

## 基于正交试验设计与 BP 神经网络优化益气活血方水提工艺研究

易丽娟, 李 雅\*, 邹苏兰, 柳 兰, 焦筱淇, 郭晓彤

湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

**摘 要:** 目的 优化筛选益气活血方的水提工艺参数。方法 在单因素实验基础上, 采用正交试验设计, 以加水量、提取时间、浸泡时间为考察因素, 丹酚酸 B 和羟基红花黄色素 A 的转移率及浸膏得率为评价指标, 采用 G1-熵权法赋权得到综合评分。通过正交试验设计进行分析得到最佳水提工艺, 再通过 BP 神经网络建模进行网络模型优化和目标寻优。验证试验对比 2 种分析方法, 寻找益气活血方的最佳水提工艺参数。结果 基于 2 种分析方法对比发现, 正交试验分析得到最佳水提工艺的综合评分略高于 BP 神经网络建模结果, 故最终确定该益气活血方最佳水提工艺参数为水提 3 次、浸泡 0.5 h、加水量 20 倍、提取时间 3.5 h。结论 优选出的益气活血方水提最佳工艺稳定可行, 为复方中药的新药开发和现代化研究提供了新的思路 and 参考。

**关键词:** 益气活血方; 水提工艺; G1-熵权法; 正交试验; 丹酚酸 B; 羟基红花黄色素 A; BP 神经网络

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)18-4305-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.18.008

## Optimization of water extraction technology of Yiqi Huoxue Prescription based on orthogonal test design and BP neural network

YI Li-juan, LI Ya, ZOU Su-lan, LIU Lan, JIAO Xiao-qi, GUO Xiao-tong

Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

**Abstract: Objective** To optimize the water extraction technology parameters of Yiqi Huoxue Prescription (YHP). **Methods** On the basis of single factor experiment, orthogonal experiment design was used to evaluate the transfer rate and extraction yield of salvianolic acid B and hydroxysafflower yellow A by using adding water, extraction time and soaking time as factors. The comprehensive score was obtained by G1-entropy weight method. The optimal water extraction technology was obtained by orthogonal test design, and another method-BP neural network modeling was used to optimize the network model and target optimization. The two analytical methods were compared in the verification experiment to find the optimal water extraction technology parameters of YHP. **Results** Based on the comparison of the two analytical methods, it was found that the comprehensive score of the optimal water extraction technology obtained by orthogonal test analysis was slightly higher than that obtained by BP neural network modeling. Therefore, it was finally determined that the optimal water extraction technology parameters of YHP were as follow: water extraction for three times, soaking for 0.5 h, adding water of 20 times, and extracting time for 3.5 h. **Conclusion** The optimal water extraction technology of YHP is stable and feasible, which provides new ideas and references for the development and modernization of new drugs of compound Chinese medicine.

**Key words:** Yiqi Huoxue Prescription; water extraction technology; G1-entropy weight method; orthogonal test; salvianolic acid B; hydroxysafflower yellow A; BP neural network

心力衰竭是一种任何心肌损伤导致心脏结构或功能变化, 引起心室泵血或充盈功能低下, 以心功能和症状逐渐恶化为特征的临床综合征<sup>[1]</sup>。

American Heart Association (AHA) 发布的数据表明 2030 年心衰的患病率预计将会进一步升高 46%<sup>[2]</sup>, 亚洲心衰登记处的心源性猝死报告显示 19.2% 的患

收稿日期: 2019-05-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81673955); 湖南省自然科学基金资助项目 (2017JJ2206); 湖南中医药大学中药学一流学科建设项目 (4901-0200002006)

作者简介: 易丽娟 (1995—), 女, 在读硕士研究生, 中药学专业。Tel: 15074861967 E-mail: 867117834@qq.com

\*通信作者 李 雅 (1973—), 女, 副教授, 硕士生导师, 从事中药新药研究与开发。Tel: 18229720816 E-mail: liya112@163.com

者在1年内因心衰死亡或住院<sup>[3]</sup>。中国人口日渐老龄化,心衰已经成为我国重大的公共卫生问题。2014年中国心衰诊断和治疗指南中明确指出中医药治疗心衰有良好疗效,它能改善心衰患者生活质量、延缓病情进展<sup>[4]</sup>,并在减少化学药毒副作用方面发挥着重要的作用<sup>[5]</sup>。

益气活血方(Yiqi Huoxue Prescription, YHP)为湖南中医药大学附属第一医院临床科研方,由黄芪、丹参、红花、葶苈子和茯苓等中药组成治疗心衰。方中以黄芪为君药,补气升气、利水消肿,丹参和红花共为臣药,辅助黄芪活血通经、祛瘀止痛<sup>[6]</sup>,再与茯苓和葶苈子等药配伍,共奏益气活血利水之功。经前期大量临床及动物实验表明其具有确切的抗心衰作用<sup>[7-9]</sup>,本研究为方便临床使用拟将其开发成益气活血颗粒,为确保其后期质量的稳定可控,前期提取工艺研究分为黄芪等醇提工艺和丹参、红花等水提工艺研究,本实验旨在优选出水提工艺最佳参数,故选取水溶性有效成分丹酚酸 B(SAB)、羟基红花黄色素 A(HSYA)的转移率与浸膏得率作为评价指标,多指标成分优选 YHP 水提工艺参数,从而保证其结果的科学性合理性。

