

生脉散传统汤剂及其配方颗粒的特征图谱比较

魏 梅 梁志毅 邓淙友 张德雄

(广东一方制药有限公司,佛山,528244)

摘要 目的:分析生脉散汤剂及其配方颗粒主要指标性成分的差异,并应用 HPLC 色谱法建立配方颗粒的特征图谱,为中药配方颗粒能否代替复方汤剂提供依据。方法:采用 HPLC 色谱法,比较生脉散配方颗粒和传统汤剂两者特征图谱的差别,并通过相似度软件分析两者的相似性。结果:本色谱条件下生脉散配方颗粒各成分得到较好的分离,特征图谱有 9 个特征峰组成,汤剂中五味子醇甲等指标性成分与配方颗粒接近。结论:本方法可同时分离生脉散及其配方颗粒中各特征成分,配方颗粒与传统剂型成分差异统计学意义。

关键词 生脉散;配方颗粒;特征图谱

Comparison on Characteristics of Shengmaisan Traditional Decoction and Its Granule

Wei Mei, Liang Zhiyi, Deng Congyou, Zhang Dexiong

(Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China)

Abstract Objective: To analyze the differences of main indicators ingredients of Shengmaisan decoction and its concentrated granules, to build characterized map of Shengmaisan concentrated granules by HPLC chromatography, so as to provide the reference for TCM concentrated granules to replace the decoction preparation. **Methods:** HPLC chromatography was used to compare the characteristic spectrum difference between Shengmaisan decoction and its concentrated granules. Analysis was conducted on the similarity of the two by the similarity software. **Results:** Shengmaisan concentrated granules got a better separation of the components under the chromatographic conditions, and the characteristic spectrum had nine peaks. Schizandrin and other Index components levels in Shengmaisan decoction were roughly the same as those in the concentrated granules. **Conclusion:** This method can simultaneously separate index components of Shengmaisan decoction and its TCM concentrated granules. There is no significant difference between Shengmaisan decoction and its TCM concentrated granules.

Key Words Shengmaisan; TCM concentrated granules; Characteristic spectrum

中图分类号:R283.6 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.08.036

生脉散一词最先出自金代医家张元素之《医学启源》,首载其方名,至李东垣在其《内外伤辨惑论》指出:“圣人立法,夏月宜补者,补天真元气……故以人参之甘补气,麦门冬苦寒泻热补水之源,五味子之酸清肃燥金,名曰生脉散。”,完善了该方组成和功效^[1-5]。生脉散以水为溶媒,采用汤剂形式应用于临床已有 700 多年的历史,疗效显著,为“益心复脉”的优秀古方之一,但汤剂煎煮麻烦、保存不便等缺点在很大程度上制约了中医药的应用和推广。中药配方颗粒是对传统汤剂的延伸和发展,坚持了中医传统的整体观念和辨证施治原则。既保持了临床配方中君臣佐使,随证加减的特色,又兼有配方快速、服用方便、直接冲服、免除煎煮、体积小、便于携带运输和储藏,质量可靠、清洁卫生等诸多优点。配方颗粒适合现代人的生活方式,符合社会发展的总体趋势及市场需求。

但各家针对中药配方颗粒单煎与传统合煎的争论

尚未休止,但随着时间的推移,两种观点开始也有所共识。首先,合煎并非中药制剂的唯一工艺,几百种中药也不可能只存在唯一的提取方法;其次,合煎过程较为复杂,某种化学成分在其间可能出现或消失,甚至产生新的化学成分。分煎工艺与合煎工艺的合理性显然要结合处方具体分析,针对临床疗效的影响进行优胜劣汰^[6]。因此这种成分上的变化是研究配方颗粒和传统合煎剂的前提工作。本实验通过对传统合煎液和我司配方颗粒的比较,期望总结出该方“分煎”与“合煎”的化学成分的变化,为配方颗粒能否替代传统水煎液提供一定的理论依据。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪 (Alliance 2695 四元梯度输液泵及自动进样器,996 二极管阵列检测器,Empower 色谱工作站);百万分之一电子天平(型号 XP 26,梅特勒-托利多仪器有限公司)、万分之一电子天平(型

