

基于改进 AHP-熵权-关联度及化学计量学的经典名方一贯煎提取工艺研究

牛成琳¹, 殷洪梅^{1,2,3*}, 宋明明^{2,3}, 周 茆^{2,3}, 丁 涵¹, 徐殿红², 陈 娅^{2,3}, 王振中^{1,2,3}, 肖 伟^{1,2,3*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

3. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 筛选经典名方一贯煎的最优提取工艺, 为其制剂研究提供实验依据。方法 对 HPLC 法测定的甜菜碱、地黄苷 D、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 进行化学计量学分析; 以筛选出的关键成分含量、出膏率及指纹图谱相似度为评价指标, 采用改进 AHP-熵权法确定各个指标的权重系数, 以基准样品关联度评价样品与基准样品的质量一致性, 在单因素试验的基础上, 采用响应面法优选一贯煎的提取工艺参数。结果 Box-Behnken 设计建立的数学模型具有统计学意义, 一贯煎最佳提取工艺参数为加 12 倍量水, 提取时间 80 min, 提取 2 次。此条件下设计空间的综合评分为 0.963。结论 采用改进 AHP-熵权-基准样品关联度法优选一贯煎提取工艺参数, 所拟合的模型显著, 与基准样品质量基本一致, 为进一步研究经典名方一贯煎复方制剂研究提供了参考。

关键词: 一贯煎; 提取工艺; 改进 AHP; 熵权法; 基准样品关联度; 响应面法; 化学计量学; 甜菜碱; 地黄苷 D; 对香豆酸; 阿魏酸; 毛蕊花糖苷; 洋川芎内酯 I

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)04-1178-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.04.012

Research on extraction process for classical prescription Yiguanjian based on improved analytic hierarchy process-entropy weight-standard decoction relation and chemometrics

NIU Chenglin¹, YIN Hongmei^{1,2,3}, SONG Mingming^{2,3}, ZHOU Mou^{2,3}, DING Han¹, XU Dianhong², CHEN Ya^{2,3}, WANG Zhenzhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

3. State Key Laboratory on Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective The optimal extraction process of classical prescription Yiguanjian (一贯煎) was screened to provide experimental basis for the preparation. **Methods** The betaine, rehmannioside D, *p*-coumaric acid, ferulic acid, verbascoside and senkyunolide I, determined by HPLC were screened by chemometrics analysis. With screening of the key ingredient content, extract rate and fingerprint similarity as evaluation indexes, the improved analytic hierarchy process (AHP)-entropy weight method was used to determine the combined weight coefficient of each index, and the quality consistency between the sample and the standard decoction was evaluated by the relation degree of the standard decoction. On the basis of single factor test, the response surface method was used to optimize the extraction process parameters of Yiguanjian. **Results** The mathematical model established by Box-Behnken experimental design was statistically significant. The optimal extraction process was determined as follows, 12 times amount of water, decocting for two times, and each time for 80 min. The comprehensive score of design space was 0.963 under this condition. **Conclusion** The improved AHP-entropy weight method-standard decoction relation method was used to optimize the

收稿日期: 2023-07-31

基金项目: 2022 年中央财政转移支付地方项目: 基于重点研究室研究领域的中医药多学科研究能力提升项目——中药提取精制新技术

作者简介: 牛成琳, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: 17836939747@163.com

*通信作者: 肖 伟, 中国工程院院士, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药新药研发及过程质量控制研究。E-mail: kanionlunwen@163.com
殷洪梅, 女, 研究方向为中药制剂研发。E-mail: yinhongmei1010@126.com

extraction process parameters of Yiguanjian, and the fitted model was significant, which was basically consistent with the quality of standard decoction, providing reference for further research of the classical prescription compound preparation of Yiguanjian.

Key words: Yiguanjian; extraction process; improved analytic hierarchy process; entropy weight method; standard decoction relation; response surface methodology; chemometrics; betaine; rehmannioside D; *p*-coumaric acid; ferulic acid; verbascoside; senkyunolide I

经典名方一贯煎收录于《古代经典名方关键信息表（7 首方剂）》^[1]，出自《续名医类案》（清·魏之琇）^[2]，方由生地黄、当归、北沙参、麦冬、枸杞子、川楝子 6 味中药组成，有滋阴疏肝之效，临床上多用于治疗肝病、胃病、慢性便秘、妇科疾病及抑郁症等^[3-6]。为了更好地应用于临床，将经典方剂转换为便捷、使用依从性强的剂型，从而解决汤剂带来的弊端。在国家发布诸多经方相关的鼓励性政策大环境下，开展经方一贯煎制剂的工艺研究，对于确保现代化制剂在临床上使用安全、有效具有重要意义。

基于质量源于设计原则，在工业化生产中对关键工艺参数（critical process parameters, CPPs）进行逐步优化，以基准样品为切入点，达到经典名方复方制剂关键质量属性（critical quality attributes, CQAs）与其基本一致^[7-8]。为确保经方制剂质量，需对药材、饮片、基准样品及制剂等多个环节实行全过程质量监控，从物理、化学等多方面综合考虑，把控经方研究过程中的 CQAs，加强专属性鉴别和多成分、整体质量的控制^[9]，根据一贯煎化学成分及临床应用研究，结合各药材药典质控成分，选取地黄苷 D、毛蕊花糖苷、阿魏酸、洋川芎内酯 I、甜菜碱、对香豆酸为含量测定的指标成分，本实验实行多个质量评价指标，从定性和定量 2 个维度综合把控提取工艺。考虑到工业化生产的可行性，生产设备与工艺条件的适配度，基于经典名方制剂与物质基准的质量控制指标应基本一致原则，采用基准样品关联度评价样品与基准样品的质量一致性。根据经方的君臣佐使、用药量等多方面综合确定评价指标的主观权重系数，将 1~9 标度法与 $e^{0/4} \sim e^{8/4}$ 标度法相结合，综合考量 2 种标度法的优缺点，增强权重值的信度，熵权法确定评价指标的客观权重系数^[10]。

改进主观评价层次分析法（analytic hierarchy process, AHP）-熵权法确定组合权重，构建以组合权重评估，将定性指标与定量指标相结合的可靠提取工艺优选体系，结合 Box-Behnken 设计-响应面法进行模型预测^[11]，以期得到合理、稳定、可行的最优提取工艺，并为后续制剂制备和质量控制研究提

供实验依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

全自动分体式多功能煎药壶（多用煲），潮州市潮安区金石镇中雄家用电器厂；JY20002 型电子分析天平，上海舜宇恒平科学仪器有限公司；Mettler Toledo XP6 型百万分之一电子分析天平、Mettler Toledo AL204 型万分之一电子分析天平，梅特勒-托利多仪器有限公司；ACS-D 型三峰牌电子秤，上海乾峰电子仪器有限公司；HWS26 型电热恒温水浴锅，上海一恒科学仪器有限公司；DZTW 型电子调温电热套，上海本亭仪器有限公司；KB-500DB 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；Agilent 1200 型高效液相色谱仪，美国 Agilent 公司；Milli-Q 型超纯水仪，美国密理博公司。

