

# 正交试验优选黄连解毒汤的机器煎煮工艺

蒋斌<sup>1</sup>, 张星海<sup>2,3</sup>, 唐樑<sup>1</sup>, 沈夕坤<sup>1</sup>, 李梅珍<sup>1</sup>, 黄程<sup>1</sup>, 朱晓燕<sup>1</sup>, 王玳珠<sup>1\*</sup>, 蔡宝昌<sup>2,3</sup>

(1. 苏州市中医医院, 江苏 苏州 215009;

2. 南京中医药大学, 国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 南京 210029;

3. 江苏海昇药业有限公司, 南京 210061)

**[摘要]** **目的:** 优选黄连解毒汤的机器煎煮工艺。**方法:** 以黄芩苷、小檗碱和浸出物含量的综合评分为指标, 通过单因素试验和正交试验考察浸泡时间、煎煮时间、煎煮温度对黄连解毒汤的机器煎煮工艺的影响, 并与传统煎煮工艺进行比较。采用 HPLC 测定指标成分含量, 色谱条件为 YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.2% 磷酸水溶液 (47:53), 检测波长 250 nm。**结果:** 黄连解毒汤的最佳机器煎煮工艺为浸泡时间 10 min, 煎煮温度 105 °C, 煎煮时间 30 min, 明显优于传统煎煮工艺。**结论:** 优化的机器煎煮工艺稳定可靠, 评价指标可控, 为中药汤剂的机器煎煮工艺制定提供实验依据。

**[关键词]** 黄连解毒汤; 正交试验; 高效液相色谱; 机器煎煮工艺; 差异性; 单因素试验

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0032-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013230032

## Optimization of Machine Decoction Process for Huanglian Jiedu Decoction by Orthogonal Test

JIANG Bin<sup>1</sup>, ZHANG Xing-hai<sup>2,3</sup>, TANG Liang<sup>1</sup>, SHEN Xi-kun<sup>1</sup>, LI Mei-zhen<sup>1</sup>, HUANG Cheng<sup>1</sup>,  
ZHU Xiao-yan<sup>1</sup>, WANG Dai-zhu<sup>1\*</sup>, CAI Bao-chang<sup>2,3</sup>

(1. Suzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Suzhou 215009, China;

2. Engineering Research Center of Standardization and Normalization for Chinese Medicine Processing, Ministry of Education, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

3. Jiangsu Haisheng Pharmaceutical Co. Ltd, Nanjing 210061, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize machine decoction process of Huanglian Jiedu decoction. **Method:** With composite score of baicalin, berberine and extractum contents as index, effects of soak time, decoction time and decoction temperature on machine decoction process were optimized by single factor tests and orthogonal test, and compared with traditional decoction process. Contents of index components were determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: YMC-Pack ODS-A column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of methanol-0.2% phosphoric acid (47:53), detection wavelength 250 nm. **Result:** Optimal machine decoction process was as following: Soaked 10 minutes, decoction time 30 minutes, decoction temperature 105 °C; it was better than traditional decoction process. **Conclusion:** Optimized machine decoction process was reasonable and feasible with controllable evaluation index, it could provide experimental basis for developing of machine decoction process of Chinese medicine decoctions.

**[Key words]** Huanglian Jiedu decoction; orthogonal design; HPLC; machine decoction process; difference; single factor test

**[收稿日期]** 20130524(013)

**[基金项目]** 2011 年度苏州市科技发展计划项目 (SYSD11165); 江苏省科技支撑计划工业项目 (BE2012011)

**[第一作者]** 蒋斌, 学士, 副主任中药师, 从事医院药学研究, Tel: 13584884593, E-mail: jiangbin73@126.com

**[通讯作者]** \* 王玳珠, 学士, 主任中药师, 从事医院药学研究, Tel: 13962100288, E-mail: wangdz60@sina.com

中药的传统煎煮主要凭经验确定加水量、浸泡时间、煎煮火候、煎煮次数及煎煮时间等条件,缺乏科学依据,操作误差大,不能确保汤剂质量的稳定。随着现代工业技术的发展,在传统瓦罐、砂锅基础上,目前汤剂煎煮器多使用新型的不锈钢煎药机<sup>[1]</sup>。大多数医院为了提高工作效率,均采用机器煎煮法替代传统煎煮法,煎药数由2次改为1次,取得了很好的效果,但煎煮质量的研究数据较为缺乏,尚无可参照的煎煮技术标准。

