

[科研报道]

化痰合剂提取工艺的优化

梁少瑜^{1,2}, 吴俊洪^{1,2}, 吴升伟³, 姜倩倩^{1,2}, 吴正治^{1,2}, 于林^{3*}, 曾永长^{1,2*}

(1. 深圳大学第一附属医院转化医学院, 广东深圳 518035; 2. 深圳市老年医学研究所, 广东深圳 518020; 3. 广州医科大学附属脑科医院中医科, 广东广州 510370)

摘要: 目的 优选化痰合剂提取工艺。方法 采用网络药理学结合分子对接筛选活性成分、靶点, 构建“成分-靶点-通路”网络, 预测化痰合剂潜在质量标志物。以溶剂用量、提取时间、浸泡时间为影响因素, 辛弗林、芍药苷、橙皮苷转移率及固含量的综合评分为评价指标, 信息熵赋权法结合正交试验优化提取工艺。结果 化痰合剂中 122 种活性成分通过调控精神分裂症疾病网络中 27 个靶点来发挥抗精神分裂症的作用, β -谷甾醇、山槐素、芍药苷、卡维丁、四氢巴马汀、橙皮苷、辛弗林对关键靶点 DRD2、DRD3、DRD4、HTR2A、HTR2C、HTR3A、CHRNA7、CHRM1 具有良好的结合能, 辛弗林、芍药苷、橙皮苷为潜在质量标志物。最佳条件为加入 15 倍量水浸泡 30 min 后提取 2 次, 每次 1.5 h, 综合评分为 0.998。结论 该方法提取率高, 稳定性、重复性良好, 可用于提取化痰合剂。

关键词: 化痰合剂; 提取工艺; 网络药理学; 分子对接; 信息熵赋权法; 正交试验

中图分类号: R284.2; R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)01-0185-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.033

化痰合剂是广州医科大学脑科医院中医科基于精神分裂症气血凝滞、痰气上扰、七情内伤的中医病机, 在经方温胆汤的基础上化裁而成的院内协定处方, 由法半夏、枳实、竹茹等 10 味中药组成, 临床研究表明该方对急、慢性精神分裂症疗效显著^[1]。鉴于精神分裂症病机复杂, 其机制可能与中枢神经系统内多巴胺、5-羟色胺、 γ -氨基丁酸等多种神经递质及相关受体交错作用有关, 中药“多成分-多靶点-弱结合”对复杂性疾病精神分裂症治疗更具优势, 基于此, 本实验拟对化痰合剂进行转化研究。

中药发挥功效是复杂系统间的相互作用, 传统单指标质控模式难以全面评定其真正品质。中药质量标志物将中药品质基础、有效性及质量控制关联起来, 既反映成分与有效性、安全性的关系, 又体现成分专属性、差异性的特征。以中药质量标志物为核心的全过程质控模式将为中药制剂研发提供新视角。网络药理学融合高通量组、生物信息学等数据, 通过构建中药“活性成分-靶点-通路-疾病”等多维生物网络, 系统揭示中药对机体的调控。网络药理学的系统性与中药的整体观高度吻合, 为传统中药成分、药理研究搭建了桥梁。本课题组采用网络药理学探讨化痰合剂抗精神分裂症的“成分-靶点-通路”关系, 结合分子对接对关键活性成分-靶点进行结合模式、结合力等研究,

筛选化痰合剂抗精神分裂症的质量标志物。同时, 传统主观赋值缺乏客观性与科学性, 故本研究使用信息熵赋权法对提取工艺中各指标权重系数进行综合评定, 筛选最佳提取工艺。

1 材料

1.1 仪器 LC-2030C 3D 高效液相色谱仪及工作站、AP125WD 天平 (日本岛津公司); Supersil ODS2 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) (大连依利特分析仪器有限公司); BSA224S 天平 (德国 Sartorius 公司); KQ-400KDE 型超声仪 (昆山市超声仪器有限公司); TC-15 套式恒温器 (海宁市新华医疗器械厂); XHRE-501 旋转蒸发仪 (上海霄汉实业发展有限公司)。

1.2 试剂与药物 法半夏 (产地四川, 批号 181205)、麸炒枳实 (产地广东, 批号 190201)、白芍 (产地安徽, 批号 190301)、竹茹 (产地广东, 批号 180401)、陈皮 (产地广东, 批号 181201)、郁金 (产地广东, 批号 181201)、茯苓 (产地安徽, 批号 190201)、制远志 (产地山西, 批号 190102)、香附 (产地安徽, 批号 181201)、甘草 (产地内蒙古, 批号 190301) 均购自广州至信中药饮片有限公司, 经专家鉴定为正品。辛弗林 (批号 110727-201809, 纯度 99.5%)、芍药苷 (批号 110736-201943, 纯度 95.1%)、橙