1.2 试药

生地黄饮片，批号 YP220815，产地河南，购自大连大仁堂药业有限公司；当归饮片（批号 YP220408，产地甘肃甘南藏族自治州卓尼县）、川楝子（批号 Y2204016，产地四川省成都市丽春镇）、北沙参（批号 Y220423，产地内蒙古良西）、枸杞子（批号 Y2204005，产地甘肃靖远县），均购自江苏三和兴中药研究有限公司；麦冬，批号 Y220403，产地四川省三台县，购自河北荷花池药业有限公司。

对照品地黄苷 D（批号 112063-202103，质量分数 94.2%）、阿魏酸（批号 110773-201915，质量分数 99.4%）、甜菜碱（批号 110894-202105，质量分数 98.5%）、对香豆酸（批号 112037-202102，质量分数 99.7%）、毛蕊花糖苷（批号 111530-201914，质量分数 95.2%），中国食品药品检定研究院；对照品洋川芎内酯 I（批号 13176，质量分数 98%），上海诗丹德生物技术有限公司。乙腈、甲醇，色谱级，北京迈瑞达科技有限公司；超纯水，自制。

2 方法与结果

2.1 一贯煎提取液的制备

称取生地黄、枸杞子各 67.14 g，北沙参、麦冬、当归各 33.6 g，川楝子 44.76 g，共 279.84 g，置于 5 L 圆底烧瓶中，加入一定倍量纯化水浸泡 30 min，加热回流提取，以 200 目滤布立即滤过，即得。

参照课题组前期一贯煎物质基准制备工艺研究,根据医疗机构中药煎药室管理规范将全方至于煎药壶用水煎煮 2 次即得基准样品^[12]。

2.2 地黄苷 D 含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 取地黄苷 D 对照品适量,精密称定,用 25% 甲醇充分溶解,配成质量浓度为 491.72 $\mu\text{g/mL}$ 的地黄苷 D 对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 移取一贯煎提取液于 2 mL 离心管内,12 000 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

2.2.3 色谱条件^[13] 色谱柱为 Waters HSS T3 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (5:95); 体积流量 1 mL/min; 检测波长为 203 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积 10 μL ; 色谱图见图 1。

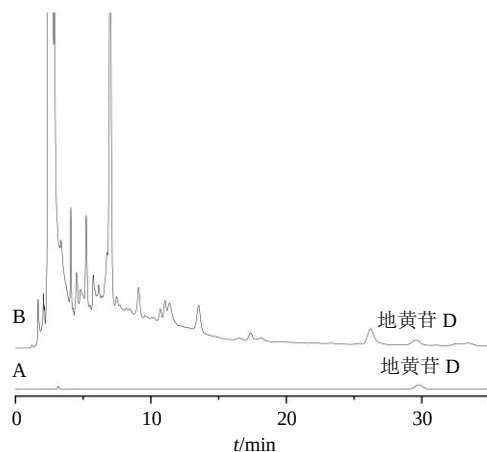


图 1 地黄苷 D 对照品 (A) 和一贯煎基准样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of rehmannioside D reference substances (A) and Yiguanjian benchmark samples (B)

2.2.4 线性关系考察 取“2.2.1”项下地黄苷 D 对照品溶液逐级稀释,按“2.2.3”项下色谱条件测定不同质量浓度下地黄苷 D 的色谱峰峰面积,以质量浓度为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归,得回归方程:地黄苷 D $Y=12.161\ 1\ X-3.570\ 1$, $R^2=1.000\ 0$,线性范围 7.38~73.76 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2.5 精密度考察 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件连续进样 6 次,测定地黄苷 D 的峰面积,计算其峰面积的 RSD 值为 0.99%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性考察 取供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件分别在制备后 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定,测定地黄苷 D 的峰面积,计算 RSD 值

为 1.31%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 精密称定 6 份样品,按照“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件进行测定,计算地黄苷 D 的含量 RSD 值为 0.75%,表明试验方法重复性较好。

2.2.8 加样回收率考察 取已知含量的样品精密称定,置具塞锥形瓶中,平行 9 份,每 3 份 1 组,分别精密加入与样品中相应成分含量相等的对照品储备液 1、2、3 mL,按“2.2.2”项方法操作得到加标溶液,按“2.2.3”项下色谱条件测定,计算地黄苷 D 的平均加样回收率为 103.90%,RSD 值为 2.52%,表明该方法准确度良好。

2.3 甜菜碱含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备 取甜菜碱对照品适量,精密称定,加甲醇充分溶解,配成质量浓度为 504.8 $\mu\text{g/mL}$ 的甜菜碱对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 按照《中国药典》2020 年版枸杞子项下“供试品溶液制备”方法,取一贯煎提取液约 3 g,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加入甲醇适量,超声处理 30 min,放冷,用甲醇定容至刻度,摇匀,滤过。精密量取续滤液 2 mL,置碱性氧化铝固相萃取柱 (2 g) 上,用乙醇 60 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至 2 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,离心,取上清液,即得供试品溶液。

2.3.3 色谱条件 色谱柱为 Waters X bridge BEH Amide 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (85:15); 体积流量 1 mL/min; 检测波长 195 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积 10 μL 。色谱图见图 2。

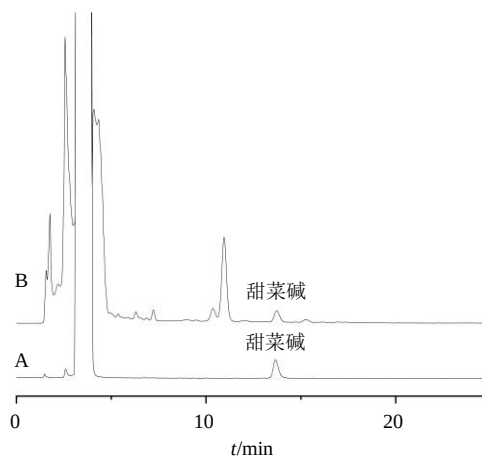


图 2 甜菜碱对照品 (A) 和一贯煎基准样品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 2 HPLC of betaine reference substances (A) and Yiguanjian benchmark samples (B)

2.3.4 线性关系考察 取“2.3.1”项下对照品溶液逐级稀释,按“2.3.3”项下色谱条件分别测定不同质量浓度下甜菜碱的色谱峰峰面积,以质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得回归方程:甜菜碱 $Y=4.536 X+0.802 8$, $R^2=0.999 9$,线性范围 $10.10\sim 201.90 \mu\text{g/mL}$ 。

2.3.5 精密度考察 按照“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.3”项下色谱条件连续进样 6 次,测定甜菜碱的峰面积,计算其峰面积的 RSD 值为 0.94%,表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性考察 取供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件分别在制备后 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定,测定甜菜碱的峰面积,计算其 RSD 值为 0.74%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 精密称定 6 份样品,按照“2.3.2”项下方法分别平行制备 6 份供试品溶液,按“2.3.3”项下色谱条件进行测定,计算甜菜碱质量分数的 RSD 值为 1.58%,表明试验方法重复性较好。

