

Box-Behnken 响应面法结合多指标综合评分法优选柴胡安心胶囊的水提工艺^Δ

王玲娇^{1*}, 郝玉佩¹, 刘坤申², 杨继章¹, 孙国祥³, 于 静^{1#}(1.河北医科大学第一医院药学部, 石家庄 050031; 2.河北医科大学第一医院心内科, 石家庄 050031; 3.沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

中图分类号 R932;R283;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)05-0632-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.05.11

摘要 目的:优化柴胡安心胶囊的水提工艺。方法:以提取液中没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、芦丁、肉桂酸、槲皮素的含量和出膏率的综合评分值为考察指标,以加液倍数、浸泡时间、回流时间、提取次数为因素,在单因素试验基础上运用 Box-Behnken 响应面法对柴胡安心胶囊的水提工艺进行优化并进行验证试验。结果:最优提取工艺为加 11 倍水、浸泡 10 h,提取 2 次,每次回流 1.5 h;验证试验中 3 批样品提取后的综合评分值(91.37%)与预测值(91.38%)相比较,相对误差为 1.87%(RSD<2%, $n=3$)。结论:优选的提取工艺方法简单、结果稳定,可用于后续柴胡安心胶囊的制剂生产。

关键词 柴胡安心胶囊;有效成分;Box-Behnken 响应面法;多指标;综合评分;水提工艺;优化

Optimization of Water Extraction Technology of Chaihu Anxin Capsules by Box-Behnken Response Surface Method Combined with Multi-index Comprehensive Scoring Method

WANG Lingjiao¹, HAO Yupei¹, LIU Kunshen², YANG Jizhang¹, SUN Guoxiang³, YU Jing¹(1.Dept. of Pharmacy, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China; 2.Dept. of Cardiology, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China; 3.College of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To optimize the water extraction technology of Chaihu anxin capsules. **METHODS:** Taking comprehensive scoring value of the contents of gallic acid, chlorogenic acid, puerarin, glycoside, rutin, cinnamic acid, quercetin and the yield of extract as investigation index, using multiple of adding liquid, soaking time, reflux time and extraction times as factors, water extraction technology of Chaihu anxin capsule was optimized by Box-Behnken response surface method based on single factor test. Validation test was conducted. **RESULTS:** The optimal extraction technology of Chaihu anxin capsules was adding 11 times of water, soaking for 10 h, extracting for 2 times, refluxing for 1.5 h each time. In validation test, the relative deviation of comprehensive scoring value to predicted value was 1.87% for 3 batches of samples (RSD<2%, $n=3$). **CONCLUSIONS:** The optimal extraction technology is simple, stable and suitable for further production of Chaihu anxin capsules.

KEYWORDS Chaihu anxin capsules; Active ingredients; Box-Behnken response surface method; Multi-index; Comprehensive scoring; Water extraction technology; Optimization

柴胡安心胶囊为河北医科大学第一医院根据多年临床经验处方制成的医院制剂(批准文号:冀药制字 Z20060013),主要由柴胡、葛根、白芍、桂枝、夏枯草等 14 味药材组成,具有疏肝理气、镇静安神、调和营卫之功效,主治焦虑抑郁和心脏神经官能症^[1]。在该制剂组方中,君药为葛根,其可辛凉解肌、生津止渴,主要活性成分为葛根素、大豆苷等黄酮类化合物^[2-3],具有扩张血管、降低血压、改善微循环、保护心肌细胞、增加纤溶活性、

降低血黏度等作用^[4-5]。臣药为白芍和桂枝,白芍可养血敛阴、柔肝止痛;桂枝可温通经脉、解表通阳;两药合用则可柔肝敛阴、益阳通脉、调和营卫;其中白芍含有芍药苷等单萜类成分和没食子酸等成分^[6-7],具有镇痛、镇静、解痉、抗炎、抗溃疡、调节免疫、扩张血管、耐缺氧等作用;桂枝含有肉桂酸、桂皮醛等成分^[8-9],具有扩张血管、抗氧化、降血脂等作用。佐药夏枯草归肝胆经,可清利肝经郁热、升清降浊、散结消肿,主要成分为芦丁、槲皮素、绿原酸等黄酮类化合物^[10-11],具有降压、抗抑郁的作用。本研究根据处方中各药材有效成分的理化性质及药理作用,以葛根素、大豆苷、没食子酸、绿原酸、槲皮素、肉桂酸和芦丁 7 个有效成分的含量、出膏率为指标进行综合评价^[12-13],采用响应面法^[14]对柴胡安心胶囊的

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81573586);河北省中医药管理局科研计划项目(No.2018117)

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0311-85917354。E-mail:327239256@qq.com