收稿日期: 2021-08-16

基金项目: 广东省自然科学基金 (2018A030313995, 2021A1515010978, 2021A1515012474); 深圳市科技计划项目 (JCYJ20180227175929767); 岭南中医药现代化专项 (2020B1111120003)

作者简介: 梁少瑜 (1983—), 女, 博士, 高级工程师, 从事老年性疾病中医药防治研究。E-mail: lsy1199@126.com

*通信作者: 于林 (1980—), 男, 博士, 主任医师, 从事中西结合防治脑科疾病研究。E-mail: yulinfimmu@126.com

曾永长 (1979—), 男, 博士, 高级工程师, 从事中药复方药效物质基础与新药开发研究。E-mail: zyc1199@126.com

网络出版日期: 2022-01-20

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220119.1716.010.html>

皮苷（批号 110721-201818，纯度 96.2%）对照品均购自中国食品药品检定研究院。色谱纯乙腈购自德国 Merck 公司；其余试剂均为分析纯；水为超纯水。

1.3 数据库与软件 Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP, <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)；Traditional Chinese Medicine Database @ Taiwan (TCM @ Taiwan, <http://tem.cmu.edu.tw/>)；Chemistry Database (<http://www.organchem.csdb.cn/>)；Comparative Toxicogenomics Database (CTD, <http://ctdbase.org/>)；Uniprot Database (<https://www.uniprot.org/>)；The Human Gene Database (GeneCards, <https://www.genecards.org/>)；Human Disease Database (MalaCards, <https://www.malacards.org/>)；Therapeutic Target Database (TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>)；DAVID Bioinformatics Resources 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>)；Protein Data Bank (PDB, <http://www.rcsb.org/>)；分子对接软件 SYBYL-X1.3；可视化软件 Cytoscape 3.8.2。

2 方法与结果

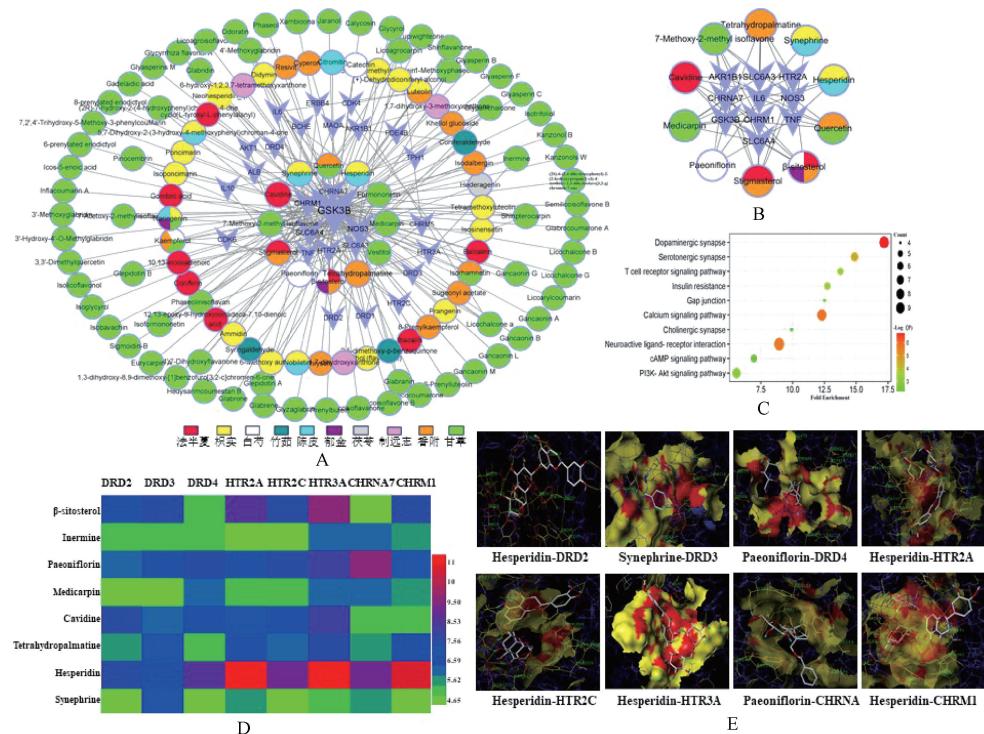
2.1 质量标志物筛选 以化痰合剂方中 10 味组方药材为关键词，检索 TCMSP、TCM Database @ Taiwan、Chemistry Database，获取相关信息，以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 者为候选活性成分，同时通过文献挖掘补充不在筛选范围内，但已有研究证明具有明显生理活性的成分。通过 TCMSP、CTD 检索化痰合剂候选活性靶点。以“schizophrenia”为关键词检索 GeneCards、MalaCards、TTD 数据库获得精神分裂症靶点，取其与化痰合剂活性靶点的交集为化痰合剂抗精神分裂症潜在靶点。将化痰合剂抗精神分裂症活性成分-靶点关系导入 Cytoscape 3.8.2 构建化痰合剂“potential compounds- potential targets, pC-pT”网络并进行拓扑分析，通过 Cytohubba 构建关键子网络。将化痰合剂抗精神分裂症潜在靶点导入 DAVID 6.8 数据库进行 KEGG 富集。采用 SYBYL-X1.3 对化痰合剂的关键活性成分及靶点进行分子对接及打分。

