

## 综合评分法优化清燥救肺汤的提取工艺

吴振起<sup>1\*</sup>, 平静<sup>1</sup>, 于艳<sup>1</sup>, 王思源<sup>1</sup>, 王子<sup>1</sup>, 王巍<sup>2</sup>, 张烨<sup>3</sup>

(1. 辽宁中医药大学附属医院, 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032;  
3. 沈阳药科大学, 沈阳 110016)

**[摘要]** 目的: 优选清燥救肺汤的提取工艺。方法: 采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计, 以苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸含量及得膏率的综合评分为指标, 经综合评分法考察乙醇体积分数、提取时间、提取次数对工艺的影响。利用 HPLC 测定 3 种指标成分的含量, 色谱条件为 Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长程序 (0 ~ 50 min, 207 nm; 50 ~ 100 min, 237 nm), 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 流动相乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 30 min, 5% ~ 10% A; 30 ~ 55 min, 10% ~ 20% A; 55 ~ 80 min, 20% ~ 35% A)。结果: 清燥救肺汤的最佳提取工艺为加 8 倍量 70% 乙醇提取 2 次, 每次 2 h。结论: 优选的提取工艺稳定、合理、可行, 有效成分提取效率高。

**[关键词]** 清燥救肺汤; 正交试验; 苦杏仁苷; 绿原酸; 甘草酸; 得膏率; 波长切换法

**[中图分类号]** R283.6; R284.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0012-04

**[doi]** 10.11653/syfyj2013220012

## Optimization of Extraction Technology for Qingzao Jiufei Decoction by Comprehensive Scoring Method

WU Zhen-qi<sup>1\*</sup>, PING Jing<sup>1</sup>, YU Yan<sup>1</sup>, WANG Si-yuan<sup>1</sup>, WANG Zi<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>, ZHANG Ye<sup>3</sup>

(1. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shenyang 110032, China;  
2. Liaoning University of TCM, Shenyang 110032, China;  
3. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of Qingzao Jiufei decoction by multi-index comprehensive evaluation method. **Method:**  $L_9(3^4)$  orthogonal design was adopted, with dry extract rate, the contents of amygdalin, chlorogenic acid and glycyrrhizic acid as comprehensive evaluation index, effects of ethanol concentration, decocting time and times on extraction technology were investigated by composite score method. The contents of three index ingredients were determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: Agilent TC-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), detection wavelength program (0-50 min, 207 nm; 50-100 min, 237 nm), column temperature 30 °C, flow rate 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, mobile phase of acetonitrile (A) - 0.1% phosphoric acid (B) gradient elution (0-30 min, 5% -10% A; 30-55 min, 10% -20% A; 55-80 min, 20% -35% A). **Result:** Optimal extraction technology was as following: extracted 2 times with 8 times the amount of 70% ethanol for 2 h per time. **Conclusion:** This optimized extraction technology was stable, feasible and reasonable with high extraction efficiency of active ingredients.

**[Key words]** Qingzao Jiufei decoction; orthogonal test; amygdalin; chlorogenic acid; glycyrrhizic acid; extract yield; wavelength switching method

**[收稿日期]** 20130703(013)

**[基金项目]** 国家教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(20112133120001); 辽宁省科技厅博士启动基金项目(20101067); 沈阳市科技基金项目(F11-264-1-62); 辽宁省教育厅优秀人才基金项目(LJQ2011102)

**[通讯作者]** \* 吴振起, 博士, 副主任医师, 从事中医药防治感染性疾病研究, Tel: 18102456617, E-mail: zhenqiwu@163.com

清燥救肺汤首见于《医门法律》,为清代医家喻嘉言创制,由桑叶、杏仁、甘草、人参、枇杷叶等9味药组成,集宣、清、润、养于一体,具有凉不伤中、润不腻膈、降不伤气的特点和清热宣肺、降逆止咳、益气养阴、补肺润肺之功效<sup>[1-2]</sup>。该方被广泛用于临床多种病证,尤其对呼吸系统疾病疗效显著<sup>[3-7]</sup>。研究表明绿原酸为方中主药桑叶的指标性成分,具有抗病毒、抗菌消炎、清除自由基等多种活性<sup>[8]</sup>;苦杏仁苷为杏仁中指标性成分,具有镇咳平喘、抗肿瘤等作用<sup>[9]</sup>;甘草酸为甘草中主要活性成分之一<sup>[10]</sup>。为更好地开发与推广该方剂,本实验以苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸含量及出膏率为综合评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选清燥救肺汤的乙醇提取工艺,为清燥救肺汤的临床应用提供实验依据。

