

· 工艺与制剂 ·

综合评分法优化葛根芩连汤提取工艺

章军¹, 刘宇政², 王跃生¹, 饶毅², 魏慧珍², 刘安^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 江西中医学院, 南昌 330006)

[摘要] 目的: 优选葛根芩连汤的最佳提取工艺。方法: 采用正交设计法, 以复方中 12 个有效成分含量为综合评分标准进行数据分析, 对加水量、提取时间和提取次数进行优化。结果: 煎煮次数具有极显著性影响, 加水量和煎煮时间没有显著性影响。最佳煎煮工艺为 8 倍量水提取 3 次, 每次 1 h。结论: 优化后的工艺稳定可靠, 可为葛根芩连汤临床用药煎煮及相关制剂的工业生产提供参考。

[关键词] 葛根芩连汤; 正交设计; 综合评分法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0001-03

Optimization of Extraction Technology for Gegen Qinlian Decoction with Multi-index Comprehensive Evaluation Method

ZHANG Jun¹, LIU Yu-zheng², WANG Yue-sheng¹, RAO Yi², WEI Hui-zhen², LIU An^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the optimal extraction technology of Gegen Qinlian decoction. **Method:** A HPLC method was established to simultaneously determine 12 active ingredients in the extractions of Gegen Qinlian decoction. Based on the orthogonal design of $L_9(3^4)$ and the weighted method, three factors including the multiple water, decocting time, and extracting times were evaluated. **Result:** Significant effect was observed in extracting times. The optimal extraction technology was 8 times volume of water extracting 3 times with 1 h for each time. **Conclusion:** The extraction technology optimized with multi-index comprehensive evaluation method is reasonably practicable. It could be used in future large-scaled preparation of Gegen Qinlian decoction.

[Key words] Gegen Qinlian decoction; orthogonal design; multi-index comprehensive evaluation method

葛根芩连汤方出自张仲景的《伤寒论》第 34 条, 由葛根、黄芩、黄连和炙甘草组成^[1], 现代临床上将葛根芩连汤用于糖尿病的治疗, 其疗效可靠, 降糖作用明确^[2-4]。目前葛根芩连汤的提取工艺优化

报道较多, 但多以 1~3 个成分的含量来作为评价指标^[5-6], 很难全面评价中药煎煮过程, 亦无法对每味药材的提取过程进行控制。为了更加全面地评价提取工艺, 本文以本方中 12 个有效成分含量变化作为综合评分指标, 全面评价葛根芩连汤提取工艺, 优化工艺参数。这 12 个成分为葛根素、大豆苷、黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、小檗碱、黄连碱、药根碱、巴马汀、甘草苷和甘草酸铵。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪, SPD-M20A 型紫外-可见光二极管阵列检测器, SIL-20A 型自动进样器, 岛津 LC-Solution 工作站, 乙腈(色谱纯, fishier), 双蒸水(娃哈哈), 其余试剂均为分析纯。

[收稿日期] 2011-08-09

[基金项目] 国家“973 计划”项目(2010CB530602); 重大新药创制科技重大专项(2009ZX09313-038)

[第一作者] 章军, 助理研究员, 从事分析化学研究, Tel: 010-64014411-2848, E-mail: junzhang654321 @ yahoo.com.cn

[通讯作者] * 刘安, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药化学研究, Tel: 010-64014411-2938, Fax: 010-64013996, E-mail: la62@163.com

对照品葛根素、大豆苷、甘草苷、黄芩苷、巴马汀、甘草酸铵均购于中国食品药品检定研究院(批号分别为 752-200108, 111738-200501, 111610-200604, 110715-200815, 110732-200907, 0731-9704), 黄连碱、药根碱、小檗碱、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素来源于中药固体制剂制造技术国家工程研究中心(批号分别为 1413-091027, 1444-091127, 1370-090805, 1119-090203, 1150-080923, 1120-091205), 均为含量测定用。葛根、黄芩、黄连、甘草饮片由北京市双桥燕京中药饮片厂提供, 经本单位何希荣主管药师鉴定, 分别为豆科植物野葛 *Pueraria lobata*(Wild.) Ohwi 的干燥根; 唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根; 毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根和豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 干燥根茎(蜜炙)。