2.3.8 加样回收率考察 取已知含量的样品精密称定,置具塞锥形瓶中,平行 9 份,每 3 份 1 组,分别精密加入与样品中相应成分含量相等的对照品储备液 1、2、3 mL,按“2.3.2”项下方法操作得到加标溶液,按“2.3.3”项下色谱条件测定,计算甜菜碱的平均加样回收率为 97.07%,RSD 值为 1.71%,表明该方法准确度良好。

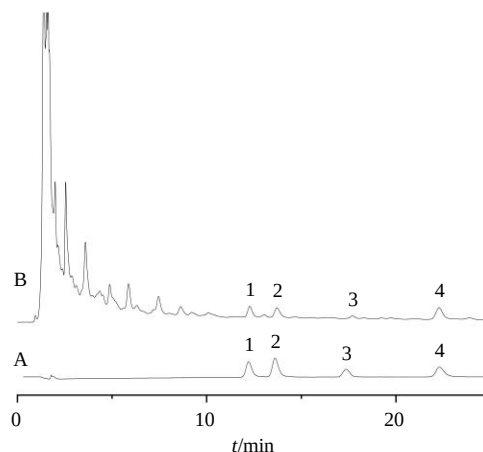
2.4 多成分含量测定

2.4.1 对照品溶液的制备 取对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 对照品适量,精密称定,用 70% 甲醇充分溶解,分别配成质量浓度分别为对香豆酸 $66.10 \mu\text{g/mL}$ 、阿魏酸 $138.13 \mu\text{g/mL}$ 、毛蕊花糖苷 $52.26 \mu\text{g/mL}$ 、洋川芎内酯 I $72.41 \mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备 同“2.2.2”项下的制备方法。

2.4.3 色谱条件 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 柱 ($150 \text{ mm}\times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$);流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液,梯度洗脱条件为 $0\sim 15 \text{ min}$, $25\%\sim 35\%$ 甲醇; $15\sim 25 \text{ min}$, $35\%\sim 42\%$ 甲醇;体积流量 1 mL/min ;检测波长为 280 nm ;柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$;进样体积 $10 \mu\text{L}$ 。色谱图见图 3。

2.4.4 线性关系考察 取“2.4.1”项下对照品溶液逐级稀释,按“2.4.3”项下色谱条件分别测定不同质量浓度下对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷和洋川



1-对香豆酸; 2-阿魏酸; 3-毛蕊花糖苷; 4-洋川芎内酯 I。
1-*p*-coumaric acid; 2-ferulic acid; 3-verbascoside; 4-senkyunolide I.

图 3 混合对照品 (A) 和一贯煎基准样品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 3 HPLC of mixed reference substances (A) and Yiguanjian benchmark samples (B)

芎内酯 I 的色谱峰峰面积,以对照品溶液质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),分别对对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷和洋川芎内酯 I 质量浓度进行线性回归,得回归方程分别为对香豆酸 $Y=45 858.0 X+5 889.8$, $R^2=0.999 8$,线性范围 $0.52\sim 33.05 \mu\text{g/mL}$;阿魏酸 $Y=28 238.0 X+3 896.7$, $R^2=0.999 8$,线性范围 $1.08\sim 69.06 \mu\text{g/mL}$;毛蕊花糖苷 $Y=9 715.4 X-2 483.3$, $R^2=0.999 9$,线性范围 $0.41\sim 26.13 \mu\text{g/mL}$;洋川芎内酯 I $Y=38 500.0 X-1 716.0$, $R^2=0.999 8$,线性范围 $0.57\sim 36.21 \mu\text{g/mL}$ 。

2.4.5 精密度考察 按照“2.4.2”项方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件连续进样 6 次,分别测定对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 的峰面积,计算其 RSD 值分别为 0.52%、1.21%、2.30%、1.95%,表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性考察 取供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件分别在制备后 0、2、4、6、8、12、18、24 h 进样测定,分别测定对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 的峰面积,计算其 RSD 值分别为 1.15%、2.02%、2.47%、1.98%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.7 重复性考察 精密称定 6 份样品,按照“2.4.2”项方法,分别平行制备 6 份供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进行测定,分别计算对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 质量分数的 RSD 值分别为 1.47%、1.65%、2.10%、0.72%,结果表明该试验方法重复性较好。

2.4.8 加样回收率考察 取已知含量的样品精密称定, 置具塞锥形瓶中, 平行 9 份, 每 3 份 1 组, 分别精密加入与样品中相应成分含量相等的对照品储备液 1、2、3 mL, 按“2.4.2”项方法操作得到加标溶液, 按“2.4.3”项色谱条件测定, 分别计算对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 的平均加样回收率为 90.63%、105.74%、97.78%、92.81%, RSD 值分别为 2.48%、2.90%、2.66%、2.36%, 表明该方法准确度良好。

2.5 出膏率的测定

取 105 ℃ 烘干至恒定质量的蒸发皿, 记录质量 (m_1); 精密称取提取液 20 g 于蒸发皿中, 水浴蒸干后, 移入烘箱, 105 ℃ 干燥 5 h, 取出放干燥器, 放冷后称定质量, 再次放入烘箱内 105 ℃ 干燥 1 h, 取出称重, 至恒定质量, 记录质量 (m_2)。固含量和出膏率计算公式如下。

$$\text{固含率} = (m_2 - m_1) / 20 \quad (1)$$

$$\text{出膏率} = \text{固含率} \times \text{提取液总量} / \text{饮片投料质量} \quad (2)$$

2.6 指纹图谱的建立

2.6.1 供试品溶液的制备 同“2.2.2”项下的制备方法。

2.6.2 色谱条件 色谱柱为 Waters HSS T3 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 体积流量 1 mL/min; 检测波长为 280 nm; 柱温 30 ℃; 进样体积 10 μL; 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱条件为 0~12 min, 0~2% 乙腈; 12~25 min, 2%~8% 乙腈; 25~35 min, 8%~11% 乙腈; 35~50 min, 11%~22% 乙腈; 50~60 min, 22%~40% 乙腈; 60~70 min, 40%~90% 乙腈; 70~80 min, 90% 乙腈。

2.6.3 精密度考察 按照“2.6.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.6.2”项下色谱条件连续进样 6 次, 分别计算指纹图谱相似度, 相似度 > 0.942, 表明仪器精密度良好。

2.6.4 稳定性考察 取供试品溶液, 按“2.6.2”项下色谱条件分别在制备后 0、4、8、12、16、20、24 h 进样测定, 分别计算指纹图谱相似度, 相似度 > 0.935, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.5 重复性考察 精密称定 6 份样品, 按照“2.6.1”项方法分别平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.6.2”项下色谱条件进行测定, 分别计算指纹图谱相似度, 相似度 > 0.942, 表明试验方法重复性较好。

2.6.6 指纹图谱分析 按照“2.6.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.6.2”项下色谱条件测定, 记录

