

多指标综合评分法优选加味桂枝茯苓汤提取工艺

牛晓静^{1*}, 许红玮¹, 韩丽萍²

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2. 郑州大学第一附属医院, 郑州 450000)

[摘要] **目的:** 优选加味桂枝茯苓汤的提取工艺。**方法:** 以咖啡酸、连翘苷、连翘酯苷 A 和芍药苷提取量的综合评分为指标, 采用正交试验考察加水量、提取次数及时间对加味桂枝茯苓汤提取工艺的影响。采用 HPLC 测定咖啡酸、连翘苷、连翘酯苷 A 和芍药苷含量, 检测波长分别为 323, 277, 330, 230 nm。**结果:** 最佳提取工艺为加 8 倍量水煎煮 3 次, 每次 2 h; 咖啡酸、连翘苷、连翘酯苷 A 和芍药苷提取量分别为 1.04, 7.80, 12.37, 35.33 mg·g⁻¹。**结论:** 采用多指标综合评分法优选的提取工艺科学合理。

[关键词] 加味桂枝茯苓汤; 提取工艺; 多指标综合评分法; 咖啡酸; 连翘苷; 连翘酯苷 A; 芍药苷

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0029-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100029

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000094.html>

[网络出版时间] 2014-03-07 11:01

Optimization of Extraction Technology for Jiawei Guizhi Fuling Decoction by Multi-index Comprehensive Score

NIU Xiao-jing^{1*}, XU Hong-wei¹, HAN Li-ping²

(1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;
2. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of Jiawei Guizhi Fuling decoction. **Method:** Orthogonal test was adopted to investigate effects of the amount of water, extraction times and time on extraction process by taking composite score of extraction amount of caffeic acid, forsythin, forsythoside A and paeoniflorin. HPLC was employed to determine contents of index components with detection wavelength were 323, 277, 330, 230 nm, respectively. **Result:** Optimal extraction technology was as following: decocted 3 times with eight times the amount of water for 2.0 h each time; extraction amount of caffeic acid, forsythin, forsythoside A and paeoniflorin were 1.04, 7.80, 12.37, 35.33 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion:** This optimized extraction technology was reasonable and scientific by multi-index comprehensive score.

[Key words] Jiawei Guizhi Fuling decoction; extraction technology; multi-index comprehensive score; caffeic acid; forsythin; forsythoside A; paeoniflorin

桂枝茯苓汤源于东汉张仲景的《金匱要略》, 由桂枝、茯苓、牡丹皮等 5 味中药组成, 具有活血化瘀、

消癰的功效。临床研究发现加味桂枝茯苓汤, 即原组方增加蒲公英、连翘等, 治疗伴有白帶黄浊、伴有感染者的子宫囊肿方面疗效较好, 临床常用于治疗子宫内膜炎、子宫肌瘤、卵巢囊肿等妇科病症和前列腺肥大、肝脾肿大等血癖湿阻症。现研究发现桂枝茯苓汤对糖尿病、肾病治疗作用亦较好^[1]。蒲公英为方中君药, 主要有效成分为咖啡酸; 连翘为臣药, 主要有效成分为连翘苷和连翘酯苷 A。本实验以咖

[收稿日期] 20131125(001)

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划省部共建项目 (2011010002)

[通讯作者] * 牛晓静, 药师, 硕士, 从事中药新药及其质量控制研究, Tel: 0371-66633639, E-mail: niuxiaojing314@163.com

啡酸、连翘苷、芍药苷和连翘酯苷 A 含量为考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,以多指标综合评分法优选该复方的提取工艺条件。

1 材料

e2695 型高效液相色谱仪(美国沃特世公司),CF225D 型电子天平(德国赛多利斯集团)。蒲公英、连翘、桂枝、茯苓、赤芍、牡丹皮等药材均购自河南中医学院第一附属医院中药房,经我院陈天朝主任药师鉴定均符合《中国药典》2010 年版一部相关项下规定。咖啡酸、连翘苷、芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110885-200102,821-9407,110736-201337),连翘酯苷 A 对照品(批号 201011,四川维克奇生物科技有限公司提供),甲醇、乙腈、磷酸、冰醋酸为色谱纯,水为高纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 提取工艺设计 选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,以咖啡酸、连翘苷、连翘酯苷 A 和芍药苷提取量为评价指标,加水量、提取次数及时间为考察因素,因素水平见表 1。按处方比例称取各药味(蒲公英 15 g,连翘 10 g,桂枝 6 g,茯苓 10 g,赤芍 15 g,牡丹皮 15 g,桃仁 10 g,三棱 15 g,莪术 15 g,川芎 15 g,炙鳖甲 10 g),共 9 份。

