

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.03.013

# 基于层次分析法的正交试验优选坐浴安散提取工艺\*

覃翔<sup>1,2</sup>, 李婉铭<sup>1,2</sup>, 韦金彩<sup>1,2</sup>, 廖强<sup>3△</sup>

(1. 广西中医药大学附属瑞康医院, 广西南宁 530011; 2. 广西壮瑶药工程技术研究中心, 广西南宁 530011; 3. 广西壮族自治区南宁市食品药品检验所, 广西南宁 530004)

**摘要:**目的 优选坐浴安散的提取工艺。方法 以醇提物中大黄素、大黄素、大黄酚含量和醇提干膏得率为综合评价指标, 采用层次分析(AHP)法确定各指标权重, 结合 $L_9(3^4)$ 正交试验考察乙醇体积分数、溶剂用量、提取时间、提取次数对醇提工艺的影响; 以水提物中盐酸小檗碱、苦参碱、氧化苦参碱含量和水提干膏得率为综合评价指标, 采用AHP法确定各指标权重, 结合 $L_9(3^4)$ 正交试验考察加水量、提取时间、提取次数对水提工艺的影响。结果 优选的醇提工艺为加8倍量70%乙醇, 提取3次, 每次40 min; 水提工艺为加12倍量水, 提取3次, 每次1.0 h。结论 AHP法结合 $L_9(3^4)$ 正交试验优选的提取工艺合理、可行, 能较好地保证坐浴安散的质量。

**关键词:** 坐浴安散; 层次分析法;  $L_9(3^4)$ 正交试验; 工艺优选

中图分类号: R932; R284.1; TQ460.6 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)03-0055-08

## Optimization of Extraction Process of Zuoyu'an Powder by Orthogonal Test Based on AHP

QIN Xiang<sup>1,2</sup>, LI Wanming<sup>1,2</sup>, WEI Jincan<sup>1,2</sup>, LIAO Qiang<sup>3</sup>

(1. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, China 530011; 2. Guangxi Zhuang Yao Medicine Center of Engineering and Technology, Nanning, Guangxi, China 530011; 3. Nanning Institute for Food and Drug Control, Nanning, Guangxi, China 530004)

**Abstract: Objective** To optimize the extraction process of Zuoyu'an Powder. **Methods** The effects of volume fraction of ethanol, solvent amount, extraction time and extraction times on the alcohol extraction process were investigated by the  $L_9(3^4)$  orthogonal test, with the contents of alcohol extract including rhein, emodin and chrysophanol and the yield of alcohol extract as the comprehensive evaluation indexes, and the weight of each index was determined by the analytic hierarchy process (AHP) method. The effects of amount of water addition, extraction time and extraction times on the water extraction process were investigated by the  $L_9(3^4)$  orthogonal test, with the contents of water extract including berberine hydrochloride, matrine and oxymatrine and the yield

\*基金项目: 广西壮族自治区中医药管理局自筹经费科研课题[GXZY20210471]; 2021年广西中药壮瑶药院内制剂孵化基地项目[桂中医药发[2021]7号]。

第一作者: 覃翔, 男, 在职硕士研究生, 主管中医师, 研究方向为中药制剂及其质量标准, (电子信箱)47858686@qq.com。

△通信作者: 廖强, 男, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为食品、药品质量监管, (电子信箱)19972802@qq.com。

2019, 30 (16): 2741 - 2743.

[9] 李 微, 盛云华, 航 艾, 等. 气管内雾化脂多糖致大鼠肺部炎症损伤模型研究[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(6): 457 - 461.

[10] 成 果, 廖 瑛, 周 君, 等. 脂多糖诱导大鼠吸入性肺炎动物模型的建立[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20(5): 396 - 399.

[11] 袁伟锋, 李 理, 徐 虹, 等. 气管内滴入与腹腔注射脂多糖致肺组织炎症损伤的动态变化比较[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2017, 16(3): 274 - 279.

[12] 张亚平, 张广平, 苏 萍, 等. 不同途径吸入脂多糖致大鼠急性肺炎模型的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(7): 82 - 88.

[13] HWANG JS, KIM KH, PARK J, et al. Glucosamine improves survival in a mouse model of sepsis and attenuates sepsis - induced lung injury and inflammation[J]. J Biol Chem, 2019, 294(2): 608 - 622.

[14] KOCHERLAKOTA C, NAGARAJU B, ARJUN N, et al. Inhalation of nebulized omega - 3 fatty acids mitigate LPS - induced acute lung inflammation in rats: Implications for treatment of COPD and COVID - 19[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2022, 179: 102426.

[15] 刘 旭. 通天草提取物对AD大鼠NF -  $\kappa$ B信号通路相关蛋白表达影响的实验研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2012.

[16] 孙 晶. 基于对相关细胞因子及NF -  $\kappa$ B的调控探讨如炎宁汤治疗慢性盆腔炎的免疫学机制[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2015.

[17] ZHU T, WANG DX, ZHANG W, et al. Andrographolide protects against LPS - induced acute lung injury by inactivation of NF -  $\kappa$ B[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56407.

[18] HARIHARAN A, HAKEEM AR, RADHAKRISHNAN S, et al. The Role and Therapeutic Potential of NF -  $\kappa$ B Pathway in Severe COVID - 19 Patients[J]. Inflammopharmacology, 2021, 29(1): 91 - 100.

[19] AN Y, ZHANG H, WANG C, et al. Activation of ROS / MAPKs / NF -  $\kappa$ B / NLRP3 and inhibition of efferocytosis in osteoclast - mediated diabetic osteoporosis [J]. FASEB J, 2019, 33(11): 12515 - 12527.

