

中图分类号: R94 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)16-0048-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.16.011



AHP - CRITIC 法结合正交试验法优选如意凝胶贴膏提取工艺*

刘秋叶^{1,2}, 左亚杰^{1,2}, 何雄³, 郑沛^{1,2}, 文玲^{1,2}, 杨俊^{1,2}, 王潇^{1,2}, 文敏^{1,2,Δ}

(1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410000; 2. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410000; 3. 湖南省药品审评与不良反应监测中心, 湖南长沙 410000)

摘要:目的 优选如意凝胶贴膏提取工艺。方法 以栀子苷含量、黄芩苷含量和干膏得率为评价指标, 采用层次分析(AHP) - CRITIC法确定其权重系数; 以加水量、浸泡时间、提取时间为考察因素, 采用正交试验法优选如意凝胶贴膏的提取工艺, 并验证。结果 优选的工艺为第1次加12倍量水, 提取2.0 h; 第2次加10倍量水, 提取1.5 h。按最优工艺进行提取, 样品的干膏得率、栀子苷含量、黄芩苷含量分别为24.11%~24.23%、2.20~2.25 mg/g、12.10~12.15 mg/g。结论 优选的提取工艺科学、合理, 可为如意凝胶贴膏后续的研发提供依据。

关键词:如意凝胶贴膏; 提取工艺; 层次分析法; 客观赋权法; 干膏得率

Optimization of Extraction Process of Ruyi Gel Plaster by AHP - CRITIC Combined with Orthogonal Test

LIU Qiuye^{1,2}, ZUO Yajie^{1,2}, HE Xiong³, ZHENG Pei^{1,2}, WEN Ling^{1,2}, YANG Jun^{1,2}, WANG Xiao^{1,2}, WEN Min^{1,2}

(1. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan, China 410000; 2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan, China 410000; 3. Hunan Drug Evaluation and Adverse Reaction Monitoring Center, Changsha, Hunan, China 410000)

Abstract: Objective To optimize the extraction process of Ruyi Gel Plaster. **Methods** The geniposide content, baicalin content and dry extract yield were taken as the evaluation indicators, the analytic hierarchy process (AHP) - CRITIC method was used to determine their weight coefficients. The orthogonal test was used to optimize the extraction process of Ruyi Gel Plaster with the water addition amount, soaking time and extraction time as the investigation factors. Then the verification test was carried out.

Results The optimal process was as follows: adding 12 times the amount of water for the first time, extracting for 2.0 h; adding 10 times the amount of water for the second time, extracting for 1.5 h. Based on the optimal extraction process, the dry extract yield, geniposide content and baicalin content of the samples were in the range of 24.11% - 24.23%, 2.20 - 2.25 mg / g and 12.10 - 12.15 mg / g, respectively. **Conclusion** The optimal extraction process is scientific and reasonable, which can provide a basis for the follow - up research and development of Ruyi Gel Plaster.

Key words: Ruyi Gel Plaster; extraction process; analytic hierarchy process; objective weighting method; dry extract yield

如意散为湖南中医药大学第一附属医院乳腺科临床经验方, 由大黄、黄芩、紫草、地榆、栀子、黄柏、姜黄、冰片组成, 具有清热解毒、凉血散瘀、消肿止痛功效, 临床用于治疗热毒瘀滞所致的疮疡肿痛。因散剂敷贴不便、剂量不准, 现拟将如意散开发成如意凝胶贴膏。根据其处方配伍规律及药物活性成分和药理作用, 本研究中以栀子苷、黄芩苷含量和干膏得率为评价指标, 采用层次分析(AHP) - CRITIC法计算指标权重^[1-3]; 并以加水量、煎煮时间、浸泡时间为考察因素, 采用正交试验法优选如意凝胶贴膏的提取工艺, 以期为该制剂的后续研发提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260 infinity II型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); SK5200H型数控超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); AUV220D型电子分析天平(精度为0.01 mg)、AUX220型电子分析天平(精度0.1 mg), 均购自日本Shimadzu公司; HH-6S型数显恒温水浴锅(常州亿通分析仪器制造有限公司); RE-2000A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试剂

栀子苷对照品(批号为110749-201919, 含量

* 基金项目: 国家中医药管理局中药炮制技术传承基地建设项目[国中医药科技中药便函[2022]59号]; 湖南省自然科学基金[2021JJ80066, 2023JJ60112]; 湖南中医药大学校级科研基金项目[2019XJJJ053]。

