

基于 AHP-CRITIC 法的正交设计优选参膝口服液提取工艺

刘小妹¹, 程中琴¹, 施崇精¹, 王姗姗¹, 袁强华², 宋英^{2*}

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075

2. 成都中医药大学附属医院 药剂科, 四川 成都 610072

摘要: 目的 确定指标权重, 优选参膝口服液的最佳提取工艺。方法 以 HPLC 法测定杯苋甾酮、人参皂苷 R_{g1}、Re、R_{b1} 的量, HPLC-ELSD 法测定人参二醇的量、干膏率、总多糖含量及总峰面积作为评价指标, 采用层次分析法 (AHP)、基于指标相关性的权重确定方法 (CRITIC)、AHP-CRITIC 混合加权法确定各评价指标的权重系数, 比较混合加权法和单一赋权法, 并结合正交试验结果优选复方提取工艺的最佳参数。结果 AHP-CRITIC 混合加权法较单一赋权法科学、合理、全面, 按其所得的权重系数进行综合评价, 优选出最佳工艺参数为复方药材加 9 倍量水, 提取 3 次, 每次 80 min。3 批验证试验综合评分均值为 99.06, RSD 为 0.18%。结论 AHP 法结合 CRITIC 法可用于参膝口服液提取工艺多指标权重的建立, 优选的提取工艺经验证, 合理、稳定, 重复性好, 可用于工业化生产。

关键词: 最佳工艺; 指标; 权重分析; AHP 法; CRITIC 法; AHP-CRITIC 混合加权法; 杯苋甾酮; 人参皂苷 R_{g1}; 人参皂苷 Re; 人参皂苷 R_{b1}; 人参二醇; 干膏率; 总多糖

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)11-2577-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.11.014

Optimization of extraction technique for Shenxi Oral Liquid by orthogonal design based on AHP-CRITIC analysis

LIU Xiao-mei¹, CHENG Zhong-qin¹, SHI Chong-jing¹, WANG Shan-shan¹, YUAN Qiang-hua², SONG Ying²

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

2. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China

Abstract: Objective The extraction process of Shenxi Oral Liquid by exploring the optional extraction process parameters based on determining the index weight. **Methods** Using the contents of cyasterone, ginsenosides R_{g1}, Re, R_{b1}, panaxadiol, ratio of dry extraction, total polysaccharides, and total peak area as comprehensive evaluation indexes, the weighting coefficient in eight synthetic evaluation indexes was determined by analytic hierarchy process (AHP), criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC) method, and mixed weighted AHP-CRITIC. Compared mixed weighting method and single weighting method, the optimal parameters of compound extraction process were optimized by orthogonal test. **Results** Mixed weighted AHP-CRITIC was more scientific, reasonable, and comprehensive than the single weighting method. According to the weighting coefficient determined by comprehensive evaluation, the optimal process parameters were as follow: compound herbs plus nine times of water, extracting three times, each for 80 min. The mean of three batches of comprehensive evaluation was 99.06 and RSD value was 0.18%. **Conclusion** AHP combined with CRITIC could be used to establish weighting coefficient of the compound formula extraction process and the optimized process of extraction had been verified to be reasonable, stable, and reproducible, which could be used for industrial production.

Key words: optimized process; index; weight analysis; analytic hierarchy process (AHP); criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC); mixed weighted AHP-CRITIC; cyasterone; ginsenosides R_{g1}; ginsenosides Re; ginsenosides R_{b1}; panaxadiol; ratio of dry extraction; total polysaccharides

收稿日期: 2017-12-29

基金项目: 四川省中医药管理局其他中医药支出 (210069); 国家中医药管理局国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-SC-41)

作者简介: 刘小妹 (1994—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药新制剂、新工艺和新技术。Tel: 13548189067 E-mail: 1461022484@qq.com

