

地格达-4 味汤煎煮工艺考察

田香¹, 丁瑞雪¹, 巴根那², 白玉霞², 拉喜那木吉拉², 蔡大宇³, 饶小勇^{1*}, 罗晓健^{1*}

(1. 江西中医药大学药学院, 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006;

2. 内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古通辽 028000;

3. 楚天科技股份有限公司, 湖南宁乡 410600)

[摘要] 目的:优化地格达-4 味汤(DGD-4D)的煎煮工艺,为蒙药汤剂煎煮规范化研究提供参考。方法:以 DGD-4D 为模型药,比较了不同蒙药煎煮方法;采用 HPLC 测定汤剂中指标成分秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的含量,以指标成分转移率和浸膏得率为指标,在单因素试验基础上,采用星点设计-效应面法优选 DGD-4D 的煎煮工艺,使用 Design-Expert 8.0.6 软件进行回归模型拟合,建立工艺参数预测模型,并对最优工艺进行验证。结果:确定 DGD-4D 最佳煎煮条件为加 40 倍量水,煎煮 17 min,煎煮 1 次;秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 转移率以及浸膏得率分别为 70.01%, 94.11%, 61.23%, 92.32%, 32.89%。结论:建立了 DGD-4D 的最佳煎煮方法,对于提高蒙药制剂水平以及保证其临床疗效的一致性具有重要参考意义。

[关键词] 地格达-4 味汤; 秦皮乙素; 栀子苷; 胡黄连苷 I; 胡黄连苷 II; 总评“归一值”; 煎煮工艺

[中图分类号] R22;R94;R28;C37;O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)13-0133-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190753

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181215.1110.001.html>

[网络出版时间] 2018-12-18 13:24

Investigation of Decoction Process of Digda-4 Decoction

TIAN Xiang¹, DING Rui-xue¹, BA Gen-na², BAI Yu-xia², LAXI Namujila², CAI Da-yu³,

RAO Xiao-yong^{1*}, LUO Xiao-jian^{1*}

(1. School of Pharmacy, National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China;

2. School of Mongol Medicine, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China;

3. Truking Technology Co. Ltd., Ningxiang 410600, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the decoction process of Digda-4 decoction (DGD-4D), and provide reference for the standardization study of decoction of Mongolian medicine decoction. **Method:** Taking DGD-4D as model drug, different decoction methods of Mongolian medicine were compared, HPLC was used to determine contents of aesculetin, geniposide, picroside I and picroside II. On the basis of single factor tests, central composite design-response surface methodology was adopted to optimize the decoction process of DGD-4D with transfer rates of 4 components and dry extract rate as indexes, regression model fitting was carried out by Design-Expert 8.0.6 software, prediction model of process parameters was established, and the optimal process was

[收稿日期] 20181021(005)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09201010-001-004, 2018ZX09201010-001-009);中药制剂装备制造绿色关键技术改造项目(工信部节函(2016)562号)

[第一作者] 田香,在读博士,从事蒙药制剂研究, E-mail: tx9622@126.com

[通信作者] * 罗晓健,教授,博士生导师,从事中药制剂工艺、中药固体制剂研究, Tel:0791-87119619, E-mail: luoxj98@126.com;

* 饶小勇,副教授,硕士生导师,从事中药新药与剂型改进研究, Tel:0791-87119662, E-mail: rxy1014@163.com

verified. **Result:** The optimal decoction condition of DGD-4D was determined to be adding 40 times the amount of water and decocting for 17 min, decocting once. Transfer rates of aesculetin, geniposide, picroside I, picroside II and dry extract rate were 70.01%, 94.11%, 61.23%, 92.32%, 32.89%, respectively. **Conclusion:** The optimum decoction process of DGD-4D is established, it has important reference significance for excavating, sorting, improving the level of Mongolian medicine preparations and ensuring the consistency of their clinical efficacy.