结果，组方药材所含成分共 994 种，其中活性成分 189 种，匹配到 399 个候选靶点；筛选精神分裂症靶点 205 个，取候选靶点与其交集，共获得 27 个潜在靶点，包括多巴胺受体 D1、D2、D3、D4 (DRD1、DRD2、DRD3、DRD4)，毒蕈碱乙酰胆碱受体 M1、M5 (CHRM1、CHRM5)，一氧化氮合酶 (NOS3)，5-羟色胺受体 2A、2C、3A (HTR2A、HTR2C、HTR3A)，钠依赖性多巴胺转运蛋白 (SLC6A3)，钠依赖性血清素转运蛋白 (SLC6A4)，肿瘤坏死因子 (TNF)，醛糖还原酶 (AKR1B1)，白细胞介素 6、10 (IL6、IL10)，糖原合酶激酶-3β (GSK3B)，胺氧化酶 A (MAOA)，细胞分裂蛋白激酶 4 (CDK4)，神经元乙酰胆碱受体亚基 α-7 (CHRNA7)，酪氨酸蛋白激酶受体 (ERBB4)，色氨酸羟化酶 (TPH1)，血清白蛋白 (ALB)，丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 (AKT1)，胆碱酯酶 (BCHE)，

细胞分裂蛋白激酶 6 (CDK6) 及 cAMP 特异性 3', 5'-环状磷酸二酯酶 4B (PDE4B)。采用 Cytoscape 3.8.2 软件构建华“活性成分-靶点，C-T”网络，见图 1A，网络中共有 149 个节点 (27 个 V 形节点代表化痰合剂抗精神分裂症潜在靶点，122 个圆形节点代表化痰合剂潜在活性成分) 和 249 条连线。通过 Cytohubba 设定 Top 20 nodes ranked by MCC，获取关键子网络，见图 1B，可知槲皮素、四氢巴马汀、辛弗林、豆甾醇、卡维丁、橙皮苷、芍药苷、7-甲氧基-2-甲基异黄酮、美迪紫檀素、β-谷甾醇为关键活性成分。KEGG 通路富集分析共获得 33 条信号通路，涉及多巴胺能神经突触、钙信号通路、T 细胞受体信号通路、胰岛素抵抗、cAMP 信号通路、血清素神经突触、PI3K-Akt 信号通路等，见图 1C。将化痰合剂的核心成分与精神分裂症的关键靶点进行分子对接，结果见图 1D~1E，其中 β-谷甾醇、橙皮苷对 DRD2，β-谷甾醇、四氢巴马汀、辛弗林对 DRD3，芍药苷、四氢巴马汀、橙皮苷对 DRD4，β-谷甾醇、卡维丁、四氢巴马汀、橙皮苷对 HTR2A，β-谷甾醇、芍药苷、橙皮苷对 HTR2C，β-谷甾醇、芍药苷、卡维丁、四氢巴马汀、橙皮苷对 HTR3A，芍药苷、橙皮苷对 CHRNA7，β-谷甾醇、芍药苷、橙皮苷对 CHRM1 的结合得分均大于 7.0，即结合情况良好。

