

基于 UPLC 四神丸方中 19 种有效成分定量测定以及提取工艺优化研究

杨秋琛^{1,2}, 张琼琼², 王桂群³, 代丽萍^{1,2}, 李玲玲², 崔瑛^{2*}, 刘雅琳^{1,2*}

1. 河南中医药大学 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

3. 河南中医药大学中医药科学院, 河南 郑州 450046

摘要: **目的** 建立四神丸方(汤剂) 19种成分同时定量分析的 UPLC 法, 并对其提取工艺进行优化。**方法** 采用 Accucore RP-MS C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 2.6 μm), 乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱, 检测波长 245 nm, 建立 19 种成分的含量测定方法。以层次分析法获得的综合评分为评价指标, 进行 Box-Behnken 设计-响应面实验, 并对得到的最优提取工艺进行验证。**结果** 建立了四神丸方(汤剂) 中 19 种成分的 UPLC 含量测定方法, 方法学考察结果均符合要求。四神丸方(汤剂) 最佳提取工艺为加水 14 倍量, 浸泡 30 min, 提取 3 次, 每次 48 min。**结论** 建立的含量测定方法准确可靠, 为该制剂质量控制和药效物质基础研究提供参考。优化的提取工艺合理可行, 为四神丸方(汤剂) 工业生产提供依据。

关键词: 四神丸方(汤剂); 超高效液相色谱法; 含量测定; 提取工艺; 层次分析法; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)11-3679-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.11.011

Quantitative determination of 19 active components and optimization of extraction technology of Sishen Pills based on UPLC

YANG Qiuchen^{1,2}, ZHANG Qiongqiong², WANG Guiqun³, DAI Liping^{1,2}, LI Lingling², CUI Ying², LIU Yalin^{1,2}

1. Henan Collaborative Innovation Center for Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu-Yao, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective A UPLC method for simultaneous quantitative analysis of 19 components in Sishen Pills (decoction, 四神丸方) was established, and its extraction technology was optimized. **Methods** The chromatography was performed on Accucore RP-MS C₁₈ column (150 mm × 2.1 mm, 2.6 μm) with gradient elution of acetonitrile-0.1% formic acid aqueous solution as mobile phase at 245 nm. A method for the determination of 19 components was established. The Box-Behnken design-response surface test was carried out with the comprehensive score obtained by the analytic hierarchy process as the evaluation index, and the optimal extraction process was verified. **Results** A method for the determination of UPLC content of 19 components in Sishen Pills (decoction) was established. The results of methodology examination met the requirements. The optimal extraction process of Sishen Pills (decoction) was as follows: adding 14 times of water, soaking for 30 min, extracting three times, 48 min each time. **Conclusion** The method of content determination established in this study is accurate and reliable, which can provide reference for the quality control and the basic research of the pharmacodynamic substances of this preparation. The optimized extraction process is reasonable and feasible, which provides a basis for industrial production of Sishen Pills (decoction).

Key words: Sishen Pills (decoction); ultra high performance liquid chromatography; content determination; extraction technology; analytic hierarchy process; Box-Behnken response surface methodology

收稿日期: 2023-12-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82204639); 河南省重点研发与推广专项(212102311090)

作者简介: 杨秋琛, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药分析与质量评价。E-mail: 1599202171@qq.com

崔瑛, 男, 教授, 博士, 从事中药药性及中药抗焦虑研究。E-mail: cyexin@126.com

*通信作者: 刘雅琳, 男, 副教授, 博士, 从事药物分析与中药复方研究。E-mail: liuyalin_1984@163.com

四神丸方 (Sishen Pills) 收载于《证治准绳》, 是治疗脾肾阳虚之肾泄证 (五更泻) 的经典方剂^[1], 临床常用剂型包括丸剂和汤剂^[2]。最新研究发现, 四神丸方 (丸剂) 可以治疗和预防抑郁症^[3]。本课题组前期试验证明四神丸方 (汤剂) 具有治疗抑郁症合并肠易激综合征的新功效, 开发潜力巨大。既往研究多采用 HPLC 法对四神丸方进行定量分析^[4-8], 但测定成分过少, 无法有效地评价制剂整体质量。有研究^[9-10]使用气-质或液-质联用法, 但检测成本过高、操作复杂。尚未有研究使用 UPLC 法对其成分进行定量分析。此外, 现有分析研究剂型均为丸剂, 尚未对汤剂的物质基础进行研究。因此, 本研究建立 UPLC 法同时测定四神丸方 (汤剂) 中分属于 4 味主药材的 19 种有效成分含量的分析方法, 为其质量控制提供参考, 也为进一步阐明其抗抑郁药效物质基础及作用机制提供条件。此外,《中国药典》2020 年版仅规定四神丸方 (丸剂) 制备工艺^[11], 无法保证汤剂临床使用的剂量准确和疗效一致^[12]。因此, 本研究对四神丸方 (汤剂) 最佳提取工艺进行考察。研究利用层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP) 将中药复方配伍原则与比较各指标含量高低相结合^[13], 以综合评分为响应值进行的 Box-Behnken 设计 (BBD) - 响应面试验, 不仅比传统的正交试验精度更高, 而且综合考虑多个质控指标, 充分体现中药复方整体性的特点。

1 仪器与材料

1.1 仪器

KQ-500DE 型数控超声波清洗器, 昆山超声仪器有限公司; Vanquish UPLC 型超高效液相色谱仪、Accucore RP-MS C₁₈ 色谱柱 (150 mm×2.1 mm, 2.6 μm), 美国 Thermo 公司; BT25S 型十万分之一电子天平, 德国 Sartorius 公司; N-1300 型旋转蒸发器、FDU-1200 型冷冻干燥机, 上海爱朗仪器有限公司; CV200 型真空离心浓缩仪, 北京吉艾姆科技有限公司。

1.2 药物与试剂

对照品去氢吴茱萸碱 (CAS 编号 67909-49-3, 批号 D22GB172079)、补骨脂素 (CAS 编号 66-97-7, 批号 O13HB197804)、异补骨脂素 (CAS 编号 523-50-2, 批号 Y14O11H127487)、五味子醇甲 (CAS 编号 7432-28-2, 批号 S22HB195301)、新补骨脂异黄酮 (CAS 编号 41060-15-5, 批号 A08IB192226)、吴茱萸碱 (CAS 编号 518-17-2, 批号 J31GB156574)、