(收稿日期: 2022 - 07 - 05; 修回日期: 2022 - 09 - 29)

of water extract as the comprehensive evaluation indexes, and the weight of each index was determined by the AHP method. **Results** The optimal alcohol extraction process was as follows: adding eight times amount of 70% ethanol, extracting three times, with 40 min each time. The optimal water extraction process was as follows: adding twelve times amount of water, extracting three times, with 1.0 h each time. **Conclusion** The extraction process optimized by the AHP method combined with the  $L_9(3^4)$  orthogonal test is reasonable and feasible, which can ensure the quality of Zuoyu'an Powder.

**Key words:** Zuoyu'an Powder; analytic hierarchy process;  $L_9(3^4)$  orthogonal test; process optimization

坐浴安散是广西中医药大学附属瑞康医院研发的中药制剂(桂药制字Z20050001),由大黄、功劳木、苦参、五倍子、两面针等中药组方,具有清热解毒、消肿止痛功效,用于治疗内外痔发炎、痔瘻术后肛痿肿痛,临床疗效显著。方中,大黄、功劳木清热解毒、活血化瘀,苦参清热燥湿、杀虫止痒,五倍子、白矾、芒硝、冰片收敛消肿、止血止痒,配以两面针消肿止痛效果更佳<sup>[1-2]</sup>。现代药理学研究表明,大黄含有蒽醌类、蒽酮类、二苯乙烯类、有机酸类等化合物<sup>[3]</sup>。其中,主要药效成分为蒽醌类化合物,包括结合型和游离型,结合型蒽醌可溶于热水,几乎不溶于冷水,游离型蒽醌难溶于水,均易溶于丙酮、甲醇、乙醇。功劳木主要含有小檗碱、巴马汀、氧化小檗碱、尖刺碱、阿莫灵等生物碱类化合物<sup>[4]</sup>。苦参主要含有生物碱类、黄酮类、氧杂蒽酮类、醌类、三萜糖苷、脂肪酸和挥发油<sup>[5]</sup>。五倍子的主要成分为鞣酸<sup>[6]</sup>。两面针主要含有生物碱类、木脂素类有效成分<sup>[7]</sup>。根据处方中需提取的5味药材有效成分的理化性质,本研究中采取醇水双提法,先用乙醇提取大黄,再将醇提后的药渣与另外4味药材(功劳木、苦参、五倍子、两面针)一同用水进行提取,最大限度地富集有效成分。采用高效液相色谱(HPLC)法测定6种指标成分的含量,以醇提物中大黄酸、大黄素、大黄酚的含量与醇提干膏得率为醇提工艺的综合评价指标,以水提物中苦参碱、氧化苦参碱、盐酸小檗碱的含量与水提干膏得率为水提工艺的综合评价指标,通过层次分析(AHP)法建立指标回归模型,确定各指标权重系数,以正交试验优选醇提及水提工艺,为坐浴安散的提取工艺确立提供参考。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

LC-2030(Plus)型高效液相色谱仪,配有真空脱气机、四元泵、自动进样器、紫外(UV)检测器(日本岛津公司);VGT-2227QTD型超声波清洗机(广东固特超声股份有限公司,功率为600 W,频率为40 kHz);xs205du型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度为十万分之一);101-38型数显式电热恒温干燥箱(上海沪越实验仪器有限公司);GM-0.33A型隔膜真空泵(天津市津腾实验设备有限公司)。

### 1.2 试药

大黄(批号为20210406),功劳木(批号为20201030),苦参(批号为20210316),五倍子(批号为20210316),均购自广西柳州百草堂中药饮片厂有限责任公司;两面针(广西德润堂中药科技有限公司,批号为20200901)。以上中药饮片经广西壮族自治区南宁市食品药品检验所副主任药师廖强鉴定均符合2020年版《中国药典(一部)》规定。大黄酸对照品(批号为110757-201607,含量为99.3%),大黄素对照品(批号为110756-201913,含量为96.0%),大黄酚对照品(批号为110796-201922,含量为99.4%),盐酸小檗碱对照品(批号为110713-202015,含量为85.9%),苦参碱对照品(批号为110805-202010,含量为98.7%),氧化苦参碱对照品(批号为110780-201909,含量为92.9%),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇(色谱纯,赛默飞世尔科技有限公司),其他试剂均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

## 2 方法与结果

### 2.1 多指标含量测定

#### 2.1.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Shim-pack GIST  $C_{18}$ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m);流速:1.0 mL/min;柱温:30  $^{\circ}$ C;进样量:10  $\mu$ L。

醇提物大黄酸、大黄素、大黄酚:甲醇为流动相A, 0.1%磷酸溶液为流动相B,梯度洗脱(0~5 min时70%A, 5~8 min时70%A → 85%A, 8~20 min时85%A, 20~25 min时85%A → 70%A, 25~30 min时70%A);检测波长为254 nm。理论板数按大黄素峰计应不低于3 000。

水提物苦参碱、氧化苦参碱:乙腈为流动相A, 0.025 mol/L磷酸二氢钾溶液为流动相B,梯度洗脱(0~10 min时2%A → 8%A, 10~15 min时8%A, 15~20 min时8%A → 2%A, 20~25 min时2%A);检测波长为220 nm。理论板数按氧化苦参碱峰计应不低于4 000。

水提物盐酸小檗碱<sup>[8]</sup>:乙腈为流动相A, 0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(加0.2%三乙胺,用磷酸调pH至3)为流动相B,梯度洗脱(0~8 min时22%A → 30%A, 8~12 min时30%A → 50%A, 12~18 min时50%A, 18~22 min时50%A → 30%A, 22~25 min时30%A →

22%A, 25 ~ 30 min时 22%A); 检测波长为 345 nm。理论板数按盐酸小檗碱峰计应不低于 5 000。

### 2. 1. 2 溶液制备

分别取大黄酸、大黄素、大黄酚、苦参碱和氧化苦参碱对照品各适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 26. 18, 24. 24, 26. 18  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的大黄酸、大黄素、大黄酚混合对照品溶液 I 及质量浓度分别为 58. 14, 158. 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的苦参碱、氧化苦参碱混合对照品溶液 II。取盐酸小檗碱对照品适量, 精密称定, 加盐酸-甲醇溶液(1:100, V/V)溶解, 制成质量浓度为 11. 38  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的对照品溶液 III。