辛弗林是一种拟交感神经类生物碱，也是化痰合剂中臣药枳实和佐药陈皮的主要活性成分，可刺激肾上腺素受体，提高新陈代谢、促进脂质代谢、增加热量消耗，还能通过调节谷氨酰胺、谷氨酸代谢及缬氨酸和异亮氨酸的生物合成，上调单胺神经递质甲肾上腺素 (NE)、5-羟色胺 (5-HT)、糖皮质激素受体 (GR) 水平等途径来发挥抗焦虑、抗抑郁的作用^[2-4]。芍药苷是一种紫烷单萜苷，也是佐药芍药的主要药效成分，具有抗自由基损伤、改善微循环、抗氧化、抑制细胞内钙超载和抗神经毒性等生物学效应，还可诱导 EGFR 转录和 TNFR1 衰减^[5]，降低 NF-κB p65、TNF-α、IL-1β、IL-6 水平，抑制 CASP3 发挥抗炎和神经保护作用^[6]。芍药苷与治疗精神疾病药物奥氮平联用时，可恢复后者导致多巴胺 D2 受体的下调，逆转后者对组织中 TGF-β1 及其下游基因、TGFBR2、TGFBR1 的抑制作用^[7]。橙皮苷是一种双氢黄酮苷，也是臣药枳实、佐药陈皮的主要活性成分，可提高海马 GR 水平和 Bcl-2 蛋白表达，降低 NR2B 水平和 Bax 蛋白表达，减少神经细胞凋亡^[8]，还能降低溶血空斑形成细胞 PFC 和小胶质细胞中 IL-1β、IL-6、TNF-α、NLRP3、CASP1、ASC 水平，通过抑制小胶质细胞和炎症来发挥抗抑郁的作用^[9]。辛弗林化学稳定性良好，量值准确，均匀性理想^[10]。芍药苷在酸性和中性条件下稳定性良好，降解速率随温度降低而降低，在冷藏 (4 °C) 条件下稳定^[11]。综合考虑中药复方质量标准指标选择的药效相关性、稳定性、可控性等特点，选择辛弗林、芍药苷、橙皮苷作为质量标志物进行后续工艺研究。

2.2 辛弗林、芍药苷、橙皮苷含量测定



注：A~E 分别为“pC-pT”网络图、关键子网络图、KEGG 富集分析图、核心成分与靶点对接得分图、对接模式图。

图 1 质量标志物筛选流程

2.2.1 色谱条件

2.2.1.1 辛弗林 依利特 Supersil ODS2 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相甲醇-磷酸二氢钾溶液 (48:52)；体积流量 1 mL/min；柱温 30 °C；检测波长 275 nm；进样量 20 μL 。

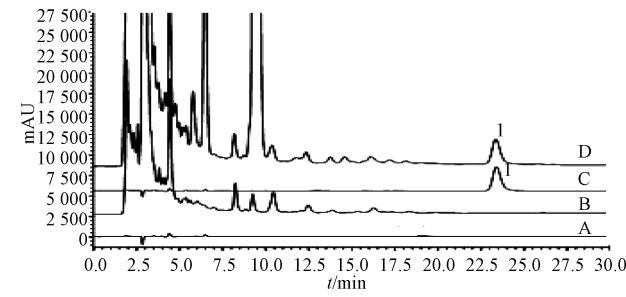
2.2.1.2 芍药苷、橙皮苷 依利特 Supersil ODS2 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相乙腈 (A) -0.1% 磷酸 (B), 梯度洗脱 (0~17 min, 14% A; 17~18 min, 14%~20% A; 18~35 min, 20% A; 35~38 min, 20%~70% A; 38~48 min, 70% A; 48~51 min, 70%~14% A; 51~56 min, 14% A); 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 254 nm (芍药苷)、360 nm (橙皮苷); 进样量 20 μ L。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取辛弗林对照品 10.04 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 蒸馏水溶解, 摆匀, 定容, 即得相应对照品溶液。精密称取芍药苷对照品 10.24 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 定容, 摆匀, 即得相应对照品溶液。精密称取橙皮苷对照品 10.16 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 定容, 摆匀, 即得相应对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 精密量取提取液 1 mL, 过聚酰胺柱 (30~60 目, 2.5 g, 内径 1.2 cm, 干法装柱), 用 25 mL 水洗脱, 收集洗脱液, 转移至 25 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摆匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得辛弗林供试品溶液。精密量取提取液 1 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声 (160 W、40 kHz) 处理 10 min, 放冷, 甲醇定容至刻度, 摆匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得苦参碱、桔梗苦参碱溶液。

2.2.4 阴性样品溶液制备 按处方量称取化痰合剂处方中除枳实、陈皮外各药材，置于圆底烧瓶中，加入15倍量水浸泡30 min后提取2次，每次1.5 h，合并2次滤液，称定质量，作为缺枳实、陈皮阴性样品，同法制备缺白芍阴性样品，按“2.2.3”项下方法制备，即得。