G1-熵权法是 G1 法<sup>[10]</sup>与熵权法<sup>[11]</sup>组合赋权的方法,它既可避免主观的随意性又可增加各指标的内在联系,尤其适合成分复杂并具有内在关联的复方中药的研究<sup>[12-13]</sup>。BP 神经网络是一种按误差逆传播算法训练的多层前馈网络,具有信号前向传播和误差反向传播反复进行交替训练的特点<sup>[14-15]</sup>,适用于研究复杂的非线性关系。本实验采用  $L_9(3^4)$  正交设计,利用 G1-熵权法进行权重赋值计算综合评分,再对比正交试验分析和 BP 神经网络建模 2 种分析方法,对 YHP 的最佳水提工艺参数进行寻优。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent Technologies 1200 Series 高效液相色谱仪, Agilent ChemStation 色谱工作站, 美国安捷伦公司; DK-98-11A 型电热恒温水浴锅, 天津泰斯特仪器有限公司; KQ-3200B 型超声波清洗器, 昆山美美超声仪器有限公司; JE-1002 型电子天平, 上海浦春计量仪器有限公司; CP114 分析天平, 上海奥豪斯仪器有限公司; 101 型电热鼓风干燥箱, 北京中兴伟业仪器有限公司。

### 1.2 试剂

对照品 SAB(批号 P18J9F65871, HPLC 测得

质量分数 $\geq 98\%$ )、HSYA(批号 R31A9F69105, HPLC 测得质量分数 $\geq 98\%$ )均购于上海源叶生物科技有限公司;超纯水、蒸馏水,湖南中医药大学模拟药厂;色谱级甲醇、乙腈;优级纯磷酸;其他化学试剂均是分析纯。

丹参、红花、茯苓、葶苈子,均购于湖南省昌都振兴中药饮片实业有限公司,经湖南省昌都振兴中药饮片实业有限公司中药师张忠勤鉴定,丹参为唇形科丹参属植物丹参 *Salviae miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎,红花为菊科红花属植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,茯苓为多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核,葶苈子为十字花科播娘蒿属植物播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl. 的干燥成熟种子。

## 2 方法与结果

### 2.1 YHP 水提供试品溶液的制备

称取 YHP 原药材 100 g(丹参 30 g,红花 10 g,茯苓 30 g,葶苈子 30 g),分别以不同水提工艺条件对其进行加热回流提取,滤过,滤液备用,即得。

### 2.2 SAB 转移率的测定

**2.2.1 色谱柱与系统适应性条件<sup>[16]</sup>** Hypersil BDS  $C_{18}$  色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m);以乙腈-0.1%磷酸水溶液(22:78)为流动相等度洗脱;柱温为 30  $^{\circ}$ C;体积流量为 1.2 mL/min;检测波长为 286 nm;进样量为 10  $\mu$ L;理论塔板数按 SAB 峰计算应不低于 6 000。

**2.2.2 SAB 对照品溶液的制备** 精密称取 SAB 对照品 10 mg(校正后)于 10 mL 量瓶中,加甲醇-水(8:2)混合溶液制成含 SAB 1.00 mg/mL 的溶液,即得。

**2.2.3 丹参药材供试品溶液的制备** 精密称取丹参粉末(过三号筛)150.4 mg,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇-水(8:2)混合溶液 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 140 W,频率 42 kHz)30 分钟,放冷称量,用甲醇-水(8:2)混合溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 mL,移至 10 mL 量瓶中,加甲醇-水(8:2)混合溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.4 丹参阴性供试品溶液的制备** 取不含丹参的 YHP 阴性药材,按“2.1”项下方法制得丹参阴性供试品溶液。

**2.2.5 专属性试验** 精密吸取按“2.2.2”“2.2.3”

“2.1”和“2.2.4”项下方法制备的 SAB 对照品溶液、丹参药材供试品溶液、YHP 水提供试品溶液和丹参阴性供试品溶液各 10  $\mu$ L, 在“2.2.1”项色谱条件下测定, 结果见图 1。由图 1 可知丹参阴性供试品溶液色谱图中未见 SAB 处出现色谱峰, 表明阴性无干扰。

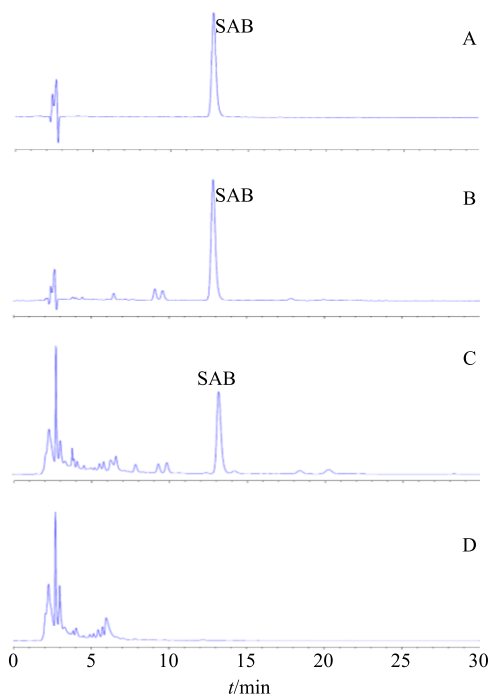


图 1 SAB 对照品 (A)、丹参供试品 (B)、YHP 水提供试品 (C)、丹参阴性供试品 (D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of SAB reference substance (A), *S. miltiorrhiza* test substance (B), YHP water extract test substance (C), and *S. miltiorrhiza* negative test substance (D)