第一作者: 刘秋叶, 女, 硕士, 主管中药师, 研究方向为中药制剂研发及中药炮制, (电子信箱)542672830@qq.com。

Δ通信作者: 文敏, 女, 硕士, 主管中药师, 研究方向为中药制剂研发及中药炮制, (电子信箱)542672830@qq.com。

97.1%)、黄芩苷对照品(批号为110715-202223,含量97.2%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,磷酸为分析纯,水为纯化水。药材饮片紫草(批号为220501,产地新疆),地榆(批号为220101,产地湖南),栀子(批号为220101,产地湖南),大黄(批号为220301,产地甘肃),黄芩(批号为220302,产地河北),黄柏(批号为220301,产地四川),姜黄(批号为220401,产地四川),均购自湖南省弘华中药饮片有限公司,经湖南中医药大学张裕民教授鉴定,均符合2020年版《中国药典(一部)》中各药材和饮片项下有关规定。

2 方法与结果

2.1 样品粗提液制备^[4]

称取大黄、黄芩、紫草、地榆、栀子、黄柏、姜黄饮片样品各30g,第1次加10倍量水、煎煮2.0h,第2次加8倍量水、煎煮1.5h,滤过,合并滤液,减压浓缩至1000mL,即得。

2.2 指标性化学成分含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX Eclipse C₁₈柱(250mm×4.6mm, 5μm);流动相:甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~15min时20%A,15~30min时20%A→43%A,30~40min时43%A→78%A,40~45min时78%A→82%A,45~50min时82%A,50~55min时82%A→80%A);流速:1.0mL/min;检测波长:254nm;柱温:25℃;进样量:10μL。

2.2.2 溶液制备

分别取栀子苷、黄芩苷对照品各适量,精密称定,加入甲醇超声(功率为53kHz,频率为200W,下同)溶解,即得栀子苷、黄芩苷质量浓度分别为0.6636mg/mL、1.5320mg/mL的混合对照品溶液。精密吸取样品粗提液5mL,置10mL容量瓶中,加入甲醇5mL,加水定容,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按如意凝胶贴膏处方和工艺制备取缺栀子、黄芩的阴性样品,按2.1项下方法制备样品粗提液,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:吸取2.2.2项下3种溶液各适量,按

2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。详见图1。

线性关系考察:分别精密吸取2.2.2项下混合对照品溶液1,2,3,4,5mL,分别置10mL容量瓶中,用甲醇定容,制成系列混合对照品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以各待测成分质量浓度($X, \mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,分别得栀子苷和黄芩苷的回归方程 $Y_1 = 12.63X_1 + 101.23 (R^2 = 0.9994, n = 5)$ 、 $Y_2 = 4.4491X_2 - 34.617 (R^2 = 1.0000, n = 5)$ 。结果表明,栀子苷、黄芩苷质量浓度分别在66.36~331.80μg/mL、153.20~766.00μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取2.2.2项下混合对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果栀子苷、黄芩苷峰面积的RSD分别为0.23%、1.09%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密吸取2.2.2项下混合对照品溶液适量,分别于室温下放置0,2,4,6,8,12,24h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果栀子苷、黄芩苷峰面积的RSD分别为1.68%、1.97%($n = 7$),表明混合对照品溶液室温下放置24h内基本稳定。

重复性试验:取2.1项下样品粗提液适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,平行3份,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算平均含量。结果栀子苷、黄芩苷平均含量的RSD分别为0.82%、0.58%($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密吸取2.1项下已知含量的样品粗提液适量,平行6份,按样品含量的100%加入各对照品溶液,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果栀子苷、黄芩苷的平均加样回收率分别为99.24%、100.49%,RSD分别为1.21%、1.83%($n = 6$)。

2.3 干膏得率测定^[5-9]

精密量取样品粗提液25mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,105℃烘箱中干燥3h后取出,置干燥器中冷却,称定质量,计算干膏得率。干膏得率(%) =