表 1 加味桂枝茯苓汤提取工艺正交试验因素水平

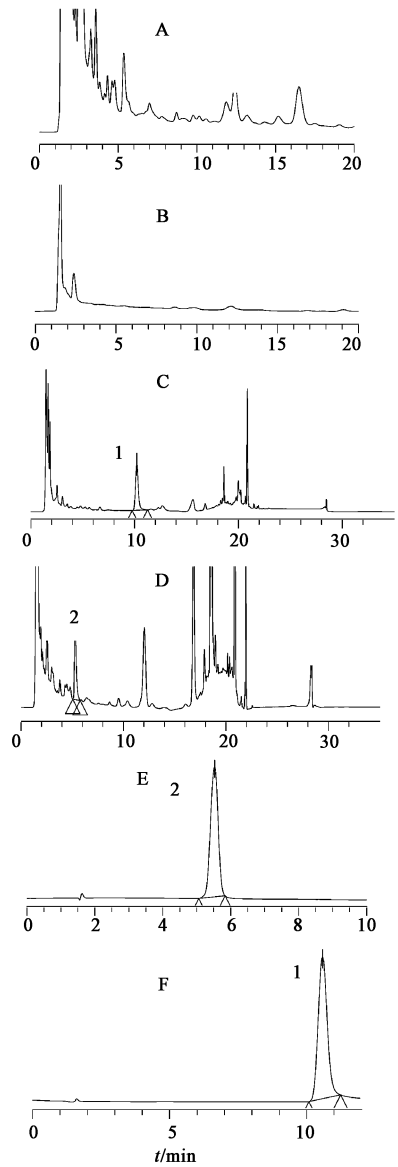
水平	A 加水量/倍	B 提取数/次	C 提取时间/h	D 空白
1	8	1	1.0	1
2	10	2	1.5	2
3	12	3	2.0	3

2.2 咖啡酸和芍药苷的含量测定^[2]

2.2.1 色谱条件 Agilent-ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-磷酸盐缓冲盐(取磷酸二氢钠 1.56 g,加水使其溶解成 1 L,加 1% 磷酸调节 pH 3.74,B)梯度洗脱(0 ~ 12 min,23% A;12 ~ 17 min,23% ~ 10% A;17 ~ 26 min,10% ~ 100% A;26 ~ 30 min,100% ~ 23% A),柱温 40 °C,流速 1 mL·min⁻¹,咖啡酸和芍药苷的检测波长分别为 323,230 nm。理论板数按咖啡酸峰计算不低于 3 000,见图 1。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取咖啡酸、芍药苷对照品适量,分别加甲醇制成 0.024 4,0.52 mg·L⁻¹ 对照品溶液,摇匀,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取正交试验提取液 20 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释并定容至



A,B. 缺赤芍,缺蒲公英阴性对照;C,D. 供试品;E,F. 对照品;1. 芍药苷;2. 咖啡酸

图 1 加味桂枝茯苓汤中药芍苷和咖啡酸 HPLC

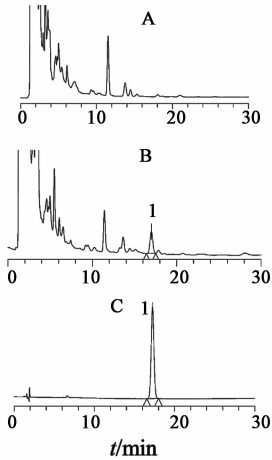
刻度,摇匀,即得。

2.2.4 阴性对照溶液制备 按处方比例分别称取除蒲公英、赤芍以外的其余药味,按一定工艺条件分别制成缺蒲公英、赤芍的阴性样品,按 2.2.3 项下方法制备阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取咖啡酸对照品溶液 4,8,12,16,20,24 μL,芍药苷对照品溶液 3,6,9,12,15,18 μL,按 2.2.1 项下色谱条件测定峰面积,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程分别为 $Y = 62\ 917X - 34\ 562$ ($r = 0.999\ 7$), $Y = 629\ 410X - 285\ 178$ ($r = 0.999\ 6$),线性范围分别为 0.097 6 ~ 0.585 6,1.56 ~ 9.36 μg。