[**Key words**] Digda-4 decoction; aesculetin; geniposide; picroside I; picroside II; overall desirability; decoction process

蒙古族药(简称蒙药)汤剂是以蒙医药理论为指导,药物经干燥、粉碎制成粉末,加水、奶、羊肉汤等煎煮或浸泡,去渣取汁制成的液体剂型,是蒙古族传统医学中应用最早、临床应用最广泛且疗效确切的剂型^[1]。蒙药的汤剂属于中药制剂中的煮散。经文献调研发现,不同书籍上记载蒙药汤剂的制备方法各不相同,见表 1。结果发现在《内蒙古蒙药制

剂规范》和《内蒙古蒙成药标准》中汤剂的制备方法下,除了对药材粉末粒径大小有具体要求外,对加水量、浸泡时间、煎煮时间均无规定;另外 5 本书籍对药材粒径、浸泡时间、煎煮时间有一定要求,但各参数明显不同。因此,同一个经典蒙药方剂采用不同的工艺制备汤剂,是否具有相同的药效物质基础与疗效值得深入研究,但目前尚无类似报道。

表 1 蒙药汤剂常见的煎煮方法

Table 1 Common decoction methods of Mongolian medicine decoction

No.	书籍	粉末粒径 /目	浸泡时间	加水量/mL (取药量 3~5 g)	煎煮时间	参考文献
1	《内蒙古蒙药制剂规范》	65~80	-	-	-	[2]
2	《内蒙古蒙成药标准》	80	-	-	-	[3]
3	《蒙药制剂学》	20	①20~30 min(以叶、花、茎类为主的汤剂);②60 min(以根、根茎、种子、果实类药物为主的汤剂)	250~300	①10~15 min(镇“赫依”和“成熟热”以及性质轻膨胀、味道香的药物,若煎煮 2 次则每次 10 min);②20~25 min(一般药材,若煎煮 2 次则每次 15~20 min);③30~45 min(滋补或质地坚硬类药物,若煎煮 2 次则每次 25~30 min)	[4]
4	《蒙医方剂学》	20~65	①5~10 min(以叶、花、茎类为主的汤剂);②15 min(以根、根茎、种子、果实类药物为主的汤剂)	250~300	一般煎 1 次为最佳。先武火煮沸,再文火缓慢煎煮至 2/3 煎干为止。①镇“赫依”和“成熟热”以及质轻膨胀、味香的药物煎煮 10~15 min;②一般药材煎煮 30 min;③质地坚硬类药物煎煮 30~45 min	[5]
5	《中国医学百科全书·蒙医学》	24~65	-	300	用无烟炭火或酒精灯等煎至 1/3 或 2/3 体积取出温服	[6]
6	《中国医学百科全书·蒙医学》(上)	65~80	-	250	先武火沸腾,再文火煎至 2/3 体积	[7]
7	《蒙药方剂大全》	24~65	-	无	根据医生的要求煎煮或处方要求煎煮	[8]

地格达-4 味汤(DGD-4D)始载于《四部医典》,是蒙古族医学(简称蒙医)临床常用方剂之一。该方由紫花地丁、胡黄连、栀子、瞿麦组成,具有清血热、分解精华与糟粕等功效,用于治疗血热相搏、肝胆热、咽喉肿痛等,临床以煮散方式使用。本实验选择 DGD-4D 为模型药物,采用表 1 中不同的工艺制

备,以秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的转移率以及浸膏得率为评价指标,比较不同制备工艺煎出液的质量差异,通过星点设计-效应面优化该药物的煎煮工艺参数,为研究不同工艺所制 DGD-4D 的药效以及规范该汤剂的制备方法提供参考,这对于挖掘、整理、提高蒙药制剂水平并保证其临床