通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:临床药学。电话:0311-85917354。E-mail:38565914@qq.com

水提工艺进行优选,为后续制剂的生产提供改进依据。

1 材料

1.1 仪器

1200 Series 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Sartorius BS 110S 分析天平[Sartorius 科学仪器(北京)有限公司];KQ-400KDE 高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

没食子酸(批号:17062510,纯度:≥98%)、大豆苷(批号:17060913,纯度:≥98%)、肉桂酸(批号:20171102,纯度:≥98%)、葛根素(批号:17072302,纯度:≥98%)、绿原酸(批号:17081021,纯度:≥98%)对照品均购自上海士锋生物科技有限公司;芦丁(批号:20130809,纯度:≥98%)、槲皮素(批号:20121205,纯度:≥98%)对照品均购自大连美仑生物技术有限公司;甲醇、乙腈均为色谱纯,水为市售娃哈哈纯净水。

1.3 药材

柴胡(批号:180601CP254)、白芍(批号:180601CP-072)、龙骨(批号:20180101)、夏枯草(批号:20180401)、延胡索(批号:20160901)、炙甘草(批号:20180101)等药材均购自河北新祁中药颗粒饮片有限公司;葛根(批号:18031901)、清半夏(批号:18070701)、珍珠母(批号:18011501)、干姜(批号:18011601)等药材均购自国药乐仁堂河北药业有限公司;桂枝(批号:180601CP252)、茯苓(批号:180601CP212)、牡蛎(批号:180501CP154)、大枣(批号:171201CP611)等药材均购自河北万修药业有限公司;上述所有药品经河北医科大学第一医院张一民主管中药师鉴定均符合 2015 年版《中国药典》(一部)的药用标准。

2 方法与结果

2.1 7 个有效成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Diamondsil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.5% 乙酸水(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~40 min,5%→25% B;40~60 min,25%→60% B;60~80 min,100% B);检测波长:275 nm;流速:1 mL/min;进样量:10 μL;柱温:30 ℃。分别取“2.1.2”和“2.1.3”项下供试品溶液和混合对照品溶液进样分析,结果,各相邻峰间分离度均大于 1.5,理论板数按葛根素峰计不低于 4 000。2 种溶液的色谱图见图 1。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取提取后的浸膏(试验号 28)0.5 g,加入约 50 mL 的 50% 乙醇回流 1.5 h,过滤,残渣中加入 50 mL 的 50% 乙醇继续回流 1.5 h,重复 2 次,合并 3 次滤液,减压浓缩至约 15 mL,加 50% 乙醇定容至 25 mL,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 混合对照品溶液的制备 精密称取葛根素对照

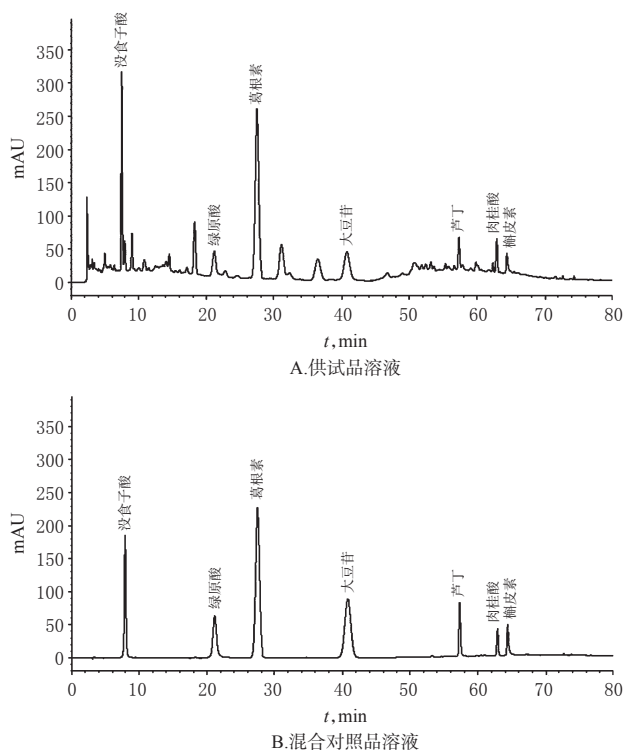


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

品 30 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀得对照品溶液。分别称取大豆苷、没食子酸、绿原酸、肉桂酸、芦丁、槲皮素对照品 17、7、21、12、21、18 mg,用甲醇稀释并定容于 25 mL 量瓶中,与葛根素对照品溶液混匀后作为混合对照品溶液备用。