黄连解毒汤原载于《外台秘药》引崔氏方,在《肘后备急方》、《景岳全书》等后世医书中均有记载,是治疗火热毒盛、充斥三焦的常用方,由黄连、黄柏、黄芩、栀子4味药材组成。现代研究表明,黄连解毒汤主要含有小檗碱等生物碱类、黄芩苷等黄酮类、栀子苷等环烯醚萜苷类成分,具有解热抗菌、降血压、抗溃疡、调节免疫、改善脑部缺血、抗惊厥、保肝等药理作用,临床应用广泛<sup>[2-5]</sup>。本实验以黄芩苷、小檗碱及浸出物含量为综合评价指标,通过单因素试验和正交试验优化黄连解毒汤的机器煎煮工艺,并与传统煎煮工艺进行比较,为规范临床中药汤剂的煎煮方法提供实验依据。

## 1 材料

LC-20AB型高效液相色谱系统(日本岛津公司,包括Prominence SIL-20A型自动进样器,SPD-M20A型二极管阵列检测器,CTO-20A型柱温箱),BS2242S型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),80-2型台式低速离心机(瑞士步琪),YJD-20GL型十功能自动煎药机(北京东华原医疗设备有限公司)。

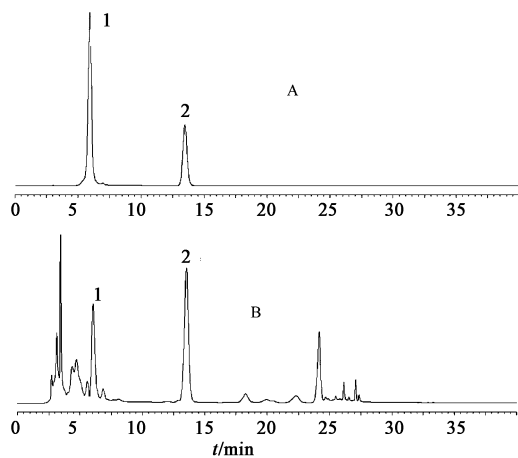
黄连、黄柏、黄芩、栀子饮片(购自南京海源中药饮片有限公司,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定,分别为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎、芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮、唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实)。黄芩苷、小檗碱对照品(批号分别为0736-200117,713-8702,均购自中国食品药品检定研究院),甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 指标成分的含量测定

**2.1.1 色谱条件** YMC-Pack ODS-A 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.2%磷酸水溶

液(47:53),流速1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长250 nm,柱温35℃,进样量10 μL,见图1。



A. 混合对照品;B. 供试品;1. 小檗碱;2. 黄芩苷

图1 黄连解毒汤水煎液 HPLC

**2.1.2 供试品溶液的制备** 按处方量精密称取各饮片(黄连27 g,黄柏18 g,黄芩18 g,栀子27 g),置于自动煎药机中,加入350 mL水,按一定条件进行煎煮,趁热过滤,待药液冷却后加水定容至500 mL量瓶中,摇匀,得汤剂溶液。精密移取汤剂溶液5 mL,旋转蒸发,残渣用80%甲醇超声溶解,溶解液于3 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,取上清液,加80%甲醇定容至20 mL量瓶中,作为供试品溶液,4℃存放备用。

**2.1.3 传统煎煮样品溶液的制备** 根据医院药房临床经验,按处方量精密称取各饮片,置于砂锅中,加水1 L浸泡30 min,武火煮沸后改用文火煎煮30 min,趁热滤出,得300 mL药液,冷却后加水定容至500 mL量瓶中,摇匀,得汤剂溶液。精密移取汤剂溶液5 mL,按2.1.2项下方法自“旋转蒸发”至“4℃存放备用”。

**2.1.4 对照品溶液的制备** 分别精密称取黄芩苷、小檗碱对照品8.26,3.42 mg,分别置于10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,得对照品储备液。分别吸取黄芩苷、小檗碱对照品储备液2.0,1.5,1.0,0.5,0.3 mL,至5 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得不同质量浓度的混合对照品溶液,于4℃存放备用。

**2.1.5 标准曲线的绘制** 取各混合对照品溶液适量,经0.45 μm微孔滤膜滤过,按2.1.1项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,对照品质量浓度为横坐标,得黄芩苷、小檗碱回归方程分别为 $Y = 3.0 \times 10^7 X - 5.0 \times 10^5$  ( $R^2 = 0.9992$ ), $Y = 4.0 \times 10^7 X - 1.26 \times 10^5$  ( $R^2 = 0.9994$ ),线性范围分别为

0.049 6 ~ 0.826, 0.020 5 ~ 0.342  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.1.6 精密度试验** 精密吸取同一混合标准品溶液,重复进样 5 次,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算样品中黄芩苷、小檗碱含量的 RSD 分别为 0.77%, 0.37%, 表明仪器精密度良好。

**2.1.7 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液,分别于 0, 3, 6, 9, 16, 24 h 进样,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算样品中黄芩苷、小檗碱含量的 RSD 分别为 0.19%, 0.11%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.1.8 重复性试验** 取同一批号的黄连解毒汤饮片 6 份,分别按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算样品中黄芩苷、小檗碱含量的 RSD 分别为 2.14%, 0.33%, 表明该方法重复性良好。