**2.2.6 线性关系的考察** 精密吸取 1.00 mg/mL SAB 对照品溶液进行倍比稀释, 制成系列质量浓度溶液, 分别精密吸取各对照品溶液 10  $\mu$ L, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 以进样质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 相应的峰面积为纵坐标 ( $Y$ ), 绘制标准曲线, 得到 SAB 的回归方程  $Y=8\ 120.5 X-459.41$ ,  $r^2=0.999\ 9$ , 表示 SAB 在 100~1 000  $\mu$ g/mL 呈良好线性关系。

**2.2.7 精密度试验** 精密吸取按“2.2.2”项下方法制备的 SAB 对照品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下重复进样 6 次, 每次进样 10  $\mu$ L, SAB 峰面积的 RSD 为 0.17%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.8 重复性试验** 取同一工艺条件下按“2.1”项下方法制备 6 份 YHP 水提供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样, 结果 SAB 质量分数的 RSD 为

1.00%, 表明方法重复性良好。

**2.2.9 稳定性试验** 取同一工艺条件下 YHP 水提供试品溶液分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 结果 SAB 峰面积的 RSD 为 1.32%, 表明 YHP 水提供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.2.10 加样回收率试验** 取已测定 SAB 含量的 YHP 水提供试品溶液 6 份, 每份 1 mL, 精密加入 0.2 mg/mL SAB 对照品溶液 1 mL, 按“2.2.1”项下色谱条件进样分析。结果显示, SAB 的平均加样回收率为 95.37%, RSD 为 0.34%, 说明该方法回收率良好。

**2.2.11 SAB 转移率的计算** 精密吸取按“2.2.3”项下方法制备的丹参药材供试品溶液和按“2.1”项下方法制备的 YHP 水提供试品溶液各 10  $\mu$ L, 在“2.2.1”项色谱条件下测定, 记录 SAB 峰面积, 分别计算丹参药材中 SAB 的含量 ( $N_0$ ) 和 YHP 水提液中 SAB 的含量 ( $N$ ), 并按公式计算 YHP 水提液中 SAB 的转移率 ( $y_1$ )。

$$y_1 = N/N_0$$

### 2.3 HSYA 转移率的测定

**2.3.1 色谱柱与系统适应性条件**<sup>[16]</sup> Hypersil BDS C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 以甲醇-乙腈-0.7%磷酸水溶液 (26:2:72) 为流动相等度洗脱; 柱温为 30  $^{\circ}$ C; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 403 nm; 进样量 10  $\mu$ L; 理论塔板数按 HSYA 峰计算应不低于 3 000。

**2.3.2 HSYA 对照品溶液的制备** 精密称取 HSYA 对照品 10 mg (校正后) 于 10 mL 量瓶中, 加 25% 甲醇定容制成 1.00 mg/mL 的溶液, 即得。

**2.3.3 红花药材供试品溶液的制备** 精密称取红花粉末 (过三号筛) 400.6 mg, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 25% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 300 W, 频率 50 kHz) 40 min, 放冷称定质量, 用 25% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 取续滤液, 即得红花药材供试品溶液。

**2.3.4 红花阴性供试品溶液的制备** 取不含红花的 YHP 阴性药材, 按“2.1”项下方法制得红花阴性供试品溶液。

**2.3.5 专属性试验** 精密吸取按“2.3.2”“2.3.3”“2.1”和“2.3.4”项下方法制备的 HSYA 对照品溶液、红花药材供试品溶液、YHP 水提供试品溶液和红花阴性供试品溶液各 10  $\mu$ L, 在“2.3.1”项色谱

条件下测定,结果见图2。由图2可知,红花阴性供试品溶液色谱图中未见 HSYA 的色谱峰,表明阴性无干扰。

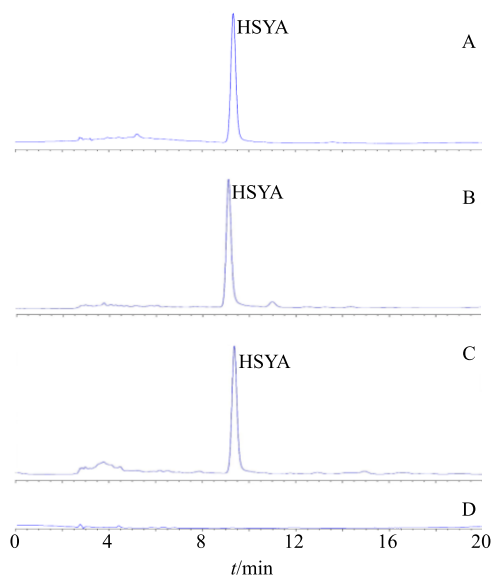


图2 HSYA 对照品 (A)、红花供试品 (B)、YHP 水提供试品 (C)、红花阴性供试品 (D) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of HSYA reference substance (A), safflower test substance (B), YHP water extract test substance (C), and safflower negative test substance (D)