2 方法与结果

2.1 葛根芩连汤中有效成分的含量测定 测定方法见文献[7]。

2.2 正交试验设计 以加水量(A)、煎煮时间(B)和煎煮次数(C)为考察因素, 每个因素设 3 个水平, 用 $L_9(3^4)$ 正交表安排实验, 见表 1, 2。

2.3 正交试验方法及结果 分别称取葛根 72 g, 黄芩 27 g, 黄连 27 g, 炙甘草 18 g, 按上表试验安排进行试验, 煎煮前浸泡 0.5 h, 提取液滤过, 滤液浓缩,

表 1 葛根芩连汤提取工艺正交试验因素水平

水平	A 加水量 /倍	B 煎煮时间 /h	C 煎煮次数 /次
1	8	1	1
2	10	2	2
3	12	3	3

表 2 葛根芩连汤提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	X_1	X_2	X_3	X_4	Y
1	1	1	1	1	2.26	13.47	5.03	0.75	57.77
2	1	2	2	2	3.57	17.28	7.70	1.64	87.88
3	1	3	3	3	3.95	18.51	8.17	1.94	96.11
4	2	1	2	3	3.45	17.90	7.55	0.97	83.57
5	2	2	3	1	4.00	19.58	8.67	1.51	97.17
6	2	3	1	2	2.81	14.23	5.93	0.89	67.52
7	3	1	3	2	3.98	19.91	8.74	1.39	96.96
8	3	2	1	3	2.98	14.96	6.35	1.00	71.90
9	3	3	2	1	3.69	17.76	7.81	1.81	90.87
K_1	80.587	79.433	65.730	81.937					
K_2	82.753	85.650	87.440	84.120					
K_3	86.577	84.833	96.747	83.860					
R	5.990	6.217	31.017	2.183					

置 2 000 mL 的量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀, 作为煎煮液。按文献[7]方法测定 12 个有效成分的含量, 计算各成分的提取率, 结果见表 3。

表 3 葛根芩连汤提取工艺正交试验有效成分提取率

No.	葛根素	大豆苷	甘草酸铵	甘草苷	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	黄连碱	药根碱	小檗碱	巴马汀	%
1	1.93	0.33	0.50	0.25	11.20	1.93	0.22	0.12	0.86	0.16	3.35	0.66	
2	2.94	0.63	1.11	0.53	14.38	2.48	0.25	0.17	1.25	0.23	5.11	1.11	
3	3.17	0.78	1.32	0.62	15.41	2.62	0.28	0.20	1.31	0.27	5.43	1.16	
4	2.89	0.56	0.69	0.28	14.96	2.52	0.26	0.16	1.25	0.26	4.95	1.09	
5	3.28	0.72	0.98	0.53	16.32	2.74	0.28	0.24	1.47	0.29	5.73	1.18	
6	2.29	0.52	0.60	0.29	11.84	2.04	0.21	0.14	0.99	0.20	3.91	0.83	
7	3.32	0.66	0.95	0.44	16.62	2.79	0.29	0.21	1.50	0.29	5.82	1.13	
8	2.45	0.53	0.65	0.35	12.53	2.12	0.18	0.13	1.04	0.22	4.19	0.90	
9	3.04	0.65	1.14	0.67	14.95	2.45	0.18	0.18	1.27	0.26	5.19	1.09	

采用综合评分法^[8], 复方中葛根、黄芩、黄连和炙甘草的比例为 8:3:3:2, 葛根为君药, 因此葛根中有效成分提取率的和(X_1)权重系数为 0.4, 黄芩、黄连为臣药, 因此黄芩、黄连中有效成分提取率的和(X_2, X_3)权重系数均为 0.25, 炙甘草为佐使药, 因此炙甘草的有效成分提取率的和(X_4)权重系数为

0.1, 进行综合评分 $Y = 0.4 \times X_1 \times 100/4.00 + 0.25 \times X_2 \times 100/19.91 + 0.25 \times X_3 \times 100/8.74 + 0.1 \times X_4 \times 100/1.94$ 。以综合评分值(Y)对实验结果进行直观分析和方差分析, 见表 3, 4。