色谱图, 结果见图 4。导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》中进行数据分析, 以基准样品色谱图 S 为参照谱图, 选择特征明显、重复性好、稳定性好的 7 个色谱峰为共有峰, 经多点校正后进行相似度计算。

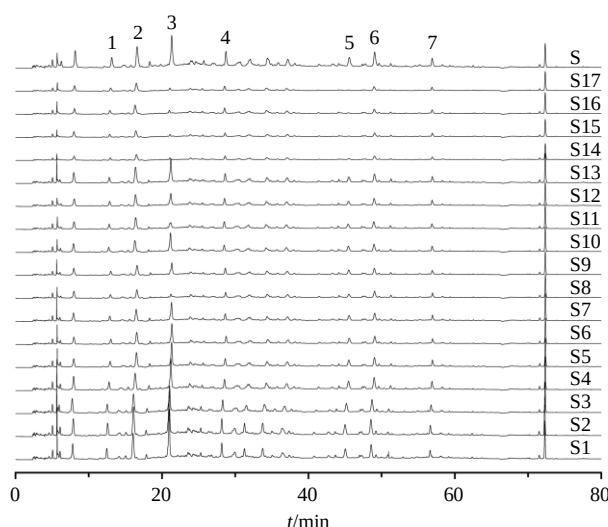


图 4 一贯煎样品的 HPLC 指纹图谱

Fig. 4 HPLC fingerprints of Yiguanjian samples

2.7 单因素考察

2.7.1 加水量 取全方饮片置于 5 L 圆底烧瓶中, 分别以料液比为 1:6、1:8、1:10、1:12、1:14、1:16 加纯化水浸泡 30 min 后加热回流提取 1 h, 测定地黄苷 D、甜菜碱、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 含量。由表 1 可知, 地黄苷 D、对香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 成分含量及出膏率随加水量增加呈上升趋势, 在 12 倍量后趋于平缓, 甜菜碱含量随加水倍量增加呈上升趋势, 超过 14 倍量后下降, 故选取 10、12、14 倍量 3 个水平进行响应面试验。

表 1 加水量对一贯煎提取工艺的影响

Table 1 Effects of water addition on extraction process of Yiguanjian

加水 量/倍	质量分数/(mg·g ⁻¹)						出膏 率/%
	地黄 苷 D	甜菜碱	对香 豆酸	毛蕊花 糖苷	洋川芎 内酯 I	阿魏酸	
6	0.665 4	2.879 9	0.077 2	0.152 2	0.257 2	0.544 6	34.44
8	0.781 8	3.291 6	0.089 1	0.133 8	0.302 3	0.540 9	38.31
10	0.788 8	3.533 3	0.087 5	0.137 1	0.292 8	0.621 3	41.35
12	1.018 3	3.675 6	0.097 0	0.147 1	0.302 3	0.665 0	42.90
14	0.846 0	3.903 6	0.088 5	0.082 9	0.300 0	0.584 0	43.97
16	0.996 0	3.822 1	0.094 5	0.132 7	0.317 3	0.607 2	46.33

2.7.2 提取时间 取全方饮片置于 5 L 圆底烧瓶中,加入 8 倍量纯化水浸泡 30 min,分别加热回流提取 30、50、70、90 min 后测定各个指标。由表 2 可知,地黄苷 D、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 含量随着提取时间的延长呈上升-平缓-下降趋势,甜菜碱、对香豆酸含量及出膏率随提取时间增

表 2 提取时间对一贯煎提取工艺的影响
Table 2 Effects of extraction time on extraction process of Yiguanjian

提取时 间/min	质量分数/(mg·g ⁻¹)						出膏 率/%
	地黄 苷 D	甜菜碱	对香 豆酸	毛蕊花 糖苷	洋川芎 内酯 I	阿魏酸	
30	0.719 0	3.253 4	0.044 8	0.055 9	0.247 9	0.516 6	34.42
50	0.762 3	3.223 6	0.052 3	0.129 5	0.277 1	0.572 2	37.38
70	0.800 1	3.273 7	0.106 0	0.128 3	0.295 5	0.665 7	39.41
90	0.779 1	3.277 9	0.116 5	0.110 6	0.264 1	0.607 9	40.97

加呈上升趋势,在 70 min 后趋于平缓,故选取 50、70、90 min 3 个水平进行响应面试验。

2.8 响应面试验设计

2.8.1 CQAs 和 CPPs 的确定 基于以上分析,以处方指标成分甜菜碱含量、地黄苷 D 含量、阿魏酸含量、出膏率、指纹图谱相似度、对香豆酸含量、毛蕊花糖苷含量、洋川芎内酯 I 含量为 CQAs^[14],加水量(X_1)、提取时间(X_2)和提取次数(X_3)作为 CPPs,依据经验将提取次数设计为 1、2、3 次 3 个水平进行响应面试验。前期基准物质研究中表明浸泡时间对指标成分无显著性差异,考虑生产中时间成本将浸泡时间定为 30 min。

2.8.2 Box-Behnken 试验设计及结果 利用 Design-Expert 13 软件安排 3 因素 3 水平的 17 次试验(中心点选择重复 5 次)。根据 Box-Behnken 试验设计方案进行实验,结果见表 3。

表 3 提取工艺响应面试验设计及结果
Table 3 Response surface test design and results of extraction process