**2.3.6 线性关系的考察** 精密吸取 1.00 mg/mL HSYA 对照品溶液进行倍比稀释,制成一系列质量浓度溶液,分别精密吸取各对照品溶液 10  $\mu$ L,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,以进样浓度为横坐标 ( $X$ ),以相应的峰面积为纵坐标 ( $Y$ ),绘制标准曲线,得到 HSYA 的回归方程  $Y=16\ 816 X-401.19$ ,  $r^2=0.999\ 6$ ,表示 HSYA 在 50~1 000  $\mu$ g/mL 呈良好线性关系。

**2.3.7 精密度试验** 精密吸取“2.3.2”项下制备的 HSYA 对照品溶液,在“2.3.1”项下色谱条件重复进样 6 次,每次进样 10  $\mu$ L, HSYA 峰面积的 RSD 为 0.36%,表明仪器精密度良好。

**2.3.8 重复性试验** 取同一工艺条件下按“2.1”项下方法制备 6 份 YHP 水提供试品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样,结果 HSYA 质量分数的 RSD 为 1.24%,表明方法重复性良好。

**2.3.9 稳定性试验** 取同一 YHP 水提供试品溶液分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 测定,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定, HSYA 峰面积的 RSD 为 1.41%,表明 YHP 水提供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.3.10 加样回收率试验** 取已测定 HSYA 含量的

YHP 水提供试品溶液 6 份,每份 1 mL,精密加入 0.13 mg/mL HSYA 对照品溶液 1 mL,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析。结果显示, HSYA 的平均加样回收率为 98.73%, RSD 为 1.40%,说明该方法回收率良好。

**2.3.11 HSYA 转移率的计算** 精密吸取按“2.3.3”项下方法制备的红花药材供试品溶液和按“2.1”项下方法制备的 YHP 水提供试品溶液各 10  $\mu$ L,在“2.3.1”项下色谱条件下测定,记录 HSYA 峰面积,计算红花药材中 HSYA 的含量 ( $M_0$ ) 和 YHP 水提液中 HSYA 的含量 ( $M$ ),并按公式计算 YHP 水提液中 HSYA 的转移率 ( $y_2$ )。

$$y_2 = M/M_0$$

## 2.4 浸膏得率的测定<sup>[16]</sup>

精密移取“2.1”项下制备的 YHP 水提液 25.00 mL,置干燥至恒定质量的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105  $^{\circ}$ C 真空干燥 3 h,移至干燥器中,冷却 30 min,迅速精密称定质量,按公式计算浸膏得率 ( $y_3$ ),即得。

$$y_3 = mV_{\text{总}}/25\ m_{\text{总}}$$

$m$  为残渣质量,  $V_{\text{总}}$  为 YHP 水提液总体积,  $m_{\text{总}}$  为 YHP 药材总质量

## 2.5 多指标的组合赋权

**2.5.1 G1 法** G1 法是在层次分析法 (AHP) 的基础上改进的一种主观赋权法,较 AHP 具有计算速度快和无需一致性检验的优点<sup>[17]</sup>。依据 YHP 复方中配伍原则和功效相关药效物质,确定 YHP 水提 3 个评价指标的顺序关系为  $y_1=y_2>y_3$ ,且相邻指标的权重评价标度为  $r_2$  ( $y_1$  与  $y_2$ ) = 1,  $r_3$  ( $y_2$  与  $y_3$ ) = 1.6,最后按公式计算指标的权重系数 ( $w_k$ )。

$$w_k = (1 + \sum_{k=2}^n \prod_{i=k}^n r_i)^{-1}$$

$$w_{k-1} = r_k w_k, k = n, n-1, \dots, 2 \quad (n \text{ 为评价指标个数})$$

**2.5.2 熵权法** 熵权法是一种根据各指标原始数据所提供信息量的大小来确定各指标权重的客观赋权法。该指标的原始数据熵值越小,提供的信息量就越大,其在综合评价中所起的作用也越大,即所占权重就越大,反之,其所占权重就越小<sup>[18]</sup>。采用 Eva Gear Version1.1.6820 软件分别计算 YHP 水提工艺 3 个评价指标的权重系数 ( $w_h$ )。

**2.5.3 组合权重的确定<sup>[19]</sup>** 由 G1 法得到的主观权重为  $w_1$ ,熵权法得到的客观权重为  $w_2$ ,则组合权重 ( $w_j$ ) 按公式进行计算。

$$w_j = w_{1j}w_{2j} / \sum_{j=1}^n w_{1j}w_{2j}$$

## 2.6 提取次数的考察

称取 YHP 药材饮片共 100 g, 第 1 次水提前浸泡 0.5 h、加 8 倍量的水、水提 1.5 h; 第 2 次水提药渣加 6 倍量的水、水提 1 h, 第 3 次水提药渣加 6 倍量的水、水提 1 h。分别考察提取次数 1、2、3 次, 以水提液中的有效成分 SAB、HSYA 的转移率与浸膏得率为评价指标, 结果见表 1, 第 3 次水提