吴茱萸次碱 (CAS 编号 84-26-4, 批号 C10J6Y1)、去氢二异丁香酚 (CAS 编号 2680-81-1, 批号 M14GB140942)、补骨脂甲素 (CAS 编号 19879-32-4, 批号 C20N11G131680)、五味子醇乙 (CAS 编号 58546-54-6, 批号 M19GB142295)、补骨脂定 (CAS 编号 18642-23-4, 批号 Y06J9S65151)、五味子甲素 (CAS 编号 61281-38-7, 批号 J10GB151096)、补骨脂酚 (CAS 编号 10309-37-2, 批号 J07GB153809)、五味子乙素 (CAS 编号 61281-37-6, 批号 G24F12L139925), 质量分数均 ≥ 98%; 对照品补骨脂二氢黄酮甲醚 (CAS 编号 19879-30-2, 批号 M22HB178906), 质量分数 ≥ 99%, 购于上海源叶生物科技有限公司; 对照品补骨脂苷 (CAS 编号 905954-17-8, 批号 DSTDB013302)、异补骨脂苷 (CAS 编号 905954-18-9, 批号 DSTDY026002)、欧前胡素 (CAS 编号 482-44-0, 批号 DST200624-003)、补骨脂乙素 (CAS 编号 20784-50-3, 批号 DSTDB009701), 质量分数均 ≥ 98%, 均购于成都德思特生物技术有限公司。甲醇、乙腈, 色谱纯, 美国 Fisher Scientific 公司; 甲酸, 色谱纯, 上海阿拉丁生物化学科技公司; 纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司。

1.3 药材饮片

补骨脂 (盐炒, 批号 21912711)、肉豆蔻 (煨, 批号 23020412)、吴茱萸 (制, 批号 22031316)、五味子 (醋制, 批号 22060503)、大枣 (去核, 批号 20219108) 均购自北京同仁堂郑州药店; 生姜购自郑州丹尼斯超市。经河南中医药大学代丽萍教授鉴定分别为豆科补骨脂属植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实、肉豆蔻科肉豆蔻属植物肉豆蔻 *Myristica fragrans* Houtt. 的干燥种仁、芸香科吴茱萸属植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实、木兰科五味子属植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实、鼠李科枣属植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实、姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎, 均符合《中国药典》2020 年版饮片标准。

2 方法与结果

2.1 四神丸方 (汤剂) 中 19 种成分含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Accucore RP-MS C₁₈ 柱 (150 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相为乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱: 0~11 min, 10%~15% 乙

睛; 11~19 min, 15%~22%乙腈; 19~20 min, 22%~34%乙腈; 20~25 min, 34%~38%乙腈; 25~30 min, 38%~45%乙腈; 30~31 min, 45%~50%乙腈; 31~36 min, 50%~58%乙腈; 36~39 min, 58%~66%乙腈; 39~43.5 min, 66%~80%乙腈; 体积流量为 0.3 mL/min; 检测波长 245 nm; 柱温 30 °C; 进样室温度 4 °C; 进样量 5 μ L。

2.1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取“1.2”项下 19 种对照品适量, 分别置于量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 制备各对照品储备液。分别精密吸上述各对照品储备液适量, 置于 2 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 制成混合对照品溶液, 其中 19 种对照品的质量浓度分别为补骨脂昔 23.92 μ g/mL、异补骨脂昔 29.03 μ g/mL、去氢吴茱萸碱 19.55 μ g/mL、补骨脂素 15.76 μ g/mL、异补骨脂素 17.88 μ g/mL、五味子醇甲 20.57 μ g/mL、新补骨脂异黄酮 17.23 μ g/mL、吴茱萸碱 15.08 μ g/mL、吴茱萸次碱 14.74 μ g/mL、补骨脂甲素 47.53 μ g/mL、五味子醇乙 19.93 μ g/mL、欧前胡素 32.27 μ g/mL、补骨脂定 17.26 μ g/mL、补骨脂乙素 45.37 μ g/mL、补骨脂二氢黄酮甲醚 19.62 μ g/mL、去氢二异丁香酚 19.25 μ g/mL、五味子甲素 18.84 μ g/mL、五味子乙素 20.75 μ g/mL、补骨脂酚 6.40 μ g/mL。

2.1.3 四神丸方(汤剂)冻干粉样品的制备 精密称取药材饮片补骨脂(盐炒) 40 g、肉豆蔻(煨) 20 g、吴茱萸(制) 10 g、五味子(醋制) 20 g、大枣(去核) 20 g、生姜 20 g。将以上 6 味药材置于 2 L 圆底烧瓶中, 加 8 倍量超纯水浸泡 30 min 后, 加热回流提取 2 次, 每次 40 min, 提取液趁热滤过, 2 次滤液合并后 50 °C 减压浓缩。将浓缩液装于蒸发皿中-80 °C 预冻, 后转移至冷冻干燥机中, 冻干后即得四神丸方(汤剂)冻干粉样品。

2.1.4 供试品溶液的制备 将四神丸方(汤剂)冻干粉样品研磨均匀, 精密称取 100 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇水溶液溶解, 并定容至刻度线, 超声(功率 250 W、频率 40 kHz)提取 10 min, 以 12 000 \times g 离心(4 °C) 10 min 后取上清, 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得 20 mg/mL 的供试品溶液。

2.1.5 阴性对照样品溶液的制备 按“2.1.3”项下方法, 分别制备缺少补骨脂、肉豆蔻、吴茱萸、五味子的阴性对照样品, 再按照“2.1.4”项下方法分别制备各阴性对照品溶液。

2.1.6 专属性考察 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液、“2.1.4”项下供试品溶液、“2.1.5”项下各阴性对照样品溶液 5 μ L, 按照“2.1.1”项下色谱条件测定。结果供试品溶液在与对照品溶液色谱峰相应的位置有相同的色谱峰; 阴性对照样品溶液在与对照品溶液色谱峰相应的位置均无色谱峰。说明其他药味不干扰测定, 该方法专属性良好, 色谱图见图 1。