试验编号	X_1 /倍	X_2 /min	X_3 /次	质量分数/(mg·g ⁻¹)						出膏率/%	指纹图谱 相似度	综合评分
				甜菜碱	地黄苷 D	阿魏酸	对香豆酸	毛蕊花糖苷	洋川芎内酯 I			
S1	12 (0)	90 (+1)	1 (-1)	3.679 6	0.895 6	0.643 3	0.093 8	0.115 1	0.301 1	45.51	0.926	0.848 9
S2	10 (-1)	70 (0)	1 (-1)	3.690 9	0.848 7	0.045 4	0.056 3	0.018 1	0.484 9	42.33	0.953	0.716 2
S3	12 (0)	50 (-1)	1 (-1)	3.623 1	0.883 0	0.515 7	0.020 8	0.111 2	0.272 8	42.16	0.981	0.811 1
S4	14 (+1)	70 (0)	1 (-1)	4.191 0	0.815 5	0.306 7	0.012 4	0.125 0	0.350 5	45.30	0.953	0.833 1
S5	10 (-1)	50 (-1)	2 (0)	3.688 0	1.044 9	0.389 2	0.013 8	0.167 6	0.439 5	54.66	0.883	0.820 3
S6	12 (0)	70 (0)	2 (0)	4.525 9	1.133 1	0.896 5	0.136 5	0.181 1	0.387 7	56.51	0.962	0.934 5
S7	12 (0)	70 (0)	2 (0)	4.464 4	1.095 6	0.941 2	0.142 8	0.191 3	0.426 6	56.64	0.985	0.932 8
S8	14 (+1)	50 (-1)	2 (0)	4.521 1	1.015 4	0.401 2	0.136 5	0.218 6	0.479 2	55.70	0.983	0.859 7
S9	14 (+1)	90 (+1)	2 (0)	4.230 5	1.113 8	1.275 9	0.266 7	0.194 4	0.429 9	58.13	0.962	0.885 7
S10	12 (0)	70 (0)	2 (0)	4.405 4	1.118 8	0.835 9	0.158 5	0.171 0	0.474 9	55.91	0.982	0.966 2
S11	12 (0)	70 (0)	2 (0)	4.312 5	1.128 9	0.846 7	0.154 7	0.234 7	0.418 0	56.45	0.971	0.972 6
S12	12 (0)	70 (0)	2 (0)	4.381 1	1.113 6	0.809 0	0.140 6	0.175 2	0.553 0	56.55	0.988	0.973 3
S13	10 (-1)	90 (+1)	2 (0)	4.220 7	1.114 7	0.520 4	0.063 5	0.255 6	0.454 9	56.53	0.929	0.923 0
S14	14 (+1)	70 (0)	3 (+1)	4.637 7	0.887 2	0.293 7	0.046 1	0.174 6	0.426 5	61.86	0.916	0.790 5
S15	12 (0)	50 (-1)	3 (+1)	4.748 5	0.888 4	0.528 6	0.019 6	0.181 0	0.454 3	60.09	0.901	0.827 7
S16	10 (-1)	70 (0)	3 (+1)	4.480 1	1.160 6	0.556 3	0.016 3	0.138 1	0.424 4	60.36	0.842	0.889 4
S17	12 (0)	90 (+1)	3 (+1)	4.546 1	1.030 8	0.460 9	0.026 0	0.088 2	0.496 0	62.13	0.882	0.854 2
基准样品				4.253 5	1.118 9	0.807 3	0.176 0	0.193 2	0.425 1	51.38	1.000	

2.9 化学计量学研究

2.9.1 层次聚类分析(hierachical cluster analysis, HCA) 采用 SPSS 26.0 软件,以各成分含量为变量,以平方欧氏距离为测度进行分析,结果见图 5。

由此可知,当欧氏距离为 15 时,响应面试验设计所得溶液聚为 2 类,提取液 S1~S3、S5 为一类,其余为另一类;当欧氏距离为 10 时,17 种溶液聚为 3 类,提取液 S1~S3、S5 为第 1 类,提取液 S4、S8、

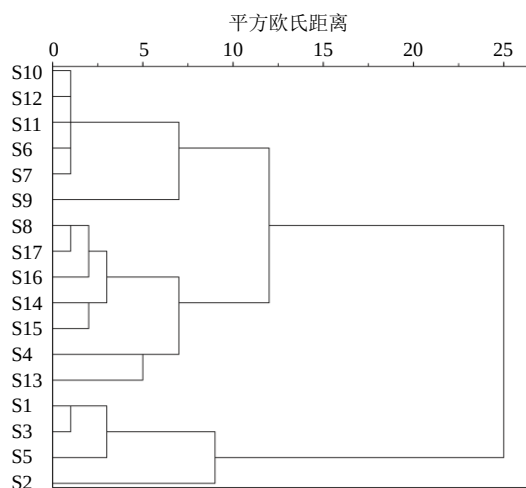


图 5 响应面试验设计所得溶液 HCA 图

Fig. 5 HCA plot for solutions obtained by response surface test design

S13~S17 为第 2 类, 提取液 S6、S7、S9~S12 为第 3 类。

2.9.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 采用 SIMCA 14.1 软件, 以各成分含量为变量进行分析, 结果见图 6。其中主成分 1 方差贡献率达 54.6%, 前 3 个主成分累积贡献率为 89.9%, 可将前 3 个成分即甜菜碱、阿魏酸、地黄苷 D 定为关键主成分; 17 批提取液均在置信椭圆内, 且分布相对集中, 说明各批次样品有较好的质量一致性, 响应面试验设计所得溶液聚为 3 类, 与“2.9.1”项下结果一致。

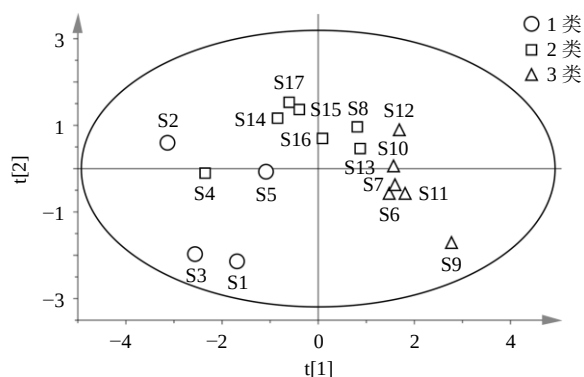


图 6 响应面试验设计所得溶液 PCA 得分图

Fig. 6 PCA score scatter plot for solutions obtained by response surface test design

2.9.3 偏最小二乘-判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) 采用 SIMCA 14.1 软件, 对各成分含量进行分析, 结果见图 7, 可知响应面试验设计所得溶液聚为 3 类, 与上述构建的模型结果一致。变量投影重要性 (variable importance

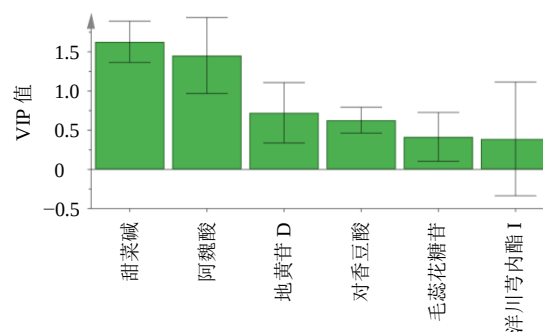


图 7 各成分含量 VIP 值

Fig. 7 VIP values of various constituent contents

in projection, VIP) 值越大, 对模型的贡献值就越大, 以 $VIP > 1$ 为标准筛选差异组分, 可知有 2 种成分符合要求, VIP 值由高到低依次为甜菜碱、阿魏酸, 主要来源于一贯煎臣药枸杞子、当归, 表明这 2 种饮片质量对全方制剂质量研究的影响较大。

2.10 改进 AHP-熵权-基准样品关联度^[15-16]

2.10.1 改进 AHP 计算评价指标主观权重 (W) 方中重用生地黄已达滋阴养血功效, 臣药枸杞子益阴养肝, 当归性温味甘辛, 养血活血以调肝, 诸药合用有滋阴疏肝之效。依据化学计量学分析及君臣佐使原则, 将方中药效成分甜菜碱 (A1)、阿魏酸 (A2)、地黄苷 D (A3) 定为评价指标^[17], 指纹图谱相似度 (A4) 作为定性标准, 可反映提取液间差异性, 但指标成分含量衡量其质量更为重要, 通过实验结果也可以发现各个水平的出膏率 (A5) 及指纹图谱相似度差异不明显, 故 5 个评价指标的优先顺序为甜菜碱 > 阿魏酸 > 地黄苷 D > 指纹图谱相似度 = 出膏率, 构成优先判断矩阵, 结果见表 4、5。表 6 为 1~9 标度法、 $e^{0/4} \sim e^{8/4}$ 标度法计算出的各指标成分权重及改进后组合权重 (W), 见计算公式 (3)。

$$W = (W_1 + W_2) / 2 \quad (3)$$

2.10.2 熵权法计算评价指标客观权重 (W⁰)