号 BS110S、北京赛多利斯天平有限公司)、千分之一电子天平(型号 BS200S - WEI、北京赛多利斯天平有限公司)、超声波清洗机(型号 KQ - 500DE、昆山市超声仪器有限公司)、五味子醇甲(批号:111857 - 200507)、五味子酯甲(批号:111529 - 200503)、五味子甲素(批号:0764 - 200107)、五味子乙素(批号:765 - 200104)、人参皂苷 Re(批号:110754 - 200822)对照品,配方颗粒及药材(广东一方制药有限公司)。乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

表 1 药材与配方颗粒批号

序号	品名	药材批号	配方颗粒批号
1	人参	Y1211021	310118
2	人参	Y1112043	1307280
3	人参	Y1112043	1301243
4	五味子	Y1303069	309382
5	五味子	Y1311066	312269T
6	五味子	Y1311066	309387
7	五味子	Y1311066	1305801
8	五味子	Y1311066	1305227
9	五味子	YL111123	1303191
10	麦冬	YL130518	309229
11	麦冬	YL130518	1308199
12	麦冬	YL130518	1308191
13	麦冬	YL130518	1308173
14	麦冬	YL130518	1308042
15	麦冬	YL130129	1307109
16	麦冬	YL130129	1306157

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验^[7-12] 色谱柱:kromasil 100 - 5C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:以水为流动相 A,乙腈为流动相 B,按下表中规定进行梯度洗脱。流速:1.0 mL/min,检测波长:203 nm,柱温:30 ℃,进样量:2.0 μL。

表 2 流动相及洗脱程序

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	80	20
20	78	22
23	72	28
45	65	35
60	56	44
95	28	72
110	80	20

2.2 对照品溶液的制备 取五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素、人参皂苷 Re 对照品适量,加甲醇溶解制成对照品溶液。

2.3 标准汤剂制备 药材剪碎或用铜盅敲碎,配伍按人参:麦冬:五味子 = 1:3:1.5 称取药材,即人参 10 g、

麦冬 30 g、五味子 15 g,加 10 倍水煎煮 1.5 h,制得样品标准汤剂(水煎液),定容至 500 mL 备用。

2.4 供试品制备 精密量取标准汤剂 50 mL,通过 D101 大孔树脂(大孔树脂 15 g,直径 1.5 cm),先用纯化水 200 mL 洗脱,再用 95% 乙醇 200 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,再用甲醇溶解,定容至 5 mL,微孔滤膜过滤,即得。生脉散配方颗粒与单味配方颗粒沸水溶解后,参照标准汤剂供试品制备,即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取同一份生脉散配方颗粒供试品溶液,按“2.1”项下条件连续进样 6 次,测得其各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%,表明精密度良好。

2.5.2 重复性试验 取同一批配方颗粒,按“2.3; 2.4”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下条件分别进样,测得其各共有峰相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%,表明重复性良好。

2.5.3 稳定性试验 取同一份供试品溶液,按“2.1”项下条件分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定,其共有峰相对保留时间、相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3 结果

3.1 共有峰的确定 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 A 版》比较配方颗粒的相关参数,通过多批样品的测定,选择稳定性好,吸收强,特征明显的色谱峰为共有峰,共标定 9 个峰,选其中保留时间约为 37 min 的 2 号峰为参照峰 S。见图 1。从各自的图谱中可以直观地看出,生脉散配方颗粒的图谱共有峰数目没有明显差异,峰面积差异也较小。

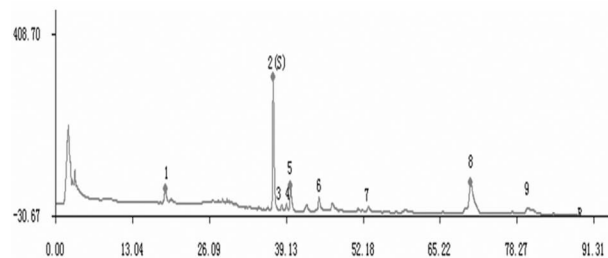


图 1 生脉散配方颗粒特征图谱

3.2 主要色谱峰的鉴定与归属 分别精密称取人参皂苷 Re、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素对照品适量,加甲醇溶解,在上述色谱条件下测定,并与生脉散特征图谱中相应的色谱峰进行比较,发现生脉散汤剂及其配方颗粒图谱中 1,2,7,8,9 号峰的保留时间与人参皂苷 Re、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素吻合。故样品特征图谱中 1,2,