2.2.5 系统适应性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液及空白溶剂（辛弗林改为蒸馏水，芍药苷、橙皮苷改为甲醇）各 20 μ L，在“2.2.1”色谱条件下进样测定，结果见图 2~4。由此可知，各成分分离度良好，峰形理想，阴性无干扰。

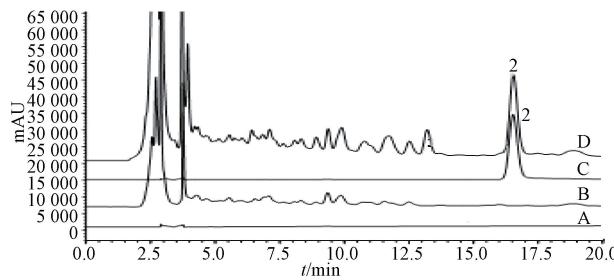


注：A~D 分别为空白溶剂、缺枳实和陈皮阴性样品、辛弗林对照品、化痰合剂。

1. 辛弗林

图 2 辛弗林 HPLC 色谱图

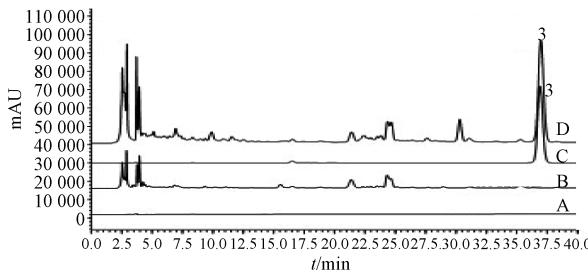
2.2.6 线性关系考察 精密移取“2.2.2”项下对照品溶液 0.5、1、2、4、8、10 mL，置于 25 mL 量瓶中，相应溶剂溶解稀释至刻度，摇匀，在“2.2.1”色谱条件下进样测定，以对照品质量浓度为横坐标 (X)、峰面积为纵坐标



注: A~D 分别为空白溶剂、缺芍药苷阴性样品、芍药苷对照品、化痰合剂。

2. 芍药苷

图3 芍药苷 HPLC 色谱图



注: A~D 分别为空白溶剂、缺枳实阴性样品、橙皮苷对照品、化痰合剂。

3. 橙皮苷

图4 橙皮苷 HPLC 色谱图

(Y) 进行回归, 结果见表 1, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
辛弗林	$Y=8927.8X-1572.5$	0.9999	8.03~160.64
芍药苷	$Y=12993X-5471.2$	0.9995	8.19~163.84
橙皮苷	$Y=18128X+14931$	0.9998	8.13~162.56

2.2.7 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得辛弗林、芍药苷、橙皮苷峰面积 RSD 分别为 0.44%、0.75%、0.78%, 表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液 6 份, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 测得辛弗林、芍药苷、橙皮苷峰面积 RSD 分别为 1.26%、1.07%、1.34%, 表明该方法重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取同一份供试品溶液适量, 于 0、3、6、9、12、18、24 h 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 测得辛弗林、芍药苷、橙皮苷峰面积 RSD 分别为 1.49%、0.79%、1.27%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密量取各成分含量已知的同一份提取液 500 μL , 共 9 份, 分别按 50%、100%、150% 水平精密加入对照品溶液, 平行 3 份, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 辛弗林、芍药苷、橙皮苷平均加样回收率 (RSD) 分别为 102.1% (1.30%)、99.4% (1.97%)、99.6% (1.55%)。

2.3 提取工艺优化

2.3.1 正交试验 称取处方量药材, 置于 3 L 圆底烧瓶中回流提取, 提取液过滤, 滤液减压浓缩, 以溶剂用量 (A)、提取时间 (B)、浸泡时间 (C) 为影响因素, 辛弗林、芍药苷、橙皮苷转移率及固含量的综合评分 (M) 为评价指标, 进行 $L_9(3^4)$ 四因素三水平设计, 结果见表 2。

2.3.2 信息熵赋权法 以辛弗林、芍药苷、橙皮苷转移率及固含量为依据, 建立原始指标矩阵 (X_{ij}) mn , $X =$

$$\begin{bmatrix} 79.41 & 84.91 & 85.05 & 89.05 & 91.16 & 94.17 & 92.91 & 95.17 & 97.36 \\ 75.41 & 74.67 & 69.79 & 83.25 & 73.34 & 77.09 & 77.71 & 83.17 & 79.49 \\ 10.25 & 12.47 & 11.43 & 13.99 & 14.13 & 13.49 & 17.44 & 18.57 & 19.15 \\ 7.41 & 12.01 & 11.48 & 11.54 & 13.75 & 13.10 & 14.83 & 15.59 & 16.33 \end{bmatrix}.$$