取坐浴安散醇提物干膏粉末(过4号筛)0. 03 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率为 600 W, 频率为 40 kHz)30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 置烧瓶中, 挥去溶剂, 加 8% 盐酸溶液 10 mL, 超声处理(功率为 600 W, 频率为 40 kHz)2 min, 加二氯甲烷 10 mL, 加热回流 1. 0 h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量二氯甲烷洗涤容器, 置分液漏斗中, 分取二氯甲烷层, 酸液用二氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 合并二氯甲烷液, 减压干燥至干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 0. 45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 即得醇提物大黄酸、大黄素、大黄酚供试品溶液<sup>[9]</sup>。

取坐浴安散水提物干膏粉末(过4号筛)0. 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加氨试液 2 mL, 精密加入二

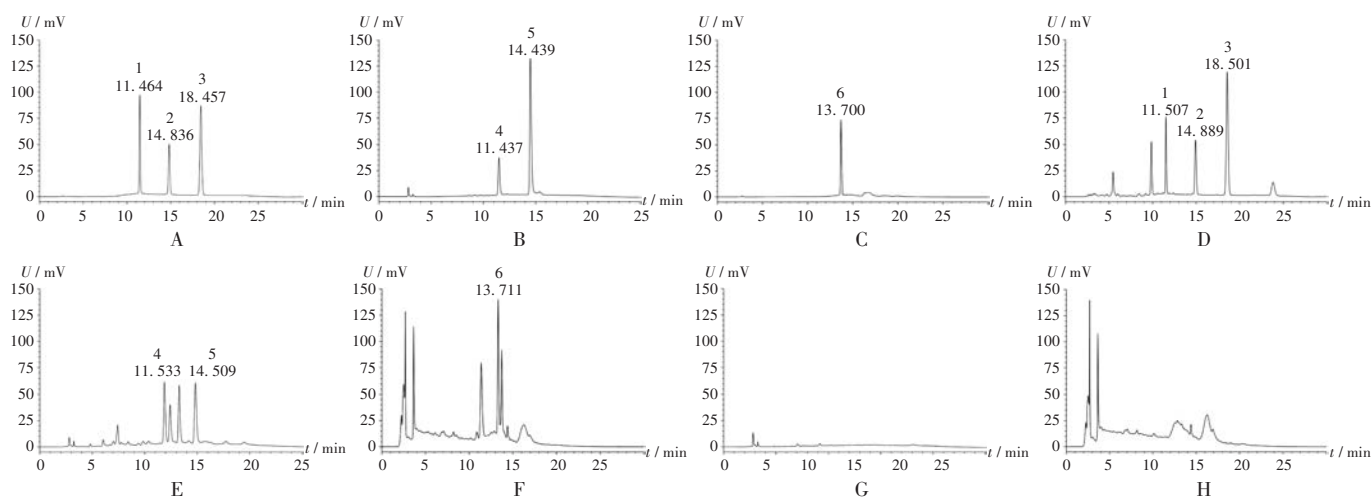
氯甲烷 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率为 600 W, 频率为 40 kHz)20 min, 放冷, 再称定质量, 用二氯甲烷补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 70% 甲醇溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 加 70% 甲醇定容, 摇匀, 0. 45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 即得水提物苦参碱、氧化苦参碱供试品溶液<sup>[10]</sup>。

取坐浴安散水提物干膏粉末(过4号筛)0. 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入盐酸-甲醇溶液(1:100, V/V)50 mL, 称定质量, 超声处理(功率为 600 W, 频率为 40 kHz)20 min, 放冷, 再称定质量, 用盐酸-甲醇溶液(1:100, V/V)补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加盐酸-甲醇溶液(1:100, V/V)溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 加盐酸-甲醇溶液(1:100, V/V)定容, 摇匀, 0. 45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 即得水提物盐酸小檗碱供试品溶液。

分别按处方比例称取除苦参外的其他药材和除功劳木外的其他药材各 1 份, 以及各自水提后得到的干膏粉末(过4号筛), 精密称定, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2. 1. 3 方法学考察

专属性试验: 吸取 2. 1. 2 项下混合对照品溶液 I, II, 对照品溶液 III 和供试品溶液各适量, 按 2. 1. 1 项下色谱条件分别进样测定, 记录色谱图。供试品溶液色谱图中, 大黄酸、大黄素、大黄酚、苦参碱、氧化苦参碱、盐酸小檗碱与各杂质峰分离度均较好, 各待测成分的理论板数均符合要求。色谱图见图 1。



1. 大黄酸 2. 大黄素 3. 大黄酚 4. 苦参碱 5. 氧化苦参碱 6. 盐酸小檗碱

A, B, C. 对照品溶液 D. 醇提物供试品溶液 E, F. 水提物供试品溶液 G, H. 阴性对照品溶液(分别缺苦参、功劳木)

图 1 高效液相色谱图

1. Rhein 2. Emodin 3. Chrysophanol 4. Matrine 5. Oxymatrine 6. Berberine hydrochloride

A, B, C. Reference solution D. Test solution of alcohol extract E, F. Test solution of water extract G, H. Negative reference solution (lacking Sophorae Flavescentis Radix and Mahoniae Caulis, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察:精密吸取2.1.2项下混合对照品溶液 I, II 和对照品溶液 III 各 1, 2, 4, 6, 8, 9 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 2 种混合对照品溶液用甲醇稀释并定容, 对照品溶液 III 用盐酸-甲醇溶液(1:100, V/V) 稀释并定容, 摇匀, 即各得 6 个梯度对照品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件分别进样测定, 以峰面积(Y)为纵坐标、质量浓度为(X,  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )横坐标进行线性回归。结果见表 1, 表明所测成分在各自的质量浓度范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取 2.1.2 项下混合对照品溶液 I, II 和对照品溶液 III 各适量, 以各自配制所用溶剂稀释 2 倍, 作为混合对照品溶液 a、混合对照品溶液 b 和对照品溶液 c。取上述 3 种溶液各适量, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定 6 次, 记录峰面积。结果见表 1, 表明仪器精密度良好。