*通信作者 宋英 (1956—), 男, 教授, 硕士生导师, 从事中药新制剂、新工艺和新技术方向的研究。

Tel: (028)87783251 E-mail: songying624@163.com

参膝口服液系成都中医药大学附属医院药剂科研制的复方中药,由川牛膝、人参、枸杞 3 味中药组成^[1],该方具有固本培元、强身健体、补血益气的作用,适用于体虚多病、卫阳不足、免疫力差的人群,能提高机体免疫能力^[2],有助于体虚患者恢复健康。本方原料为常用中药材,价格低廉,毒副作用小,安全可靠,可用于日常保健。中药方剂临床上用药多以水煎煮为主,水提工艺是当今中药产业化的主流提取方式,具有经济、环保、安全等优点。提取工艺是中药制剂的关键步骤^[3-6],有效成分的转移率关系到药物能否达到预期疗效^[7],故考察该方的最佳提取工艺。前期本课题组对人参中人参二醇的制备、测定及方法学验证进行了大量研究,本实验以人参中人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 ^[8]及人参二醇,川牛膝中杯萜甾酮及复方总多糖、干膏率、总峰面积和为考察指标,采用层次分析法(AHP)、基于指标相关性的权重确定方法(CRITIC)及 AHP-CRITIC 混合加权法进行权重分配^[9-11],利用正交试验设计考察最佳工艺路线,旨在为其后续研究提供数据支持。

1 仪器与材料

1.1 仪器

安捷伦 Agilent-1260 高效液相色谱仪,配置四元泵、DAD 检测器、在线脱气装置、OpenLAB 色谱工作站,美国安捷伦科技有限公司;ELSD-2000ES 蒸发光散射检测器,美国格雷斯奥泰公司;UV-2700 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;KH-250B 型超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;LE-204E 电子天平,梅特勒托利多仪器公司;BP-211D 十万分之一电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;电子恒温水浴锅,广东省汕头市医用设备厂有限公司。

1.2 试药

对照品人参皂苷 Rg_1 (批号 110703-201128,质量分数 93.4%)、人参皂苷 Re (批号 110754-201324,质量分数 92.7%)、人参皂苷 Rb_1 (批号 110704-201424,质量分数 93.7%)、杯萜甾酮(批号 111804-201303,质量分数 93.5%)、人参二醇(批号 110701-201614,质量分数 99.3%)均购于中国食品药品检定研究院;无水葡萄糖(批号 20150818)购于天津市科密欧化学试剂有限公司;川牛膝(批号 1703013)、人参(批号 1704093)、枸杞(批号 1612027)饮片均购于四川新荷花中药饮片股份有限

公司,经成都中医药大学附属医院药剂科副主任药师盛蓉鉴定均符合《中国药典》2015 年版一部规定;乙腈、甲醇为色谱纯;水为自制超纯水;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 处方吸液率的考察

称取处方量药材含川牛膝 45 g、人参 5 g、枸杞 30 g 置于 3 000 mL 烧杯中,加入 1 000 mL 水,测定药材全部润透时的吸液率,结果在 2 h 时已浸泡至透心,根据以下公式计算得到吸液率为 155.7%。

吸液率 = (浸泡后药材总质量 - 浸泡前药材总质量) / 浸泡前药材总质量

2.2 提取方法

称取处方量药材 9 份,每份含川牛膝 45 g、人参 5 g、枸杞 30 g,按正交设计表所列条件,煎煮,药液滤过,合并滤液,减压浓缩,定容至 250 mL 量瓶中,即得 9 批药液,备用,依次记为 S1~S9。

2.3 杯萜甾酮及人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 定量测定

2.3.1 色谱条件^[8] 色谱柱 Phenomenex Luna C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水溶液;梯度洗脱:0~35 min, 19%乙腈;35~55 min, 19%~29%乙腈;55~70 min, 29%乙腈;70~100 min; 29%~40%乙腈;体积流量 1.0 mL/min;柱温 25 °C;检测器: DAD 检测器;检测波长 203 nm;进样量 10 μL。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取人参皂苷 Rg_1 、 Re 、 Rb_1 和杯萜甾酮对照品 5.79、7.39、6.59、0.85 mg,同置于 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为 216.3、274.0、247.0、31.9 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密吸取“2.2”项下药液 40 mL,水饱和正丁醇萃取 3 次,每次 50 mL,合并正丁醇液,再依次用氨试液洗涤 3 次,每次 25 mL,正丁醇饱和的水洗涤 2 次,每次 25 mL,分取正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇使溶解并定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液(S1~S9)。

2.3.4 阴性样品溶液的制备 分别称取缺川牛膝、缺人参、缺枸杞的处方量药材,按“2.2”项下制备各药材阴性水提液,并按“2.3.3”项下操作对各水提液进行萃取,即得缺川牛膝、缺人参、缺枸杞 3 份阴性样品溶液。