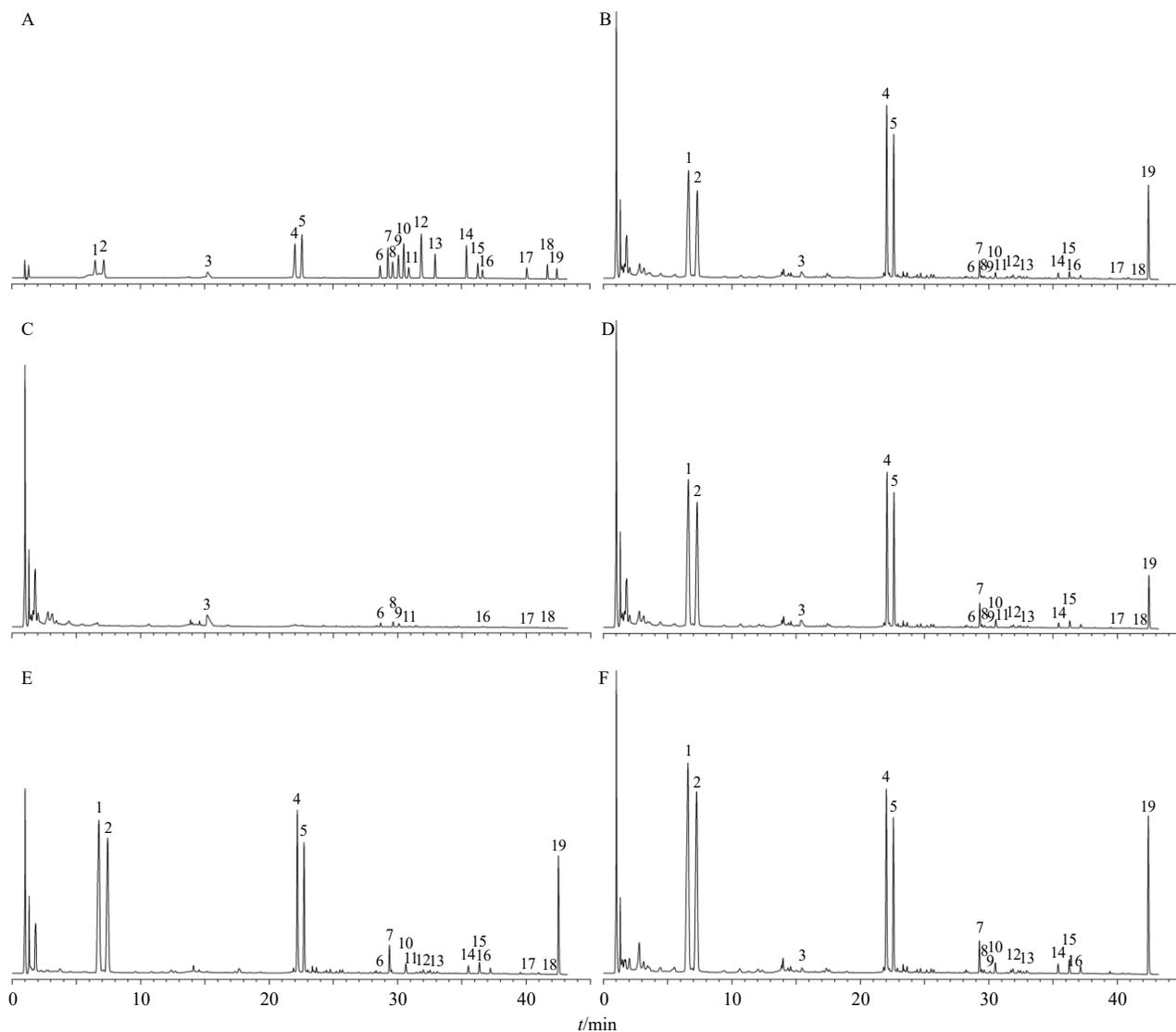
2.1.7 线性关系考察 分别精密吸取一定量的“2.1.2”项下 19 种对照品储备液于量瓶中, 按“倍比稀释法”加甲醇制备 6 个不同质量浓度的系列混合对照品溶液, 按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 以对照品质量浓度为横坐标(X), 相应峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得到 19 种成分的回归方程、相关系数(r)和线性范围, 结果见表 1。19 种成分在相应范围内线性关系良好($r \geq 0.998 8$)。

2.1.8 精密度考察 日内精密度: 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液 5 μ L, 按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录 19 种成分的峰面积, 分别计算 RSD 值。日间精密度: 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液 5 μ L, 按“2.1.1”项下色谱条件, 每天进样测定 2 次, 连续测定 3 d, 记录 19 种成分的峰面积, 分别计算其 RSD 值, 结果见表 1。19 种成分日内精密度的峰面积 RSD 值均 \leq 1.5%, 日间精密度的峰面积 RSD 值均 \leq 2%, 结果表明仪器精密度良好。

2.1.9 重复性考察 按照“2.1.3”项下方法制备四神丸方(汤剂)冻干粉样品, 按照“2.1.4”项下方法重复制备 6 份供试品溶液, 然后按“2.1.1”项下色谱条件进行测定, 记录 19 种成分的峰面积, 分别计算其 RSD 值, 结果见表 1。19 种成分的峰面积 RSD 值均小于 2%, 表明样品处理方法重复性良好。

2.1.10 稳定性考察 取“2.1.9”项下制备的四神丸方(汤剂)冻干粉样品, 按照“2.1.4”项下方法制备 1 份供试品溶液, 存放于 4 °C 进样盘内, 分别于配制后的 0、4、8、12、16、24 h, 按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定, 记录 19 种成分的峰面积, 分别计算其 RSD 值, 结果见表 1。19 种成分的峰面积 RSD 值均 $<$ 2%, 表明供试品溶液在 24 h 内具有良好的稳定性。

2.1.11 加样回收率考察 取 6 份“2.1.9”项下制备的含量已知的四神丸方(汤剂)冻干粉样品, 分别精密量取“2.1.2”项下 19 种对照品溶液适量加入其



1-补骨脂苷; 2-异补骨脂苷; 3-去氢吴茱萸碱; 4-补骨脂素; 5-异补骨脂素; 6-五味子醇甲; 7-新补骨脂异黄酮; 8-吴茱萸碱; 9-吴茱萸次碱; 10-补骨脂甲素; 11-五味子醇乙; 12-欧前胡素; 13-补骨脂定; 14-补骨脂乙素; 15-补骨脂二氢黄酮甲醚; 16-去氢二异丁香酚; 17-五味子甲素; 18-五味子乙素; 19-补骨脂酚。

1-psoralenoside; 2-isopsoralenoside; 3-dehydroevodiamine; 4-psoralen; 5-isopsoralen; 6-schisandrol A; 7-neobavaisoflavone; 8-evodiamine; 9-rutaecarpine; 10-bavachin; 11-schisandrol B; 12-imperatorin; 13-psoralidin; 14-isobavachalcone; 15-bavachinin; 16-dehydrodiisoeugenol; 17-schizandrin A; 18-schizandrin B; 19-bakuchiol.