## 1 材料

1100系列高效液相色谱仪(美国Agilent公司),HH-4型恒温数显水浴锅(常州国华电器有限公司),AR2140型电子天平(上海奥豪斯公司)。桑叶(*Morus alba* L.)、苦杏仁(*Prunus armeniaca* L. var. *ansu* Maxim.)、甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)、人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)、麦冬[*Ophiopogon japonicus* (L. f) KerGawl]、枇杷叶[*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.]、胡麻仁(*Sesamam Indicum* L.)、阿胶(*Equus asinus* L.)、石膏( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (均购自辽宁中医药大学附属医院,经辽宁中医药大学中药分析教研室英锡相教授鉴定符合2010年版《中国药典》相关项下要求),苦杏仁苷、甘草酸铵、绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110820-201004,110731-200614,110753-200413,纯度均 $\geq 99.9\%$ ),乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法和结果

**2.1 正交试验设计** 在预试验基础上,选取乙醇体积分数、提取时间、提取次数为考察因素,因素水平见表1。

表1 清燥救肺汤提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数/%	B 提取时间/h	C 提取数/次
1	70	1	1
2	50	2	2
3	30	3	3

**2.2 得膏率测定** 分别称取桑叶、生石膏、人参、甘草、胡麻仁、阿胶、麦门冬、杏仁、枇杷叶18,15,4,6,6,4.8,7.2,4,6 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,将石

膏水煎,阿胶烊化,药液备用。余药分别用8倍量乙醇加热回流提取,合并提取液,置于已干燥至恒重的蒸发皿中,低温水浴浓缩至干,于60℃恒温箱中干燥至恒重,减去蒸发皿的质量,计算得膏率。

### 2.3 苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸的含量测定。

**2.3.1 色谱条件** Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),检测波长程序(0~50 min, 207 nm; 50~100 min, 237 nm),柱温30℃,流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,流动相乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B)梯度洗脱(0~30 min, 5%~10% A; 30~55 min, 10%~20% A; 55~80 min, 20%~35% A)。

**2.3.2 对照品溶液的制备** 称取苦杏仁苷、绿原酸和甘草酸铵对照品适量,精密称定,置同一棕色量瓶中,加甲醇制成质量分别为97.5, 70.5, 144.0 mg·L<sup>-1</sup>的混合溶液,摇匀,即得。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 取本品0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 mL,称定质量,超声处理30 min,放至室温,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.3.4 线性关系考察** 分别精密吸取混合对照品溶液1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 μL注入液相色谱仪,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸铵回归方程分别为 $Y = 456.99X - 2.176$  ( $r = 0.9999$ ),  $Y = 2032.6X - 1.0418$  ( $r = 0.9997$ ),  $Y = 590.12X + 10.046$  ( $r = 0.9998$ ),线性范围分别为0.225~4.500, 0.0705~1.410, 0.144~2.880 μg。

**2.3.5 精密度试验** 精密吸取同一混合对照品溶液5 μL,按2.3.1项下方法连续进样6次,结果苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸铵峰面积的RSD分别为0.29%, 0.24%, 0.34%,表明仪器精密度较好。

**2.3.6 重复性试验** 取供试品溶液6份,按2.3.1项下方法测定,结果苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸提取量分别为2.605, 3.054, 6.513 mg·g<sup>-1</sup>, RSD分别为2.85%, 1.13%, 1.99%,表明本方法重复性良好。

**2.3.7 稳定性试验** 取供试品溶液分别于0, 2, 4, 6, 8, 12 h按2.3.1项下方法测定,结果苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸铵峰面积的RSD分别2.74%, 1.12%, 1.46%,表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

**2.3.8 加样回收率试验** 称取已知含量的供试品0.025 g,精密称定,共5份,置具塞锥形瓶中,分别精密加入混合对照品溶液(苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸铵质量浓度分别为0.065, 0.072, 0.178 g·L<sup>-1</sup>) 1.0 mL(甘草酸质量 = 甘草酸铵质量/1.0207),蒸