2.3.5 药材单煎溶液的制备 分别按处方量称取川

牛膝、人参、枸杞单味药材,按“2.2”项下制备各药材水提液,并按“2.3.3”项下操作对各水提液进行萃取,即得。

2.3.6 样品测定 将上述“2.3.3”“2.3.4”和“2.3.5”项下供试品液在相应色谱条件下测定,并依次计算S1~S9中各成分含量。

2.4 人参二醇的定量测定

2.4.1 色谱条件^[12] 色谱柱 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(75:25);体积流量 0.8 mL/min;柱温 30 ℃;检测器为 ELSD 检测器:漂移管温度 85 ℃;蒸发器气体体积流量 2.6 mL/min;进样量 10 μL。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取人参二醇对照品 20.75 mg,置 25 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,得对照品储备液。精密吸取对照品储备液 3 mL,置 25 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并定容至刻度,制成含人参二醇质量浓度为 98.9 μg/mL 的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密吸取“2.2”项下药液 25 mL 置具塞锥形瓶中,加水饱和正丁醇 20 mL、浓盐酸 7 mL,使酸的浓度达到 5%,80 ℃水浴回流水解 3 h,离心,上清液用 10%的氨水洗至中性。置蒸发皿中蒸干,残渣用甲醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.4.4 样品测定 将上述“2.4.3”项下供试品溶液在相应色谱条件下测定,并依次计算 S1~S9 中人参二醇含量。

2.5 总多糖的定量测定^[13-14]

2.5.1 葡萄糖对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒定质量的葡萄糖对照品 10.21 mg,置于 100 mL 量瓶中,加蒸馏水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为 102.1 μg/mL 的葡萄糖溶液,作为对照品溶液。

2.5.2 线性关系考察 分别精密吸取葡萄糖对照品溶液 1、2、3、4、5 mL 置于 10 mL 量瓶,3 mL 置于 20 mL 量瓶,加蒸馏水至刻度,摇匀,配成质量浓度梯度为 10.21~51.05 μg/mL 的系列 1~6 号对照品溶液。精密吸取各对照品溶液 2 mL 于 10 mL 具塞刻度试管中,各加入 5 mL 0.2%蒽酮-硫酸试液,摇匀,迅速置于冰水中冷却,然后置沸水浴中加热 10 min,取出,再在冰水浴中冷却 10 min,紫外可见分光光度计下,于 620 nm 处测定吸光度(A)。

以葡萄糖质量浓度(C)为横坐标,A值为纵坐标进行线性回归分析,绘制标准曲线。得回归方程 $A=14.544 C+0.030 1$, $R^2=0.999 2$,表明葡萄糖质量浓度在 10.21~51.05 μg/mL 与 A 值呈良好的线性关系。

2.5.3 精密度考察 精密吸取系列 4 号葡萄糖对照品溶液 2 mL,照“2.5.3”项下方法测定 A 值,连续 6 次,RSD 为 0.47%,表明仪器精密度良好。

2.5.4 稳定性考察 精密吸取供试品液(S5)2 mL,照“2.5.3”项下方法于 30、60、90、120、150、180 min 测定 A 值,RSD 为 2.15%,表明样品在 180 min 内稳定。

2.5.5 重复性考察 精密吸取供试品液(S5)2 mL,照“2.5.3”项下方法测定 A 值,并根据标准曲线计算总多糖的量,得其 RSD 值为 1.32%,表明该方法重复性良好。

2.5.6 加样回收率试验 精密吸取供试品液(S5)1 mL 5 份,加入“2.5.1”项下葡萄糖对照品溶液各 1 mL,照“2.5.3”项下方法测定 A 值,并计算总多糖含量,得总多糖的平均回收率为 99.89%,RSD 为 2.21%,表明加样回收率良好。

2.5.7 样品测定 精密吸取“2.2”项下药液 40 mL,加入无水乙醇使其醇含量达到 80%,放置过夜,倾去上清液,挥至无醇味,加入蒸馏水溶解并转移至 250 mL 量瓶中,再从中吸取 1 mL 置于 250 mL 量瓶中,加蒸馏水至刻度,摇匀,得供试品溶液,分别吸取各供试品溶液 2 mL 于 10 mL 具塞刻度试管中,各加入 5 mL 0.2%蒽酮-硫酸试液,摇匀,迅速置于冰水中冷却,然后置沸水浴中加热 10 min,取出,再在冰水浴中冷却 10 min,紫外可见分光光度计下,于 620 nm 处测定 A 值。按“2.5.2”项下标准曲线计算所测样品中总多糖含量。