2.3 连翘苷的含量测定^[2]

2.3.1 色谱条件 Agilent-ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(20:80), 柱温 30 ℃, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 277 nm。理论板数按连翘苷峰计算应不低于 3 000, 见图 2。



A. 阴性对照; B. 供试品; C. 对照品; 1. 连翘苷

图 2 加味桂枝茯苓汤中连翘苷 HPLC

2.3.2 溶液的制备 精密称取连翘苷对照品适量, 加甲醇制成 33 mg·L⁻¹ 溶液, 摇匀, 即得。按 2.2.3 和 2.2.4 项下方法分别制备供试品溶液和缺连翘的阴性对照溶液。

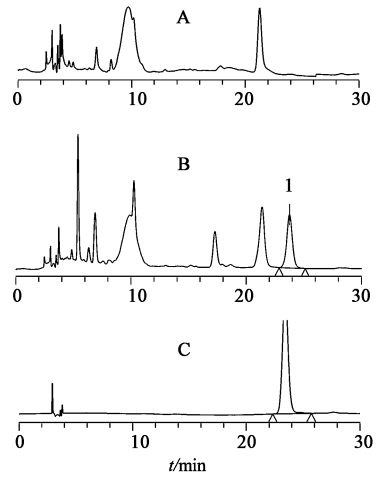
2.3.3 线性关系考察 精密吸取连翘苷对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 μL, 按 2.3.1 项下色谱条件测定峰面积, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 23\,590X - 7\,341.1$ ($r = 0.999\,9$), 线性范围 0.156 1 ~ 0.825 μg。

2.4 连翘酯苷 A 的含量测定^[2]

2.4.1 色谱条件 Agilent-ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.4% 冰醋酸(15:85), 柱温 30 ℃, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 330 nm。理论板数按连翘酯苷 A 峰计算不低于 5 000, 见图 3。

2.4.2 溶液的制备 精密称取连翘酯苷 A 对照品适量, 加甲醇制成 0.126 g·L⁻¹ 对照品溶液。分别按 2.2.3 和 2.2.4 项下方法制备供试品溶液和缺连翘的阴性对照溶液。

2.4.3 线性关系 考察精密吸取连翘酯苷 A 对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20, 24 μL, 按 2.4.1 项下色谱条件测定峰面积, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得回归方程 $Y = 116\,829X + 107\,263$ ($r = 0.999\,7$), 线性范围 0.504 ~ 2.52 μg。



A. 阴性对照; B. 供试品; C. 对照品; 1. 连翘酯苷 A

图 3 加味桂枝茯苓汤中连翘酯苷 A 的 HPLC

2.5 样品含量测定 按上述色谱条件, 供试品、阴性对照、对照品溶液分别进样 20, 20, 10 μL, 记录峰面积, 记录含量。

2.6 权重系数考察 采用层次分析法(AHP)进行分析^[3]。比较同一层次目标的相对重要性并构成两两比较矩阵, 评分标准见表 2, 目标树中 4 项目标成对比较的优先矩阵见表 3。

表 2 加味桂枝茯苓汤提取工艺目标树各层次评分标准

对比打分	相对重要程度	说明
1	同等重要	两者对目标的贡献相同
3	略微重要	根据经验一个比另一个评价稍有利
5	基本重要	根据经验一个比另一个评价更为有利
7	确实重要	一个比另一个评价更有利, 且在实践中证明
9	绝对重要	重要程度明显
2, 4, 6, 8	两相邻程度	需要折衷时采用的中间值

表 3 加味桂枝茯苓汤提取工艺 4 项目标成对比较判断优先矩阵

目标	咖啡酸	连翘苷	连翘酯苷 A	芍药苷
咖啡酸	1	2	2	5
连翘苷	1/2	1	1	3
连翘酯苷 A	1/2	1	1	3
芍药苷	1/5	1/3	1/3	1