7,8,9 号特征峰分别鉴定为人参皂苷 Re、五味子醇甲、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素。

分别精密称取不同批次的人参、麦冬、五味子配方颗粒,共制成 11 批生脉散汤剂,按 2.1 项下的色谱条件进行测定,见图 2。以五味子醇甲为内参峰,计算各特征峰的相对保留时间和 RSD,得到各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 2.3%,见表 2。特征图谱中以 2 号峰为参照峰,计算各峰的相对峰面积,结果见表 3。通过相似度评价软件分析,各批生脉散的相似度均大于 0.95,说明该制剂工艺稳定,产品均一性好,见表 4^[13-14]。

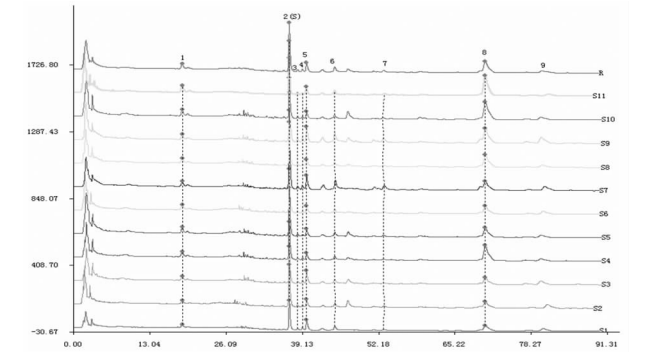


图 2 十一批生脉散配方颗粒样品图谱叠加图

表 3 各批生脉散共有峰的相对保留时间表

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
样品 1	0.51	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.44	1.92	2.18
样品 2	0.50	1.00	1.04	1.06	1.08	1.20	1.43	1.90	2.17
样品 3	0.49	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.43	1.89	2.15
样品 4	0.51	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.44	1.91	2.17
样品 5	0.49	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.44	1.91	2.17
样品 6	0.51	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.44	1.91	2.17
样品 7	0.49	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.43	1.92	2.16
样品 8	0.49	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.43	1.90	2.14
样品 9	0.52	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.43	1.91	2.16
样品 10	0.51	1.00	1.04	1.06	1.08	1.22	1.43	1.90	2.15
样品 11	0.49	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.44	1.90	2.16

表 4 各批生脉散共有峰的相对峰面积

颗粒相对峰面积	1	2	3	4	5	6	7	8	9
样品 1	0.09	1.00	0.04	0.04	0.19	0.11	0.05	0.31	0.28
样品 2	0.12	1.00	0.05	0.07	0.37	0.13	0.04	0.47	0.29
样品 3	0.16	1.00	0.04	0.05	0.20	0.10	0.04	0.52	0.18
样品 4	0.15	1.00	0.05	0.02	0.16	0.08	0.04	1.18	0.14
样品 5	0.16	1.00	0.05	0.03	0.17	0.09	0.06	1.13	0.21
样品 6	0.08	1.00	0.04	0.05	0.20	0.14	0.09	1.22	0.15
样品 7	0.13	1.00	0.04	0.03	0.15	0.09	0.04	0.85	0.12
样品 8	0.07	1.00	0.04	0.05	0.22	0.14	0.08	0.40	0.21
样品 9	0.19	1.00	0.04	0.04	0.19	0.10	0.04	1.26	0.36
样品 10	0.12	1.00	0.05	0.08	0.41	0.14	0.05	0.51	0.30
样品 11	0.15	1.00	0.50	0.60	0.17	0.11	0.80	0.71	0.23

3.3 传统汤剂与配方颗粒成分比较 分别精密称取由同批药材制成的生脉散汤剂、复方合煎颗粒、单方分煎颗粒及我司留样配方颗粒各 2 批,按 2.1 项下的色谱条件进行测定,见图 3。以五味子醇甲为内参峰,计算各特征峰的相对保留时间和 RSD,得到各共有峰的相对保留时间 RSD 均小于 2.5%,见表 5,通过相似度评价软件分析,各批生脉散的相似度均大于 0.95,说明传统汤剂、复方颗粒及配方颗粒的质量相似,见表 6。