2.6 干膏得率的测定

精密吸取“2.2”项下药液 10 mL,置已干燥至恒定质量的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 ℃干燥 3 h,取出,置干燥器中冷却 30 min,精密称定质量,计算出膏率。

2.7 总峰面积及特征图谱

取“2.3.3”项下 S1~S9 号供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件,记录 100 min 内的色谱图,见图 1,采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)建立水提液萃取后的 HPLC 特征图谱及总峰面积和,指纹图谱信息可以反映样品的整体特征,在

HPLC 色谱图中标定出 11 个共有峰。并对主要色谱峰进行指认及药材归属判断, 见图 2, 结合对照品保留时间、紫外吸收光谱图指认出复方中 4 个成分, 1、4、5、8 号峰分别为杯菟甾酮和人参皂苷 R_{g_1} 、

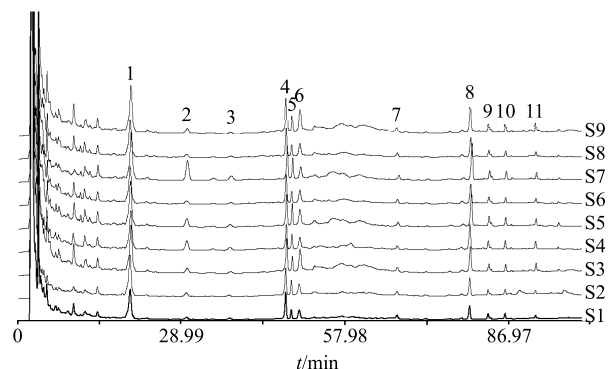
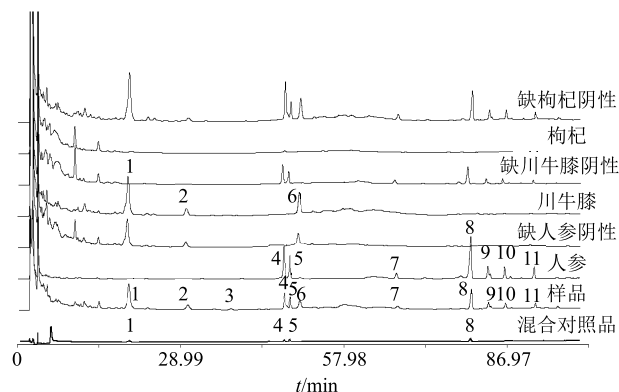


图 1 正交试验 HPLC 指纹图谱叠加图

Fig. 1 HPLC fingerprint diagram by orthogonal test



1-杯菟甾酮 4-人参皂苷 R_{g_1} 5-人参皂苷 R_e 8-人参皂苷 R_{b_1}
1-cyasterone 4-ginsenosides R_{g_1} 5-ginsenosides R_e 8-ginsenosides R_{b_1}

图 2 HPLC 指纹图谱中各共有峰归属色谱图

Fig. 2 Each common peak attribution in HPLC fingerprint

R_e 、 R_{b_1} 。结合各单味药材的 HPLC 指纹图谱比对分析, 11 个共有峰中 4、5、7~11 号峰来源于人参药材, 1、2、6 号峰来源于川牛膝药材, 3 号峰来源不明确, 而复方中枸杞由于制样工艺的关系并未在指纹图谱中有所体现, 并统计指纹图谱中的特征峰的总峰面积之和。

2.8 正交试验设计

在前期预试验的基础上, 根据药物的性质并结合实际生产要求, 以加水量 (A)、提取时间 (B)、提取次数 (C) 为考察因素, 安排 $L_9(3^4)$ 正交试验, 并依法测定各指标成分的含量及出膏率。试验安排与结果见表 1。