2.1.4 线性关系与定量限考察 分别量取“2.1.3”项下的混合对照品溶液 8、4、2、1、0.5 mL,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇定容,进样分析,记录色谱图。以色谱峰面积为纵坐标(y)、待测物质量浓度(μg/mL)为横坐标(x)绘制标准曲线,得到没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、芦丁、肉桂酸、槲皮素回归方程分别为 $y=5\,486.6x+52.33$ ($r=0.999\,5$)、 $y=3\,187.9x+26.08$ ($r=0.999\,1$)、 $y=4\,260.7x+70.97$ ($r=0.999\,3$)、 $y=4\,985.7x+66.92$ ($r=0.999\,7$)、 $y=1\,807.4x-1.22$ ($r=0.999\,4$)、 $y=3\,634.4x+23.31$ ($r=0.999\,8$)、 $y=1\,969.5x+51.80$ ($r=0.999\,5$)。结果表明,没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、芦丁、肉桂酸、槲皮素检测质量浓度线性范围分别为 1.78~28.52、5.25~84.00、18.72~299.66、4.24~67.86、3.02~48.39、5.27~84.35、4.52~72.39 μg/mL。按相关方法操作,得定量限分别为 1.78、5.25、18.72、4.24、3.02、5.27、4.52 μg/mL。

2.1.5 精密度试验 精密吸取“2.1.3”项下混合对照品溶液,连续进样 6 次。分别计算没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、芦丁、肉桂酸、槲皮素峰面积的 RSD,结果分别为 0.77%、0.86%、2.30%、1.12%、1.04%、1.33%、2.06%($n=6$)。

2.1.6 稳定性试验 精密称取“2.1.2”项下供试品溶液，在室温下放置0、2、4、8、12、24 h后进样分析。分别计算没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、芦丁、肉桂酸、槲皮素峰面积的RSD,结果分别为1.04%、1.96%、1.53%、0.93%、0.96%、1.12%、1.66%(n=6)。

2.1.7 重复性试验 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液6份,进样测定。分别计算没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、芦丁、肉桂酸、槲皮素峰面积的RSD,结果分别为1.28%、1.96%、2.25%、1.66%、1.35%、1.58%、2.58%(n=6)。

2.1.8 加样回收率试验 取已知含量的供试品溶液9份,分别加入没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、肉桂酸、芦丁、槲皮素对照品适量,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,计算平均回收率和RSD,结果均符合要求,详见表1。

表1 各成分回收率测定结果(n=9)
Tab 1 Results of recovery rate for each component (n=9)

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
没食子酸	0.071 5	0.055 0	0.125 1	97.38	97.91	1.06
	0.071 3	0.049 9	0.119 9	97.36		
	0.071 6	0.059 9	0.130 8	98.81		
	0.073 2	0.072 9	0.144 6	97.94		
	0.071 6	0.069 9	0.140 6	98.79		
	0.071 3	0.076 7	0.146 0	97.43		
	0.070 6	0.087 0	0.154 1	95.89		
	0.073 0	0.085 7	0.157 3	98.31		
	0.073 3	0.084 2	0.156 9	99.32		
	0.209 8	0.172 0	0.381 9	100.02		
0.209 2	0.168 9	0.375 4	98.38			
0.210 1	0.169 9	0.378 0	98.84			
0.214 7	0.200 7	0.411 4	98.04			
0.210 0	0.198 9	0.403 5	97.29			
0.209 1	0.223 5	0.429 9	98.79			
0.207 2	0.252 1	0.459 7	100.13			
0.214 3	0.249 8	0.468 3	101.65			
0.215 0	0.257 0	0.469 9	99.15			
葛根素	0.748 5	0.598 9	1.337 6	98.36	98.79	0.96
	0.746 3	0.599 1	1.331 6	97.69		
	0.749 4	0.560 1	1.308 1	99.75		
	0.765 8	0.748 9	1.492 1	96.99		
	0.749 0	0.749 1	1.489 4	98.84		
	0.745 8	0.749 9	1.492 6	99.58		
	0.739 2	0.899 6	1.635 1	99.58		
	0.764 6	0.897 4	1.656 3	99.37		
	0.767 1	0.896 1	1.654 2	98.99		
	0.169 5	0.136 2	0.304 2	98.89		
0.169 0	0.135 8	0.301 5	97.55			
0.169 7	0.132 2	0.302 6	100.48			
0.173 4	0.168 9	0.338 3	97.63			
0.169 6	0.167 8	0.336 1	99.21			
0.168 9	0.169 9	0.335 9	98.26			
0.167 4	0.209 9	0.377 8	100.22			
0.173 2	0.205 7	0.377 7	99.43			
0.173 7	0.204 2	0.375 9	98.98			
肉桂酸	0.120 9	0.102 1	0.225 9	102.83	100.23	2.06