重复性试验:分别取同一批坐浴安散醇提物和水提物干膏粉末各适量, 精密称定, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液 6 份, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 并计算平均含量。结果见表 1, 表明方法重复性良好。

稳定性试验:取 2.1.2 项下供试品溶液各适量, 分别于室温下放置 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果见表 1, 表明供试品溶液在室温下 10 h 内稳定性良好。

加样回收试验:取已知大黄酸、大黄素、大黄酚含量的坐浴安散醇提物干膏粉末 6 份, 每份 0.01 g, 精密称定, 置 25 mL 容量瓶中, 加混合对照品溶液 I (大黄酸、大黄素、大黄酚质量浓度分别为 26.18, 24.24, 26.18  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 10 mL, 加甲醇定容, 按 2.1.2 项下“醇提物大黄酸、大黄素、大黄酚”中自“称定质量”起制备 6 份加样供试品溶液; 取已知苦参碱、氧化苦参碱含量的坐浴安散水提物干膏粉末 6 份, 每份 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加混合对照品溶液 II (苦参碱、氧化苦参碱质量浓度分别为 58.14, 158.75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 2 mL, 加二氯甲烷定

容, 按 2.1.2 项下“水提物苦参碱、氧化苦参碱”中自“称定质量”起制备 6 份加样供试品溶液; 取已知盐酸小檗碱含量的坐浴安散水提物干膏粉末 6 份, 每份 0.05 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加对照品溶液 III (盐酸小檗碱质量浓度为 11.38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 2 mL, 加盐酸-甲醇溶液(1:100, V/V) 定容, 按 2.1.2 项下“水提物盐酸小檗碱”中自“称定质量”起制备 6 份加样供试品溶液。上述加样供试品溶液分别按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 并计算加样回收率。结果见表 1, 表明方法准确度良好。

#### 2.1.4 含量计算

醇提物中大黄酸、大黄素、大黄酚含量按以下公式计算其含量。含量(mg/g) = [供试品溶液中待测成分质量浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) × 供试品溶液总体积(mL) × 25] / [供试品取样量(g) × 5 × 1000]。

水提物中苦参碱、氧化苦参碱、盐酸小檗碱含量按以下公式计算其含量。含量(mg/g) = [供试品溶液中待测成分质量浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) × 供试品溶液总体积(mL)] / [供试品取样量(g) × 1000]。

#### 2.2 提取物干膏得率计算<sup>[11]</sup>

精密吸取坐浴安散醇/水提取液适量, 置干燥的恒定质量蒸发皿中, 水浴蒸干, 105 °C 烘箱中干燥 3.0 h, 取出, 干燥器中冷却 20 min, 迅速称定质量, 按以下公式计算干膏得率。干膏得率(%) = (干膏质量 × 样品总体积) / (饮片质量 × 取样体积) × 100%。

#### 2.3 AHP 法确定各指标权重系数

根据中药复方君臣佐使配伍关系及各成分药理作用强弱, 参考文献[12], 确定醇提工艺各指标的优先顺序为: 大黄酸含量 = 大黄素含量 = 大黄酚含量 > 醇提干膏得率, 水提工艺各指标的优先顺序为: 盐酸小檗碱含量 > 苦参碱含量 = 氧化苦参碱含量 > 水提干膏得率。本研究中结合正交试验将评价系统设计为 3 层, 绘制优化层次结构模型(图 2)。采用 1~9 标度法对 4 项指标进行两两比较评判重要性, 按几何平均法计算各指标的

表 1 方法学考察结果(n=6)

Tab. 1 Results of the methodological investigation (n=6)

指标性成分	回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	RSD(%)		重复性试验		加样回收试验(%)	
				精密度试验	稳定性试验	含量(mg/g)	RSD(%)	$\bar{X}$	RSD
大黄酸	$Y = 25\,558X + 9\,606.9$	0.9979	2.618~23.562	0.13	0.63	20.32	0.75	102.83	1.44
大黄素	$Y = 22\,240X + 4\,786.4$	0.9997	2.424~21.816	0.21	0.77	15.01	0.81	97.82	1.15
大黄酚	$Y = 47\,195X + 3\,314.7$	0.9991	2.618~23.562	0.15	0.42	24.98	0.83	96.33	1.85
苦参碱	$Y = 7\,903.4X - 5\,985.9$	0.9987	5.814~52.326	0.08	0.83	0.72	0.88	103.95	1.52
氧化苦参碱	$Y = 7\,350.2X - 9\,180.6$	0.9988	15.875~142.875	0.12	0.98	1.12	1.02	103.31	1.83
盐酸小檗碱	$Y = 57\,934X + 1\,160.4$	0.9998	1.138~10.242	0.07	0.78	0.52	1.08	97.51	1.78