2.9 指标权重的确立

2.9.1 AHP 法确定权重系数 根据复方中药味含量多少、君臣佐使配伍规律及各成分药理作用强弱, 将各指标含量和出膏率作为权重指标予以量化, 即将 8 项指标分成 5 个层次, 并确定各指标的优先顺序: 总多糖含量 > 总峰面积和 > 杯菟甾酮 > 人参皂苷 R_{g_1} = 人参皂苷 R_e = 人参皂苷 R_{b_1} = 人参二醇 > 干膏率, 构建成对比较的优先判断矩阵, 并赋予各项指标的相对评分, 见表 2。

根据表 2 评分结果, 总多糖含量, 总峰面积和, 杯菟甾酮, 人参皂苷 R_{g_1} 、 R_e 、 R_{b_1} , 人参二醇和干膏率 8 项指标经层次分析后得到的权重系数分别为 0.313 1、0.210 8、0.132 7、0.075 0、0.075 0、0.075 0、0.075 0、0.043 4, 一致性比例因子 (CR) = 0.006 9 < 0.10, 即指标优先比较判断矩阵具有满意的一致性, 求得的权重系数有效。

2.9.2 CRITIC 法确定权重系数 CRITIC 法是一种

表 1 正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of orthogonal test

试验号	A/倍	B/min	C	D(空白)	提取率/(mg·g ⁻¹)					干膏率/%	总多糖/%	总峰面积和
					杯菟甾酮	人参皂苷 R_{g_1}	人参皂苷 R_e	人参皂苷 R_{b_1}	人参二醇			
S1	6 (1)	40 (1)	1 (1)	(1)	0.15	6.30	1.87	2.45	0.61	44.76	11.67	4 220.70
S2	6 (1)	60 (2)	2 (2)	(2)	0.21	6.66	2.95	3.22	0.75	56.26	17.15	5 179.42
S3	6 (1)	80 (3)	3 (3)	(3)	0.24	8.23	2.70	4.55	1.27	60.61	15.45	6 586.12
S4	9 (2)	40 (1)	2 (2)	(3)	0.20	6.12	3.02	4.57	1.05	55.62	14.62	5 944.27
S5	9 (2)	60 (2)	3 (3)	(1)	0.22	7.64	4.16	6.27	1.57	58.82	15.22	7 117.71
S6	9 (2)	80 (3)	1 (1)	(2)	0.18	6.31	2.22	3.52	0.64	49.67	11.09	4 967.35
S7	12 (3)	40 (1)	3 (3)	(2)	0.21	6.94	3.85	6.01	1.08	60.78	15.58	7 353.88
S8	12 (3)	60 (2)	1 (1)	(3)	0.18	5.03	1.71	2.07	0.99	49.81	10.28	3 924.35
S9	12 (3)	80 (3)	2 (2)	(1)	0.23	8.80	2.72	4.49	0.97	60.25	16.91	6 211.64

表 2 指标成对比较的优先判断矩阵

Table 2 Priority matrix for paired comparison of index

权重指标	总多糖	总峰面积和	杯菟甾酮	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	人参二醇	干膏率
总多糖	1	2	3	4	4	4	4	5
总峰面积和	1/2	1	2	3	3	3	3	4
杯菟甾酮	1/3	1/2	1	2	2	2	2	3
人参皂苷 Rg ₁	1/4	1/3	1/2	1	1	1	1	2
人参皂苷 Re	1/4	1/3	1/2	1	1	1	1	2
人参皂苷 Rb ₁	1/4	1/3	1/2	1	1	1	1	2
人参二醇	1/4	1/3	1/2	1	1	1	1	2
干膏率	1/5	1/4	1/3	1/2	1/2	1/2	1/2	1

客观的权重赋值方法,其基本思路是确定指标的客观权重以评价指标间的对比强度及冲突性作为基础,通过标准差的形式将对比强度体现出来,指标间的相关性将冲突性体现出来,是一种能客观反映指标权重的计算方法,中药复方在提取过程中药对的配伍变化及成分间的相互作用,使得各成分对总体效果的贡献不同,本研究采用 CRITIC 法确定各指标间的权重,将表 1 中的数据经线性插值进行标准化处理[指标成分=(实测值-最小值)/(最大值-最小值)],根据 SPSS 20.0 软件处理数据得到相关系数矩阵(A),表明两两成分比较呈正相关,后由 C_j 、 $W_j^{[15]}$ 公式得到总多糖含量,总峰面积和,杯菟甾酮,人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁,人参二醇和干膏率 8 项指标的权重系数分别为 0.137 0、0.131 6、0.115 4、0.113 6、0.123 9、0.127 5、0.117 5、0.133 4。