续表 1

Continued tab 1

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
芦丁	0.120 5	0.099 8	0.217 7	97.32	98.63	1.21
	0.121 0	0.103 2	0.225 4	101.09		
	0.123 7	0.123 2	0.247 3	100.31		
	0.121 0	0.119 8	0.238 8	98.34		
	0.120 5	0.126 8	0.244 3	97.69		
	0.119 4	0.143 9	0.264 1	100.59		
	0.123 5	0.148 9	0.273 7	100.88		
	0.123 9	0.150 2	0.278 6	102.98		
	0.210 7	0.167 8	0.376 6	98.89		
	0.210 1	0.173 2	0.382 1	99.35		
	0.210 9	0.165 7	0.372 2	97.29		
	0.215 5	0.203 7	0.417 5	99.15		
	0.210 8	0.208 9	0.420 5	100.36		
	0.209 9	0.212 3	0.420 2	99.03		
	0.208 1	0.249 9	0.454 4	98.56		
	0.215 2	0.253 7	0.459 5	96.29		
	0.215 9	0.252 1	0.465 0	98.79		
槲皮素	79.560 0	0.150 1	0.324 6	95.80	96.83	1.68
	0.180 3	0.149 9	0.320 6	93.62		
	0.181 1	0.148 9	0.325 8	97.20		
	0.185 0	0.179 8	0.358 0	96.20		
	0.180 9	0.180 7	0.356 5	97.15		
	0.180 2	0.181 0	0.356 1	97.21		
	0.178 6	0.217 9	0.389 3	96.68		
	0.184 7	0.219 4	0.399 6	97.95		
	0.185 3	0.209 9	0.394 4	99.63		

2.2 出膏率的测定

精密量取水提工艺筛选试验中的水提液 50 mL,置于已干燥至恒质量的蒸发皿中,水浴蒸干后于 105 ℃干燥至恒质量;置于干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,计算出膏率[出膏率(%)=干膏质量×50/药材质量×100%]。

2.3 水提工艺考察因素与指标的确定

本研究在考察提取工艺时,设计在单因素试验基础上结合响应面法对各因素与指标进行优化。根据前期试验结果,确定柴胡安心胶囊处方的药效部位为水溶性部分,因此对其水提工艺进行考察。根据预试验结果,选择对水提效果可能有影响的因素,即加液倍数、浸泡时间、回流时间、提取次数作为考察因素。采用层次分析法(AHP)进行分析^[15],由于柴胡安心胶囊中葛根为君药,白芍和桂枝为臣药,故葛根中主要有效成分葛根素和大豆苷与白芍中的代表性成分没食子酸比较,葛根素和大豆苷相对重要,记为 3.00;由于夏枯草为佐药,与其有效成分芦丁、槲皮素、绿原酸比较,葛根素和大豆苷则更为重要,则记为 7.00;另外,出膏率与葛根素和大豆苷比较同等重要,故与没食子酸比较时也记为 3.00;按照 AHP 法以此类推,各指标权重的判断矩阵见表 2。

采用 AHP 计算,最终确定没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、肉桂酸、芦丁、槲皮素及出膏率的权重系数

表2 各指标权重的判断矩阵

Tab 2 The weight judgment matrix of each index

成分	葛根素	大豆苷	没食子酸	绿原酸	肉桂酸	芦丁	槲皮素	出膏率
葛根素	1.00	1.00	3.00	7.00	5.00	7.00	7.00	1.00
大豆苷	1.00	1.00	3.00	7.00	5.00	7.00	7.00	1.00
没食子酸	0.33	0.33	1.00	3.00	0.33	3.00	3.00	0.33
绿原酸	0.14	0.14	0.33	1.00	0.33	1.00	1.00	0.14
肉桂酸	0.20	0.20	3.00	3.00	1.00	0.33	0.33	0.20
芦丁	0.14	0.14	0.33	1.00	0.33	1.00	1.00	0.14
槲皮素	0.14	0.14	0.33	1.00	0.33	1.00	1.00	0.14
出膏率	1.00	1.00	3.00	7.00	5.00	7.00	7.00	1.00

分别为0.064 7、0.029 7、0.254 8、0.254 8、0.081 9、0.029 7、0.029 7、0.254 8。进而根据权重系数计算综合评分 $(Y)=\sum D_{ij} \times \text{权重}$, D_{ij} =某指标值/某指标值中的最大值, 即 $Y(\%)=D_{ij} \text{没食子酸} \times 0.064\ 7 + D_{ij} \text{绿原酸} \times 0.029\ 7 + D_{ij} \text{葛根素} \times 0.254\ 8 + D_{ij} \text{大豆苷} \times 0.254\ 8 + D_{ij} \text{肉桂酸} \times 0.081\ 9 + D_{ij} \text{芦丁} \times 0.029\ 7 + D_{ij} \text{槲皮素} \times 0.029\ 7 + D_{ij} \text{出膏率} \times 0.254\ 8$ 。