按公式 $W'_i = \sqrt[m]{a_{i1}a_{i2}\cdots a_{im}}$ 计算初始权重系数 (W'_1) = $\sqrt[4]{1 \times 2 \times 2 \times 5} = 2.114\,7$, 同理得 $W'_2 = 1.106\,7$, $W'_3 = 1.106\,7$, $W'_4 = 0.386\,1$ 。按公式 $W_i = \frac{W'_i}{\sum_{i=1}^m W'_i}$ 计算归一化权重系数, 得 $W_1 = 2.114\,7 /$

$(2.1147 + 1.1067 + 1.1067 + 0.3861) = 0.4486$,
 $W_2 = 0.2348, W_3 = 0.2348, W_4 = 0.0819$ 。按公式
 $CR = CI/RI$ 计算随机一致性比率 (CR), 一致性制备
 $(CI) = \frac{\lambda_{max} - m}{m - 1}$, 矩阵的最大特征根 $\lambda_{max} =$
 $\frac{1}{m \sum_{j=1}^m (\sum_{i=1}^m [a_{ij} \times W_j \times W_i])}$, 式中 m 为受检验层次
 的次目标数, 查找矩阵阶数 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 的
 平均随机一致性指标 (RI) 分别为 0.00, 0.00, 0.58,
 0.90, 1.12, 1.24, 1.32, 1.41, 1.45。计算 $\lambda_{max} =$
 $4.0688, CI = (4.0688 - 4)/(4 - 1) = 0.2293,$
 $CR = 0.2293/0.90 = 0.025 < 0.1$, 4 项指标优先比

较矩阵满足一致性要求, 说明求得的权重有效。综
 合评分 = 咖啡酸提取量评分 + 连翘苷提取量评分 +
 连翘酯苷 A 提取量评分 + 芍药苷提取量评分。咖
 啡酸提取量评分 = (咖啡酸提取量/咖啡酸提取量
 最大值) $\times 100 \times 0.4486$, 连翘苷提取量评分 = (连
 翘苷提取量/连翘苷提取量最大值) $\times 100 \times$
 0.2348 , 连翘酯苷 A 提取量评分 = (连翘酯苷 A 提
 取量/连翘酯苷 A 提取量最大) $\times 100 \times 0.2348$, 芍
 药苷提取量评分 = (芍药苷提取量/芍药苷提取量
 最大值) $\times 100 \times 0.0819$, 试验安排及结果见表 4, 方
 差分析见表 5。

表 4 加味桂枝茯苓汤提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	咖啡酸 /mg·g ⁻¹	连翘苷 /mg·g ⁻¹	连翘酯苷 A /mg·g ⁻¹	芍药苷 /mg·g ⁻¹	综合评分
1	1	1	1	1	0.41	2.08	4.52	18.56	36.70
2	1	2	2	2	0.78	3.81	9.55	25.76	68.96
3	1	3	3	3	1.04	7.05	10.53	24.59	91.42
4	2	1	2	3	0.50	3.15	5.73	23.35	47.16
5	2	2	3	1	0.82	6.06	11.11	26.06	80.41
6	2	3	1	2	0.91	7.04	12.47	35.35	91.93
7	3	1	3	2	0.61	3.15	5.09	23.79	50.81
8	3	2	1	3	0.77	4.43	7.81	31.06	68.33
9	3	3	2	1	1.01	7.87	7.85	33.08	89.49
K_1	197.08	134.67	196.96	206.60					
K_2	219.50	217.70	205.62	211.69					
K_3	208.63	272.83	222.63	206.91					
R	7.47	46.05	8.56	1.70					

表 5 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	83.772	2	41.886	15.418	>0.05
B	3224.744	2	1612.372	593.503	<0.01
C	113.711	2	56.856	20.928	<0.05
D(误差)	5.433	2	2.717		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

由直观分析可知, 各因素对综合评分的影响顺
 序为 $B > C > A$ 。方差分析表明, 因素 B 具有极显著性
 影响, 因素 C 则影响显著。综合生产成本等考虑, 最
 终确定最佳工艺组合为 $A_1B_3C_3$, 即加 8 倍量水煎煮 3
 次, 每次 2 h。按最佳提取工艺重复试验 3 次, 结果提
 取量分别为咖啡酸 1.02, 1.05, 1.04 mg·g⁻¹, 连翘苷
 7.83, 7.80, 7.78 mg·g⁻¹, 连翘酯苷 A 12.39, 12.40,
 12.33 mg·g⁻¹, 芍药苷 35.30, 35.45, 35.23 mg·g⁻¹,