权重系数。各指标两两比较的评分标准见表2,醇提/水提工艺优先矩阵判断见表3和表4。

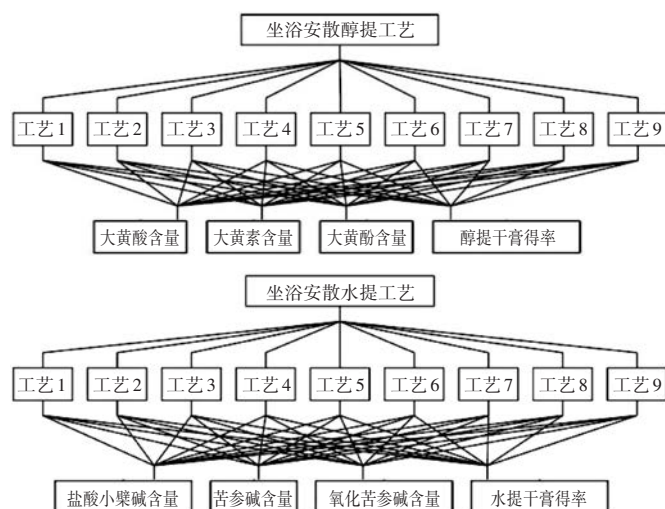


图2 坐浴安散工艺优化层次结构模型

Fig. 2 Hierarchical structure model for process optimization of Zuoyu'an Powder

表2 各指标两两比较评分标准

Tab. 2 Scoring criteria for pairwise comparison of various indexes

对比打分	相对重要程度	含义
1	同样重要	2个因素相比,具有同样重要性
2(1/2)	稍稍(不)重要	2个因素相比,一个比另一个稍稍(不)重要
3(1/3)	稍微(不)重要	2个因素相比,一个比另一个稍微(不)重要
4(1/4)	稍比较(不)重要	2个因素相比,一个比另一个稍比较(不)重要
5(1/5)	比较(不)重要	2个因素相比,一个比另一个比较(不)重要
6(1/6)	稍非常(不)重要	2个因素相比,一个比另一个稍非常(不)重要
7(1/7)	非常(不)重要	2个因素相比,一个比另一个非常(不)重要
8(1/8)	稍绝对(不)重要	2个因素相比,一个比另一个稍绝对(不)重要
9(1/9)	绝对(不)重要	2个因素相比,一个比另一个绝对(不)重要

表3 醇提工艺指标成对比较的优先矩阵判断

Tab. 3 Precedence matrix judgment of pairwise comparison of various indexes in the alcohol extraction process

评价指标	大黄酸含量	大黄素含量	大黄酚含量	醇提干膏得率
大黄酸含量	1	1	1	5
大黄素含量	1	1	1	5
大黄酚含量	1	1	1	5
醇提干膏得率	1/5	1/5	1/5	1

表4 水提工艺指标成对比较的优先矩阵判断

Tab. 4 Precedence matrix judgment of pairwise comparison of various indexes in the water extraction process

评价指标	盐酸小檗碱含量	苦参碱含量	氧化苦参碱含量	水提干膏得率
盐酸小檗碱含量	1	3	3	5
苦参碱含量	1/3	1	1	3
氧化苦参碱含量	1/3	1	1	3
水提干膏得率	1/5	1/3	1/3	1

使用AHP分析V1.82\_10.82版软件(南京迈实软件有限公司)计算,求得大黄酸、大黄素、大黄酚含量和醇提干膏得率的权重系数分别为0.3125,0.3125,0.3125,0.0625,矩阵的最大特征值( $\lambda_{\max}$ )=4,一致性指标( $CI$ )=0;盐酸小檗碱、苦参碱、氧化苦参碱含量和水提干膏得率的权重系数分别为0.5205,0.2010,0.2010,0.0776,矩阵的 $\lambda_{\max}$ =4.04338, $CI$ =0.0144605。随机一致性比率( $CR$ )是衡量所得权重系数是否合理的重要指标, $CR = CI / RI$ ,当 $CR < 0.1$ 时可判断矩阵具有满意的一致性及权重计算正确性。本研究中醇提和水提工艺的 $CR$ 分别为0和0.0162447,均小于0.1,表明4项指标优先比较矩阵满足一致性要求,权重系数合理、有效,可用于坐浴安散醇提和水提工艺的综合评分<sup>[13-14]</sup>。

## 2.4 提取工艺综合评分

分别计算各指标成分的含量及醇提/水提工艺的干膏得率,结合2.3项下确定的权重系数计算提取工艺综合评分。醇提工艺综合评分 = [(大黄酸含量 / 大黄酸含量最大值) × 0.3125 + (大黄素含量 / 大黄素含量最大值) × 0.3125 + (大黄酚含量 / 大黄酚含量最大值) × 0.3125 + (醇提干膏得率 / 醇提干膏得率最大值) × 0.0625] × 100;水提工艺综合评分 = [(盐酸小檗碱含量 / 盐酸小檗碱含量最大值) × 0.5205 + (苦参碱含量 / 苦参碱含量最大值) × 0.2010 + (氧化苦参碱含量 / 氧化苦参碱含量最大值) × 0.2010 + (水提干膏得率 / 水提干膏得率最大值) × 0.0776] × 100。

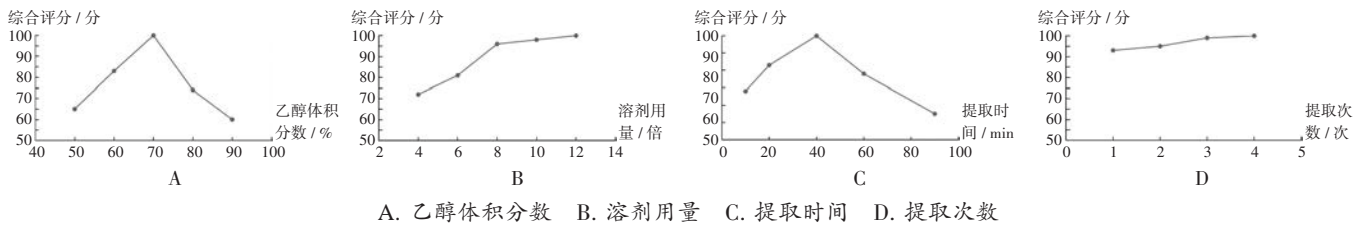
## 2.5 正交试验优选提取工艺

### 2.5.1 醇提工艺单因素考察

乙醇体积分数:称取等量醇提药材饮片5份,每份各加相当于饮片8倍量的50%,60%,70%,80%,90%乙醇,分别提取1次,每次40min,计算5份提取物的综合评分。结果见图3A,表明固定其他条件不变,乙醇体积分数为60%,70%,80%时提取物的综合评分较高。