疗效的一致性具有重要意义。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), ML3002E/02 型电子天平和 HB43-S 型快速水分测定仪(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司), NY-40A 型煎药罐(潮州市潮安区东风镇壶福五金厂)。对照品秦皮乙素(批号 Q-022-160302, 纯度 99.9%), 栀子苷(批号 110749-201718, 纯度 97.6%), 胡黄连苷 I(批号 111727-201702, 纯度 95.6%), 胡黄连苷 II(批号 111596-201604, 纯度 96.2%) 均购于中国食品药品检定研究院; 水为超纯水, 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。紫花地丁(产地河南, 批号 151119), 栀子(产地江西, 批号 151223), 胡黄连(产

地西藏, 批号 170320) 和瞿麦(产地河北, 批号 161111) 饮片均购于江西江中中药饮片有限公司, 经江西中医药大学刘勇教授鉴定, 均符合 2015 年版《中国药典》(一部) 的相关规定。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液 按处方比例称取紫花地丁、栀子、胡黄连、瞿麦(1:1:1:1), 干燥后粉碎, 过筛, 混匀, 制成 DGD-4D。称取 DGD-4D 5.0 g, 置煎药罐中, 先武火煮沸, 再文火煎煮, 煎煮 1 次, 其他煎煮条件见表 2, 药液经 200 目筛网滤过, 收集滤液, 摇匀, 备用。精密量取药液适量, 置于 10 mL 量瓶中, 用水定容至刻度, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 备用。

表 2 DGD-4D 的煎煮工艺参数

Table 2 Decoction process parameters of DGD-4D

编号	文献	粉末粒径/目	加水量/倍	浸泡时间/min	煎煮时间
S1	《内蒙古蒙药制剂规范》	65 ~ 80	60	20	25 min
S2	《蒙药制剂学》	20	60	60	25 min
S3	《蒙医方剂学》	20 ~ 65	60	15	25 min
S4	1984 年版《内蒙古蒙成药标准》	80	60	20	25 min
S5-1	汉文版《中国医学百科全书》	24 ~ 65	60	-	煎至 1/3 体积
S5-2	汉文版《中国医学百科全书》	24 ~ 65	60	-	煎至 2/3 体积
S6	《中国医学百科全书·蒙医学》(上)	65 ~ 80	84	-	煎至 2/3 体积

注: S1 和 S4 原煎煮方法中未规定浸泡时间、加水量、煎煮时间, 为了便于对比, 设定了表 2 中的参数。

2.1.2 阴性样品溶液 按处方比例和制备方法分别制备缺紫花地丁、栀子、胡黄连的阴性样品, 按 2.1.1 项下方法制成阴性样品溶液。

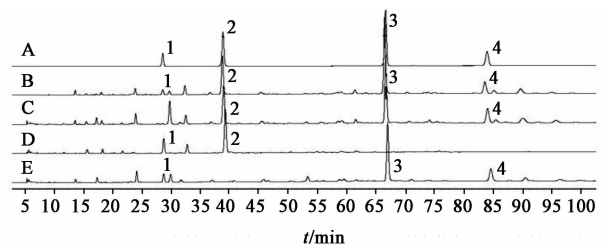
2.1.3 混合对照品溶液 精密称取秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 对照品适量, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 充分摇匀, 得质量浓度分别为 133.6, 577.2, 303.6, 732.0 mg·L⁻¹ 的混合对照品储备液, 于冰箱中 4 °C 保存, 备用。

2.2 指标成分的含量测定

2.2.1 色谱条件^[9] 采用 Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇(A)-0.1% 磷酸水溶液(B) 梯度洗脱(0 ~ 15 min, 10% ~ 18% A; 15 ~ 40 min, 18% ~ 26% A; 40 ~ 65 min, 26% ~ 36% A; 65 ~ 100 min, 36% ~ 40% A; 100 ~ 110 min, 40% ~ 55% A; 110 ~ 117 min, 55% ~ 10% A; 117 ~ 130 min, 10% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL。