干溶剂,按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.3.1 项下方法测定,计算回收率,结果苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸铵平均回收率分别为 98.18%, 97.94%, 97.34%, RSD 分别为 1.90%, 1.83%, 1.29%。

2.4 提取工艺优选 选取苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸铵含量及得膏率的综合评分为指标,权重系数分别为 0.25,0.4,0.25,0.1。试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 2 清燥救肺汤提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D(空白)	苦杏仁苷 /mg·g <sup>-1</sup>	绿原酸 /mg·g <sup>-1</sup>	甘草酸铵 /mg·g <sup>-1</sup>	出膏率 /%	综合评分
1	1	1	1	1	2.862 4	2.899 5	4.260 3	14.94	0.753 8
2	1	2	2	2	3.522 5	2.903 5	4.460 2	18.94	0.820 9
3	1	3	3	3	2.451 3	3.373 5	3.499 4	21.94	0.785 2
4	2	1	2	2	1.972 9	1.681 2	5.131 7	13.95	0.582 8
5	2	2	3	3	2.298 3	2.287 8	6.461 6	20.59	0.755 6
6	2	3	1	1	3.975 8	1.729 1	3.974 1	11.53	0.659 1
7	3	1	3	3	2.455 0	0.978 2	4.214 7	10.59	0.479 6
8	3	2	1	1	2.427 9	1.687 4	5.739 4	17.35	0.650 5
9	3	3	2	2	1.904 5	1.756 2	3.902 7	18.35	0.559 0
K <sub>1</sub>	0.787	0.605	0.688	0.689					
K <sub>2</sub>	0.666	0.742	0.654	0.653					
K <sub>3</sub>	0.563	0.668	0.673	0.673					
R	0.224	0.137	0.034	0.036					

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.075	2	37.50	<0.05
B	0.028	2	14.00	>0.05
C	0.002	2	1.00	>0.05
D(误差)	0.00	2		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

由直观分析可知,各因素对提取工艺的影响顺序为  $A > B > C$ 。方差分析表明 A 因素对提取工艺的影响具有显著性差异,因素 B, C 则影响不显著,确定最佳组合方案为  $A_1B_2C_2$ ,即加 70% 乙醇提取 2 次,每次 2 h。

2.5 验证试验 取处方量药材 3 份,按优选的提取工艺进行验证试验,结果苦杏仁苷、绿原酸、甘草酸铵平均提取量分别为 3.540 8, 2.913 9, 4.524 6 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 分别为 0.61%, 1.15%, 1.22%, 表明该工艺稳定可行。

### 3 讨论

除石膏、阿胶外,清燥救肺汤中其他药味均具有含量测定的指标性物质,根据该制剂的临床疗效,选

用绿原酸、苦杏仁苷、甘草酸铵含量作为考察指标。出膏率对药效及制剂工艺均有一定影响,故选为评价指标。结合该方的君、臣、佐、使配伍关系,确定各指标的权重系数,采用综合评分法对试验结果进行量化,避免了以单一指标做质量控制的局限性,与中药复方的多组分、多靶点作用特点相吻合<sup>[11]</sup>。

从有效成分充分提取的角度考虑,选取绿原酸、苦杏仁苷、甘草酸含量 3 个关键指标,建立了 HPLC 测定 3 种成分含量的方法,检测过程采用波长切换法,色谱图中显示苦杏仁苷、甘草酸铵、绿原酸的最大吸收波长分别为 207, 237, 326 nm, 由于绿原酸在 207 nm 处吸收峰峰形较佳,且分离度也符合要求,为使操作简便易行,选择绿原酸与苦杏仁苷均在 207 nm 处进行检测,甘草酸铵则将波长切换至 237 nm 处进行检测。

### [参考文献]

[1] 岳滢滢. 清燥救肺汤的方源、方证及临床扩展应用探析[J]. 光明中医, 2011, 26(9): 1917.  
[2] 吴振起, 刘光华, 王子. 从燥论治儿童肺炎支原体肺炎临床经验[J]. 中国中西医结合儿科学, 2012, 4(6): 508.