$$A = \begin{bmatrix} 1.000 & 0.710 & 0.802 & 0.728 & 0.681 & 0.607 & 0.386 & 0.843 \\ 0.710 & 1.000 & 0.776 & 0.689 & 0.898 & 0.975 & 0.726 & 0.887 \\ 0.802 & 0.776 & 1.000 & 0.772 & 0.607 & 0.664 & 0.678 & 0.954 \\ 0.728 & 0.689 & 0.772 & 1.000 & 0.456 & 0.592 & 0.428 & 0.718 \\ 0.681 & 0.898 & 0.607 & 0.456 & 1.000 & 0.933 & 0.692 & 0.756 \\ 0.607 & 0.975 & 0.664 & 0.592 & 0.933 & 1.000 & 0.739 & 0.795 \\ 0.386 & 0.726 & 0.678 & 0.428 & 0.692 & 0.739 & 1.000 & 0.686 \\ 0.843 & 0.887 & 0.954 & 0.718 & 0.756 & 0.795 & 0.686 & 1.000 \end{bmatrix}$$

$$C_j = \delta_j \sum_{i=1}^n (1 - r_{ij})$$

$$W_j = C_j / \sum_{j=1}^m C_j$$

C_j 表示第 j 个指标所包含的信息量、 r_{ij} 表示指标 i 和 j 之间的相关系数、 W_j 表示第 j 个指标的客观权重、 δ_j 为标准化后列向量的标准差

2.9.3 AHP-CRITIC 混合加权法确定权重 根据复

方主治功效及组方比列的特点, AHP 法量化了评价指标两两比较判断的优先信息, 主观评价了各指标的权重系数, 基本体现了复方君臣佐使配伍规律及各成分对总体效果贡献的主次顺序, 又采用 CRITIC 法客观评价了相应指标的权重系数, 不仅考虑各样本数据的变异性对赋权的影响, 还考虑了各指标间的冲突性, 使得赋权更加客观, 本实验将 2 种方法结合起来计算综合权重, 即注重客观, 又不失主观, 以期评价结果更加科学、合理。综合权重 ($\omega_{综合ij}$) = $\omega_{AHP-ij} \omega_{CRITIC-ij} / \sum \omega_{AHP-ij} \omega_{CRITIC-ij}$, 计算得总多糖含量, 总峰面积和, 杯菟甾酮, 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁, 人参二醇和干膏率 8 项指标的综合权重系数分别 0.335 3、0.216 9、0.119 7、0.066 6、0.072 6、0.074 7、0.068 9、0.045 3。

2.10 综合评价结果的比较

分别用 AHP 法、CRITIC 法及 AHP-CRITIC 混合加权法计算得到的权重系数, 对实验结果进行综合评分比较, 结果见表 3, 直观分析, 3 种方法计算得到的综合评分结果差异不大, 通过相关系数分析,

表 3 3 种赋权法综合评分结果

Table 3 Synthetical scores of three weighting methods

试验号	AHP	CRITIC	AHP-CRITIC
1	59.47	57.15	59.71
2	80.23	74.98	80.80
3	88.07	86.39	88.05
4	79.92	78.22	80.21
5	93.56	95.12	93.50
6	64.63	64.00	64.66
7	90.69	89.80	91.04
8	58.09	58.00	57.95
9	88.12	84.78	88.37

AHP 法与混合加权法的相关系数为 1.000, CRITIC 法与混合加权法的相关系数为 0.988, AHP 法与 CRITIC 法的相关系数为 0.990, 三者相关性显著 ($P < 0.05$); 就权重系数而言, AHP 法与 CRITIC 法的相关系数为 0.517, 两者相关性不显著 ($P = 0.190 > 0.05$), 说明 2 种方法所反映的信息不具有叠加性, 相比而言, AHP-CRITIC 混合加权法从主、客观 2 方面考虑, 所体现的信息更为全面, 较单一方法更合理、更符合实际。

2.11 提取工艺的确定

根据 AHP-CRITIC 混合加权法计算得到的权重系数对实验结果进行综合评分, 采用 SPSS 20.0 软件处理实验数据, 直观分析结果见表 4, 方差分析见表 5。