表2 试验设计与结果

试验号	A 溶剂用量/倍	B 提取时间/h	C 浸泡时间/min	D(空白)	辛弗林转移率/%	芍药苷转移率/%	橙皮苷转移率/%	固含量/%	M 综合评分
1	6(1)	1.0(1)	0(1)	(1)	79.41	75.41	10.25	7.41	0.5214
2	6(1)	1.5(2)	30(2)	(2)	84.91	74.67	12.47	12.01	0.7075
3	6(1)	2.0(3)	60(3)	(3)	85.05	69.79	11.43	11.48	0.6655
4	10(2)	1.0(1)	30(2)	(3)	89.05	83.25	13.99	11.54	0.7360
5	10(2)	1.5(2)	60(3)	(1)	91.16	73.34	14.13	13.75	0.7991
6	10(2)	2.0(3)	0(1)	(2)	94.17	77.09	13.49	13.10	0.7680
7	15(3)	1.0(1)	60(3)	(2)	92.91	77.71	17.44	14.83	0.9121
8	15(3)	1.5(2)	0(1)	(3)	95.17	83.17	18.57	15.59	0.9640
9	15(3)	2.0(3)	30(2)	(1)	97.36	79.49	19.15	16.33	0.9985
K_1	0.6315	0.7232	0.7511	0.7730	—	—	—	—	—
K_2	0.7677	0.8235	0.8140	0.7959	—	—	—	—	—
K_3	0.9582	0.8107	0.7922	0.7885	—	—	—	—	—

将原始矩阵转换为概率矩阵 (P_{ij}) mn , P_{ij} 表示第 j 次

实验在 i 指标下的概率, 公式为 $P_{ij} = X_{ij} / \sum_{j=1}^n X_{ij}$,

$$P = \begin{bmatrix} 0.0981 & 0.1049 & 0.1051 & 0.1100 & 0.1127 & 0.1164 & 0.1148 & 0.1176 \\ 0.1087 & 0.1076 & 0.1006 & 0.1200 & 0.1057 & 0.1111 & 0.1120 & 0.1199 \\ 0.0783 & 0.0952 & 0.0873 & 0.1069 & 0.1079 & 0.1030 & 0.1332 & 0.1418 \\ 0.0639 & 0.1035 & 0.0989 & 0.0994 & 0.1185 & 0.1129 & 0.1278 & 0.1344 \end{bmatrix}^{\circ}$$

计算各项指标的信息熵 (H_i)，公式为 $H_i = -k \sum_{j=1}^n P_{ij} \ln P_{ij}$, $k = 1/\ln n$, $H_i = [0.9991, 0.9993, 0.9905, 0.9905]$ 。

计算指标的熵权系数 (W_i)，公式为 $W_i = (1 - H_i) / \sum_{j=1}^m (1 - H_j)$, $W_i = [0.0437, 0.0340, 0.4612, 0.4612]$ 。

对概率矩阵的数据进行加权处理，计算综合评分 (M)，公式为 $M = X_i \text{辛弗林} / X_{\text{max辛弗林}} \times 0.0437 + X_i \text{芍药苷} / X_{\text{max芍药苷}} \times 0.0340 + X_i \text{橙皮苷} / X_{\text{max橙皮苷}} \times 0.4612 + X_i \text{固含量} / X_{\text{max固含量}} \times 0.4612$ 。

2.3.3 结果分析 方差分析见表3，可知各因素影响程度依次为 $A > B > C$ ，即溶剂用量>提取时间>浸泡时间。方差分

析见表3，可知因素 A 具有显著差异 ($P < 0.05$)， B, C 无显著差异 ($P > 0.05$)。最终确定，最优工艺为 $A_3B_2C_2$ ，即加入15倍量水浸泡30 min后提取2次，每次1.5 h。

表3 方差分析

来源	离均差平方和	自由度	F值	P值
A	0.162	2	162.000	<0.05
B	0.018	2	18.000	>0.05
C	0.006	2	6.000	>0.05
D(误差)	0.001	2	1.000	—