通过直观分析, 各因素影响次序为 C(煎煮次数) > B(煎煮时间) > A(加水量)。方差分析表明,

表4 综合评分方差分析

因素	SS	f	MS	F	P
A	55.192	2	27.596	6.467	>0.05
B	68.474	2	34.237	8.024	>0.05
C	1 519.972	2	759.986	178.108	<0.01
误差	8.53	2	4.265		

注: $F_{0.01(2,2)} = 99.00$, $F_{0.05(2,2)} = 19.00$

表5 葛根芩连汤提取工艺验证试验

No.	葛根素	大豆苷	甘草酸铵	甘草苷	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	黄连碱	药根碱	小檗碱	巴马汀
1	3.26	0.79	1.17	0.55	16.10	2.75	0.32	0.22	1.40	0.24	5.65	1.11
2	3.29	0.84	1.15	0.55	15.89	2.67	0.23	0.22	1.46	0.28	5.92	1.26
3	3.19	0.81	1.29	0.74	16.74	2.82	0.38	0.24	1.51	0.29	6.3	1.28

表6 葛根芩连汤提取验证工艺综合评分

No.	X_1	X_2	X_3	X_4	Y
1	4.05	19.39	8.40	1.72	97.74
2	4.13	19.01	8.92	1.70	99.45
3	4.00	20.18	9.38	2.03	102.63

3 讨论

有效成分的提取率与药物的疗效密切相关,煎煮工艺的优劣直接影响到有效成分提取率的高低,从而影响临床疗效。中药复方是多成分多靶点药物,选择合理的指标进行提取工艺评价非常关键。为了更加全面的评价提取工艺,本实验以复方中12个有效成分含量作为综合评分指标,通过正交试验确定了最佳工艺,并通过验证试验证明,本方法稳定,重现性好。

采用多指标综合评分法进行工艺优选时,对不同指标给出合适的权重是一个关键的问题。选择不同的权重,很可能出现不同的评价结果。本实验以中医配伍理论为基础,根据复方中药味的君臣佐使地位分配权重,从而得到了最佳工艺。

已有文献[9]采用正交法考察葛根芩连汤的提取工艺,以葛根素、黄芩苷和固形物为指标进行综合评分,考察了溶剂量、提取时间和提取次数3个因素,结论同样为仅提取次数有显著性差异,而溶剂量和提取时间没有显著性差异。本实验增加了考察指

C因素对有效成分的提取有极显著性影响($P < 0.01$),B和A因素均无显著性影响。考虑大生产合理、节能降耗的要求,确定最佳提取工艺为 $A_1B_1C_3$,即加入8倍量的水,煎煮1h,煎煮3次。

2.4 工艺验证试验 按优选的工艺条件,进行3次验证试验,见表5,6。结果显示,最佳工艺稳定、重复性好,提取率高。

标,得出的工艺结果类似。

[参考文献]

- [1] 刘渡舟. 伤寒论语译[M]. 北京:人民卫生出版社, 1990:73.
- [2] 王芬,何华亮. 张发荣运用葛根芩连汤治疗糖尿病经验[J]. 中医杂志, 2005,46(2):103.
- [3] 曾艺鹏,黄云胜,胡蕴刚,等. 葛根芩连汤配合胰岛素强化治疗湿热证2型糖尿病临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2006,26(6):514.
- [4] 管仕伟. 经方治疗糖尿病验案举隅[J]. 河南中医, 2008,28(4):22.
- [5] 陈丽红,唐于平,王强. 葛根芩连配方颗粒提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010,16(14):4.
- [6] 吴素香,姜宁华. 葛根芩连散片的制备和葛根素的体外溶出度考察[J]. 中国医院药学杂志, 2007,27(5):639.
- [7] 章军,刘宇政,王跃生,等. HPLC同时测定葛根芩连汤中12个有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(15):58.
- [8] 张彤,徐莲英,陶建生,等. 多指标综合评分法优选葛根提取工艺[J]. 中草药, 2004,35(1):38.
- [9] 李君富,尹蓉莉,李肖屹,等. 正交试验优选葛根芩连汤提取工艺[J]. 中国药房, 2009,20(27):2114.

[责任编辑 全燕]