**2.1.9 加样回收率试验** 称取黄连解毒汤处方量一半的组方饮片,共 6 份,分别加入相当于黄连解毒汤处方一半量的黄芩苷、小檗碱对照品溶液,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算黄芩苷、小檗碱的平均回收率分别为 96.50%, 104.0%, RSD 分别为 1.25%, 0.83%。

**2.2 单因素试验考察** 在参考相关文献基础上,以水煎液中黄芩苷、小檗碱、浸出物含量为考察指标,按 2010 年版《中国药典》一部附录 X 项下浸出物测定法测定浸出物含量,每份样品平行 3 份。

**2.2.1 浸泡时间** 在其他煎煮条件固定的情况下,分别考察浸泡 0, 10, 20, 30, 40 min 对机器煎煮工艺的影响,结果小檗碱质量浓度分别为 0.118, 0.120, 0.111, 0.099, 0.080  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 黄芩苷质量浓度分别为 0.459, 0.472, 0.411, 0.377, 0.213  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 浸出物质量浓度分别为 0.165, 0.198, 0.175, 0.143, 0.144 g, 故选取浸泡 10, 20, 30 min 共 3 个水平进行正交试验。

**2.2.2 煎煮时间** 在其他煎煮条件固定的情况下,分别考察煎煮 10, 15, 20, 25, 30 min 对机器煎煮工艺的影响,结果小檗碱质量浓度分别 0.119, 0.201, 0.203, 0.194, 0.277  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 黄芩苷质量浓度分别为 0.233, 0.366, 0.377, 0.428, 0.568  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 浸出物质量浓度分别为 0.170, 0.301, 0.253, 0.342, 0.396 g, 故选取煎煮时间 15, 25, 30 min 共 3 个水平进行正交试验考察。

**2.2.3 煎煮温度** 在其他煎煮条件固定的情况下,分别考察煎煮温度为 105, 110, 115, 120  $^{\circ}\text{C}$  对机器煎煮工艺的影响,结果小檗碱质量分别为 0.461, 0.123, 0.099, 0.122  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 黄芩苷质量浓度分别为

0.879, 0.567, 0.377, 0.322  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 浸出物质量分别为 0.201, 0.173, 0.143, 0.148 g, 故选取煎煮温度为 105, 110, 115  $^{\circ}\text{C}$  共 3 个水平进行正交试验考察。

**2.3 机器煎煮工艺优选** 在单因素试验基础上,选取浸泡时间、煎煮时间及煎煮温度为考察因素,以黄芩苷、小檗碱、浸出物含量的综合评分为指标,权重系数分别为 25, 25, 50, 进行三因素三水平正交试验,因素水平见表 1, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 1 黄连解毒汤机器煎煮工艺正交试验因素水平

水平	A 浸泡时间/min	B 煎煮时间/min	C 煎煮温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	10	15	105
2	20	25	110
3	30	30	115

表 2 黄连解毒汤机器煎煮工艺正交试验安排

No.	A	B	C	浸出物 / $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	黄芩苷 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	小檗碱 / $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	综合 评分
1	1	1	1	0.010 8	0.70	0.31	38.75
2	1	2	2	0.010 4	0.60	0.26	34.50
3	1	3	3	0.010 4	0.54	0.22	32.00
4	2	1	2	0.007 2	0.30	0.25	22.75
5	2	2	3	0.006 4	0.30	0.17	19.75
6	2	3	1	0.009 6	0.21	0.20	22.25
7	3	1	3	0.004 8	0.13	0.21	14.50
8	3	2	1	0.006 4	0.27	0.14	18.25
9	3	3	2	0.008 4	0.33	0.12	21.75
$K_1$	105.25	76.00	79.25				
$K_2$	64.75	72.50	79.00				
$K_3$	54.50	76.00	66.25				
R	50.75	3.50	13.00				

表 3 黄连解毒汤机器煎煮工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	480.10	2	240.05	31.63	<0.05
B	2.72	2	1.36	0.18	>0.05
C	36.85	2	18.42	2.43	>0.05
D(误差)	15.18	2	7.59		

注:  $F_{0.1}(2, 2) = 9.00$ ,  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

由直观分析可知,各因素对黄连解毒汤机器煎煮工艺的影响顺序依次为  $A > C > B$ 。方差分析结果表明因素 A 对机器煎煮工艺具有显著性影响,而因素 B, C 则无显著统计学差异,确定黄连解毒汤的最佳机器煎煮工艺为  $A_1 B_3 C_1$ , 即浸泡时间 10 min, 煎