(1) 标准化处理试验中指标成分、出膏率、指纹图谱相似度等指标, 其数值越大越好, 均为正向

表 4 1~9 标度下指标成对比较的判断优先矩阵

Table 4 Decision matrix of paired comparison of indexes on scale 1—9

评价指标	A1	A2	A3	A4	A5
A1	1	4	5	6	6
A2	1/4	1	3	4	4
A3	1/5	1/3	1	2	2
A4	1/6	1/4	1/2	1	1
A5	1/6	1/4	1/2	1	1

表 5 $e^{0/4} \sim e^{8/4}$ 标度下指标成对比较的判断优先矩阵
Table 5 Decision matrix of paired comparison of indexes on scale $e^{0/4} \sim e^{8/4}$

评价指标	A1	A2	A3	A4	A5
A1	1	2.117	2.718	3.490	3.490
A2	1/2.117	1	1.649	2.117	2.117
A3	1/2.718	1/1.649	1	1.284	1.284
A4	1/3.490	1/2.117	1/1.284	1	1
A5	1/3.490	1/2.117	1/1.284	1	1

表 6 改进 AHP 评估指标权重

Table 6 Improved AHP evaluation index weight

评价指标	1~9 标度法	$e^{0/4} \sim e^{8/4}$ 标度法	改进后权重
W _{A1}	0.520 7	0.409 1	0.464 9
W _{A2}	0.236 6	0.187 4	0.212 0
W _{A3}	0.111 0	0.180 6	0.145 8
W _{A4}	0.065 8	0.115 7	0.090 8
W _{A5}	0.065 8	0.115 7	0.090 8

指标。按公式 (4) 计算^[18]，式中 x_{ij} 为 i 次试验中 j 指标试验值， m_i 为该组试验值中的最小值， M_i 为该组试验值中的最大值。

$$X_{ij} = (x_{ij} - m_i) / (M_i - m_i) \quad (4)$$

(2) 根据信息熵的定义，计算各个指标的信息熵为 E_1 、 E_2 、 $\dots$ 、 E_5 ，通过信息熵 E_j 计算各指标的熵权 W^0 。

$$W^0 = (1 - E_j) / \sum_{j=1}^n (1 - E_j) \quad (5)$$

基于改进 AHP-熵权法计算组合权重系数，按公式 (6) 计算，结果见表 7。

$$W^* = W_j \times W_j^0 / \sum_{j=1}^n W_j \times W_j^0 \quad (6)$$

2.10.3 基准样品关联度 以基准样品作为提取工艺优化的依据，对制剂进行整体质量控制^[19]，将响应面试验设计的 17 个样品与基准样品进行关联度比较，按公式 (7) 计算样品与基准样品的相对偏差，

表 7 组合权重系数

Table 7 Combination weight coefficient

评价指标	W	W ⁰	W [*]
A1	0.464 9	0.247 2	0.530 3
A2	0.212 0	0.170 6	0.166 8
A3	0.145 8	0.232 3	0.156 3
A4	0.090 8	0.213 6	0.089 5
A5	0.090 8	0.136 3	0.057 1

偏差值越小表明样品的质量属性越接近于基准样品，公式 (8) 计算基准样品关联度，式中 x_{ij} 为第 i 个评价对象第 j 个评价指标， s_j 为基准样品第 j 个评价指标。设矩阵 $X = (x_{ij})_{m \times n}$ ($i = 1, 2, \dots, m$; $j = 1, 2, \dots, n$) 为由 m 个被评估对象， n 个评价指标构成的原始数据矩阵。对数据进行与基准样品的相对偏差处理得到 $R = (r_{ij})_{m \times n}$ 矩阵，对 R 矩阵进行基准样品关联度计算处理。

$$r_{ij} = |x_{ij} - s_j| / s_j \quad (7)$$

$$SR_{ij} = 1 - r_{ij} \quad (8)$$

2.10.4 综合评分 用改进 AHP-熵权法所得组合权重系数与基准样品关联度对结果进行综合评分，按公式 (9) 计算，结果见表 3。

$$\text{综合评分} = \sum_{j=1}^n SR_{ij} \times W_j^* \quad (9)$$

2.11 响应面结果分析及工艺验证

利用 Design-Expert 13 软件对改进 AHP-熵权-基准样品关联度综合评分结果进行工艺参数优化，得到各个评价指标对 3 个 CPPs 的二次多元试验模型，其回归方程 $Y = 0.955\ 9 + 0.002\ 5\ X_1 + 0.024\ 1\ X_2 + 0.019\ 1\ X_3 - 0.054\ 0\ X_1X_3 - 0.019\ 2\ X_1X_2 - 0.002\ 8\ X_2X_3 - 0.055\ 9\ X_1^2 - 0.027\ 8\ X_2^2 - 0.092\ 6\ X_3^2$ 。对试验模型进行方差分析，结果见表 8。2 次多元模型 $P < 0.001$ ，失拟项 $P = 0.320\ 7 > 0.05$ ，说明该试验拟合的模型有统计学意义，其中煎煮时间对综合评分有

表 8 响应面二次多元回归模型的方差分析

Table 8 Variance analysis of response surface quadratic multiple regression model

差异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.078 0	9	0.008 7	16.370	0.000 7
X_1	0.000 1	1	0.000 1	0.095	0.766 4
X_2	0.004 7	1	0.004 7	8.790	0.020 9
X_3	0.002 9	1	0.002 9	5.490	0.051 6
X_1X_2	0.001 5	1	0.001 5	2.780	0.139 5
X_1X_3	0.011 6	1	0.011 6	21.990	0.002 2
X_2X_3	0.000 0	1	0.000 0	0.060	0.813 1
X_1^2	0.013 2	1	0.013 2	24.890	0.001 6
X_2^2	0.003 2	1	0.003 2	6.130	0.042 5
X_3^2	0.036 1	1	0.036 1	68.250	<0.000 1
残差	0.003 7	7	0.000 5		
失拟项	0.002 0	3	0.000 7	1.610	0.320 7
纯误差	0.001 7	4	0.000 4		
总误差	0.081 7	16			

显著性影响，加水量和提取次数交互作用显著。该模型的相关系数大于 0.9，表明其可以用来分析和预测一贯煎提取工艺参数，对模型方程进行响应面分析，得到等高线图及响应面图，结果见图 8。