2.4 水提工艺筛选的单因素试验

2.4.1 加液倍数考察 按处方比例称取药材 207 g, 分别加入 6、8、10、12、14 倍药材量的水浸泡 10 h, 回流 2 次, 每次 1.5 h, 考察提取液的 Y 值。结果显示, 加液量为 6~10 倍水时, Y 值呈上升趋势, 10 倍之后趋于平缓, 且 10 倍与 12 倍的结果相差不大, 考虑生产中的实际操作, 选取加液倍数 10 为响应面试验设计的考察水平, 具体结果见图 2A。

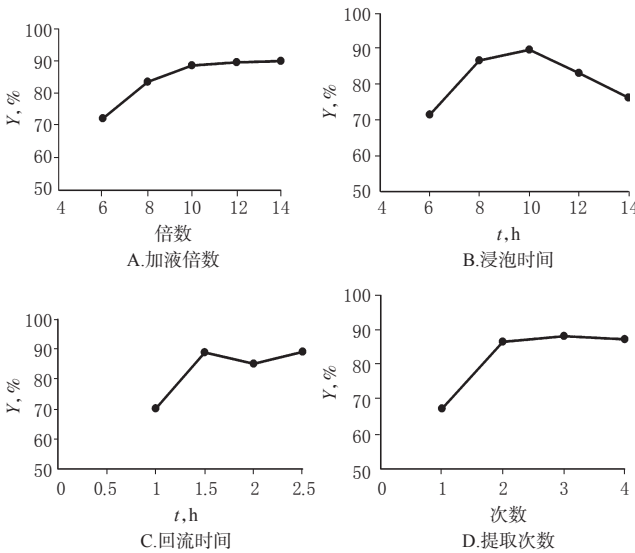


图2 单因素试验考察结果

Fig 2 Results of single factor tests

2.4.2 浸泡时间考察 按处方比例称取药材 207 g, 加 10 倍水, 回流 2 次, 每次 1.5 h, 考察浸泡 6、8、10、12、14、18 h 后提取液的 Y 值。结果显示, 浸泡 10 h 内 Y 值呈上升趋势, 10 h 后开始下降, 考虑生产实际操作和药材变质时间, 选择浸泡 10 h 为响应面试验设计的考察水平, 具体结果见图 2B。

2.4.3 回流时间考察 按处方比例称取药材 207 g, 加入 10 倍水, 浸泡 10 h, 回流 2 次, 分别考察回流 1、1.5、2、2.5 h 后提取液的 Y 值。结果显示, 回流 1~1.5 h 时 Y 值呈上升趋势, 2 h 时 Y 值下降, 2.5 h 时又上升, 但低于 1.5 h 时的 Y 值。考虑生产实际操作, 选取回流 1.5 h 为响应面试验设计的考察水平, 具体结果见图 2C。

2.4.4 提取次数考察 按处方比例称取药材 207 g, 加 10 倍水, 回流 1.5 h, 分别考察回流 1、2、3、4 次后提取液的 Y 值。结果显示, 回流 1、2、3 次时 Y 值呈上升趋势, 但 2 次及以后的 Y 值趋于平缓, 考虑生产实际操作, 取回流 2 次为响应面试验设计的考察水平, 具体结果见图 2D。

2.5 水提工艺优化的响应面法

2.5.1 试验设计 采用 Box-Behnken 响应面试验设计原理, 结合单因素试验结果, 选择浸泡时间(A, h)、提取次数(B)、加液倍数(C)、回流时间(D, h)为考察因素, 按 1 倍处方量称取药材 207 g 进行试验。因素与水平见表 3。

表3 因素与水平

Tab 3 Factors and levels

水平	因素			
	A(浸泡时间),h	B(提取次数)	C(加液倍数)	D(回流时间),h
-1	8	1	8	1
0	10	2	10	1.5
1	12	3	12	2

2.5.2 试验结果与方差分析 以没食子酸、绿原酸、葛根素、大豆苷、肉桂酸、槲皮素、芦丁的含量及出膏率为考察指标, 按照不同权重系数进行加权计算得到各提取液的 Y 值, 试验结果见表 4。

采用 Design-expert 8.0.6 软件对试验结果进行分析, 得到 Y 对浸泡时间(A)、提取次数(B)、加液倍数(C)、提取时间(D)的回归方程为 $Y=91.38+1.22A+2.33B+5.55C+3.93D+2.30AB-1.65AC+4.38AD+2.10BC+0.07BD+1.01CD-4.67A^2-4.53B^2-3.11C^2-8.22D^2$, $R^2=0.940\ 7$ 。方差分析结果见表 5。