图1 混合对照品 (A)、四神丸方样品 (B)、缺补骨脂阴性对照样品 (C)、缺肉豆蔻阴性对照样品 (D)、缺吴茱萸阴性对照样品 (E) 和缺五味子阴性对照样品 (F) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC plots of mixed controls (A), Sishen Pills samples (B), negative control sample without *Psoraleae Fructus* (C), negative control sample without *Myristicæ Semen* (D), negative control sample without *Euodiae Fructus* (E) and negative control sample without *Schisandrae Chinensis Fructus* (F)

中,使用真空离心浓缩仪将溶剂挥干,按照“2.1.4”项下方法制备供试品溶液,然后按照“2.1.1”项下色谱条件测定,记录19种成分的峰面积,并分别计算供试品溶液中19种指标成分的平均加样回收率和RSD值。结果见表1。加样回收率在91.00%~105.80%,RSD均<3.1%,结果表明该方法回收率良好。

2.2 四神丸方(汤剂)制备工艺优化

2.2.1 层次分析(analytic hierarchy process, AHP)法计算综合评分 运用 Scientific Platform Serving for Statistics Professional 2019. SPSS PRO. (Version 1.0.11) <https://www.spsspro.com>.在线数据分析平台进行AHP,对19种成分进行主观赋权,并得到综合评分^[14]。

表 1 四神丸方中 19 种化学成分含量测定的方法学考察结果

Table 1 Results of methodological investigation on content determination of 19 chemical components in Sishen Pills

化学成分	线性关系			精密密度 RSD/%		RSD/%		加样回收率/%	
	线性方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	日内	日间	重复性	稳定性	平均值	RSD
补骨脂苷	$Y=0.8759X+0.9029$	0.9993	14.70~1029.00	1.25	1.37	0.49	0.04	97.27	1.06
异补骨脂苷	$Y=0.9406X-2.2638$	0.9992	12.20~854.00	1.35	1.96	0.43	0.05	104.12	1.41
去氢吴茱萸碱	$Y=0.6633X+0.2822$	0.9996	0.54~54.00	0.70	0.91	0.74	0.38	100.58	0.99
补骨脂素	$Y=1.9788X+3.5932$	0.9998	0.25~253.00	0.35	1.01	0.41	0.07	104.07	1.21
异补骨脂素	$Y=1.8204X+4.2371$	0.9992	1.86~186.00	0.36	0.90	0.37	0.09	103.25	1.18
五味子醇甲	$Y=0.4385X+0.0149$	0.9998	0.11~11.00	0.57	1.15	0.61	0.37	101.38	1.41
新补骨脂异黄酮	$Y=1.1401X+0.1980$	0.9998	0.33~33.00	0.37	1.36	0.27	0.05	95.93	0.86
吴茱萸碱	$Y=0.8053X+0.0854$	0.9999	0.20~20.00	0.43	1.44	0.52	0.26	103.34	3.09
吴茱萸次碱	$Y=1.2384X+0.1193$	0.9999	0.25~25.00	0.32	1.30	1.57	0.48	102.87	2.42
补骨脂甲素	$Y=0.5319X+0.0538$	0.9991	0.14~14.10	0.49	1.29	0.26	0.10	102.85	1.12
五味子醇乙	$Y=0.4289X-0.0039$	0.9988	0.15~1.50	0.56	1.06	1.89	1.90	92.40	2.69
欧前胡素	$Y=1.1480X+0.0536$	0.9990	0.06~5.50	0.39	1.18	1.95	1.14	100.31	1.30
补骨脂定	$Y=0.9127X-0.0061$	0.9991	0.02~1.50	0.33	1.33	1.99	0.98	91.01	2.28
补骨脂乙素	$Y=0.4820X+0.0237$	0.9990	0.15~14.50	0.40	1.34	1.00	0.12	100.59	1.98
补骨脂二氢黄酮甲醚	$Y=0.5425X+0.1095$	0.9997	0.30~30.00	0.36	1.33	0.25	0.16	103.13	1.63
去氢二异丁香酚	$Y=0.3395X+0.0076$	0.9997	0.04~3.50	0.20	0.68	1.57	0.59	93.43	1.22
五味子甲素	$Y=0.4190X+0.0041$	0.9994	0.02~1.50	0.46	1.11	1.11	1.04	105.77	2.92
五味子乙素	$Y=0.4493X+0.0019$	0.9998	0.03~3.00	0.20	0.66	1.13	0.66	105.56	2.09
补骨脂酚	$Y=0.5433X+3.3354$	0.9988	2.00~400.00	0.25	1.06	0.83	0.12	103.69	0.89

(1) 构建判断矩阵：四神丸方中补骨脂温肾助阳，为君药；肉豆蔻温中行气、涩肠止泻为臣药；吴茱萸温中散寒、五味子温肾涩精，共为佐药；生姜暖胃散寒、大枣补益脾胃，同为使药^[4]，共成温肾暖脾，涩肠止泻之功。根据中药复方配伍的君、臣、佐、使原则，结合 AHP 理论判断矩阵 1~9 标度(表 2)对 19 种成分的重要程度打分。补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚为君药补骨脂中含量较大的主要药效成分，相对于君

表 2 Santy 的 1~9 标度方法

Table 2 Santy's scaling method from 1 to 9

标度	含义
1	表示 2 个因素相比，具有相同重要性
3	表示 2 个因素相比，前者比后者稍重要
5	表示 2 个因素相比，前者比后者明显重要
7	表示 2 个因素相比，前者比后者强烈重要
9	表示 2 个因素相比，前者比后者极端重要
2、4、6、8	表示上述相邻判断的中间值
倒数	若因素 <i>e</i> 与因素 <i>f</i> 的重要性之比为 a_{ef} ，则因素 <i>f</i> 与因素 <i>e</i> 重要性之比为 $a_{fe}=1/a_{ef}$

药补骨脂中的欧前胡素、补骨脂定、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素和补骨脂二氢黄酮甲醚稍重要，故标为 3；相对于臣药肉豆蔻中的去氢二异丁香酚，较明显重要，故标为 4；相对于佐药吴茱萸中的去氢吴茱萸碱、吴茱萸碱和吴茱萸次碱，五味子中的五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素明显重要，故标为 5，以此类推，构建判断矩阵，结果见表 3。

(2) 计算权重并得出综合评分：对构建的判断矩阵采用“方根法”求取特征向量，并计算各指标权重值，根据权重计算结果得出综合评分为 $Y=$ 补骨脂苷质量分数 $\times 11.561\%$ +异补骨脂苷质量分数 $\times 11.561\%$ +去氢吴茱萸碱质量分数 $\times 2.312\%$ +补骨脂素质量分数 $\times 11.561\%$ +异补骨脂素质量分数 $\times 11.561\%$ +五味子醇甲质量分数 $\times 2.312\%$ +新补骨脂异黄酮质量分数 $\times 3.854\%$ +吴茱萸碱质量分数 $\times 2.312\%$ +吴茱萸次碱质量分数 $\times 2.312\%$ +补骨脂甲素质量分数 $\times 3.854\%$ +五味子醇乙质量分数 $\times 2.312\%$ +欧前胡素质量分数 $\times 3.854\%$ +补骨脂定质量分数 $\times 3.854\%$ +补骨脂乙素质量分数 $\times 3.854\%$ +

表3 指标成对比较的判断优先矩阵
Table 3 Judgment priority matrix for pairwise comparison of indicators