溶剂用量:称取等量醇提药材饮片5份,每份各加相当于饮片4,6,8,10,12倍的70%乙醇,分别提取1次,每次40min,计算5份提取物的综合评分。结果见图3B,表明固定其他条件不变,溶剂用量在8,10,12倍时提取物的综合评分较高。

提取时间:称取等量醇提药材饮片5份,每份各加相当于饮片8倍量的70%乙醇,分别提取1次,分别提取10,20,40,60,90min,计算5份提取物的综合评分。结果见图3C,表明固定其他条件不变,提取时间为20,



A. 乙醇体积分数 B. 溶剂用量 C. 提取时间 D. 提取次数

图3 醇提工艺单因素多水平考察结果

A. Volume fraction of ethanol B. Solvent amount C. Extraction time D. Extraction times

Fig.3 Results of single-factor and multi-level investigation of alcohol extraction process

40, 60 min时提取物的综合评分较高。

提取次数:称取等量醇提药材饮片4份,每份各加相当于饮片8倍量的70%乙醇,分别提取1,2,3,4次,每次40 min,计算4份提取物的综合评分。结果见图3 D,表明固定其他条件不变,提取物综合评分随提取次数的增加而增加,但提取3次后增长幅度很小,已接近提取完全,故选择提取次数为1,2,3次。

### 2.5.2 水提工艺单因素考察

加水量:按处方比例称取等量水提药材饮片5份,每份各加相当于饮片4,6,8,10,12倍的水,分别提取1次,每次1.0 h,计算5份提取物的综合评分。结果见图4 A,表明固定其他条件不变,加水量为8,10,12倍时提取物的综合评分较高。

提取时间:按处方比例称取等量水提药材饮片5份,每份各加相当于饮片10倍量的水提取1次,分别提取0.5,1.0,2.0,2.5 h,计算5份提取物的综合评分。结果见图4 B,表明固定其他条件不变,提取时间为1.0,1.5,2.0 h时提取物的综合评分较高。

提取次数:按处方比例称取等量水提药材饮片4份,每份各加相当于饮片10倍量的水,分别提取1,2,3,4次,每次1.0 h,计算4份提取物的综合评分。结果见图4 C,表明固定其他条件不变,提取物综合评分在提取次数为1,2,3次时呈明显增长趋势,但提取次数为3,4次时基本持平,已接近提取完全,故选择提取次数为1,2,3次。

### 2.5.3 因素与水平

醇提/水提工艺因素与水平分别见表5和表6。

### 2.5.4 正交试验与方差分析结果

醇提工艺:采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,结果见表7,方差分析结果见表8。由表7极差分析结果可知,4个因素对醇提工艺的影响大小依次为 $A > C > D > B$ ,因素不同水平对醇提工艺结果的综合评分影响顺序为 $A_2 > A_1 > A_3, B_3 > B_2 > B_1, C_2 > C_1 > C_3, D_3 > D_2 > D_1$ ,但影响因素B的 $K_1, K_2, K_3$ 相差不大。通过综合评分可知,最佳醇提工艺为 $A_2B_1C_2D_3$ 。由表8方差分析结果可知,乙醇体积分

表5 醇提工艺因素与水平

Tab.5 Factors and their levels of alcohol extraction process

水平	因素A(%)	因素B(倍)	因素C(min)	因素D(次)
1	60	8	20	1
2	70	10	40	2
3	80	12	60	3

表6 水提工艺因素与水平

Tab.6 Factors and their levels of water extraction process

水平	因素A(倍)	因素B(h)	因素C(次)
1	8	1.0	1
2	10	1.5	2
3	12	2.0	3

数(A)和提取时间(C)对醇提工艺的影响均显著( $P < 0.05$ ),而溶剂用量(B)和提取次数(D)对醇提工艺的影响的不显著( $P > 0.05$ )。为适应医院制剂的实际生产需要,最终确定最优醇提工艺为 $A_2B_1C_2D_3$ ,即加8倍量70%乙醇,提取3次,每次40 min。

表7 醇提工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Tab.7 Results of the  $L_9(3^4)$  orthogonal test of alcohol extraction process

序号	因素A (%)	因素B (倍)	因素C (min)	因素D (次)	含量(mg/g)			干膏得率(%)	综合评分(分)
					大黄酸	大黄素	大黄酚		
1	1	1	1	1	18.53	13.97	21.74	26.01	74.05
2	1	2	2	2	20.54	15.12	25.31	31.22	83.05
3	1	3	3	3	16.40	13.32	21.53	25.88	70.03
4	2	1	2	3	25.11	17.67	30.73	38.88	100.00
5	2	2	3	1	19.94	15.89	22.72	26.98	80.35
6	2	3	1	2	23.36	16.68	27.61	34.56	92.18
7	3	1	3	2	12.07	9.84	16.03	19.96	51.94
8	3	2	1	3	16.36	13.33	21.26	25.77	69.69
9	3	3	2	1	16.58	13.69	22.58	26.05	71.99
$K_1$	75.71	75.33	78.64	75.46					
$K_2$	90.84	77.70	85.01	75.72					
$K_3$	64.54	78.07	67.44	79.91					
R	26.30	2.74	17.57	4.44					