由表 5 可知, 模型 $F=5.93$, $P=0.001<0.01$, 说明回归模型极其显著, 失拟项 $F=3.84$, $P=0.103\ 2>0.05$, 说明模型失拟项不显著, 可以用于分析试验数据。由表中 P 值可知, 模型的一次项影响顺序是 $C>D>B>A$, C、D 极其显著, 交互项均不显著, 二次项 A^2 、 D^2 均极其显著, C^2 不显著。

2.5.3 工艺优化结果 运用 Design-expert 8.0.6 软件对试验数据进行回归拟合, 得到响应面图, 见图 3。

由响应面图的陡峭程度可知, 加液倍数和回流时间对 Y 值影响较大, 交互项对 Y 值无显著影响, 忽略交互作用, 以 Y 值的回归模型的极值分析得到最优条件为: 浸泡时间为 10.00 h, 提取次数 2.03, 加液倍数 11.08, 回流时间 1.50 h, 在此条件下 Y 的预测值为 91.38%, 考虑生产实

表4 试验设计与结果

Tab 4 Design and results of trials

试验号	A(浸泡时间),h	B(提取次数)	C(加液倍数)	D(回流时间),h	没食子酸,μg/g	绿原酸,μg/g	葛根素,μg/g	大豆苷,μg/g	芦丁,μg/g	肉桂酸,μg/g	槲皮素,μg/g	出膏率,%	Y,%
1	10	2	10	1.5	18.35	55.56	224.10	46.31	62.30	31.34	74.99	26.73	91.19
2	8	3	10	1.5	16.42	41.06	208.35	40.27	48.29	30.56	57.59	22.08	79.82
3	10	3	8	1.5	19.09	39.24	202.73	37.77	52.66	31.71	56.16	18.11	75.25
4	10	2	8	2	12.97	39.45	196.53	33.03	62.88	33.61	58.42	18.65	72.13
5	12	2	10	2	18.32	54.92	217.63	41.48	61.91	35.73	85.26	23.85	86.72
6	12	2	10	1	16.00	39.95	193.78	36.05	57.63	27.93	78.88	15.31	70.24
7	10	2	12	1	21.36	56.88	216.10	38.30	57.27	33.57	76.69	20.05	81.48
8	10	2	10	1.5	21.04	61.11	229.51	54.17	75.44	37.45	82.98	19.24	91.19
9	10	3	12	1.5	21.28	59.80	226.30	54.62	69.58	34.48	59.29	24.93	94.82
10	8	2	8	1.5	23.25	38.87	201.35	43.31	47.09	26.25	44.58	20.54	79.33
11	12	3	10	1.5	19.49	39.10	202.03	41.57	71.98	34.86	70.77	26.67	87.02
12	12	1	10	1.5	17.67	38.01	193.25	34.29	52.19	32.47	55.58	21.44	75.48
13	10	1	10	1	19.24	42.44	187.68	31.14	51.73	29.06	58.79	20.46	72.53
14	8	2	10	1	20.93	55.40	206.74	39.24	52.15	33.74	68.25	19.39	79.62
15	10	2	8	1	20.86	58.37	186.32	31.02	51.52	31.81	65.18	15.34	69.36
16	8	2	12	1.5	21.72	61.49	220.39	51.88	67.41	27.10	71.98	19.07	86.42
17	10	3	10	1	21.32	61.07	204.17	42.85	57.86	35.22	66.64	14.85	77.47
18	12	2	12	1.5	23.19	55.12	202.29	39.42	72.49	36.51	77.71	26.72	88.42
19	8	2	10	2	19.56	46.46	195.63	37.40	54.69	28.81	57.58	22.59	78.57
20	10	1	10	2	20.35	41.07	196.68	38.80	53.60	32.61	72.31	25.71	83.49
21	10	1	12	1.5	20.13	58.49	221.13	52.50	69.53	38.14	76.40	19.05	88.65
22	10	2	10	1.5	23.25	59.67	228.99	51.88	70.40	40.17	77.71	18.54	90.12
23	10	2	12	2	22.12	46.93	211.34	39.80	71.70	37.75	78.71	25.77	88.28
24	10	1	8	1.5	17.45	32.89	195.70	35.50	52.69	39.99	77.38	20.59	77.48
25	8	1	10	1.5	21.97	52.42	196.34	42.21	71.79	37.51	74.58	14.98	77.46
26	10	2	10	1.5	19.26	40.15	209.60	44.82	63.49	35.13	85.24	26.28	89.19
27	10	3	10	2	21.35	61.61	200.38	40.65	78.21	35.06	82.86	26.77	88.72
28	10	2	10	1.5	23.20	63.29	229.51	54.60	78.21	37.62	81.91	22.42	95.19
29	12	2	8	1.5	21.99	64.54	223.17	49.71	70.35	37.06	70.27	19.00	87.93