表 4 正交试验综合评分结果

Table 4 Comprehensive evaluation of orthogonal test

试验号	A	B	C	D (空白)	综合评分
1	1	1	1	1	59.71
2	1	2	2	2	80.80
3	1	3	3	3	88.05
4	2	1	2	3	80.21
5	2	2	3	1	93.50
6	2	3	1	2	64.66
7	3	1	3	2	91.04
8	3	2	1	3	57.95
9	3	3	2	1	88.37
K_1	228.56	230.96	182.32	241.58	
K_2	238.37	232.25	249.38	236.50	
K_3	237.36	241.08	272.59	226.21	
R	9.81	10.12	90.27	15.37	

表 5 方差分析结果

Table 5 Results of variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	F 值	显著性
A	19.410 7	2	0.474 8	
B	20.227 5	2	0.494 8	
C	1 464.935 6	2	35.834 3	$P < 0.05$
D (误差)	40.880 8	2		

* $P < 0.05$

根据表 4 中极差 (R) 的大小, 各因素对工艺影响程度为 $C > B > A$, 方差分析结果表明, C 因素对试验结果具有显著性影响 ($P < 0.05$), A、B 因素的影响不显著, 取各因素较高水平的组合, 得最佳工艺为 $A_2B_3C_3$, 即 9 倍量水, 提取 3 次, 每次 80 min。

2.12 工艺验证

为了验证试验结果的准确性及可靠性, 称取处方量药材 3 份, 按优选的最佳工艺进行提取, 测定各项指标, 结果见表 6, 由表 6 可知, 3 批验证试验综合评分平均值为 99.06, RSD 为 0.18%。说明优化工艺合理、稳定可行、重复性良好, 可用于该复方工业化提取。

3 讨论

本实验在优化提取工艺的过程中, 考虑到各成分的溶解性能及实验成本, 选择以水煎煮提取有效成分, 中药方剂水煎煮工艺一直是最有效、最重要的提取手段, 但也存在一些问题, 亲脂性强的成分难以溶出, 静置, 一些溶解性小的成分易被滤除, 醇沉步骤也会导致一部分有效成分被沉淀除去, 后续的课题研究中, 将进一步比较水提工艺与其他溶剂提取工艺, 择优选用。

实验中加入人参二醇为考察指标, 是因检索到

表 6 验证结果

Table 6 Verification testing results

批次	提取率/(mg·g ⁻¹)					干膏率/%	总多糖/%	总峰面积和	综合评分
	杯苋甾酮	人参皂苷 R_{g1}	人参皂苷 R_e	人参皂苷 R_{b1}	人参二醇				
1	0.23	8.76	4.15	6.20	1.56	60.65	17.17	7 351.90	99.21
2	0.22	8.82	4.23	6.25	1.57	60.75	17.13	7 331.34	98.86
3	0.24	8.66	4.13	6.19	1.54	60.61	16.98	7 344.26	99.11
RSD/%	4.35	0.92	1.27	0.52	0.98	0.12	0.59	0.14	0.18

有文献支撑其在增强免疫方面有相关作用^[16-17], 人参二醇属脱水皂苷元, 须经人参二醇型皂苷一系列的水解、差向异构化、侧链环合等反应生成, 前期, 课题组曾测定未经水解反应的样品, 发现供试品在

色谱条件下其 HPLC 图谱在相应位置没有出峰, 说明人参中不存在游离的人参二醇。本实验主要研究与增强免疫相关的成分, 在选取各单体含量及干浸膏得率为指标的同时, 还加入了指纹图谱分析, 用

特征色谱峰的总面积之和相结合的方法,对优化的提取工艺进行多指标的综合评定,较以往的测定方法更全面、更系统、更有效,结合特征图谱,更能全面反映提取物的信息。在正交试验前,首先进行了单因素考察,预试验对提取工艺的因素与水平进行了初步筛选。对于杯苋甾酮,人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 的同时测定,发现水提液萃取后,于 203 nm 处测定,19 min 出峰,吸收峰的光谱图与杯苋甾酮对照品的光谱图一致,确定此峰为杯苋甾酮的吸收峰,相比药典方法,含量变化不大,兼顾实验成本及其他成分测定,确定同时测定 4 个成分,并且实验考察了多波长切换法,即设定杯苋甾酮在 243 nm 处,人参皂苷在 203 nm 处同时测定。结果多波长切换法同时测定时整体峰形欠佳。杯苋甾酮在 243 nm、203 nm 处均有吸收峰,而人参皂苷只能在末端吸收,最终实验确定在 203 nm 处同时测定 4 成分。