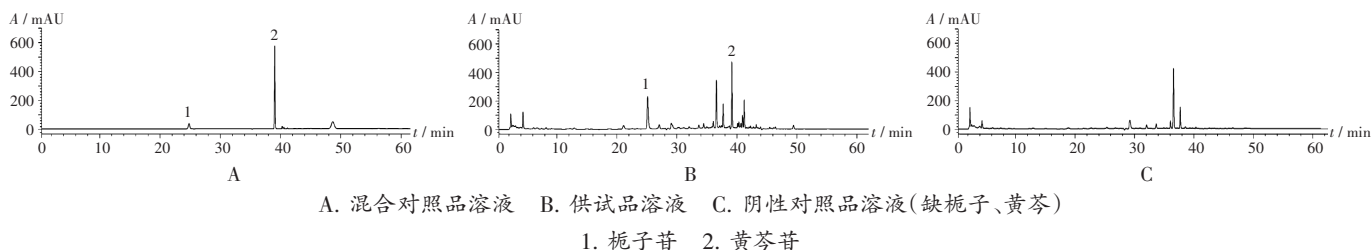


图1 高效液相色谱图

A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution (lacking Gardeniae Fructus and Scutellariae Radix)

1. Geniposide 2. Baicalin

Fig. 1 HPLC chromatograms

干膏质量 / 药材质量 × 100%。

2.4 正交试验设计

根据单因素预试验结果,确定提取次数为2次。以栀子苷、黄芩苷含量及干膏得率为评价指标,以加水量(因素A)、煎煮时间(因素B)、浸泡时间(因素C)为考察因素。因素与水平见表1。

表1 因素与水平

Tab.1 Factors and their levels

水平	因素A(倍)		因素B(h)		因素C(h)
	I	II	I	II	I
1	8	6	1.0	0.5	0
2	10	8	1.5	1.0	0.5
3	12	10	2.0	1.5	1.0

注: I 为第1次提取, II 为第2次提取。

Note: I refers to the first extraction, and II refers to the second extraction.

2.5 权重系数确定

AHP法^[12]:根据中药君臣佐使配伍规律及各成分药理作用强弱,将栀子苷、黄芩苷含量及干膏得率作为评价指标予以量化,采用1~3分标度法进行划分,指标重要性由强到弱依次为干膏得率 > 栀子苷含量 > 黄芩苷含量。构建指标成对比较的优先判断矩阵(见表2)。经计算,干膏得率、栀子苷含量、黄芩苷含量的权重系数分别为54.545%, 27.273%, 18.182%,一致性比例因子为0.000 (< 0.10),表明该判断矩阵权重系数有效。

表2 指标成对比较的优先判断矩阵

Tab.2 Priority judgment matrix of pairwise comparison of indicators

指标	干膏得率	栀子苷含量	黄芩苷含量
干膏得率	1	2	3
栀子苷含量	1/2	1	3/2
黄芩苷含量	1/3	2/3	1

CRITIC法^[13-14]:将正交试验所得含量、干膏得率数据导入SPSSAU 23.0软件进行归一化处理,得到变异性、冲突性、信息量与权重(见表3)。

表3 CRITIC法计算结果

Tab.3 Calculation data of CRITIC method

项目	干膏得率	栀子苷含量	黄芩苷含量
指标变异性	0.369	0.317	0.377
指标冲突性	1.351	1.744	2.631
指标信息量	0.498	0.552	0.993
指标权重	24.38%	27.03%	48.59%

综合权重^[5,10-11,15-16]:采用AHP-CRITIC法,根据公式(1)分别计算干膏得率、栀子苷、黄芩苷含量的综合权重系数,其中 ω_{AHPi} 、 $\omega_{CRITICi}$ 分别表示通过AHP法、CRITIC法计算得到的权重系数。结果分别为45.07%, 24.99%, 29.94%。按公式(2)计算综合评

分^[4-5,10-11][其中, x_i 表示第*i*个试验的相应指标数值, $\max(x_i)$ 表示第*i*个试验该指标数值的最大值, ω 表示权重系数]。

$$\omega_{(AHP-CRITIC)} = (\omega_{AHPi} \times \omega_{CRITICi}) / (\omega_{AHPi} \times \omega_{CRITICi}) \quad (1)$$

$$\text{综合评分} = x_{i\text{干膏得率}} / \max(x_i)_{\text{干膏得率}} \times \omega_{\text{干膏得率}} \times 100 + x_{i\text{栀子苷}} / \max(x_i)_{\text{栀子苷}} \times \omega_{\text{栀子苷}} \times 100 + x_{i\text{黄芩苷}} / \max(x_i)_{\text{黄芩苷}} \times \omega_{\text{黄芩苷}} \times 100 \quad (2)$$

2.6 正交试验设计与结果分析^[4-5,9]