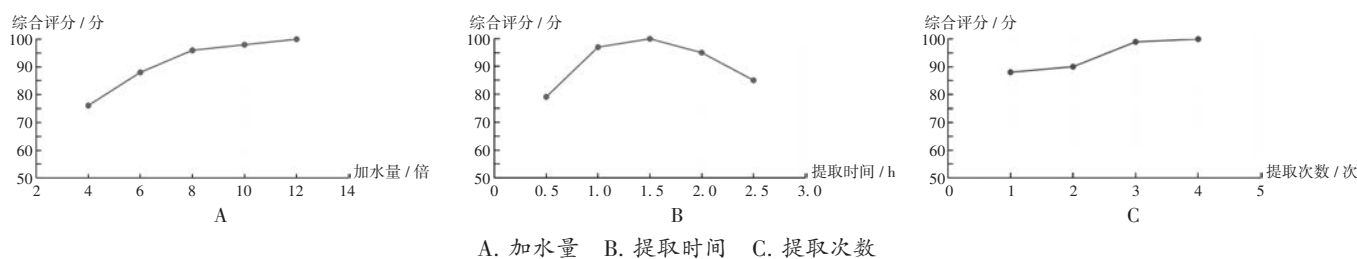


图4 水提工艺单因素多水平考察结果

A. Amount of water addition B. Extraction time C. Extraction times

Fig. 4 Results of single-factor and multi-level investigation of water extraction process

表8 醇提工艺综合评分方差分析结果

Tab. 8 Results of ANOVA of comprehensive score of alcohol extraction process

方差来源	SS	df	方差	F值	P	显著性
因素A	1 045.65	2.00	522.83	79.05	< 0.05	*
因素B(误差)	13.23	2.00	6.61	1.00		
因素C	474.88	2.00	237.44	35.90	< 0.05	*
因素D	37.31	2.00	18.66	2.82		

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00, F_{0.01}(2, 2) = 99.00$ 。表10同。

Note:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.00, F_{0.01}(2, 2) = 99.00$  (for Tab. 8 and Tab. 10).

水提工艺:采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,结果见表9,方差分析结果见表10。由表9极差分析结果可知,3个因素对水提工艺的影响大小依次为 $C > A > B$ ,因素不同水平对水提工艺结果的综合评分影响顺序为 $A_3 > A_2 > A_1, B_2 > B_1 > B_3, C_3 > C_2 > C_1$ ,但影响因素B的 $K_1$ 和 $K_2$ 相差不大。通过综合评分可知,最佳水提工艺为 $A_3B_1C_3$ 。由表10方差分析结果可知,提取次数(C)对水提工艺的影响显著( $P < 0.05$ ),而加水量(A)和提取时间(B)对水提工艺的影响不显著( $P > 0.05$ )。为适应医院制剂的实际生产需要,最终确定最优水提工艺为 $A_3B_1C_3$ ,即加12倍量水,提取3次,每次1.0 h。

## 2.6 验证试验

取10倍处方量的同一批药材3份,按2.5项下优选的醇提/水提工艺条件分别进行提取,醇提物/水提物按2.1项下色谱条件分别进样测定,并按正交试验中的综合评分法(各指标最大值按正交试验中的最大值计)对最终结果进行评分。结果见表11和表12,表明该醇提/水提工艺有较好的稳定性及重复性,可用于坐浴安散的工业化生产。

根据此验证试验结果,最终拟订坐浴安散的提取工艺为按处方比例称取大黄,加入8倍量的70%乙醇,提取3次,每次40 min,合并乙醇液浓缩至少量;醇提后的药渣与按处方比例称取的另外4味药材(功劳木、苦参、五倍子、两面针)一同进行水提,加入12倍量的水,提取3次,每次1.0 h,合并提取液,浓缩至少量。

表9 水提工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Tab. 9 Results of the  $L_9(3^4)$  orthogonal test of water extraction process

序号	因素A (倍)	因素B (h)	因素C (次)	因素D (空白)	含量(mg/g)			干膏得 率(%)	综合评 分(分)
					盐酸小檗碱	苦参碱	氧化苦参碱		
1	1	1	1	1	0.49	0.64	1.15	15.48	76.09
2	1	2	2	2	0.53	0.74	1.16	21.61	83.07
3	1	3	3	3	0.55	0.95	1.06	25.26	88.95
4	2	1	2	3	0.51	0.74	1.11	21.29	81.39
5	2	2	3	1	0.62	0.84	1.02	25.20	91.98
6	2	3	1	2	0.49	0.67	0.99	17.51	75.05
7	3	1	3	2	0.63	0.84	1.34	25.59	98.05
8	3	2	1	3	0.56	0.85	1.11	17.12	85.97
9	3	3	2	1	0.51	0.80	1.03	23.52	82.10
$K_1$	82.70	85.18	79.04	83.39					
$K_2$	82.81	87.01	82.19	85.39					
$K_3$	88.71	82.04	92.99	85.44					
R	6.00	4.97	13.95	2.05					

表10 水提工艺综合评分方差分析结果

Tab. 10 Results of ANOVA of comprehensive score of water extraction process

方差来源	SS	df	方差	F值	P	显著性
因素A	70.87	2.00	35.44	8.63		
因素B	37.91	2.00	18.95	4.62		
因素C	321.26	2.00	160.63	39.14	< 0.05	*
误差	8.21	2.00	4.10	1.00		

表11 醇提工艺验证试验结果( $n = 3$ )

Tab. 11 Results of the verification test of alcohol extraction process ( $n = 3$ )

组别	含量(mg/g)			干膏得 率(%)	综合评 分(分)
	大黄酸	大黄素	大黄酚		
1	24.75	17.11	30.28	36.12	97.66
2	24.22	17.32	29.83	36.55	96.98
3	24.03	17.48	30.54	38.07	98.00
$\bar{X}$	24.33	17.30	30.22	36.91	97.55

表12 水提工艺验证试验结果(n=3)

Tab. 12 Results of the verification test of water extraction process (n=3)