2.2.2 专属性考察 按 2.2.1 项下色谱条件分别

检测混合对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液, 结果显示阴性无干扰, 说明该方法专属性良好。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品(缺紫花地丁); D. 阴性样品(缺胡黄连); E. 阴性样品(缺栀子); 1. 秦皮乙素; 2. 栀子苷; 3. 胡黄连苷 II; 4. 胡黄连苷 I

图 1 DGD-4D 的 HPLC

Fig.1 HPLC of DGD-4D

2.2.3 线性关系考察 精密吸取 2.1.3 项下混合对照品储备液 0.1, 0.2, 0.6, 1.6, 3, 5, 10 mL, 分别置于不同的 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得系列混合对照品溶液, 按 2.2.1 项下条件测定。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线,

得秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 回归方程分别为 $Y = 36\ 240X - 38\ 511$ ($r = 0.999\ 5$), $Y = 14\ 589X - 67\ 223$ ($r = 0.999\ 6$), $Y = 23\ 495X - 60\ 085$ ($r = 0.999\ 5$), $Y = 9\ 525.5X - 53\ 708$ ($r = 0.999\ 5$), 线性范围依次为 1.336 ~ 133.60, 5.772 ~ 577.20, 3.036 ~ 303.60, 7.320 ~ 732 mg·L⁻¹。

2.2.4 精密度试验 取同一供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,计算秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 峰面积的 RSD 依次为 1.9%, 1.3%, 1.2%, 1.9%, 表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 依 2.1.1 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的平均质量分数分别为 0.71%, 4.50%, 2.62%, 6.21%, RSD 依次为 1.9%, 1.2%, 1.8%, 1.3%, 表明该方法重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,分别在制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 h 按 2.2.1 项下色谱条件测定,记录峰面积,结果秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 峰面积的 RSD 分别为 1.7%, 1.8%, 1.5%, 1.9%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 加样回收率试验 取已测定指标成分含量的样品 6 份,每份约 2.5 g,精密称定,精密加入秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 对照品适量(加入量与样品中量的比例均为 1:1),按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的平均加样回收率依次为 95.31%, 95.02%, 94.91%, 95.18%, RSD 分别为 1.9%, 2.1%, 1.8%, 2.1%, 表明该方法的准确度良好。

2.3 不同煎煮工艺对 DGD-4D 质量的影响 按处方比例称取 DGD-4D 各药味,按表 2 中方法制备,分别得样品 S1 ~ S6,取各样品溶液适量,按 2.2.1 项下色谱条件测定,计算各指标成分的转移率,并测定各样品溶液的浸膏得率,见表 3。结果发现样品 S1 ~ S6 的浸膏得率基本相同,提示方中水溶性物质煎出较为完全。各种煎煮方法所得汤剂中栀子苷和胡黄连苷 II 转移率均 > 85%,可认为这 2 种成分基本提取完全,秦皮乙素、胡黄连苷 I 的转移率均 > 60%,说明这 2 种成分大部分被煎出。样品 S1 ~ S4 的体积基本相同是由于文火煎煮时间基本相同。而样品 S5-1, S5-2, S6 的体积差别较大主要是由于煎

煮方法要求煎煮终点不同所致。

表 3 DGD-4D 中指标成分及其浸膏得率的测定 ($n = 3$)

Table 3 Determination of index components and dry extract rate in DGD-4D ($n = 3$)

样品溶液	转移率				浸膏得率 %
	秦皮乙素	栀子苷	胡黄连苷 I	胡黄连苷 II	
S1	69.27	95.14	62.58	92.11	31.98
S2	67.92	93.66	60.80	91.48	30.05
S3	67.05	95.52	60.06	91.31	31.00
S4	68.98	92.73	61.38	92.16	32.05
S5-1	61.89	90.82	60.09	87.98	29.87
S5-2	68.32	88.23	63.56	85.07	31.34
S6	64.68	86.90	60.43	85.94	29.41