成分	判断矩阵																		
	补骨脂苷	异补骨脂苷	去氢吴茱萸碱	补骨脂素	异补骨脂素	五味子醇甲	新补骨脂异黄酮	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	补骨脂甲素	五味子醇乙	欧前胡素	补骨脂定	补骨脂乙素	补骨脂二氢黄酮甲醚	去氢二异丁香酚	五味子甲素	五味子乙素	补骨脂酚
补骨脂苷	1	1	5	1	1	5	3	5	5	3	5	3	3	3	3	4	5	5	1
异补骨脂苷	1	1	5	1	1	5	3	5	5	3	5	3	3	3	3	4	5	5	1
去氢吴茱萸碱	1/5	1/5	1	1/5	1/5	1	3/5	1	1	3/5	1	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	1	1	1/5
补骨脂素	1	1	5	1	1	5	3	5	5	3	5	3	3	3	3	4	5	5	1
异补骨脂素	1	1	5	1	1	5	3	5	5	3	5	3	3	3	3	4	5	5	1
五味子醇甲	1/5	1/5	1	1/5	1/5	1	3/5	1	1	3/5	1	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	1	1	1/5
新补骨脂异黄酮	1/3	1/3	5/3	1/3	1/3	5/3	1	5/3	5/3	1	5/3	1	1	1	1	4/3	5/3	5/3	1/3
吴茱萸碱	1/5	1/5	1	1/5	1/5	1	3/5	1	1	3/5	1	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	1	1	1/5
吴茱萸次碱	1/5	1/5	1	1/5	1/5	1	3/5	1	1	3/5	1	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	1	1	1/5
补骨脂甲素	1/3	1/3	5/3	1/3	1/3	5/3	1	5/3	5/3	1	5/3	1	1	1	1	4/3	5/3	5/3	1/3
五味子醇乙	1/5	1/5	1	1/5	1/5	1	3/5	1	1	3/5	1	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	1	1	1/5
欧前胡素	1/3	1/3	5/3	1/3	1/3	5/3	1	5/3	5/3	1	5/3	1	1	1	1	4/3	5/3	5/3	1/3
补骨脂定	1/3	1/3	5/3	1/3	1/3	5/3	1	5/3	5/3	1	5/3	1	1	1	1	4/3	5/3	5/3	1/3
补骨脂乙素	1/3	1/3	5/3	1/3	1/3	5/3	1	5/3	5/3	1	5/3	1	1	1	1	4/3	5/3	5/3	1/3
补骨脂二氢黄酮甲醚	1/3	1/3	5/3	1/3	1/3	5/3	1	5/3	5/3	1	5/3	1	1	1	1	4/3	5/3	5/3	1/3
去氢二异丁香酚	1/4	1/4	5/4	1/4	1/4	5/4	3/4	5/4	5/4	3/4	5/4	3/4	3/4	3/4	3/4	1	5/4	5/4	1/4
五味子甲素	1/5	1/5	1	1/5	1/5	1	3/5	1	1	3/5	1	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	1	1	1/5
五味子乙素	1/5	1/5	1	1/5	1/5	1	3/5	1	1	3/5	1	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	1	1	1/5
补骨脂酚	1	1	5	1	1	5	3	5	5	3	5	3	3	3	3	4	5	5	1

补骨脂二氢黄酮甲醚质量分数×3.854%+去氢二异丁香酚质量分数×2.89%+五味子甲素质量分数×2.312%+五味子乙素质量分数×2.312%+补骨脂酚质量分数×11.561%。

(3) 一致性检验: 对矩阵进行一致性检验, 检验结果为通过。最大特征根为 19, 一致性指标 (consistency index, CI) 值为 0, 自由度指标 (random index, RI) 值为 1.621, 一致性比例 (consistency ratio, CR) 值为 0 (小于 0.1), 表明该权重确定方法合理

有效。

2.2.2 单因素考察浸泡时间、加水量、提取时间对提取效果的影响

(1) 浸泡时间: 按照“2.1.3”项下制备方法操作, 分别考察浸泡 10、20、30、40 min 时, 19 种成分的含量并计算综合评分, 结果见表 4, 随浸泡时间的增加, 综合评分先升高后降低, 当浸泡时间为 30 min 时最高。但不同浸泡时间对综合评分值影响不明显, 故选择 30 min 作为最优浸泡时间, 并不

表4 浸泡时间考察结果
Table 4 Investigation results of soaking time

浸泡时间/min	质量分数(μg·g ⁻¹)																			综合评分
	补骨脂苷	异补骨脂苷	去氢吴茱萸碱	补骨脂素	异补骨脂素	五味子醇甲	新补骨脂异黄酮	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	补骨脂甲素	五味子醇乙	欧前胡素	补骨脂定	补骨脂乙素	补骨脂二氢黄酮甲醚	去氢二异丁香酚	五味子甲素	五味子乙素	补骨脂酚	
10	2244.59	1607.63	172.62	854.44	643.41	36.98	119.80	33.20	13.22	98.85	2.06	33.72	24.65	103.33	130.62	34.61	5.28	8.62	1324.40	798.62
20	2288.39	1643.95	169.75	824.83	620.12	29.47	135.90	25.81	14.69	121.11	7.01	17.54	18.44	134.82	136.98	37.48	6.58	6.96	1495.63	823.44
30	2411.98	1730.95	181.05	876.95	656.40	31.87	145.43	27.71	16.30	129.00	8.14	20.04	23.01	161.27	81.08	18.15	8.11	9.45	1767.97	889.26
40	2234.63	1605.66	202.93	899.89	711.61	31.74	132.49	34.47	13.18	111.13	1.61	37.74	26.36	112.17	141.86	26.32	5.52	9.00	1453.03	827.58

再进一步优化。

(2) 加水量: 按照“2.1.3”项下制备方法, 分别考察加水 6、8、10、12、14 倍时, 19 种成分的含量并计算综合评分, 结果见表 5, 随加水量的增加, 综合评分不断升高, 当加水量在 6~10 倍时增幅较大, 加水量在 10~14 倍时增幅降低, 综合评分趋于稳定。因此, 从节约成本的角度考虑, 不再增大加水量, 并选择 10、12、14 倍加水量进行后续响应曲面试验。

(3) 提取时间: 按照“2.1.3”项下制备方法操作, 分别考察提取 20、30、40、50、60 min 时, 19 种成分的含量并计算综合评分, 结果见表 6, 随提取时间的增加, 综合评分先升高后降低, 提取时间在 20~40 min 增幅较大, 在 40~50 min 增幅减小, 50 min 时最高, 增至 60 min 时出现明显降低, 推测可能是持续高温使成分发生水解。因此, 选择 30、40、50 min 提取时间进行后续响应曲面试验。