## 新疆鼠尾草根中 6,7-去氢罗列酮的 抗血小板聚集作用考察及其提取工艺优选

派日黛姆·乌布勒,王新玲,热娜·卡斯木\*,阿迪拉木·阿比利米提,王晓梅,胡君萍  
(新疆医科大学药学院,乌鲁木齐 830011)

**[摘要]** 目的:评价新疆鼠尾草根中 6,7-去氢罗列酮的体外抗血小板聚集作用并优选其提取工艺。方法:应用比浊法测定 6,7-去氢罗列酮体外抗血小板聚集作用。在单因素试验基础上,以 6,7-去氢罗列酮提取率为指标,通过正交设计法考察提取次数、料液比和提取时间对 6,7-去氢罗列酮提取工艺的影响。采用 HPLC 测定 6,7-去氢罗列酮含量,色谱条件为依利特 C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-0.02% 甲酸(83:17),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 330 nm,柱温 40℃。结果:6,7-去氢罗列酮高、中剂量组抑制凝血酶诱导的血小板聚集作用与生理盐水组比较均具有极显著性差异,高剂量组在 15,30,45,60 min 内由凝血酶诱导的血小板抑制聚集率分别为 90%,75%,66%,64%。最佳提取工艺为加 10 倍量 95% 于 85℃ 提取 3 次,每次 3 h,新疆鼠尾草根中 6,7-去氢罗列酮质量分数 0.01%。结论:新疆鼠尾草根中 6,7-去氢罗列酮表现出较强的抗血小板聚集作用,在此活性基础上优选的提取条件稳定可行。

**[关键词]** 新疆鼠尾草; 6,7-去氢罗列酮; 正交试验; 提取工艺; 凝血酶; 抗血小板聚集; 单因素试验

**[中图分类号]** R284.2; R284.1; R285; R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0015-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013220015

## Inhibition of Platelet Aggregation Investigation and Optimization of Extracting Technology of 6, 7-Dehydroroyleanone in Roots of *Salvia deserta* Schang

PAIRIDAIMU Wubuli, WANG Xin-ling, RENA Kasimu\*, ADILAMU Abilimiti, WANG Xiao-mei, HU Jun-ping  
(College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

**[收稿日期]** 20130424(020)

**[基金项目]** 国家科技部“十一五”支撑计划项目(2007BAI30B02-2);新疆维吾尔自治区高校科研计划科学研究重点项目(XJEDU2012123)

**[第一作者]** 派日黛姆·乌布勒,在读硕士,从事新疆特色中药资源的开发与利用研究,Tel:0991-4363345,E-mail:Parizat122@163.com

**[通讯作者]** \*热娜·卡斯木,博士,教授,从事新疆特色中药资源的开发与利用,Tel:0991-4362473,E-mail:renakasimu@vip.sina.com

- [3] 赵丽芸,陈宁.清燥救肺汤加减方治疗鼻后滴流综合征疗效观察[J].中国民族民间医药,2011,20(7):73.
- [4] 夏德洪,奚蕾,沈伟生,等.清燥救肺汤加黄芪对放射性肺损伤干预作用及对 TGF-β<sub>1</sub>, IL-1 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):240.
- [5] 傅饶,孔令苓.清燥救肺汤预防和治疗放射性肺炎的临床观察[J].中国医药指南,2011,9(11):29.
- [6] 卢红蓉.清燥救肺汤对流感病毒 F1 感染小鼠肺组织匀浆液中 TNF-α、MCP-1 和 NO 含量的影响[J].世界中医药,2007,2(4):238.
- [7] 张慧玲,樵书宏.清燥救肺汤化痰治疗转化酶抑制剂致咳嗽体会[J].光明中医,2011,26(12):2454.
- [8] 陈娟娟,方建国,万进,等.绿原酸体外抗人巨细胞病毒的实验研究[J].医药导报,2009,28(9):1138.
- [9] 李贵海,董其宁,孙付军,等.不同炮制对苦杏仁毒性及止咳平喘作用的影响[J].中国中药杂志,2007,32(12):1247.
- [10] 杨春花.不同产地甘草的质量评价研究[J].吉林农业大学,2006.
- [11] 时维静,王海侠,卜先峰,等.综合评分法优化白头翁汤提取工艺[J].中国中医药科技,2009,16(1):44.

[责任编辑 仝燕]