2.4 DGD-4D 煎煮工艺的单因素试验考察 由表 3 可知,在样品溶液 S1 ~ S6 中,各样品溶液的同一个评价指标之间差异较小,但口服体积均较大,考虑到该药液味极苦(方中有胡黄连),且煎煮时加水量已达 60 ~ 84 倍,如果继续增大加水量煎煮并不会增加个各指标成分的转移率和浸膏得率,只会增加服用剂量。因此,有必要研究加水量和煎煮时间对 5 个评价指标的影响,最终制定规范的煎煮工艺,这样既能将方中的大部分药效物质煎出,又能减少服用剂量、缩短煎煮时间,进而提高患者的顺应性。

2.4.1 加水量 称取 DGD-4D 5 g,共 9 份,分别加 20, 40, 60 倍量水浸泡 20 min,先武火煮沸,再文火煎煮 25 min,煎煮 1 次,药液经 200 目筛网滤过,收集滤液,摇匀,备用。精密量取药液适量,置于 10 mL 量瓶中,加水定容至刻度,过 0.22 μm 微孔滤膜,取续滤液,备用,见表 4。结果发现随着加水量的增加,其指标成分转移率和浸膏得率都有所增加,但是当加水量到 40 倍后,其指标成分转移率与浸膏得率增加不明显。

表 4 DGD-4D 煎煮工艺中的加水量考察 ($n = 3$)

Table 4 Investigation of adding water amount in decoction process of DGD-4D ($n = 3$)

加水量 / 倍	转移率				浸膏得率 %
	秦皮乙素	栀子苷	胡黄连苷 I	胡黄连苷 II	
20	47.26	82.38	53.74	70.87	26.4
40	65.91	90.36	60.72	86.12	27.5
60	66.66	94.76	64.42	89.27	30.1

2.4.2 浸泡时间 称取 DGD-4D 5 g, 分别加 40 倍量水浸泡 0, 10, 20 min, 其他操作同 2.4.1 项, 见表 5。结果发现浸泡时间对指标成分转移率和浸膏得率影响不显著。

表 5 DGD-4D 煎煮工艺中的浸泡时间考察 (n=3)

Table 5 Investigation of soaking time in decoction process of DGD-4D (n=3) %

浸泡时间 /min	转移率				浸膏 得率
	秦皮乙素	栀子苷	胡黄连苷 I	胡黄连苷 II	
0	65.08	93.36	60.72	84.14	26.4
10	67.99	90.36	62.87	86.12	28.3
20	68.66	94.76	64.42	89.27	30.1

2.4.3 煎煮时间 称取 DGD-4D 5 g, 分别加入 40 倍量水, 先武火煮沸, 再分别文火煎煮 5, 10, 20, 25, 30 min, 其他操作同 2.4.1 项, 见表 6。结果发现随着煎煮时间的延长, 指标成分转移率和浸膏得率有逐渐增加趋势, 但增加率不明显。

表 6 DGD-4D 煎煮工艺中的煎煮时间考察 (n=3)

Table 6 Investigation of decoction time in decoction process of DGD-4D (n=3) %

煎煮时间 /min	转移率				浸膏 得率
	秦皮乙素	栀子苷	胡黄连苷 I	胡黄连苷 II	
5	59.36	84.64	58.28	80.44	25.8
10	65.18	89.28	60.78	84.57	27.5
20	67.99	91.36	62.72	86.12	30.6
25	66.64	93.59	64.42	87.29	32.5
30	67.96	94.76	65.25	89.27	31.0

2.5 星点设计-效应面法优化煎煮工艺参数

2.5.1 因素、水平的确定 在单因素试验基础上, 选择加水量 20~60 倍, 煎煮时间 10~30 min, 煎煮数 1 次。根据星点设计原理, 每个因素设定 5 个水平, 各因素的水平代码分别为 0, ±1, ±1.414。