正交试验设计与结果见表4,方差分析结果见表5。可知,各因素对如意凝胶贴膏提取工艺的影响大小分别为B > A > C,且三者对提取工艺均有显著影响($P < 0.05$)。由表4可知,如意凝胶贴膏提取工艺的最优组合为A₃B₃C₁,但未在正交试验设计中;根据综合评分,最优组合为A₃B₂C₁,故需对二者进行比较。

表4 L₉(3⁴)正交试验设计与结果

Tab.4 Design and results of the L₉(3⁴) orthogonal test

序号	因素				干膏得率 (%)	栀子苷 (mg/g)	黄芩苷 (mg/g)	综合评分 (分)
	A	B	C	D(空白)				
1	1	1	1	1	19.35	2.16	6.88	71.94
2	1	2	2	2	20.58	1.84	7.84	72.93
3	1	3	3	3	22.90	2.15	6.89	78.41
4	2	1	2	3	19.24	1.82	6.57	67.63
5	2	2	3	1	21.04	2.09	7.90	76.46
6	2	3	1	2	24.43	2.43	7.61	85.58
7	3	1	3	2	19.32	1.45	13.68	78.70
8	3	2	1	3	21.61	1.91	14.49	89.29
9	3	3	2	1	23.37	2.45	8.80	86.29
K ₁	223.28	218.27	246.81	234.69				
K ₂	229.67	238.68	226.85	237.21				
K ₃	254.28	250.28	233.57	235.33				
R	10.33	10.67	6.65	0.84				

表5 方差分析结果

Tab.5 Results of the analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P
A	178.609	2	89.304	156.151	< 0.01
B	175.085	2	87.542	153.070	< 0.01
C	68.762	2	34.381	60.116	< 0.05
误差	1.144	2	0.572	1	

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

Note: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$, $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ 。

2.6 最优工艺确定及验证

按药材处方量扩大10倍进行试验,各平行称取药材3份,按A₃B₃C₁(试验序号1,2,3)和A₃B₂C₁(试验序号4,5,6)提取工艺进行平行比较及验证试验(见表6)。结果显示,A₃B₃C₁的综合评分更高,故为最优提取工艺(即第1次加12倍量水、提取2.0h,第2次加10倍量水、提取1.5h),且综合评分的RSD为0.44%($n = 3$),提示优

表6 验证试验结果

Tab. 6 Results of the verification test

序号	干膏得率(%)	栀子苷含量(mg/g)	黄芩苷含量(mg/g)	综合评分(分)
1	24.23	2.25	12.15	92.76
2	24.11	2.20	12.11	91.94
3	24.17	2.23	12.10	92.34
4	21.60	1.92	14.45	89.29
5	21.63	1.92	14.49	89.43
6	21.63	1.91	14.48	89.31

选的工艺稳定合理。

3 讨论

优化提取工艺时,选择黄芩苷、栀子苷含量及干膏得率为评价指标。栀子苷为栀子的主要药效成分,可通过抑制I κ B激酶/核因子(NF)- κ B信号通路有效缓解模型大鼠脑脊髓损伤术后炎症反应,促进其运动功能恢复和轴突再生^[15];不同浓度的栀子苷对模型小鼠乳腺炎的发生均具有抑制作用,且浓度与作用呈正相关^[16]。黄芩苷为黄芩的主要药效成分,可通过抑制金黄色葡萄球菌乳腺炎中NF- κ B和p38 mRNA表达,从而减弱肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素1 β 和白细胞介素6的表达,显著减轻炎性细胞浸润^[17-18]。水提工艺中,干膏得率能在一定程度上反映药物成分的提取程度,是工艺优化中的重要评价指标。

中药复方的提取工艺评价常选择多个指标成分,通过指标作出科学合理的综合评价。确定各因素的权重系数是综合评价的基础。目前常用的评价方法有主观综合评分法、AHP法、CRITIC法、AHP-CRITIC法^[19]等。主观综合评分法评价的随意性较大,精确度不高;AHP法权重大小主要与数据大小信息有关,与数据波动性、数据间关系无关;熵权法是根据数据提供的信息量来确定指标权重的方法,不能体现中药复方的君臣佐使关系^[20];CRITIC法是一种客观赋权法,虽然所得的权重系数受人为主观因素影响较小,但指标间的轻重关系易被忽视^[11];AHP-CRITIC法是将主观赋权法与客观赋权法结合,与数据波动性、大小及相关关系均有关,可使筛选出的现代提取工艺参数更加科学可信。