表明优选的工艺稳定可行。

3 讨论

鉴于中药多组分、多靶点的作用特点, 本文利用
 AHP 确定权重, 因为 AHP 权数法介于主、客观权数
 之间, 既考虑了人们主观上对各项指标的重视程度,
 又考虑了各项指标原始数据间的相互联系及其影
 响, 更能提高多指标优选中药复方提取工艺的科
 学性和准确性。

在各项指标两两比较判断矩阵中, 指标性成分
 是发挥临床药效的物质基础。蒲公英为方中君药,
 连翘为臣药, 赤芍为佐药, 蒲公英代表性成分咖啡
 酸相对连翘代表性成分连翘苷和连翘酯苷 A 要重
 要, 记 2 分, 相对赤芍代表性成分芍药苷更重要, 记
 5 分; 连翘苷和连翘酯苷 A 相对咖啡酸重要性较
 差, 记 1/2 分, 相对芍药苷要重要记 3 分, 其余以

正交设计法优选诃子的麸煨工艺

张超*

(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] 目的: 优选诃子的麸煨工艺。方法: 以外观性状、游离没食子酸含量的综合评分为指标, 采用 $L_9(3)^4$ 正交试验考察麦麸用量、炮制时间和温度对诃子煨制工艺的影响。采用 HPLC 测定没食子酸含量, 流动相乙腈-0.1% 甲酸水 (3:97), 检测波长 273 nm。结果: 最佳煨制工艺为麦麸用量 0.4 倍, 煨制时间 20 min, 控温 $(140 \pm 5)^\circ\text{C}$; 没食子酸质量分数达 $27.62 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论: 该工艺条件合理、稳定性好, 为诃子的工业化生产和质量控制提供了工艺参数。

[关键词] 诃子; 炮制工艺; 正交试验; 没食子酸

[中图分类号] R283.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0033-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100033

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000076.html>

[网络出版时间] 2014-03-07 10:38

Optimization of Bran-roasted Processing Technology of Chebulae Fructus by Orthogonal Design

ZHANG Chao*

(School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize bran-roasted processing technology of Chebulae Fructus. **Method:** With composite score of appearance and the content of free gallic acid as index, orthogonal design was adopted to optimize processing technology by taking bran amount, processing time and temperature as factors. HPLC was

[收稿日期] 20130823(002)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201207004-9)

[通讯作者] * 张超, 讲师, 从事中药新制剂新技术和中药炮制研究, E-mail: zhangchaotem@126.com

推。本文采用 AHP 确定咖啡酸、连翘苷、连翘酯苷 A 及芍药苷的权重系数, 经一致性检验结果 ($CR < 0.1$) 表明权重系数合理有效。

预试验发现采用甲醇-磷酸盐缓冲盐为流动相测定咖啡酸含量时, 切换不同波长可同时测定咖啡酸和芍药苷 2 个指标成分。1% 磷酸调节 pH 时发现, pH 3.8 ~ 4.0 时^[2] 咖啡酸色谱峰分离效果较差, 改为 1% 磷酸调整 pH 3.74 时, 咖啡酸色谱峰分离度良好, 测定结果准确。试验发现芍药苷在加味桂枝茯苓汤中含量高于桂枝茯苓汤基础方中芍药苷含量, 故选择芍药苷含量为指标成分之一。测定连翘苷含量时, 采用乙腈-水 (25:75)^[2], 连翘苷色谱峰

不能很好分离, 出峰时间太早, 分离度差, 经试验调整流动相比比例, 发现乙腈-水 (20:80) 能很好分离连翘苷, 且阴性对照无干扰。

[参考文献]

- [1] 赵桂枝(摘译). 桂枝茯苓丸对糖尿病肾病的治疗作用[J]. 国外医学·中医中药分册, 2005, 27(5):307.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典·一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:159, 331.
- [3] 任爱农, 卢爱玲, 田耀洲, 等. 层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4):372.

[责任编辑 刘德文]