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

2.4 工艺放大及验证试验 采用“2.3.3”项下优化工艺，将溶剂用量增加至20倍进行3批放大试验，同时再进行3批验证试验，结果见表4。由此可知，2种试验所得结果比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，表明该工艺稳定可行。

表4 工艺放大及验证试验结果 ($n=3$)

试验号	辛弗林转移率/%	芍药苷转移率/%	橙皮苷转移率/%	固含量/%	综合评分/分	平均综合评分/分	RSD/%
放大试验1	97.76	82.76	18.91	16.42	0.9967	1.0032	0.75
放大试验2	96.79	83.57	19.35	16.21	1.0013		
放大试验3	97.13	82.98	19.41	16.52	1.0114		
验证试验1	97.57	83.51	19.37	16.45	1.0089	0.9982	0.95
验证试验2	97.06	83.11	18.94	16.19	0.9908		
验证试验3	97.18	83.03	18.89	16.38	0.9950		

3 讨论

据中国疾病预防控制中心精神卫生中心统计，我国精神分裂症患者超过1700万。临床一线用药包括第二、三代非经典抗精神分裂症药物在控制症状的同时伴随着如体质量增加、代谢异常、直立性或体位性低血压、Q-T间期延长等不良反应的发生^[12-13]。国内学者对温胆汤加减方单用或联合化药治疗精神分裂症的随机对照试验进行了疗效与安全性的Meta分析，温胆汤加减方单用或联用能有效提高抗精神分裂症有效率和痊愈率，降低PANSS评分及锥体外系不良反应发生率^[14-15]。以温胆汤为基础化裁而成的院内协定处方化痰合剂的开发具有重大价值。

化痰合剂抗精神分裂症网络药理学和分子对接研究表明，槲皮素、四氢巴马汀、卡维丁、辛弗林、芍药苷、橙皮苷等通过调控多巴胺能神经突触、钙信号通路、T细胞受体信号通路等的GSK3B、MAOA、AKT1、DRD2、CHRM1、NOS3、CHRNA7、HTR2A、TNF、IL1B等表达发挥抗精神分裂症作用；辛弗林、芍药苷及橙皮苷对精神分裂症核心靶点DRD2、DRD3、DRD4、HTR2A、HTR2C、HTR3A、CHRNA7、CHRM1具有良好的结合能力。结合质量标志物“五原则”选定辛弗林、芍药苷、橙皮苷为化痰合剂质量标志物。

工艺指标的客观赋权是制剂工艺研究的另一重要问题。信息熵赋权法使用决策矩阵确定属性权重，其不依赖于决

策者的主观判断，决策或评价结果具有较强的数学科学依据，可靠性好^[16-18]。本研究采用信息熵赋权法计算正交试验中辛弗林转移率、芍药苷转移率、橙皮苷转移率及固含量4个评价指标的权重系数，优化提取工艺参数溶剂用量、提取时间和浸泡时间，优化后的提取工艺有效成分转移率和固含量高，工艺稳定。

参考文献:

- 黄俊东,于林,朱志敏.加味温胆汤治疗痰湿内阻型慢性精神分裂症的临床效果[J].世界中医药,2018,13(7):1677-1680.
- 谢杞,王云,徐秋月,等.辛弗林对CUMS大鼠抑郁样行为和血清代谢组学的影响[J].南京中医药大学学报,2019,35(5):590-595.
- 王云.枳壳芍药及吸收成分辛弗林和芍药苷抗抑郁促动力的多靶点机制[D].厦门:厦门大学,2017.
- 王晶晶.枳实及辛弗林对慢性应激抑郁模型大鼠的抗抑郁作用研究[D].杭州:浙江工业大学,2012.
- Wang H F, Ma S H, Li J, et al. ADAM17 participates in the protective effect of paeoniflorin on mouse brain microvascular endothelial cells [J]. J Cell Physiol, 2018, 233 (12): 9320-9329.
- Gu X Y, Cai Z X, Cai M, et al. Protective effect of paeoniflorin on inflammation and apoptosis in the cerebral cortex