2.5.2 试验设计 试验安排表由 Design-Expert 8.0.6 软件生成, 根据设定的水平范围与因素, 选择秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的转移率以及浸膏得率为考察指标, 每个指标用 Hassan 方法转化为 0~1 的总评“归一值”(OD), 计算公式为 $OD = (d_1 \times d_2 \times d_3 \times \dots \times d_k)^{1/k}$ (k 为指标数), $d_i = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$, 式中 i 为第 i 个样品 (i = 1, 2, 3, 4, 5), Y_i 为选定的第 i 个样品某个评价指标的实测值, Y_{\min} 为该评价指标实测值中的最小值,

Y_{\max} 为该评价指标实测值中的最大值, OD 越大表明提取效果越好。称取 DGD-4D 5 g, 置于煎药罐里, 先武火煮沸, 再文火煎煮, 煎煮 1 次, 药液经 200 目筛网滤过, 收集滤液, 待用。按 2.2.1 项下条件测定, 试验安排及结果见表 7。

表 7 DGD-4D 煎煮工艺的星点试验分析 (n=3)

Table 7 Central composite test analysis of decoction process of DGD-4D (n=3)

No.	A 加水量 /倍	B 煎煮 时间 /min	转移率/%				浸膏 得率 /%	OD
			秦皮 乙素	栀子苷	胡黄连 苷 I	胡黄连 苷 II		
1	54.14	27.07	70.53	92.34	59.11	92.34	33.00	0.86
2	54.14	12.93	70.21	93.33	59.28	91.82	32.60	0.86
3	25.86	27.07	63.2	91.38	58.46	91.59	29.80	0.59
4	25.86	12.93	62.22	88.01	58.56	87.98	28.90	0.40
5	60.00	20.00	70.83	94.8	59.34	91.48	31.00	0.83
6	20.00	20.00	53.91	85.19	55.09	82.81	27.55	0
7	40.00	30.00	70.56	94.03	59.43	87.12	30.70	0.66
8	40.00	10.00	69.31	92.34	58.52	88.5	31.32	0.67
9	40.00	20.00	70.79	94.42	60.9	92.01	30.20	0.84
10	40.00	20.00	68.98	93.65	60.45	91.48	33.45	0.90
11	40.00	20.00	69.97	92.98	59.08	92.01	33.64	0.88
12	40.00	20.00	70.12	94.11	60.49	91.48	31.65	0.88
13	40.00	20.00	69.87	92.88	60.02	90.11	32.67	0.87

2.5.3 模型拟合与数据分析 采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 7 中试验数据进行分析 and 拟合, 分别以 A 和 B 为自变量, OD 为因变量, 进行二次多项式模型拟合, 得多元线性回归方程 $OD = 0.87 + 0.24A + 0.022B - 0.048AB - 0.20A^2 - 0.070B^2$, 其中残差 0.07, 预测误差平方和 0.406 3, 决定系数 91.47%, 说明方程拟合度和可信度均较好。故以此二次多项式模型作为预测模型, 见表 8。结果因素 A 差异极显著, 因素 B 差异不显著, 表明加水量对提取工艺具有显著性影响, 2 个考察因素间交互作用可以忽略不计, 主效应排序关系为 $A > B$ 。

2.5.4 工艺参数优化 根据上述二次多项式模型, 绘制因变量随自变量变化的效应面等高曲线图和三维效应面图, 见图 2。结果发现最优区域的 $OD > 0.85$, 确定最佳提取工艺参数为加水量 39.99 倍, 煎煮时间 16.86 min, 煎煮 1 次。结合临床实际考虑, 选取加水量 40 倍, 煎煮时间 17 min, 煎煮 1 次。

表 8 回归方程的方差分析

Table 8 Analysis of variance of regression equation

方差来源	SS	<i>f</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
模型	0.740	5	15.01	0.001 3
<i>A</i>	0.450	1	45.63	0.000 3
<i>B</i>	3.856×10^{-3}	1	0.39	0.552 5
<i>AB</i>	9.025×10^{-3}	1	0.91	0.372 1
<i>A</i> ²	0.260	1	26.68	0.001 3
<i>B</i> ²	0.034	1	3.45	0.105 7
残差	0.070	7		
纯误差	1.920×10^{-3}	4		
合计	0.810	12		