表 5 各批生脉散的相似度分析表

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	对照指纹图谱
S1	1	0.92	1	0.889	0.971	0.981	0.931	0.936	0.985	0.867	0.87	0.975
S2		1	0.921	0.808	0.945	0.943	0.986	0.889	0.938	0.784	0.838	0.937
S3			1	0.885	0.972	0.982	0.932	0.934	0.987	0.863	0.866	0.975
S4				1	0.92	0.894	0.774	0.983	0.882	0.999	0.989	0.936
S5					1	0.995	0.948	0.974	0.986	0.901	0.918	0.999
S6						1	0.952	0.954	0.993	0.873	0.884	0.992
S7							1	0.87	0.954	0.745	0.796	0.937
S8								1	0.941	0.974	0.981	0.982
S9									1	0.858	0.865	0.984
S10										1	0.989	0.919
S11											1	0.932

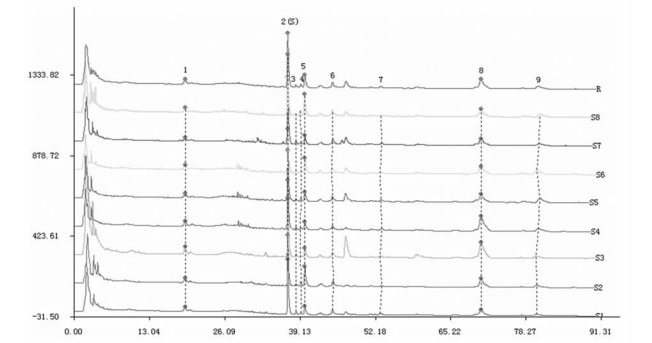


图 3 生脉散传统汤剂、复方颗粒及配方颗粒图谱

表 6 生脉散传统汤剂、分煎、合煎及颗粒剂的相对保留时间 RSD

相对保留时间	1	2	3	4	5	6	7	8	9
S1(汤剂 1)	0.48	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.43	1.90	2.18
S2(汤剂 2)	0.50	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.43	1.92	2.18
S3(合煎 1)	0.49	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.43	1.89	2.15
S4(合煎 2)	0.49	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.42	1.89	2.15
S5(分煎 1)	0.52	1.00	1.04	1.07	1.09	1.22	1.46	1.92	2.18
S6(分煎 2)	0.50	1.00	1.04	1.06	1.08	1.22	1.45	1.92	2.19
S7(配方颗粒 1)	0.51	1.00	1.04	1.06	1.08	1.21	1.44	1.92	2.18
S8(配方颗粒 2)	0.50	1.00	1.04	1.06	1.08	1.20	1.43	1.90	2.17
RSD%	2.4990	0.0000	0.0000	0.3330	0.3270	0.5290	0.9070	0.728	0.685

4 讨论

由于分析对象是复方汤剂,化学成分众多,各成分间极性差异很大,采用等度洗脱难以达到有效分离,所以采用梯度洗脱。经过多次摸索,以乙腈-水体系进行洗脱在 90 min 内可使全部色谱峰流出,且分离较

好。

采用二极管阵列检测器进行全波长扫描,比较不同波长条件下生脉散配方颗粒剂和标准汤剂的指纹图谱,结果在 203 nm 波长下图谱峰形较好。

表 7 生脉散传统汤剂、分煎、合煎及颗粒剂的相似度

相似度	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
S1(汤剂 1)	1	0.955	0.894	0.88	0.975	0.944	0.998	0.969
S2(汤剂 2)		1	0.929	0.92	0.959	0.984	0.953	0.996
S3(合煎 1)			1	0.999	0.919	0.944	0.905	0.911
S4(合煎 2)				1	0.909	0.937	0.893	0.901
S5(分煎 1)					1	0.981	0.981	0.974
S6(分煎 2)						1	0.948	0.985
S7(配方颗粒 1)							1	0.968
S8(配方颗粒 2)								1

中药配方颗粒是近 10 多年来对传统中药汤剂应用形式的突破。它是以传统中药饮片为原料,采用传统汤剂的提取溶媒(水),经现代技术提取、真空低温浓缩、瞬间干燥、干法制粒等多道工序精制而成的产品^[15]。在中医药理论的指导下,其性味、归经、功效与原汤剂保持基本一致。实验中传统汤剂及配方颗粒比较所用药材均为同一批次药材,以排除由于药材不均一而引起色谱图的差异。