组别	含量(mg/g)			干膏得率 (%)	综合评分(分)
	盐酸小檗碱	苦参碱	氧化苦参碱		
1	0.63	0.85	1.30	25.01	97.12
2	0.60	0.86	1.31	25.36	95.11
3	0.62	0.82	1.28	24.53	95.21
$\bar{X}$	0.62	0.84	1.30	24.97	95.81

### 3 讨论

#### 3.1 HPLC法含量测定中提取溶剂筛选

三氯甲烷为传统有机溶剂,毒性高,对人体伤害大,应慎用,而二氯甲烷的毒性较低,适合实验室提取(萃取)工艺操作<sup>[15]</sup>。故本研究选用二氯甲烷替代三氯甲烷作为大黄和苦参制备供试品溶液的提取(萃取)溶剂,结果可行。

#### 3.2 工艺优选指标及权重确定

中药复方制剂成分复杂,疗效是多种有效成分共同作用的结果。本研究中依据君臣佐使的配伍原则,参照坐浴安散药理作用的整体性,兼顾其多成分、多靶点作用的特点,根据各指标间的重要性差异,运用AHP法确定各指标权重。AHP法是一种定性和定量相结合的决策分析方法,通过数理运算将主观对各项指标的重视程度与各项指标间的相互联系转变为可量化的权重系数,对权重进行一致性检验,以判断矩阵的可接受性,实现定性到定量的转化,用于存在多种有效成分的中药复方制剂提取工艺研究的综合评价具有一定的科学性与合理性<sup>[16-17]</sup>。本研究中采用正交试验结合多指标综合评分法,以方中的君臣药大黄、功劳木、苦参中有效成分大黄酸、大黄素、大黄酚、盐酸小檗碱、苦参碱、氧化苦参碱的含量及干膏得率为考察指标,对坐浴安散的提取工艺进行了优化。优化的提取工艺稳定、可靠,有效成分提取完全,为该制剂的工业化生产提供了实验依据。

#### 3.3 工艺优化结果比较

坐浴安散优化前的提取工艺为大黄、功劳木、苦参、五倍子、两面针5味药材加水煎煮2次,第1次2.0h,第2次1.5h,合并煎液。根据文献<sup>[18-19]</sup>报道及2020年版《中国药典(一部)》中所载复方制剂的制法工艺,大黄在复方制剂中的提取工艺多为醇提。故后续试验中取等量的同一批药材2份,采用旧工艺与本研究中优化工艺分别提取,测定并比较提取物,发现优化后的工艺中,君药大黄的各项指标提升明显,方法确切有效,具有可操作性,可用于坐浴安散的实际生产,进一步提升

了该制剂的质量。

#### 参考文献

- [1] 肖振球,吕小平,何泽生. 剥扎注射术配合中药治疗混合痔的临床对照观察[J]. 广西中医药,1998,21(2):1-3.
- [2] 肖振球,肖柳华. 坐浴安洗剂在肛肠科的临床应用观察[J]. 现代中西医结合杂志,2001,10(12):1120-1121.
- [3] 金丽霞,金丽军,栾仲秋,等. 大黄的化学成分和药理研究进展[J]. 中医药信息,2020,37(1):121-126.
- [4] 洪林,蒲兰,李冰冰,等. 阔叶十大功劳的化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 贵州农业科学,2019,47(9):122-125.
- [5] 苏丽丽. 苦参的化学成分及药理作用研究进展[J]. 化学工程师,2021,35(3):58-61.
- [6] 孙会娟,张瑜,赵涛. 中药五倍子及其活性成分的研究进展[J]. 基层医学论坛,2018,22(19):2728-2730.
- [7] 李艳芝,王慧云. 两面针化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中国药房,2013,24(31):2966-2968.
- [8] 张健,张蒙蒙. 高效液相法测定黄连降糖片中盐酸小檗碱含量[J]. 中医研究,2019,32(6):63-65.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:24-25.
- [10] 李振兴,单雪梅,袁万瑞,等. HPLC测定十味苦硝熏洗散中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 海峡药学,2020,32(11):58-61.
- [11] 翁燕,范智毅,刘志辉. 正交试验法优选益气活血颗粒水提工艺[J]. 中国现代中药,2021,23(1):111-116.
- [12] 郭丽,陈皓,贾明璐,等. 层次分析法及多指标正交试验优化归芪通脉合剂水提工艺[J]. 中国现代中药,2021,23(6):1068-1075.
- [13] 黄诗洪,武正华,缪文清,等. 基于高效液相色谱法结合层次分析和正交设计法优选土茯苓醇提工艺[J]. 中南药学,2021,19(4):642-648.
- [14] 张广求,郁哲洪,张怡航. 基于层次分析法的多指标正交试验优选参菊洗剂提取工艺[J]. 中国药师,2021,24(8):553-557.
- [15] 虞夏晖,张旭冉,朱雨晴,等. 大黄蒽醌化合物的提取工艺及其体外抑菌活性[J]. 中华中医药杂志,2018,33(11):5186-5189.
- [16] 蔡妮娜,曹富宁,谢宁,等. 基于层次分析法和正交设计法优选盆消灌肠液的提取工艺[J]. 亚太传统医药,2021,17(8):74-78.
- [17] 王强,张湛,郝佳,等. 基于AHP-CRITIC法的正交设计优化柏参洗剂提取工艺[J]. 中国药师,2020,23(9):1740-1744.
- [18] 王洪志,乔晓莉,刘勇,等. 两种溶剂提取大黄蒽醌类成分的变化[J]. 天津药学,2014,26(1):1-4.
- [19] 邱水生,肖淋,肖钦. 正交试验优选紫白栓中大黄的提取工艺[J]. 海峡药学,2020,32(9):46-48.

(收稿日期:2022-04-19;修回日期:2022-09-14)