2.2.3 Box-Behnken 设计-响应面法优化提取工艺

表 5 加水量考察结果

Table 5 Investigation results of water addition

加水 量/倍	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)																			综合 评分
	补骨 脂苷	异补骨 脂苷	去氢吴 茱萸碱	补骨 脂素	异补骨 脂素	五味子 醇甲	新补骨脂 异黄酮	吴茱 萸碱	吴茱萸 次碱	补骨脂 甲素	五味子 醇乙	欧前 胡素	补骨 脂定	补骨脂 乙素	补骨脂二氢 黄酮甲醚	去氢二异 丁香酚	五味子 甲素	五味子 乙素	补骨 脂酚	
6	2 092.66	1 495.15	167.75	666.23	506.28	17.84	109.63	28.45	12.99	97.81	3.66	25.36	20.61	118.15	122.99	38.64	2.98	9.39	1 412.02	739.38
8	2 288.39	1 643.95	169.75	824.83	620.12	29.47	135.90	25.81	14.69	121.11	7.01	17.54	18.44	134.82	136.98	37.48	6.58	6.96	1 495.63	823.44
10	2 580.34	1 848.31	222.10	939.93	724.35	30.10	172.36	38.87	20.82	150.71	9.37	30.25	30.16	149.03	149.00	21.08	6.21	11.15	1 577.54	921.49
12	2 612.38	1 856.68	228.34	1 019.15	818.51	48.37	182.55	49.10	26.29	161.19	13.39	34.22	28.90	139.38	140.52	25.40	7.64	13.72	1 390.06	925.96
14	2 716.82	1 959.88	226.34	1 171.57	877.20	52.74	217.57	38.04	20.43	152.89	10.98	29.93	26.55	174.59	171.37	33.91	9.70	10.64	1 728.29	1 016.62

表 6 提取时间考察结果

Table 6 Investigation results of extraction time

提取时 间/min	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)																			综合 评分
	补骨 脂苷	异补骨 脂苷	去氢吴 茱萸碱	补骨 脂素	异补骨 脂素	五味子 醇甲	新补骨脂 异黄酮	吴茱 萸碱	吴茱萸 次碱	补骨脂 甲素	五味子 醇乙	欧前 胡素	补骨 脂定	补骨脂 乙素	补骨脂二氢 黄酮甲醚	去氢二异 丁香酚	五味子 甲素	五味子 乙素	补骨 脂酚	
20	1 413.37	1 014.49	212.37	701.33	531.38	22.51	133.58	33.62	16.15	123.19	8.72	21.44	16.36	114.45	111.74	26.29	5.66	8.85	1 085.37	576.63
30	1 808.55	1 294.11	206.19	761.14	594.45	25.52	136.46	33.06	15.79	122.81	4.95	30.03	18.14	116.53	112.26	28.26	3.33	9.48	1 187.49	681.08
40	2 288.39	1 643.95	169.75	824.83	620.12	29.47	135.90	25.81	14.69	121.11	7.01	17.54	18.44	134.82	136.98	37.48	6.58	6.96	1 495.63	823.44
50	2 558.62	1 831.70	165.17	874.12	689.18	36.27	119.39	25.38	11.66	97.64	1.53	34.27	25.26	101.66	140.75	45.93	5.47	8.99	1 437.69	881.72
60	1 380.95	969.46	256.02	495.50	400.43	37.32	86.85	37.38	17.95	83.29	6.66	20.60	14.45	68.75	64.74	29.54	2.86	6.72	620.26	469.36

(1) 试验设计与结果: 根据单因素实验结果, 选取各因素适宜的水平范围, 运用 Design-Expert 13 软件, 以综合评分为响应值, 以加水量 (X_1)、提取

时间 (X_2) 和提取次数 (X_3) 为影响因素, 进行 3 因素 3 水平 BBD 响应面法试验, BBD 响应面法试验设计与结果见表 7, 19 种成分测定结果见表 8。

表 7 Box-Behnken 响应面法试验设计与结果

Table 7 Design and results of Box-Behnken response surface experiment

序号	X_1 /倍	X_2 /min	X_3 /次	综合评分	序号	X_1 /倍	X_2 /min	X_3 /次	综合评分	序号	X_1 /倍	X_2 /min	X_3 /次	综合评分
1	14 (+1)	50 (+1)	2 (0)	1 003.92	7	12	40	2	923.74	13	10	30	2	817.21
2	12 (0)	30 (-1)	3 (+1)	1 139.14	8	12	50	1	505.11	14	12	40	2	920.48
3	12	50	3	1 224.35	9	12	30	1	354.56	15	14	40	3	1 206.82
4	10 (-1)	40 (0)	3	1 122.57	10	12	40	2	921.00	16	14	30	2	847.51
5	14	40	1 (-1)	502.17	11	10	40	1	389.75	17	12	40	2	907.99
6	10	50	2	840.62	12	12	40	2	910.04					

表 8 Box-Behnken 响应面试验结果
Table 8 Results of Box-Behnken response surface experiment