软件预测的最佳提取工艺为加 12 倍量水，提取时间 80 min，提取次数 2 次，理论预测评分 0.963，

3 批工艺验证的平均综合评分（表 9）为 0.957 3，RSD 为 0.42%，说明预测的提取工艺与工艺验证的结果有良好的相关性。

3 批次工艺验证样品指标成分含量转移率等 5 个定性、定量指标 RSD 值均小于 3%，证实试验模型预测的提取工艺稳定、可行。

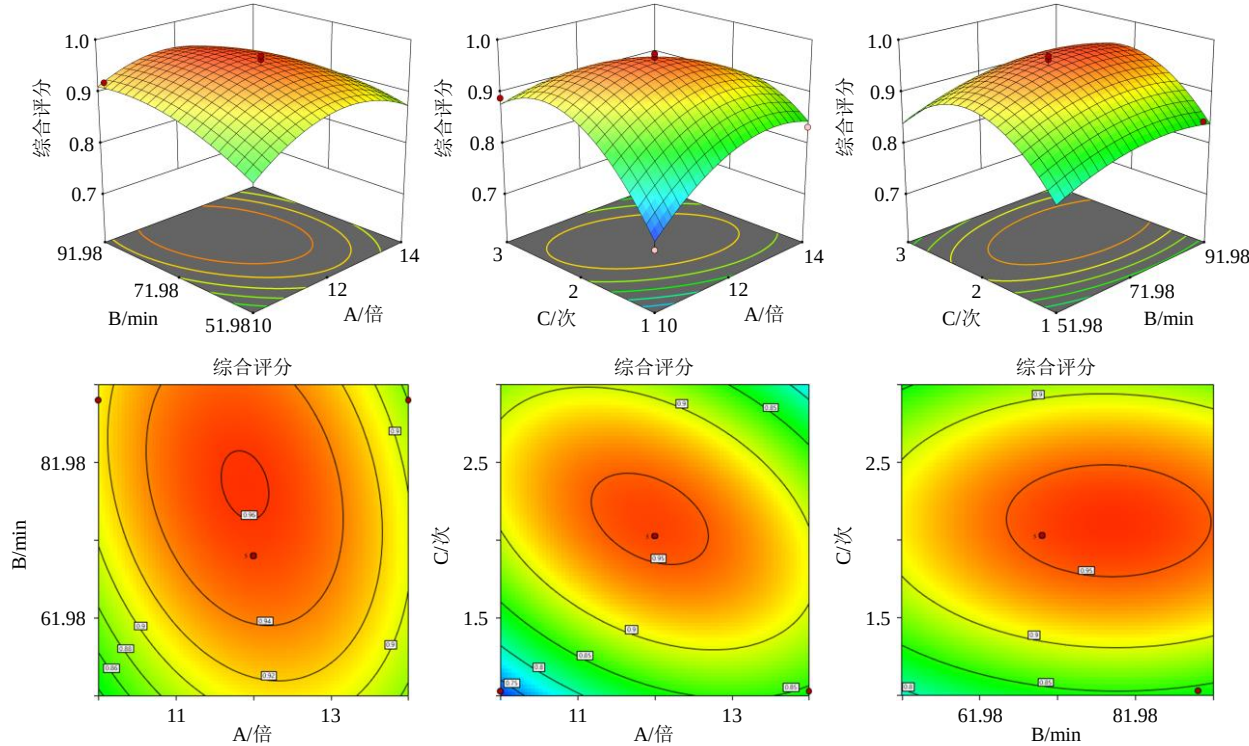


图 8 各因素对综合评分的影响

Fig. 8 Influence of each factor on comprehensive score

表 9 工艺验证试验结果

Table 9 Results of process verification experiments						
工艺验证	质量分数/(mg·g ⁻¹)			出膏率/%	指纹图谱相似度	综合评分
	地黄苷 D	阿魏酸	甜菜碱			
1	4.19	1.09	0.75	56.31	0.985	0.965 0
2	4.50	1.11	0.78	56.35	0.981	0.952 2
3	4.51	1.08	0.81	55.55	0.987	0.954 7
基准样品	4.25	1.12	0.81	51.38	1.000	1.000 0

3 讨论

经典名方工业化的提取工艺参数优化以与物质基准质量属性一致为目标^[20]，但在实际工业生产中考虑到设备适配性，可行性、时间成本等因素很难与物质基准的制备工艺一致，现代工艺与传统工艺产品存在一定差异性^[21]，因此遵循古方而又保障药品质量与物质基准基本一致至关重要。在提取工艺方面有文献报道^[22]，加 10 倍量水进行煎煮，本研究

加水量单因素考察中 12 倍量水煎煮所得药液的各个指标明显均高于 10 倍量水。胡钰荧等^[23]用各个指标的综合评分对煎煮工艺进行单因素考察，提取方式为砂锅煎煮，其煎煮时间参照《医疗机构中药煎药室管理规范》定为 60 min，本实验结合单因素考察情况加以优化，为适应现代化大生产，采用了加热回流方式提取，响应面预测的提取时间 80 min 与前期砂锅煎煮所得的基准样品质量一致，且评价指标的综合评分为最优，在遵古而不泥古的原则下，基于现代设计手段的提取工艺研究也可用于指导一贯煎制剂的逐步放大生产。

本研究基于改进 AHP-熵权-基准样品关联度的方法建立一贯煎提取工艺评估模型，以指标成分地黄苷 D、阿魏酸、甜菜碱含量对提取工艺进行评价，能够快速、准确筛选 CPPs，也可应用于制剂生产过程中各个环节的质量评价^[24]，精准有效地实现全过程质量监控，以出膏率评价全方质量，指纹图谱相

似度作为定性指标, 保证制剂持续生产安全有效。改进 AHP 法在较好的标度保序性及一致性的同时提高计算精度^[25], 综合评分法将熵权法客观赋权与改进 AHP 主观赋权相结合, 可用于后期浓缩、干燥工艺考察中 CPPs 的确定, 更具有科学合理性。方中重用君药生地黄的达滋阴养血功效, 臣药枸杞子益阴养肝, 当归养血活血以调肝。常以水煎剂入药的地黄中 2 大类主要的水溶性成分为环烯醚萜类和苯乙醇类, 能够抑制肝脏促炎因子诱导的肝细胞凋亡, 具有肝脏保护作用^[26-27], 前期实验研究发现地黄饮片中由于梓醇结构的不稳定性致使含量批间差异性大, 无法较好地从头把控全方质量, 毛蕊花糖苷抑制炎症相关因子及蛋白表达, 具有肝保护作用^[28], 地黄苷 D 和毛蕊花糖苷含量高且有较强的专属性。