根据我司生产的 11 批生脉散配方颗粒的 HPLC 指纹图谱比较结果,发现各批样品的相似度较高,均大于 0.9,且具有相同组分说明我公司生产的配方颗粒质量稳定,可较好的保证产品的均一性。以生脉散配方颗粒汤剂为基准,与传统汤剂、分煎、合煎汤剂的比较,可知配方颗粒制剂与传统汤剂、分煎、合煎制剂中大部分成分的含量没有明显的变化,其共有峰基本一致,具有较高的相似性,表明配方颗粒剂从化学成分角度来说代替标准汤剂是可行的。本实验对分析中药方剂的应用具有积极意义,但想要确定生脉散配方颗粒

是否能完全替代传统汤剂,还需结合药理药效和临床效果来判断。

参考文献

[1] 张元素. 医学启源[M]. 北京: 人民卫生出版社,1978:196-198.

[2] 李东垣. 内外伤辨惑论[M]. 北京: 人民卫生出版社,1959:16.

[3] 孙云. 生脉散源流、衍化及应用[J]. 山东中医学院学报,1996,20(5):320-324.

[4] 岳磊,朱丹妮,严永清,等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系研究——生脉散中五味子化学动态变化(Ⅶ)[J]. 中国中药杂志,2006,31(12):1010-1012.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(Ⅰ部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:653-654.

[6] 陈长洲,冯艳妮. 中药配方颗粒研制回顾与产业化展望[J]. 世界科学技术-中药现代化,2002,4(4):69.

[7] 汪祺,郑笑为,于健东,等. 生脉注射液皂苷类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(11):1731-1734.

[8] 夏晶,王钢力,季申,等. HPLC 测定生脉注射液中 4 种成分的含量[J]. 中成药,2006,28(1):27-31.

[9] 王进,张平,唐海涛,等. HPLC 法同时测定生脉注射液中 9 种成分[J]. 中成药,2013,35(3):508-512.

[10] 郑笑为,汪祺,于建东,等. 生脉注射液 HPLC 指纹图谱的建立[J]. 药物分析杂志,2012,32(8):1471-1475.

[11] 郑笑为,汪祺,刘燕,等. 生脉注射液指纹图谱优化[J]. 中国药事,2013,27(1):33-37.

[12] 白晶,张磊,于治国,等. RP-HPLC 法同时测定生脉注射液中人参皂苷 Rb1 与五味子醇甲的含量[J]. 药物分析杂志,2006,26(11):1585-1587.

[13] 李博岩,梁逸曾,胡芸,等. 中药色谱指纹图谱组分保留时间漂移的校准[J]. 分析化学研究报告,2004,32(3):313-316.

[14] 戴莹,姜艳艳,刘洋,等. 基于类药有效组分特征图谱的中药复方质量表征模研究[J]. 北京中医药大学学报,2011,34(5):326-332.

[15] 朱桂花,徐秀丽. 浅谈中药配方颗粒的优劣势与发展前景[J]. 中医临床研究,2014,6(2):132-133.

(2014-06-16 收稿 责任编辑:王明)

(上接第 1088 页)

[14] 乐大勇,王琼,安静,等. 复方贝母散超微粉的制备及粉体表征和物理特性对比[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(17):9-13.

[15] 郭旭东,郭宇廷,刁其玉,等. 超微粉碎技术在中草药上的应用[J]. 中国现代中药,2011,13(9):40-44.

[16] Gang-cheng Wu, Min Zhang, Ying-qiang Wang, et al. Production of silver carp bone powder using superfine grinding technology; Suitable production parameters and its properties[J]. Journal of food engineering,

2012,109(4):730-735.

[17] Hee-Sun Kim, Myung-Ryun Han, Ae-Jung Kim, et al. Physicochemical Property Changes in Wheat Starch by Ultra-fine Pulverization[J]. Food science and biotechnology,2011,20(1):137-142.

[18] 张亚锋,艾芸,谢志民,等. 中国药典蒲黄薄层鉴别方法的验证考察[J]. 中药材,2009,32(2):206-208.

(2014-03-06 收稿 责任编辑:曹柏)