序号	质量分数($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)																		
	补骨脂	异补骨脂	去氢吴茱萸碱	补骨脂素	异补骨脂素	五味子醇甲	新补骨脂异黄酮	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	补骨脂甲素	五味子醇乙	欧前胡素	补骨脂脂定	补骨脂脂素	补骨脂脂二氢黄酮甲醚	去氢二异丁香酚	五味子甲素	五味子乙素	补骨脂酚
1	2700.22	1919.35	299.55	1209.36	890.04	52.88	223.17	83.94	18.12	175.38	6.13	73.40	13.16	125.23	169.04	79.33	4.87	8.19	1590.33
2	3307.26	2343.33	297.40	1256.76	974.93	55.54	249.51	96.49	24.82	190.62	5.91	82.15	14.21	140.59	182.16	243.90	5.11	6.37	1525.25
3	3602.90	2511.93	319.91	1388.15	1063.62	84.00	260.53	94.97	22.24	198.88	7.24	85.08	17.99	138.21	176.98	93.01	4.86	7.01	1599.92
4	3150.36	2244.66	296.38	1216.32	917.94	60.32	223.25	84.03	20.38	169.44	8.13	78.95	13.54	133.86	178.33	82.20	5.91	9.73	1797.33
5	1038.22	714.43	218.43	640.18	482.21	27.45	126.41	52.20	15.27	100.74	3.63	45.65	8.94	108.37	138.46	136.15	4.50	6.18	1192.82
6	2388.93	1666.85	276.21	988.66	760.43	39.67	186.38	73.95	20.61	150.42	4.02	61.72	8.43	103.32	133.34	65.62	5.91	5.04	1150.29
7	2484.77	1747.53	276.83	1060.28	828.12	43.28	201.45	73.76	16.01	158.07	5.92	68.69	11.59	132.65	168.22	111.60	6.42	7.84	1508.62
8	1306.93	893.39	197.60	630.30	488.16	22.31	99.86	39.90	9.99	78.84	2.21	34.21	5.74	65.17	93.67	67.32	3.09	4.30	851.72
9	652.98	443.92	202.06	510.39	394.55	27.43	100.07	40.31	14.05	80.92	3.13	36.78	5.05	73.10	99.70	87.17	3.97	5.55	852.09
10	2483.72	1743.19	272.64	1063.22	824.65	50.06	197.21	72.23	15.59	157.48	5.83	69.77	12.17	129.98	168.98	113.50	6.35	7.62	1492.04
11	791.57	535.57	195.66	509.86	392.04	27.88	89.03	37.21	10.34	72.03	3.10	33.24	5.28	66.66	95.47	55.42	4.30	7.16	950.68
12	2454.86	1737.17	263.73	1029.67	818.53	55.54	191.74	71.06	12.51	156.30	5.50	67.33	9.08	110.78	165.71	113.90	6.56	7.52	1484.77
13	2283.66	1618.08	247.72	856.00	660.51	40.10	164.47	66.22	18.00	133.27	4.52	57.31	10.52	119.27	147.38	119.25	5.02	7.00	1332.14
14	2487.68	1740.75	278.57	1059.92	825.47	49.87	196.83	74.98	16.87	156.83	5.91	68.86	11.62	125.43	166.71	114.31	5.98	7.59	1489.53
15	3170.36	2248.62	307.40	1490.68	1087.98	82.29	304.33	113.15	27.03	232.65	9.40	105.59	21.57	171.15	210.29	122.52	6.28	10.64	1950.63
16	2399.58	1689.46	278.99	994.51	768.16	41.62	189.87	75.06	22.74	155.01	4.13	63.86	10.18	106.14	136.65	68.64	5.43	5.91	1154.53
17	2376.36	1729.93	282.95	1046.36	823.40	34.19	200.10	69.50	15.95	148.40	5.75	67.62	22.07	171.78	168.29	113.10	8.53	6.59	1505.44

(2) 回归模型的建立与方差分析: 运用 Design-Expert 13 软件对试验数据进行模型拟合, 得到的回归方程为 $Y=916.65+48.78 X_1+51.95 X_2+367.66 X_3+33.25 X_1X_2-7.04 X_1X_3-16.34 X_2X_3-19.90 X_1^2-19.44 X_2^2-91.42 X_3^2$, $R^2=0.999 0$ 。对该模型进行方差分析, 结果见表 9。模型的 $P<0.000 1$, 说明模型极显著; 失拟项的 $P=0.055 1>0.05$, 说明失拟项不显著, 即该模型对试验数据的拟合情况良好, 可用于分析各因素与响应值之间的关系。模型中 X_1 (加水量)、 X_2 (提取时间)、 X_3 (提取次数)、 X_1X_2 、 X_2X_3 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对综合评分均有显著的影响,

X_1X_3 影响不显著。各因素响应面分析见图 2。

(3) 最优工艺的确定及验证: 根据 BBD 试验生成的模型进行预测, 得出最优提取工艺为加水 13.962 倍量, 浸泡 30 min, 提取 2.991 次, 每次 47.550 min, 在此条件下可得综合评分为 1 253.627 分。结合实际情况, 将结果修正为加水 14 倍量, 浸泡 30 min, 提取 3 次, 每次 48 min。为评价该方法的稳定性和重复性, 通过平行 3 次试验测定 19 种成分的含量, 结果见表 10, 3 批样品综合评分均值为 1 261.05 分, 接近并略大于 BBD 模型预测值, RSD 为 1.04%, 表明最优制备工艺较为稳定, 合理可行。

表 9 响应面模型方差分析结果

Table 9 Results of variance analysis of response surface model

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	P 值	显著性	误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	P 值	显著性
模型	1.168×10^6	9	793.46	<0.000 1	极显著	X_2X_3	1 067.33	1	6.52	0.037 9	显著
X_1	19 038.83	1	116.38	<0.000 1	极显著	X_1^2	1 667.20	1	10.19	0.015 2	显著
X_2	21 588.34	1	131.96	<0.000 1	极显著	X_2^2	1 590.60	1	9.72	0.016 9	显著
X_3	1.081×10^6	1	6 610.15	<0.000 1	极显著	X_3^2	35 192.85	1	215.12	<0.000 1	极显著
X_1X_2	4 422.25	1	27.03	0.001 3	极显著	失拟项	942.63	3	6.21	0.055 1	不显著
X_1X_3	198.39	1	1.21	0.307 2	不显著						

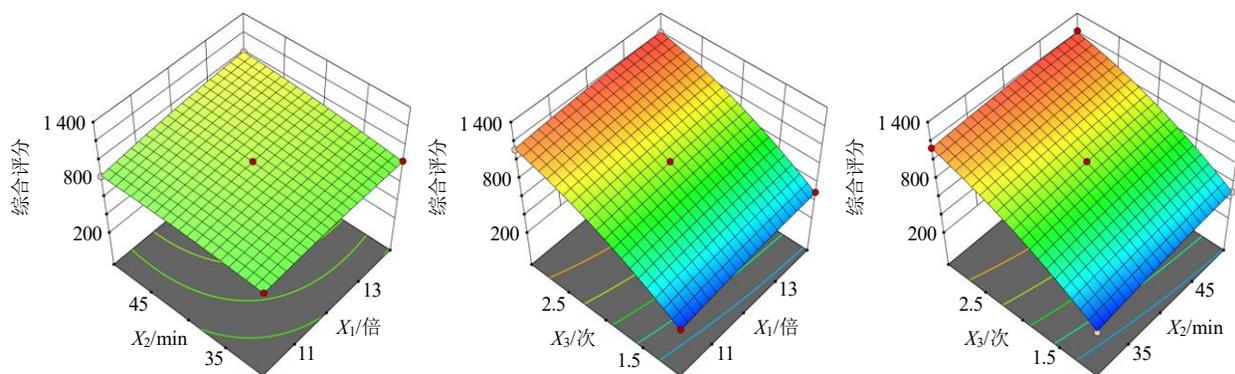


图2 各因素 X₁、X₂、X₃ 对综合评分影响的响应面图

Fig. 2 Response surface diagrams of factors X₁, X₂, and X₃ on comprehensive score influence