煮温度 105 ℃,煎煮时间 30 min。

**2.4 验证试验** 称取处方量药材,按最佳机器煎煮工艺条件进行 3 次验证试验,并与传统煎煮工艺进行比较,结果见表 4,表明黄连解毒汤经 2 种方法煎煮后,浸出物及指标性成分的含量均存在较大差异,机器煎煮方法优于传统煎煮方法,同时优选的机器煎煮工艺稳定合理。

表 4 黄连解毒汤机器煎煮工艺验证试验

样品	浸出物/g·mL <sup>-1</sup>	黄芩苷/g·L <sup>-1</sup>	小檗碱/g·L <sup>-1</sup>
机器煎煮法 1	0.011 6	0.98	0.38
机器煎煮法 2	0.012 4	0.89	0.37
机器煎煮法 3	0.011 2	0.91	0.41
机器煎煮法 1	0.006 8	0.47	0.2
机器煎煮法 2	0.005 6	0.45	0.25
机器煎煮法 3	0.007 6	0.48	0.26

### 3 讨论

中药汤剂为中医临床最常用的剂型,其疗效与煎煮方法密切相关。明代李时珍有“凡服汤药,虽品物专精,修治如法,而煎煮者鲁莽造次,水火不良,火候失度,则药亦无功”的论述<sup>[6]</sup>。清代徐灵胎《医学源流论》中亦说“煎药之法,最宜深讲,药之效不效,全在乎此”<sup>[7]</sup>,说明煎煮方法对药效的影响显著。

黄连解毒汤主要含生物碱、黄酮、环烯醚萜苷 3 大类成分,孙健等<sup>[8]</sup>归属了黄连解毒汤中 21 个主要色谱峰的来源,并指认了其中 11 个主要色谱峰,分别为小檗碱、黄芩苷、栀子苷、药根碱、巴马亭、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、千层纸苷、黄连碱及黄柏内酯。黄芩苷具有较强的抗炎、抗氧化作用<sup>[9]</sup>,小檗碱能显著改善糖脂代谢、减轻内皮损伤、增强其抗氧化能力、保护内皮依赖性血管舒张功能<sup>[10]</sup>。故选取黄芩苷、小檗碱 2 种药效成分和浸出物含量为考察指标进行综合评价<sup>[11-12]</sup>。

2 种煎药方法相比,机器煎煮法的水溶性浸出物和指标性成分含量均高于传统煎煮法。机器煎煮法具有温度可控的优点,可通过煎煮过程中温度的控制模拟传统煎煮中大、中、小火,以达到不同阶段时中药汤剂的煎煮要求,全过程操作可控性高,且整

个过程药液始终处于密闭状态,各种易挥发性物质在定温、定压、密闭条件下不易挥发,可最大限度地使有效成分得以保留,对提高药物疗效具有重要意义<sup>[13]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 任崇静,王永瑞.汤剂煎煮法探析——关于煎药机与传统方法制备汤剂的比较研究[J].河南中医学院学报,2008,23(1):43.
- [2] 吴彦,孙建宁,石任兵,等.黄连解毒汤有效部位对神经细胞内钙超载的作用及机制分析[J].中国中药杂志,2010,35(16):2166.
- [3] 邓远雄,何丽华,万思婷,等.黄连解毒汤对体内外晚期糖基化终产物形成的影响[J].中草药,2011,42(1):130.
- [4] 张扬,金瑾,张莲珠,等.黄连解毒汤对高脂血症大鼠血脂及氧自由基代谢的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):169.
- [5] 宋建芳,王宏洁,司南,等.黄连解毒汤的抗氧化作用及抑制乙酰胆碱酯酶活性的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(5):61.
- [6] 李学林,唐进法,孟祥乐.应用电煎药机煎煮后下药物的方法[J].中医研究,2008,21(5):20.
- [7] 刘洋.徐灵胎医学全书[M].北京:中国中医药出版社,1999:136.
- [8] 孙健,马吉胜,金瑾,等.黄连解毒汤各成分的 HPLC-UV/MS 定性定量测定方法研究[J].药学学报,2006,41(4):380.
- [9] 张涛,田林红,王春玲,等.黄芩苷对糖尿病大鼠心肌细胞凋亡的影响[J].实用医学杂志,2010,26(13):2289.
- [10] XU M G, WANG J M, CHEN L, et al. Berberine-induced mobilization of circulating endothelial progenitor cells improves human small artery elasticity [J]. J Hum Hypertens, 2008, 22(6):389.
- [11] 李祥,陈长勋,郑冰.正交试验法优选加减玉女煎的提取工艺[J].中成药,2011,33(1):176.
- [12] 缪红,王一鸣.正交试验优选养心方煎剂煎煮工艺[J].中国药房,2010,21(19):1757.
- [13] 戴雪荣,梁妙莲.中药汤剂机器煎煮与传统煎煮方法的优劣探讨[J].中外医学研究,2012,10(16):92.

[责任编辑 仝燕]