表5 方差分析结果

Tab 5 Results of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	1 318.73	14	94.2	5.93	0.001
A	17.74	1	17.74	1.12	0.308 5
B	65.38	1	65.38	4.12	0.062
C	369.52	1	369.52	23.26	0.000 3
D	185.73	1	185.73	11.69	0.004 2
AB	21.07	1	21.07	1.33	0.268 8
AC	10.89	1	10.89	0.69	0.421 6
AD	76.83	1	76.83	4.84	0.054 2
BC	17.64	1	17.64	1.11	0.309 8
BD	0.021	1	0.021	0.001	0.971 5
CD	4.06	1	4.06	0.26	0.621
A ²	141.54	1	141.54	8.91	0.009 8
B ²	132.89	1	132.89	8.37	0.011 8
C ²	62.59	1	62.59	3.94	0.067 1
D ²	438.69	1	438.69	27.61	0.000 1
残差	222.41	14	15.89		
失拟项	201.44	10	20.14	3.84	0.103 2
纯误差	20.97	4	5.24		
总误差	1 541.14	28			

际操作,将最优提取条件调整为加液倍数 11,浸泡 10 h,提取 2 次,每次回流 1.5 h。

2.5.4 验证试验 称取 10 倍处方量的药材 2 070 g,共 3 份,按上述优选条件即浸泡时间为 10 h、提取 2 次、加液

倍数 11、每次回流 1.5 h 进行验证试验。结果,3 次试验的 Y 值平均为 91.37%(RSD<2%,n=3),与预测值相比较,相对误差为 1.87%,说明该模型预测性拟合度良好,所得数据有效可靠,具有一定的实际指导意义,具体结果见表 6。

3 讨论

3.1 指标成分的选择

柴胡安心胶囊由多味中药组成,若只选择单一成分为考察指标,则其并不能够全面反映复方中药制剂的本身特点,且易受其他因素的影响,单一成分在药材中的含量与在制剂中的含量不一定呈现真实的线性关系,而各指标之间也可能存在相互影响,故采用多成分的含量为指标来评价复方中药制剂的工艺优化势在必行。在该制剂中,柴胡虽为君药之一,但其主要有效成分柴胡皂苷类的紫外最大吸收波长在 210 nm 左右,于本研究中的液相检测条件下基线干扰严重,故暂未将该成分的含量列入指标性成分中,但通过选入另一君药葛根,以及臣药桂枝和白芍,佐药夏枯草的 7 种有效成分,再结合真空干燥后的出膏率,基本上能反映该组方的制剂质量和提取效率。