综上所述,本研究中选择与药效直接相关的栀子苷、黄芩苷含量及干膏得率为评价指标,采用AHP-CRITIC法进行赋权,结合正交试验法进行优选,得到的提取工艺合理、可行,适用于工业化生产,可为如意凝胶贴膏的研发奠定基础。

参考文献

[1] 杨颖,邵骏菁,周芹芹,等. 基于抗H1N1活性和AHP-CRITIC混合加权法优选裸花紫珠提取工艺研究[J]. 中华中医药杂志,2023,38(5):2084-2090.
[2] 祁玉芳,范星晨,汪思晨,等. 基于AHP-CRITIC复合加权法优选厚朴姜炙工艺及姜炙前后化学成分变化研究[J]. 中国

中药杂志,2023,48(14):3806-3814.

[3] 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.
[4] 郭玉儿,王信,董学凤,等. 基于正交设计法和混合加权法优化芪精口服液提取工艺[J]. 中药材,2023,46(7):1748-1752.
[5] 汪怡,刘菊,杨菊. 基于AHP-CRITIC权重分析法结合正交设计法优选降脂方冲泡条件的研究[J]. 中国药师,2021,24(10):1913-1917.
[6] 张锐,顾志荣,吕鑫,等. 基于球面对称设计和GA-BP模型结合AHP-CRITIC优化清咽止痛方提取工艺[J]. 中药材,2022,45(7):1683-1690.
[7] 郭丽,赵变,吴作敏,等. AHP-CRITIC法结合正交设计法优选丹参心脑通胶囊提取工艺[J]. 辽宁中医杂志,2023,50(1):130-134.
[8] 郑文丽,魏艳婷,李佳佳,等. Box-Behnken响应面法结合信息熵法优化葛根汤提取工艺[J]. 中国药业,2023,32(11):57-62.
[9] 洪博,刘军,林宇,等. 正交试验优选十枣汤的提取工艺[J]. 中国药业,2023,32(9):33-36.
[10] 曾淑欣,黄群,袁鑫怡,等. 基于多指标评价法的蒲公英提取工艺优化[J]. 化学研究与应用,2023,35(3):579-585.
[11] 郭曼曼,汪怡,李青松. 基于AHP-CRITIC权重分析法结合正交设计法优选宣肺止咳方水提工艺[J]. 山西中医,2022,38(10):62-65.
[12] 李利华,王巍,张一美,等. 多指标综合评价结合层次分析法优化黄芩的微波酒蜜炮制工艺[J]. 现代药物与临床,2023,38(9):2195-2201.
[13] 张佳旭,黄成凤,朱兴龙,等. 基于CRITIC结合Box-Behnken响应面法的厚朴产地趁鲜加工与炮制一体化工艺研究[J]. 中草药,2023,54(17):5560-5567.
[14] 李俊江,徐志伟,毕映燕,等. 舒肝利胆浓缩丸提取工艺优化[J]. 中成药,2023,45(9):3037-3041.
[15] LI YY, QIU HP, YAO SH, et al. Geniposide exerts protective effects on spinal cord injury in rats by inhibiting the IKKs / NF- κ B signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 100:108158.
[16] 孙勇,李德鹏,张雯,等. 栀子苷对LPS诱导的小鼠乳腺炎的抑制效果[J]. 中国兽医科学,2013,43(8):876-880.
[17] GUO M, ZHANG N, LI D, et al. Baicalin plays an anti-inflammatory role through reducing nuclear factor- κ B and p38 phosphorylation in *S. aureus*-induced mastitis[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16(2):125-130.
[18] JIN X, LIU MY, ZHANG DF, et al. Baicalin mitigates cognitive impairment and protects neurons from microglia-mediated neuroinflammation via suppressing NLRP3 inflammasomes and TLR4 / NF- κ B signaling pathway[J]. CNS Neurosci Ther, 2019, 25(5):575-590.
[19] 文敏,郑沛,刘秋叶,等. 基于AHP-TOPSIS法评价三七不同灭菌方法对质量的影响[J]. 中草药,2023,54(15):4849-4855.
[20] 王晓丽,沈哲苑,李丽萍,等. 基于正交试验结合基准关联度和AHP-熵权法优化经典名方黄连汤提取工艺[J]. 中草药,2023,54(15):4804-4811.

(收稿日期:2023-09-06;修回日期:2024-02-05)