本实验采用 AHP-CRITIC 混合加权法来指导各评价指标的权重系数,权重系数的确立一直是中药提取工艺中多指标评价需考虑的问题,目前较常用的有主观综合评分法、总评归一值法、AHP 层次分析法、CRITIC 法,本实验所提 AHP 层次分析法在一定程度上体现出了复方君臣佐使配伍的规律特点,但也受笔者主观判断的影响,存在片面性有时会忽略实际样本数据的信息,CRITIC 法虽是客观利用数据信息,但却往往忽视各指标间的轻重关系,特别是中药复方的配伍特点,处方药味对复方功效主治的贡献主次不一,AHP-CRITIC 混合加权法则结合了不同类型赋权法的优点,既注重主观,又不失客观,比单一赋权法更能区分样本数据,体现的数据信息更全面,保证数据点均匀分散,结果稳定可靠,本实验所优选的工艺,经验证稳定可行,为该方的进一步研究提供数据支持。

参考文献

- [1] 王桂蓉,黄涛,李根. 参杞口服液质量标准研究 [A] // 2008 年成渝药学年会论文集 [C]. 成都: 成渝药学年会, 2008.
- [2] 郭俊生,陈洪章,赵法伋,等. 参杞口服液的抗衰老作用 [J]. 中国老年学杂志, 1996, 16(1): 24-27.
- [3] 宋佳,黄飞龙,段树卿,等. Plackett-Burman 设计联合 Box-Behnken 设计-效应面法优化心神宁片的提取工艺 [J]. 中草药, 2016, 47(3): 430-435.
- [4] 石浩源,王春雷,赵艳敏,等. 正交试验结合体外抑制肠平滑肌收缩活性研究优化固公果根总三萜提取工艺 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(11): 1581-1586.
- [5] 余姣,陈娇,周文杰,等. 基于抗炎解热药效的小儿温热口服液中心复合设计-效应面法提取工艺优化研究 [J]. 中草药, 2016, 47(20): 3632-3638.
- [6] 殷明阳,刘毅,那溪元,等. 正交试验优化止咳平喘颗粒处方药材的乙醇提取工艺 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(10): 1208-1211.
- [7] 周泽琴,蔡延渠,张雄飞,等. 中药水提取有效成分转移率低的问题分析 [J]. 中草药, 2014, 45(23): 3478-3485.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [9] 杨铭,周昕,谢瑞方,等. 用层次分析法结合 CRITIC 法研究复方自身清颗粒提取工艺的多指标权重 [J]. 药学服务与研究, 2009, 9(1): 36-39.
- [10] 杨秀青,石征蓉,谷江华,等. 银菊解毒口服液大孔树脂纯化工艺研究 [J]. 中草药, 2017, 48(23): 4904-4911.
- [11] 石振武,赵敏. 运用层次分析法确定指标的权值 [J]. 科技和产业, 2008, 8(2): 23-25.
- [12] 刘小妹,施崇精,程中琴,等. 人参水解物中人参二醇的工艺优化及其 HPLC-ELSD 含量测定方法 [J/OL]. 天然产物研究与开发, 2018-04-18.
- [13] 林丽,王琰,王福星,等. 基于硫酸-蒽酮法对不同产地藏药线叶龙胆多糖的含量测定 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14): 2774-2776.
- [14] 辛敏,刘轩,詹欣,等. 硫酸-紫外法与苯酚-硫酸法测定千两茶中总多糖的比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 62-65.
- [15] 黄潇,刘婧,付小梅,等. 基于 CRITIC 法计算权重系数的 Box-Behnken 响应面法优化栀子炭微波炮制工艺研究 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1133-1138.
- [16] 贾执瑛,谢雯,王晓艳,等. 人参主要成分对大鼠免疫功能的比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3363-3366.
- [17] 郑智茵,尹利明,庄海峰,等. 人参二醇组皂苷提取物对再生障碍性贫血小鼠免疫调节作用的研究 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(6): 790-795.