- of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3): 2247-2252.
- [7] Huang X Q, Ren L Y, Hou L B, et al. Paeoniflorin ameliorates antipsychotic-induced hyperprolactinemia in rats by attenuating impairment of the dopamine D2 receptor and TGF- β 1 signaling pathways in the hypothalamus and pituitary [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 257: 112862.
- [8] 陈曦, 曹慧, 胡力. 橙皮苷对抑郁症大鼠海马神经细胞凋亡、GR及NR2B的影响[J]. 中国药师, 2020, 23(11): 2118-2122.
- [9] Xie L L, Gu Z M, Liu H Z, et al. The anti-depressive effects of hesperidin and the relative mechanisms based on the NLRP3 inflammatory signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1251.
- [10] 林涛, 邵金良, 李茂萱, 等. 枳实中辛弗林分离纯化及其标准样品定值与不确定度研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(3): 459-465.
- [11] 霍晓光, 胡欣彤, 陈丽霞, 等. 莎草苷稳定性研究[J]. 中国科技论文, 2017, 12(18): 2092-2097.
- [12] Allison D B, Mentore J L, Heo M, et al. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis [J]. *Am J Psychiat*, 1999, 156(11): 1686-1696.
- [13] Ibrahim H M, Tamminga C A. Schizophrenia: treatment targets beyond monoamine systems [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2011, 51: 189-209.
- [14] 徐义勇, 田真真, 易惺钱, 等. 温胆汤联合抗精神病药物治疗精神分裂症疗效与安全性的Meta分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(10): 2536-2540.
- [15] 李昂, 张冰, 张丹, 等. 温胆汤加减方治疗精神分裂症不良反应/事件的Meta分析[J]. 药物流行病学杂志, 2020, 29(1): 23-29; 60.
- [16] 权亮, 赵永峰, 陈志敏, 等. 基于信息熵赋值法的正交联用Box-Behnken设计-响应面法优化黄丝郁金醋炙工艺研究[J]. 中草药, 2018, 49(8): 1823-1828.
- [17] 陈丽津, 汤浩, 石磊, 等. 基于信息熵理论的正交设计优化消乳增胶囊的提取工艺[J]. 中草药, 2019, 50(14): 3345-3350.
- [18] 韩忠耀, 余跃生, 袁开伦, 等. 基于信息熵赋权法优化苦药水冬瓜根皮药材提取工艺[J]. 中药材, 2019, 42(2): 390-392.

山萸肉炖制工艺优化

朱琳¹, 鞠成国^{1,2*}, 徐裕彬³, 王巍¹, 贾天柱^{1,2}

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600; 2. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁大连 116600; 3. 北京橘井健康科技集团, 北京 100068)

摘要: 目的 优化山萸肉炖制工艺。方法 在单因素试验基础上, 以酒蜜比、炖制时间、烘干温度、烘干时间为影响因素, 莫诺苷、獐芽菜苷、马钱苷、山茱萸新苷 I、没食子酸含量的总评“归一值”(OD值)为评价指标, 正交试验结合层次分析法优化炖制工艺。结果 最佳条件为净山萸肉加适量辅料拌匀, 密闭, 隔水炖制6 h至辅料被吸尽, 取出, 在50℃下烘干5 h, 每100 kg用辅料35 kg(酒蜜比30:5), OD值为96.6。与酒萸肉比较, 酒蜜萸肉炖制后莫诺苷、獐芽菜苷、马钱苷、山茱萸新苷 I含量升高。结论 该方法准确可靠、重复性好, 可用于炖制酒山萸肉。

关键词: 山萸肉; 炖制工艺; 正交试验; 层次分析法

中图分类号: R283

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)01-0190-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.034

山萸肉为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 其味酸、涩, 具有补益肝肾、收涩固脱的功效, 临幊上常用于治疗眩晕耳鸣、腰膝酸痛、内热消渴等证^[1]。山萸肉始载于汉代《神农本草经》, 炮制方法最早见于汉代《金匱玉函经》, 曰“不咀”^[2-3]。宋代《圣济总录》记载有多种炮制方法, 即“洗炒、打破

炒、酒浸、酒拌、麸炒”^[4]。目前, 山萸肉的炮制方法大多为酒蒸(炖)法, 但其酸涩感较重。酒萸肉中没食子酸含量高于生品, 莫诺苷、马钱苷、山茱萸新苷含量低于生品^[5-10]。山萸肉中活性成分主要包括环烯醚萜苷、有机酸、三萜^[11], 其中莫诺苷、马钱苷具有保护心肌、调节骨代谢等作用^[12], 獐芽菜苷具有保护肝细胞、促进细胞修复的作

收稿日期: 2022-03-02

基金项目: 辽宁中医药大学横向课题 (2020000000014)

作者简介: 朱琳(1996—), 女, 硕士生, 从事中药炮制工艺与原理研究。E-mail: 1398243456@qq.com

*通信作者: 鞠成国(1979—), 男, 博士, 教授, 从事中药炮制工艺与原理研究。Tel: (0411) 85890146, E-mail: jcg7092357@163.com