现代药理学研究表明, 枸杞子中甜菜碱能够刺激肝脏脂肪氧化, 改善线粒体功能, 抑制肝纤维化, 对香豆酸能够抑制抗氧化活性, 防止肝、肾毒性, 从而起到保护肝脏的作用^[29-32]。当归中主要活性成分阿魏酸、洋川芎内酯 I 均能够抑制肝内炎症, 抑制活性氧类和脂质过氧化形成, 减少肝脏脂肪沉积, 有一定的肝脏保护作用^[33-35]。本研究选取君臣药味中药效成分甜菜碱、地黄苷 D、香豆酸、阿魏酸、毛蕊花糖苷、洋川芎内酯 I 作为考察指标, 后期将展开佐使药川楝子中川楝素含量测定研究。参照中国药典甜菜碱采用氨基键合硅胶为填充剂的色谱柱进行含量测定, 地黄苷 D 极性大, 采用对强极性化合物强保留型色谱柱可以改善分离度, 故本研究采用 3 个含量测定方法进行质量控制。本研究所得的提取工艺符合现代生产工艺条件, 同时与物质基准的质量基本一致, 可为一贯煎现代工艺大生产提供实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家中医药管理局. 关于发布《古代经典名方关键信息表(7 首方剂)》的通知 [EB/OL]. (2020-11-10) [2023-07-31] <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/zhengcewenjian/2020-11-10/18132.html>.
- [2] 清·魏之琇编. 黄汉儒等点校. 续名医类案 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 602.
- [3] 徐丽伟, 邓小静, 朱立德, 等. 一贯煎从肝论治肺癌的研究进展 [J]. 长春中医药大学学报, 2022, 38(1): 114-117.
- [4] 公培强, 池晓玲, 蒋元烨. 一贯煎在肝胆病中的运用 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(1): 165-169.
- [5] 徐虹. 一贯煎在妇科临证中的应用 [J]. 光明中医, 2013, 28(7): 1446-1447.
- [6] 刘淑兰. 一贯煎治疗妇科病举隅 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(12): 3177-3178.
- [7] 陈浩, 宋菊, 杨平, 等. 《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则(试行)》简介 [J]. 中国食品药品监管, 2021(9): 78-87.
- [8] 孙昱. 质量源于设计的中药研发关注点 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(19): 2383-2386.
- [9] 杨莎莎, 林夏, 黄友, 等. 经典名方关键质量属性及影响因素分析 [J]. 中草药, 2023, 54(4): 1274-1284.
- [10] 翟芸, 胡冰, 施端阳. 基于改进 AHP-熵权法的雷达装备可靠性评估指标赋权方法 [J]. 现代防御技术, 2022, 50(4): 148-155.
- [11] 袁诗农, 王少男, 段绪红, 等. 基于 AHP-CRITIC 复合熵权法和响应面法的蛇床子盐炙工艺优选 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(2): 345-350.
- [12] 田瀚举, 张维方, 贾豪, 等. 经典名方一贯煎汤剂指标成分含量测定及量值传递分析 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(1): 113-118.
- [13] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 129.
- [14] 胡钰荧, 陈丽, 李淑萍, 等. 经典名方一贯煎的历史沿革、现代研究进展和质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(23): 7585-7595.
- [15] 代珊, 李帅, 张爱军, 等. 基于基准关联度和 AHP-熵权法综合评价经典名方小续命汤古今提取工艺 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 726-734.
- [16] 宫静雯, 季德, 徐瑞杰, 等. 基于 AHP-熵权法优选黑顺片炮制工艺及生物碱类成分动态变化研究 [J]. 中草药, 2022, 53(24): 7686-7695.
- [17] 宋艳梅, 张启立, 崔治家, 等. 枸杞子化学成分和药理作用的研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 华西药理学杂志, 2022, 37(2): 206-213.
- [18] 张永利, 计文平, 刘楠楠. 基于熵权-TOPSIS-灰色关联的目标威胁评估研究 [J]. 现代防御技术, 2016, 44(1): 72-78.
- [19] 杨立伟, 王海南, 耿莲, 等. 基于标准汤剂的中药整体质量控制模式探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8): 1-6.
- [20] 刘艳, 章军, 陈士林, 等. 经典名方复方制剂研发策略 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(24): 166-172.
- [21] 高喜梅, 贾萌, 赵晓莉, 等. 经典名方传统制法向现代生产工艺转化关键问题探索 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(5): 601-605.
- [22] 杨福燕, 许如玲, 钮炜, 等. 经典名方一贯煎标准煎液 UPLC-Q-TOF-MS 化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(8): 2134-2147.

- [23] 胡钰莹, 李淑萍, 热依木古丽·阿布都拉, 等. 基于指纹图谱和 4 种指标成分的经典名方一贯煎基准样品量值传递分析 [J]. 中草药, 2023, 54(18): 5880-5891.
- [24] 徐男, 王平, 王淑玲, 等. 基于 UPLC 特征图谱和 Q-Marker 量值传递评价经典名方半夏白术天麻汤颗粒剂的关键生产工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7455-7463.
- [25] 骆正清, 杨善林. 层次分析法中几种标度的比较 [J]. 系统工程理论与实践, 2004, 24(9): 51-60.
- [26] Liu Y F, Liang D, Luo H, *et al.* Hepatoprotective iridoid glycosides from the roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(9): 1625-1631.
- [27] Liu Y M, Zhu L L, Li R, *et al.* Xijiao Dihuang Decoction (犀角地黄汤) and *Rehmannia glutinosa* Libosch. protect mice against lipopolysaccharide and tumor necrosis factor alpha-induced acute liver failure [J]. *Chin J Integr Med*, 2019, 25(6): 446-453.
- [28] Abo-Qotb S M S, Hassanein A M M, Desoukey S Y, *et al.* *In vivo* anti-inflammatory and hepatoprotective activities of *Orobancha crenata* (Forssk.) aerial parts in relation to its phytomolecules [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(4): 1067-1072.
- [29] Abu Ahmad N, Raizman M, Weizmann N, *et al.* Betaine attenuates pathology by stimulating lipid oxidation in liver and regulating phospholipid metabolism in brain of methionine-choline-deficient rats [J]. *FASEB J*, 2019, 33(8): 9334-9349.
- [30] Ekinci Akdemir F N, Albayrak M, Çalik M, *et al.* The protective effects of *p*-coumaric acid on acute liver and kidney damages induced by cisplatin [J]. *Biomedicines*, 2017, 5(2): 18.
- [31] Lima L C, Buss G D, Ishii-Iwamoto E L, *et al.* Metabolic effects of *p*-coumaric acid in the perfused rat liver [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2006, 20(1): 18-26.
- [32] Kim S K, Seo J M, Chae Y R, *et al.* Alleviation of dimethylnitrosamine-induced liver injury and fibrosis by betaine supplementation in rats [J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 177(3): 204-211.
- [33] Qi H Y, Siu S O, Chen Y, *et al.* Senkyunolides reduce hydrogen peroxide-induced oxidative damage in human liver HepG2 cells via induction of heme oxygenase-1 [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 183(3): 380-389.
- [34] Niu C W, Sheng Y C, Zhu E Y, *et al.* Ferulic acid prevents liver injury induced by diosbulbin B and its mechanism [J]. *Biosci Trends*, 2016, 10(5): 386-391.
- [35] Wu J Z, Xue X Y, Fan G F, *et al.* Ferulic acid ameliorates hepatic inflammation and fibrotic liver injury by inhibiting PTP1B activity and subsequent promoting AMPK phosphorylation [J]. *Front Pharmacol*, 2021, doi: 10.3389/FPHAR.2021.754976.

[责任编辑 郑礼胜]