在设定各指标的权重系数上,本研究根据中药的君

臣佐使理论,运用AHP法计算了8个指标成分的权重,进而得到综合评分,由此兼顾了药效与有效成分的提取效率,因此所优化的工艺参数更符合临床实际情况。

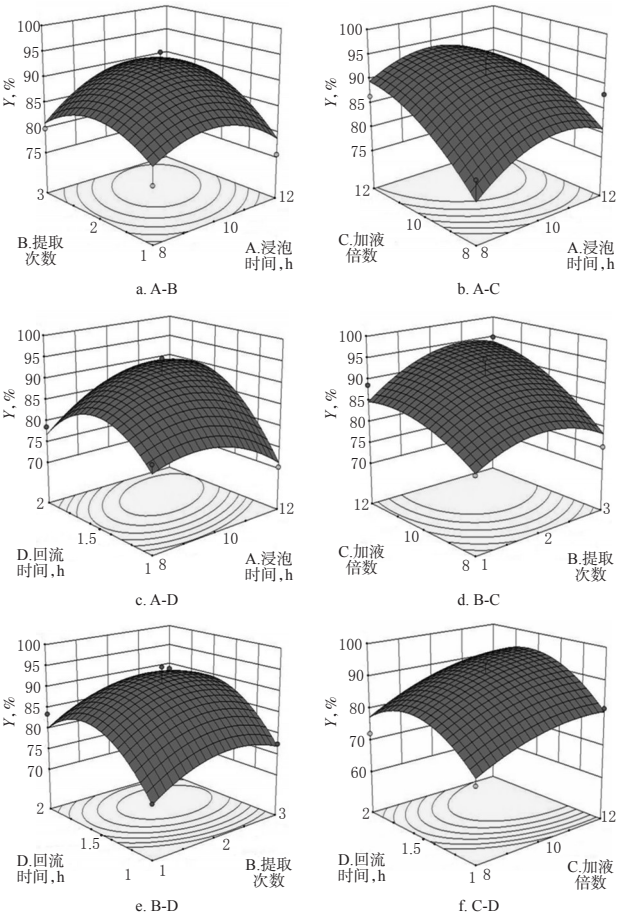


图3 4种因素对综合评分的响应面图

Fig 3 Response surface plot of 4 factors on comprehensive scoring

表6 验证试验结果

Tab 6 Results of validation tests

试验号	没食子酸 μg/g	绿原酸 μg/g	葛根素 μg/g	大豆苷 μg/g	芦丁 μg/g	肉桂酸 μg/g	槲皮素 μg/g	出膏率 %	Y, %	相对误 差, %
1	22.54	61.72	257.45	70.11	72.89	47.62	76.38	22.42	93.15	
2	21.04	60.11	249.51	68.36	70.06	35.80	62.51	19.24	91.89	1.87
3	20.67	59.67	246.25	54.79	68.20	41.08	78.56	20.54	89.07	

3.2 试验方法与提取方法的选择

响应面法与正交试验法、均匀试验设计法比较,前者兼顾了多个影响因素以及因素之间的交互作用,故预测结果与真实结果比较更为接近,能够更精确地获取到试验的最优条件^[16]。另外,在提取方法上,本试验从传统的中药煎煮法考虑,采用了水提方式,试验步骤简单稳定,通过单因素试验的结果确定对结果产生主要影响的因素和水平,并用于后续响应面试验的设计,由此提高了结果的准确性,验证试验也证明实验室数据与扩大

样本10倍量后的中试生产结果比较接近,故本研究可为后续柴胡安心胶囊的制剂生产提供试验依据。

参考文献

[1] 高延秋.柴胡安心胶囊对心血管神经症的疗效和安全性观察[D].石家庄:河北医科大学,2007.

[2] 方晓艳,张蕾,冯素香,等. HPLC法比较河南8个产地葛根中5种成分[J]. 中成药,2016,38(9):2073-2075.

[3] 冯玉兰,柴薇薇,李健和,等.葛根素PEG-PE纳米胶束的制备及在急性心肌缺血模型小鼠体内的组织分布[J]. 中国药理学杂志,2017,52(21):1918-1923.

[4] ZHANG X, XIONG J, LIU S, et al. Puerarin protects dopaminergic neurons in Parkinson's disease models[J]. *Neuroscience*, 2014, 280(7):88-98.

[5] WANG N, ZHANG YM, WU L, et al. Puerarin protected the brain from cerebral ischemia injury via astrocyte apoptosis inhibition[J]. *Neuropharmacology*, 2014.DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.12.004.

[6] 钱珺,谢凡,石燕红,等. HPLC法同时测定白芍配方颗粒中5种成分[J]. 中成药,2018,40(1):117-120.

[7] 崔运浩,梁茂新,初杰.白芍潜在功能发掘与利用[J]. 中华中医药学刊,2016,34(5):1240-1243.

[8] 刘冲,刘荫贞,乐智勇.桂枝饮片标准汤剂质量标准研究[J]. 中草药,2017,48(8):1577-1583.

[9] 刘萍,张丽萍.桂枝化学成分及心血管药理作用研究[J]. 辽宁中医杂志,2012,39(10):1926-1927.

[10] 皮胜玲,张凯强,胡玉珍,等.野生与栽培夏枯草5种有效成分的HPLC测定[J]. 中草药,2017,48(8):1666-1670.

[11] 刘亚敏,栗俞程,李寒冰,等.夏枯草水提物抗抑郁作用研究[J]. 中药新药与临床药理,2017,28(4):1577-1583.

[12] 单丽芳,杨红梅,曹蕾,等.多指标综合评价法优选参芪复方颗粒提取工艺及其热稳定性考察[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(7):24-27.

[13] 张志,李昕弦,姚楠,等.多指标正交试验优化大黄的湿纸煨制工艺[J]. 中国药房,2018,29(7):964-967.

[14] 范孟雪,秦昆明,丁斐,等. Box-Behnken响应面法结合多指标综合加权法优选升麻中酚酸类成分的提取工艺[J]. 中国药房,2016,27(13):1835-1838.

[15] 陈恒文,田盼盼,何轩辉,等.多指标综合评价法优化稳心汤提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(20):25-31.

[16] 王萍,王宇鹤,辛爱洁,等. Box-Behnken响应面法优化粉葛配方颗粒提取工艺[J]. 中成药,2017,39(6):1293-1296.

(收稿日期:2018-10-11 修回日期:2018-12-04)

(编辑:刘 萍)