表 1 水提次数试验设计

| Table 1 Design of water extraction times |           |            |          |
|------------------------------------------|-----------|------------|----------|
| 提取次数                                     | SAB 转移率/% | HSYA 转移率/% | 浸膏得率/%   |
| 第 1 次                                    | 43.567 4  | 53.793 4   | 17.841 1 |
| 第 2 次                                    | 17.890 7  | 10.025 1   | 6.335 2  |
| 第 3 次                                    | 6.405 8   | 2.304 3    | 2.417 5  |
| 第 3 次占比/%                                | 9.439 1   | 3.484 9    | 9.090 5  |

表 2 水提工艺正交试验因素水平及结果

| Table 2 Factors level and result of orthogonal test of water extraction technology |              |           |         |         |        |           |            |          |          |  |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----------|---------|---------|--------|-----------|------------|----------|----------|--|
| 序号                                                                                 | A/倍          | B/h       |         | C/h     | D (误差) | SAB 转移率/% | HSYA 转移率/% | 浸膏得率/%   | $P_j$    |  |
| 1                                                                                  | 6, 4, 4 (1)  | 1.0, 0.5, | 0.5 (1) | 0 (1)   | (1)    | 54.571 0  | 65.291 9   | 22.424 1 | 85.879 4 |  |
| 2                                                                                  | 6, 4, 4 (1)  | 1.5, 1.0, | 1.0 (2) | 0.5 (2) | (2)    | 65.442 6  | 69.292 6   | 23.664 7 | 93.707 5 |  |
| 3                                                                                  | 6, 4, 4 (1)  | 2.0, 1.5, | 1.5 (3) | 1.0 (3) | (3)    | 50.608 0  | 62.869 6   | 24.328 3 | 83.407 4 |  |
| 4                                                                                  | 8, 6, 6 (2)  | 1.0, 0.5, | 0.5 (1) | 0.5 (2) | (3)    | 60.257 6  | 72.997 1   | 24.065 3 | 95.239 1 |  |
| 5                                                                                  | 8, 6, 6 (2)  | 1.5, 1.0, | 1.0 (2) | 1.0 (3) | (1)    | 65.942 1  | 67.576 0   | 24.645 7 | 92.925 6 |  |
| 6                                                                                  | 8, 6, 6 (2)  | 2.0, 1.5, | 1.5 (3) | 0 (1)   | (2)    | 59.915 1  | 64.462 1   | 25.353 6 | 88.536 2 |  |
| 7                                                                                  | 10, 8, 8 (3) | 1.0, 0.5, | 0.5 (1) | 1.0 (3) | (2)    | 65.211 8  | 64.617 0   | 25.025 6 | 90.353 9 |  |
| 8                                                                                  | 10, 8, 8 (3) | 1.5, 1.0, | 1.0 (2) | 0 (1)   | (3)    | 71.252 5  | 62.965 1   | 25.861 4 | 91.491 7 |  |
| 9                                                                                  | 10, 8, 8 (3) | 2.0, 1.5, | 1.5 (3) | 0.5 (2) | (1)    | 68.540 0  | 64.189 9   | 25.733 7 | 91.516 4 |  |
| $K_1$                                                                              | 262.99       | 271.47    |         | 265.91  | 270.32 |           |            |          |          |  |
| $K_2$                                                                              | 276.70       | 278.12    |         | 280.46  | 272.60 |           |            |          |          |  |
| $K_3$                                                                              | 273.36       | 263.46    |         | 266.69  | 270.14 |           |            |          |          |  |
| $R$                                                                                | 13.71        | 14.66     |         | 14.56   | 2.46   |           |            |          |          |  |

表 3 提取工艺评价指标的权重值

| Table 3 Weight values of evaluation indicators for extraction technology |         |         |         |
|--------------------------------------------------------------------------|---------|---------|---------|
| 评价指标                                                                     | $w_1$   | $w_2$   | $w$     |
| SAB 转移率                                                                  | 0.380 9 | 0.231 1 | 0.249 3 |
| HSYA 转移率                                                                 | 0.381 0 | 0.573 8 | 0.619 1 |
| 浸膏得率                                                                     | 0.238 1 | 0.195 1 | 0.131 6 |

各因素在  $\alpha=0.05$  时对实验结果的综合评分均有显著性影响; 由表 2 和表 4 可知, 各因素对实验结果综合评分的作用主次为  $C>B>A$ , 且  $C_2>C_3>C_1$ ,

