.90	0.28	46.60

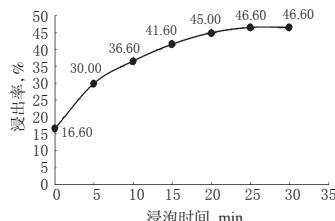


图2 时间-浸出率曲线图

Fig 2 Time-leaching rate curve

由表2以及图2可见,袋泡剂在前20 min的溶出量不断增加、浸出率升高,25 min后逐渐达到平衡、饱和状态。

3 讨论

3.1 指标选择依据

本试验测定了金针酸枣袋泡剂的浸出率并将其与煎剂的水溶性浸出物、总黄酮含量进行比较。水溶性浸出物是煎剂和袋泡剂发挥作用的固形物质基础之一。2010年版《中国药典》(一部)中未收载煎剂相关制剂通则检查,而在2010年版《中国药典》的第一增补本及2015年版《中国药典》(一部)中收载有川芎茶调袋泡茶(川芎茶调袋泡剂)的质量标准,其中,水溶性浸出物为质量控制指标之一^[9-10]。在文献研究中,也大都采用了水溶性浸出物为研究指标^[1,4-5],因此本试验选择水溶性浸出物作为对比研究指标之一。

为了筛选袋泡剂的最优冲泡时间,本试验以浸出率为评价指标,考察袋泡剂在冲泡过程中有效成分浸出的程度。该指标是依据袋泡剂的实际使用情况选择的,在本文中其与水溶性浸出物是两个不同的评价指标,可从不同角度反映样品质量。

本方主要用于辅助治疗以失眠为主要症状的抑郁症,除茯苓外,方中药材和食材中均含有黄酮类化合物。近年来,黄酮类化合物的抗抑郁作用日益引起关注^[11-14],因此本试验选择总黄酮含量作为煎剂和袋泡剂的重要对比研究指标。

3.2 袋泡剂与煎剂的药材取样量

前期工艺研究中,袋泡剂规格暂定为每袋4 g。为保证各指标的可比性,在进行取样测定时,袋泡剂药材按处方比例称取3袋,共12 g;煎剂按相同比例称取12 g药材。加水量均为600 ml,然后按各自工艺(袋泡剂为热浸法、煎剂为煎煮法)进行处理后进行检测,如此操作可最大程度地保证结果的可比性。

3.3 剂型的选择

袋泡剂是一种新剂型,是将药材粉碎成一定细度后分装在滤纸袋中,用开水冲泡饮用的一种制剂;而煎剂是由中药饮片直接加水通过浸泡、煎煮而成的一种制剂。在本试验中,由金针酸枣袋泡剂与煎剂的水溶性浸出物结果比较可知,袋泡剂的水溶性浸出物含量明显大于煎剂,其主要原因是由于袋泡剂颗粒粒径小、表面积大,成分易于扩散浸出。在日常生活中,煎剂煎煮耗时长,而袋泡剂可直接冲服,并具有体积小、服用方便、适于工业生产等优点,故后者更具有开发前景。

3.4 总黄酮差异分析

本试验结果显示,袋泡剂的总黄酮含量低于煎剂,分析其原因可能是在酸枣仁中发挥抗焦虑的主要成分为黄酮类及黄酮碳苷类,其难溶于水;在操作中,由于袋泡剂仅在90 ℃保温,而在煎剂的制备过程中溶液一直处于微沸状态,使后者的有

效成分能更充分地溶出。与煎剂相比,袋泡剂总黄酮平均含量仅相差0.05 mg/g,考虑到袋泡剂使用的便捷性,仍推荐其可作为煎剂的有益补充剂型。

3.5 浸出率测定

参考与袋泡剂相关的文献[1,5]及日常生活常识可知,煎剂的浸出率常认为可达100%,故在测定浸出率时只对袋泡剂进行了考察,以确定其最优冲泡时间。本试验结果显示,金针酸枣袋泡剂的浸出率在浸泡前5 min较快,20 min以后逐渐达到饱和状态,到25 min后浸出率基本上不再改变。故暂定袋泡剂的最优冲泡时间为20~25 min;为了提高其利用率,每袋可以同法再泡1~2次。

参考文献

- [1] 李建凯,段淑英,李宝峰,等.20味中药袋泡剂与汤剂的比较研究[J].中国现代应用药学杂志,2004,21(1):31.
- [2] 吴泽君.益肾舒肝饮袋泡剂与汤剂水溶出率及薄层层析对比研究[J].湖南中医药导报,1998,4(5):67.
- [3] 王栋,刘卉,王伯涛.金礞石人工胃液和水溶性浸出物及其主要元素分析[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(22):58.
- [4] 王甫成,时维静,王翠妮.不同加工方法对亳白芍中芍药苷及水溶性浸出物含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(18):75.
- [5] 田秀红,田文轩,张慧姣,等.河北大枣总黄酮的提取工艺[J].食品研究与开发,2014,35(13):24.
- [6] 王静霞,黄艳菲,赵小燕,等.荞麦和商品苦荞茶中总黄酮的含量测定[J].食品工业科技,2013,34(2):58.
- [7] 甘秀梅,梁志远,赵超.冷水花总黄酮的提取工艺优选及抗氧化活性考察[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(16):10.
- [8] 范碧婷,许金宏,朱荃,等.“通便茶”袋泡剂与汤剂的比较研究[J].现代应用药学,1990,7(4):20.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:第一增补本[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2012:6.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:518.
- [11] Machado DG, Bettio LE, Cunha MP, et al. Antidepressant-like effect of rutin isolated from theethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 587(1-3):163.
- [12] An L, Zhang YZ, Jiang N, et al. Role for serotonin in the antidepressant-like effect of a flavonoid extract of Xiaobuxin-Tang[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 89(4):572.
- [13] 王卫星,胡新颖,刘鹏,等.金丝桃苷等10个天然黄酮类化合物的抗抑郁活性筛选研究[J].中草药,2007,38(6):900.
- [14] 龚金炎,吴晓琴,毛建卫,等.黄酮类化合物抗抑郁作用的研究进展[J].中草药,2011,42(1):195.

(收稿日期:2015-11-13 修回日期:2016-03-10)

(编辑:刘萍)