表10 工艺验证结果

Table 10 Process verification results

序号	质量分数/(μg·g ⁻¹)																			综合评分
	补骨脂苷	异补骨脂苷	去氢吴茱萸碱	补骨脂素	异补骨脂素	五味子醇甲	新补骨脂异黄酮	吴茱萸碱	吴茱萸次碱	补骨脂甲素	五味子醇乙	欧前胡素	补骨脂定	补骨脂乙素	黄酮甲醚	丁香酚	甲素	乙素	补骨脂酚	
1	3 431.13	2 423.14	383.75	1 404.09	1 100.39	75.79	299.48	111.25	27.94	225.30	8.80	100.43	29.51	182.28	204.05	64.66	10.04	9.48	2 135.44	1 269.72
2	3 352.75	2 390.00	349.73	1 379.02	1 105.52	66.61	289.85	111.17	7.22	228.74	7.51	97.04	18.40	137.95	204.41	73.14	6.68	9.67	2 094.93	1 246.01
3	3 395.63	2 418.58	356.66	1 408.29	1 124.40	67.86	299.74	113.69	22.49	235.76	7.67	100.51	22.71	158.49	210.36	67.87	7.69	9.53	2 139.35	1 267.42

3 讨论

3.1 色谱条件、供试品制备及提取工艺的考察

本实验进行了全波长扫描, 结果在 245 nm 波长处谱图信息最为全面。流动相的选择中考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液等的洗脱效果, 结果乙腈的洗脱能力优于甲醇, 且基线平稳; 水中加入 0.1%甲酸, 可以改善峰形、提高峰分离效果。进一步通过调整流动相比比例和时间, 最终确定“2.1.1”项下最佳色谱条件。制备供试品时对提取方法考察了不同超声时间和功率, 对提取溶剂考察了不同比例甲醇水溶液, 结果在“2.1.1”项下色谱条件时, 待测成分的提取转移率较高, 杂质较少。对四神丸方(汤剂)提取工进行考察时, 溶剂选用水而非有机溶是为了保留古方工艺同时符合临床实际应用。

3.2 含量测定指标成分的选择

基于四神丸方抗抑郁的新功效, 本研究采用网络药理学的手段将获取的 110 个四神丸方活性成分及其对应的 962 个靶点与 1 603 个抑郁症相关靶点取交集后, 得到 293 个四神丸治疗抑郁症的潜在作用靶点, 进一步通过 Degree 值和 BC 值的筛选, 初步得到了 50 个四神丸方治疗抑郁症的关键活性成分。其中分别归属于补骨脂的黄酮类化合物补骨脂

二氢黄酮甲醚; 肉豆蔻的木脂素类化合物去氢二异丁香酚; 吴茱萸的生物碱类化合物吴茱萸碱、吴茱萸次碱和去氢吴茱萸碱; 五味子的木质素类化合物五味子醇甲、五味子醇乙和五味子甲素具有抗抑郁、神经保护、抗菌抗炎、镇痛等作用。

五味子中的五味子醇甲、五味子甲素在胃部吸收较快, 吴茱萸碱有较好的血脑屏障通透性。此外, 文献研究表明补骨脂中的香豆素类(补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素和补骨脂定)、黄酮类(新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂乙素)和单萜酚类(补骨脂酚)成分; 五味子中的木质素类(五味子乙素)成分具有抗抑郁、抗菌抗炎、改善中枢神经系统、抗氧化和保肝等药理作用^[15-18]。因此, 本实验将以上 19 种活性成分作为含量测定的指标, 具有一定的科学性、代表性, 为进一步阐明其抗抑郁药效物质基础, 探究各成分体内过程和代谢机制提供参考。

虽然四神丸(丸剂)的含量测定方法已有文献报道, 魏伟等^[7]建立了四神丸的 HPLC 指纹图谱, 对 10 种化学成分进行了含量测定, 但仅对君药补骨脂中的 2 个成分进行了检测。张晓霞等^[10]建立的 HPLC-ESI-MS/MS 法测定了四神丸中 9 种有效成分的含量, 但未对臣药肉豆蔻中的指标性成分进行检

测。而本研究建立的含量测定方法,同时定量分析了四神丸方中分属于4味主药的19种有效成分,为其质量控制与评价提供了更为全面的参考。结果发现19种成分中归属于补骨脂的成分含量较高,这可能是补骨脂君药作用的体现。但本实验也存在不足之处,工艺评价时尚未涉及与抗抑郁活性相关的因素,未来如果能采用多成分含量测定和体外活性整合双指标评价方法,将更全面合理地优化中药复方提取工艺。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 柳荣,王燕,朱向东,等. 四神丸对脾肾阳虚型溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织PI3K/Akt/mTOR信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 16-23.
- [2] 陈锐. 四神丸临床新用[J]. 中国社区医师, 2012, 28(37): 12.
- [3] 罗亚,邓云,沈鑫明,等. 四神丸抗抑郁作用及其对中枢单胺神经系统的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(2): 105-111.
- [4] 郭敏,梁德颖,黄蓉,等. 一测多评法在四神丸中9种成分含量的测定及质量评价中的应用[J]. 中南民族大学学报:自然科学版, 2023, 42(2): 174-179.
- [5] 苏建,刘永利,郭毅,等. 多波长HPLC法同时测定四神丸中7个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(9): 1531-1537.
- [6] 姚兰,王运军,刘晓英,等. RP-HPLC法同时测定四神丸中补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲和吴茱萸碱的含量[J]. 中国药房, 2010, 21(43): 4095-4097.
- [7] 魏伟,侯建忠,朱顺娟,等. 基于指纹图谱的四神丸多成分质量控制研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(10): 105-110.
- [8] 朱顺娟,魏伟,侯建忠,等. 基于变异系数权重的模糊物元模型评价不同厂家四神丸的质量[J]. 中药材, 2022, 45(11): 2676-2679.
- [9] 黄翌磊,黄忠平,王丽丽. 闪蒸-气相色谱/质谱法同时测定四神丸中8个有效成分[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(3): 510-517.
- [10] 张晓霞,李晓妮,胡爽,等. HPLC-ESI-MS/MS同时测定四神丸中9种有效成分[J]. 中草药, 2018, 49(9): 2070-2075.
- [11] 中国药典[S]. 一部. 2020: 829.
- [12] 陈士林,刘安,李琦,等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1367-1375.
- [13] 樊箫雨,杨凯丽,李花花,等. Box-Behnken响应面结合基准关联度和AHP-熵权法优化经典名方半夏泻心汤的提取工艺[J]. 中草药, 2022, 53(21): 6716-6725.
- [14] 徐晓敏. 层次分析法的运用[J]. 统计与决策, 2008(1): 156-158.
- [15] 鲁亚奇,张晓,王金金,等. 补骨脂化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(3): 180-189.
- [16] 刘润润,孙爱清,于小钧,等. 肉豆蔻化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物(Q-Marker)预测分析[J]. 中草药, 2023, 54(14): 4682-4700.
- [17] 刘丽,张笑敏,许浚,等. 吴茱萸化学成分和药理作用及质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2689-2702.
- [18] 任伟光,张翠英. 五味子的研究进展及质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(11): 3110-3116.

[责任编辑 郑礼胜]