SAB 的转移率与浸膏得率所占的比例很接近 10%, 最终确定提取次数为 3 次。

## 2.7 正交试验设计及结果分析

**2.7.1 正交试验设计与结果** 称取 YHP 药材共 100 g, 在提取次数单因素考察试验的基础上, 选择加水量 (A)、提取时间 (B)、浸泡时间 (C) 作为考察因素, 设计 3 因素 3 水平  $L_9(3^4)$  的正交试验。结合 G1-熵权法对 SAB、HSYA 的转移率与浸膏得率进行综合评分计算, 正交因素水平见表 2。

采用 G1-熵权法对 YHP 的评价指标进行综合评分 ( $P_j$ ),  $P_j$  依据公式进行计算。YHP 水提各评价指标的权重值见表 3, 水提工艺正交试验结果见表 2, 提取工艺方差分析见表 4。

$$P_j = \sum_{j=1}^n (100 w_{ij} y_j) / y_{j\max}$$

**2.7.2 正交试验结果分析** 由表 4 方差分析可知,

表 4 提取工艺方差分析

| Table 4 Analysis of variance of extraction technology |          |     |          |          |
|-------------------------------------------------------|----------|-----|----------|----------|
| 误差来源                                                  | 偏差平方和    | 自由度 | $F$ 值    | $P$ 值    |
| A                                                     | 34.056 0 | 2   | 27.213 0 | 0.035 0* |
| B                                                     | 35.945 0 | 2   | 28.722 0 | 0.034 0* |
| C                                                     | 44.695 0 | 2   | 35.714 0 | 0.027 0* |
| D (误差)                                                | 1.251 0  | 2   |          |          |

\* $P<0.05$  为显著

\* $P<0.05$  is significant

$B_2>B_1>B_3$ ,  $A_2>A_3>A_1$ 。综合上述结论, 选取各因素较高水平组合  $A_2B_2C_2$  为最佳提取工艺, 即浸泡

0.5 h, 提取时间 3.5 h, 加水量 20 倍 (第 1 次加 8 倍量水、提取 1.5 h, 第 2 次加 6 倍量水、提取 1 h, 第 3 次加 6 倍量水、提取 1 h)。

## 2.8 BP 神经网络建模及寻优<sup>[20-21]</sup>

本实验使用 Matlab 2018a 建立 BP 神经网络模型。建立 3 层结构的 BP 神经网络系统: 输入层为 3、隐藏层为 10、输出层为 1, 其中输入节点为 3 个综合指标, 即加水量、提取时间和浸泡时间; 输出节点为 1 个, 即综合评分。将表 2 的 9 组数据分别用留一交叉法进行训练, 参数设定为默认值。再将 9 组数据同时作为训练数据和测试数据, 结果 9 组数据的预测误差分别为 0.215 0、0.348 4、0.220 6、0.054 9、0.139 4、0.130 3、0.137 0、0.086 8、0.179 3, 平均值为 0.152 5, 具有显著性意义。然后比较测试结果与实际数据并作图, 结果见图 3, 可知建立 BP 神经网络模型具有良好的可靠性。

再将表 2 的 9 组试验数据作为训练组进行训练, 得到网络参数, 在此基础上输入新的条件, 即加水量为 8~32 倍 (步长为 6), 提取时间为 0.5~6.5 h (步长为 1.5), 浸泡时间为 0~1 h (步长为 0.2), 通过 BP 神经网络建模并预测可得到 150 个条件下的

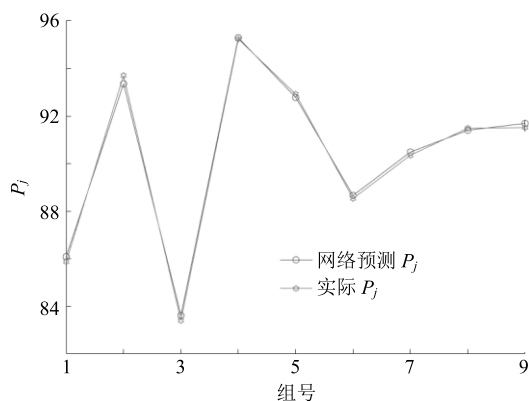


图 3 BP 神经网络可靠性验证试验结果

Fig. 3 Reliability iability verification test results of BP neural network

综合评分, 从中筛选出最佳水提工艺, 结果见表 5。由表 5 可知, BP 神经网络预测得到 YHP 的最佳水提工艺为水提 3 次, 加水量 14 倍、提取时间 2 h、药材浸泡 1 h (第 1 次加 6 倍量水、提取 1 h, 第 2 次加 4 倍量水、提取 0.5 h, 第 3 次加 4 倍量水、提取 0.5 h)。