表 9 DGD-4D 煎煮工艺的验证试验 (*n* = 3)

Table 9 Verification test of decoction process of DGD-4D (*n* = 3) %

评价指标	预测值	实测值	
		数值	RSD
秦皮乙素转移率	70.95	70.01	1.8
栀子苷转移率	95.74	94.11	1.6
胡黄连苷 I 转移率	62.35	61.23	2.0
胡黄连苷 II 转移率	93.40	92.32	1.2
浸膏得率	33.85	33.61	2.0
OD	87.00	85.00	1.8

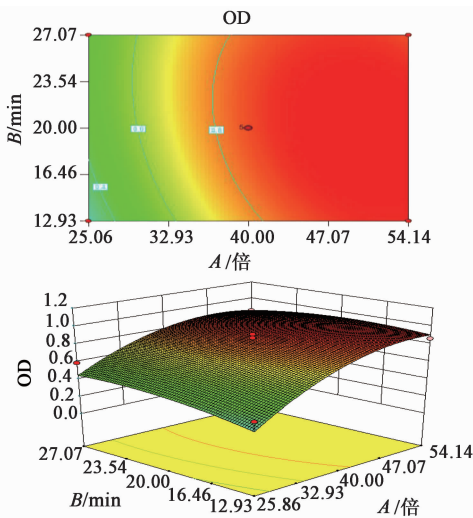


图 2 加水量与煎煮时间对 DGD-4D 煎煮工艺影响的响应曲面和等高线

Fig.2 Response surfaces and contour lines of influence of water addition and decoction time on decoction process of DGD-4D

2.5.5 验证试验 称取 DGD-4D 5 g, 平行 3 份, 按优选的工艺条件进行验证试验, 计算各评价指标实测值与预测值的偏差均 < 3%, 表明在该模型预测的最优工艺参数组合达到了预期的提取效率, 见表 9。

3 讨论

3.1 指标成分的确定 据报道, 秦皮乙素为紫花地丁药材的有效活性成分且含量较高, 该成分具有明显的抗炎、抑菌、保肝等作用^[10]。胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 是胡黄连的主要有效成分且含量较高, 具有保肝利胆、抗菌、抗病毒等多种生物活性^[11]。栀子中以栀子苷的药效活性最为明显, 具有明显的抗

炎、消肿镇痛、保肝利胆等作用^[12]。瞿麦中蒽醌类成分大黄素具有抗菌、抗炎等作用^[13], 但其含量很低, 不能检测。因此, 本研究选取 4 种成分(秦皮乙素、栀子苷、胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II)和浸膏得率作为考察指标, 能够较为全面地反映 DGD-4D 的质量。

3.2 DGD-4D 制备工艺的优化 蒙药煮散的煎煮溶剂用量为药材量的 60 ~ 84 倍。本方味极苦, 服用剂量较大, 会影响患者的顺应性。因此, 在样品 S1 煎煮方法单因素试验考察的基础上, 以加水量、煎煮时间为考察因素, 采用星点设计-效应面法考察这 2 个因素对 DGD-4D 中指标成分转移率和浸膏得率的影响, 优化煎煮工艺参数。由于工艺优化需采用多个指标综合评价汤剂的质量, 而每个指标受多个因素的影响, 并且其不一定呈现相同的线性关系。因此, 本实验采用 OD 表达各影响因素的最终效应, 并确定最佳提取工艺参数为煎煮时间 17 min, 加水量 40 倍, 煎煮 1 次, 与原煎煮工艺相比, 各考察指标的量值无明显减少, 但服用剂量却有较大幅度的减少, 有利于提高患者的顺应性。至于其临床疗效与原工艺是否一致还有待于进一步研究。