表 5 BP 神经网络预测结果

Table 5 Prediction results of BP neural network

| 编号  | 加水量/倍 | 提取时间/h | 浸泡时间/h | $P_j$     |
|-----|-------|--------|--------|-----------|
| 1   | 8     | 0.5    | 0      | 86.226 9  |
| 2   | 8     | 0.5    | 0.2    | 86.260 7  |
| 3   | 8     | 0.5    | 0.4    | 86.311 1  |
| 4   | 8     | 0.5    | 0.6    | 86.422 3  |
| 5   | 8     | 0.5    | 0.8    | 86.831 4  |
| ... | ...   | ...    | ...    | ...       |
| 38  | 14    | 2.0    | 0.2    | 87.579 1  |
| 39  | 14    | 2.0    | 0.4    | 89.651 9  |
| 40  | 14    | 2.0    | 0.6    | 93.741 3  |
| 41  | 14    | 2.0    | 0.8    | 99.651 1  |
| 42  | 14    | 2.0    | 1.0    | 101.188 2 |
| ... | ...   | ...    | ...    | ...       |
| 146 | 32    | 6.5    | 0.2    | 80.279 8  |
| 147 | 32    | 6.5    | 0.4    | 80.415 7  |
| 148 | 32    | 6.5    | 0.6    | 81.645 4  |
| 149 | 32    | 6.5    | 0.8    | 85.781 6  |
| 150 | 32    | 6.5    | 1.0    | 91.555 3  |

## 2.9 验证实验

将由 2 种分析方法得到的最佳水提工艺结果分别进行工艺验证试验, 测定 SAB、HSYA 的转移率与浸膏得率, 计算其  $P_j$ , 并将其结果进行对比, 从而最终确定 YHP 的最佳水提工艺, 验证实验结果见表 6。从上述验证实验结果可知, 正交试验分析得到最佳水提工艺的  $P_j$  略高于 BP 神经网络建模得

表 6 验证实验结果 ( $n=3$ )

Table 6 Verification test results ( $n=3$ )

| 分析方法      | SAB 转移率/% | HSYA 转移率/% | 浸膏得率/%   | $P_j$    | 平均值      | RSD/%   |
|-----------|-----------|------------|----------|----------|----------|---------|
| 正交试验分析    | 85.787 5  | 62.227 7   | 24.697 8 | 95.359 7 | 95.416 4 | 0.149 3 |
|           | 84.970 4  | 62.286 8   | 25.065 5 | 95.311 1 |          |         |
|           | 84.947 8  | 62.551 4   | 25.165 6 | 95.578 5 |          |         |
| BP 神经网络建模 | 70.754 6  | 63.530 2   | 23.119 6 | 90.401 6 | 91.321 5 | 0.885 8 |
|           | 73.720 3  | 64.008 7   | 22.719 4 | 91.641 4 |          |         |
|           | 73.478 4  | 64.126 5   | 23.239 9 | 91.921 5 |          |         |

到最佳水提工艺的  $P_j$ , 故最终确定该 YHP 最佳水提工艺参数为浸泡 0.5 h、加水量 20 倍、提取时间 3.5 h。

### 3 讨论

#### 3.1 提取次数的确定

郭永学<sup>[22]</sup>考察不同温度下 SAB 的降解速率, 发现降解速率随温度升高而增大, 曾令杰等<sup>[23]</sup>研究浓缩和干燥对 SAB 的影响, 与丹参药材中 SAB 进行比较, 常压浓缩损失 20.40%, 常压干燥损失 41.94%, 说明 SAB 成分不稳定, 受温度等因素影响大。而 YHP 前期完成提取工艺研究后, 后期将其制备成颗粒剂要经过浓缩、喷雾干燥、制粒等一系列工艺流程, SAB 的损失会较大, 本实验中发现第 3 次水提 SAB 的转移率和浸膏得率所占的比例接近 10%, 故最终确定提取次数为 3 次。

#### 3.2 考察指标的确定

HSYA 是红花的水溶性有效成分, 也是红花的主要活性化学成分<sup>[24-26]</sup>, 具有缓解心肌线粒体损伤、降低心肌细胞凋亡率、减轻心肌缺血等作用<sup>[27-28]</sup>; SAB 是丹参的水溶性有效成分<sup>[29-30]</sup>, 它对多种心血管疾病如心肌梗死、动脉粥样硬化及心肌缺血/再灌注损伤具有保护作用<sup>[31]</sup>。因此, 本研究选择上述 2 种成分作为考察指标, 为 YHP 中有效成分的质量评价和质量控制提供参考。

#### 3.3 BP 神经网络

近几年来, 数据挖掘在中药研究各子领域中应用相当广泛, 比如在中药制剂工艺研究方面, 利用支持向量机和人工神经网络等方法来对多个药物属性或工艺条件进行分类预测。BP 神经网络通过自身训练学习某种规则然后映射出输入和输出变量之间的数学关系, 其无论在网络理论还是在性能方面已趋于成熟。尤其适用于研究复杂的非线性关系, BP 神经网络可以在试验次数少样本量少的情况下通过自主学习寻找到大范围内的最优条件。

本研究则采用传统统计学方法中的正交试验分析和通过数据挖掘方法建立 BP 神经网络模型 2 种不同的方法对 YHP 的最佳水提工艺进行寻优, 从而更加全面、科学、客观、合理地确定其最佳水提工艺。

#### 参考文献

[1] 金 晓, 徐丹苹, 吴焕林. 吴焕林教授从脾胃论治慢性心力衰竭经验 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(4): 497-499.

[2] Heidenreich P A, Albert N M, Allen L A, et al. Forecasting the impact of heart failure in the United States: A policy statement from the American Heart Association [J]. *Circ-Heart Fail*, 2013, 6(3): 606-619.

[3] Lam C S, Teng T K, Tay W T, et al. Regional and ethnic differences among patients with heart failure in Asia: The Asian sudden cardiac death in heart failure registry [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(41): 3141-3153.

[4] 金 晓, 吴焕林. 中医药治疗心力衰竭的优势及存在的问题 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(12): 2519-2521.

[5] 努尔扎代木·麦麦提, 李 鹏. 慢性心力衰竭中医药研究进展 [J]. 新疆中医药, 2019, 37(1): 163-166.

[6] 郭慧芳. 郭志华教授运用益心泰治疗心衰经验介绍 [J]. 中医药导报, 2014, 20(7): 151.

[7] 于春泉, 王 怡, 李 芳, 等. 益气活血方对慢性心力衰竭大鼠心肌 NCX 与 SERCA2a mRNA 及蛋白表达水平的影响 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 555-558.

[8] 唐 云, 郭志华, 李 雅, 等. 益心泰颗粒对慢性心衰兔超声心动图指标及血清脑钠肽的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(7): 1565-1567.

[9] 吴华堂, 吴刚强, 申 思, 等. 益气活血利水方对慢性心力衰竭大鼠心肌重构的影响 [J]. 实用中医药杂志, 2014, 30(8): 686-687.

[10] 刘 永, 李国辉, 雷 波, 等. 基于 RS-G1 理论的多属性不完备信息系统权重的计算及应用 [J]. 模糊系统与数学, 2017, 31(2): 177-183.

[11] 田彦芳, 万海同, 朱紫烨, 等. 基于熵权法的多目标筛选甘草黄酮类成分纯化工艺 [J]. 中草药, 2016, 47(7): 1118-1125.

[12] 于亚田, 王智群, 冯建安, 等. 基于 Box-Behnken 及 PCA-G1-熵权法优选青香乳康颗粒中挥发油的提取及包合工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(15): 3631-3636.

[13] 柳 兰, 李 雅, 郭志华, 等. Box-Behnken 响应面法结合 G1-熵权法的理气活血复方浸膏喷雾干燥工艺研究 [J]. 中草药, 2019, 50(11): 2560-2566.

[14] 高 斌, 赵鹏飞, 卢昱欣, 等. 基于 BP 神经网络的血液荧光光谱识别分类研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(10): 3136-3143.

[15] 汤少梁, 张笑笑. 基于 BP 神经网络的中医药产业安全评价与预警研究 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 406-418.

[16] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

[17] 王继龙, 魏舒畅, 刘永琦, 等. 基于 G1-熵权法和正交设计优选黄芪百合颗粒的提取纯化工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 596-603.

[18] 邹 龙, 张依人, 张可人, 等. 补阳还五汤水提工艺的优化 [J]. 中成药, 2018, 40(4): 962-966.

[19] 陈方圆, 王继龙, 魏舒畅, 等. 基于 Box-Behnken 响应面法结合 G1-熵权法的黄芪百合颗粒浸膏减压干燥工

- 艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 5100-5106.
- [20] 朱紫焯, 田彦芳, 张 迁, 等. BP 神经网络结合熵权法优化甘草皂苷提取工艺 [J]. 中成药, 2017, 39(9): 1830-1834.
- [21] 尹 斐, 杨洁红, 方雨晨, 等. 基于 2 种分析方法的补阳还五汤中有效成分提取工艺优化研究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 135-141.
- [22] 郭永学. 丹酚酸 B 的降解机理及纯化工艺研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2007.
- [23] 曾令杰, 李小燕. 浓缩干燥对丹参提取液中丹参酮 II<sub>A</sub> 和丹酚酸 B 的影响 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(2): 162-163.
- [24] 陈 桧, 李冰韶, 王永洁, 等. 设计空间法优化红花温浸提取工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(19): 4544-4551.
- [25] Song X Q, Su L N, Wei H P, *et al.* Protective effects of hydroxysafflor yellow A against oxidative damage of  $\beta$ -mercaptoethanol during neural differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(3): 282-288.
- [26] 闫 丹, 江敏瑜, 张传辉, 等. 基于多成分测定的血竭三七接骨膏中粉体粒径与溶出度的相关性研究 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4432-4439.
- [27] 李会会, 胡娜平, 刘美佑, 等. 大黄酸配伍羟基红花黄色素 A 对大鼠单侧输尿管结扎慢性肾病的作用及机制研究 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(4): 547-552.
- [28] 唐 红, 鲁道旺, 杨詹詹, 等. 羟基红花黄色素 A 的药理学研究进展 [J]. 广州化工, 2017, 45(14): 20-22.
- [29] 秦学玲, 张赞华, 任李玥, 等. 74 批次丹参片中指标成分丹酚酸 B 的含量比较研究 [J]. 云南中医中药杂志, 2019, 40(1): 69-71.
- [30] 陈芳宁, 张秀荣, 王秀丽, 等. 丹酚酸 B 脂化乳的制备及其稳定性研究 [J]. 现代药物与临床, 2017, 32(2): 179-182.
- [31] 林 超, 刘兆国, 钱 星, 等. 丹酚酸 B 在心血管疾病中药理作用研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(4): 449-452.