3.3 胡黄连苷 I 转移率较低的问题 胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 均属环烯醚萜类化合物^[14-15], 胡黄连苷 I 在酸性条件下不稳定, 在水中易被水解, 生成的苷元为半缩醛结构, 化学性质活泼, 容易进一步聚合。从胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 化学结构来看, 2 个化合物均含酯键, 但胡黄连苷 I 化学结构上的羰基与 α 位的双键有共轭作用, 稳定性较差, 与胡黄连苷 II 相比更容易水解。因此, 胡黄连苷 I 的转移率相对低于胡黄连苷 II。见图 3。

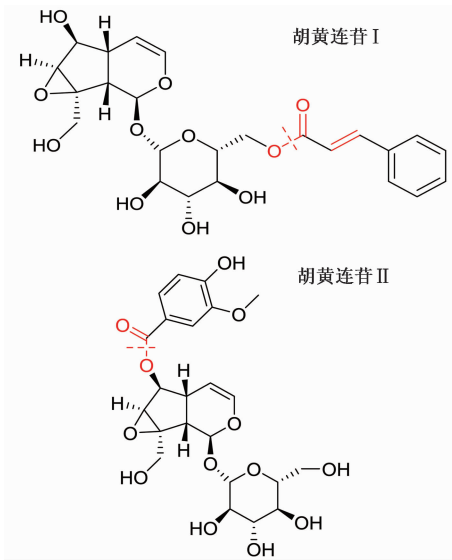


图 3 胡黄连苷 I 和胡黄连苷 II 的结构式
Fig.3 Structural formulas of picroside I and picroside II

[参考文献]

[1] 额尔德尼其劳, 杨在春, 巴音吉日嘎拉. 蒙药汤剂与中药汤剂的共同点及区别的探讨[J]. 医学信息旬刊, 2009, 1(12): 144.

[2] 内蒙古自治区食品药品监督管理局. 内蒙古蒙药制剂规范. 第二册[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2014: 附录 7-8.

[3] 内蒙古自治区卫生厅. 内蒙古蒙成药标准[M]. 呼和浩特: 内蒙古科学技术出版社, 1984: 389-391.

[4] 那生桑. 蒙药制剂学[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2012: 203-208.

[5] 巴根那. 蒙医方剂学[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2007: 21-23.

[6] 蒙医学编辑委员会. 中国医学百科全书·蒙医学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 238.

[7] 白清云. 中国医学百科全书·蒙医学(上)[M]. 呼和浩特: 内蒙古科学技术出版社, 1980: 687.

[8] 乌云. 蒙药方剂大全[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2006: 1-2.

[9] 田香, 丁瑞雪, 罗晓健, 等. 蒙药地格达-4 味汤指纹图谱及多指标成分定量分析研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(19): 240-247.

[10] 曹捷, 秦艳, 尹成乐, 等. 紫花地丁化学成分及抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 77-81.

[11] 李鹏, 郑璐, 汪斌, 等. 胡黄连苷-II 原料药的定性定量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(14): 56-58.

[12] Kitano A, Saika S, Yamanaka O, et al. Genipin suppression of fibrogenic behaviors of the α -TN4 lens epithelial cell line[J]. J Cataract Refract Surg, 2006, 32(10): 1727-1735.

[13] 刘臻, 张铭倩, 朱虹. 栝楼瞿麦汤对糖尿病肾病大鼠脂肪因子和足细胞 nephrin 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 134-139.

[14] 段晓颖, 高卫芳, 吴彩丽, 等. 均匀设计法优选胡黄连中胡黄连苷的提取工艺[J]. 中国药房, 2011, 22(39): 3675-3676.

[15] Kumar V, Sood H, Chauhan R S. Optimization of a preparative RP-HPLC method for isolation and purification of picrosides in *Picrorhiza kurroa*[J]. J Plant Biochem Biot, 2016, 25(2): 208-214.

[责任编辑 刘德文]