

· 药学基础 ·

基于AHP-CRITIC混合加权法和响应面法的盐车前子炮制工艺优选及其利尿作用考察

李潮, 于欢*, 温柔, 严丽萍, 龚千锋*, 钟凌云, 张金莲
(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:优化盐车前子的炮制工艺,明确其工艺参数,并结合药效学研究对所得炮制工艺进行验证,为盐车前子的规范化生产和质量控制提供实验依据。方法:以3个指标成分(京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷)质量分数、外观性状评分和干膏得率的综合评分为指标,采用层次分析法(AHP)-指标相关性的指标权重确定方法(CRITIC)混合加权法确定各评价指标的权重系数,在单因素试验基础上,利用响应面法考察炒制温度、炒制时间、加盐量和加水量对盐车前子炮制工艺的影响,并通过利尿试验对盐车前子炮制工艺进行验证,选择呋塞米片为阳性药(给药剂量 $0.01\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。结果:AHP-CRITIC混合加权法确定京尼平苷酸质量分数、毛蕊花糖苷质量分数、外观性状评分、异毛蕊花糖苷质量分数、干膏得率的权重系数分别为0.319, 0.193, 0.207, 0.273, 0.008。最佳盐炙工艺参数为每100 g车前子生品于150~180 °C文火炒制10 min,均匀喷淋盐水(食盐2 g加水20 mL使溶解)20 mL,于150~180 °C炒制15 min,取出,放凉。与空白组比较,车前子组和盐车前子组均能增加尿量分泌量($P<0.01$),但盐车前子组大鼠尿液电解质 Na^+ 排泄较车前子组显著升高($P<0.05$)。结论:优选的炮制工艺简单可行,可为规范盐车前子饮片的工业化生产提供参考。同时,结合盐车前子内在质量和外观性状,并利用药效学试验进行验证,所得结果更加合理可信,可用于该饮片的质量控制。

[关键词] 盐车前子; 炮制工艺; 层次分析法(AHP); 指标相关性的指标权重确定方法(CRITIC); 响应面法; 药效学; 利尿

[中图分类号] R22;R28;R943.1;R965;C37 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2020)20-0124-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201246

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200331.1417.002.html>

[网络出版日期] 2020-3-31 16:30

Optimization of Processing Technology of Salt-processed Products of Plantaginis Semen Based on Response Surface Method and AHP-CRITIC Mixed Weighting Method and Investigation of Its Diuretic Effect

LI Chao, YU Huan*, WEN Rou, YAN Li-ping, GONG Qian-feng*, ZHONG Ling-yun, ZHANG Jin-lian
(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the processing technology of salt-processed products of Plantaginis Semen with the specific process parameters, and verify the obtained processing technology by pharmacodynamic research, so as to provide experimental basis for the standardized production and quality control of this decoction pieces. **Method:** Taking composite score of appearance character score, dry extract yield and contents of three components (geniposidic acid, acteoside and isoacteoside) as index, the analytic hierarchy process (AHP) - criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC) mixed weighting method was used to determine the weight coefficient of each index. Based on single factor tests, the response surface method was used to

[收稿日期] 20191225(004)

[基金项目] 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-JX-27)

[第一作者] 李潮, 硕士, 从事中药炮制、饮片质量标准与炮制机制研究, E-mail: 1668152829@qq.com

[通信作者] * 龚千锋, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制传承、饮片质量标准与炮制机制研究, E-mail: gongqf2002@163.com;

* 于欢, 讲师, 从事中药饮片标准化与炮制机制研究, E-mail: 416931863@qq.com

investigate the effects of frying time, frying temperature, salt amount and water amount on the processing technology of salt-processed products of Plantaginis Semen, and the processing technology was verified by diuretic experiment with furosemide tablets as the positive drug (administration dose of $0.01 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). **Result:** The weight coefficients of geniposidic acid content, acteoside content, appearance character score, isoacteoside content and dry extract yield were 0.319, 0.193, 0.207, 0.273 and 0.008, respectively. The optimal process parameters were as following: fried at 150-180 °C for 10 min (obtained from the single factor tests), 100 g of Plantaginis Semen sprayed evenly with 2 g of salt (2 g of salt dissolved in 20 mL of water), and fried at 150-180 °C for 15 min. Compared with the blank group, both of the raw products group and the salt-processed products group could significantly increase the secretion of urine volume ($P < 0.01$), but the excretion of Na^+ in the urine of rats in the salt-processed products group was significantly higher than that in the raw products group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The optimized processing technology is simple and feasible, which can provide reference for standardizing the industrial production of salt-processed products of Plantaginis Semen. At the same time, combined with inherent quality and appearance of the salt-processed products, and verified by pharmacodynamic test, the obtained results are reasonable and reliable, which can be used for quality control of this decoction pieces.

[Key words] salt-processed products of Plantaginis Semen; processing technology; analytic hierarchy process (AHP); criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC); response surface method; pharmacodynamics; diuresis

车前子为江西道地药材之一,具有利尿、消炎、降血糖、降血压、调血脂、抗氧化和调节免疫等活性^[1]。炮制品有酒制、米泔水制、盐炙,现代炮制研究主要涉及生品、清炒品以及盐炙品^[2]。2015年版《中国药典》和多地炮制规范对盐车前子均有记载,但并未对其工艺参数进行量化,使得车前子盐炙品临床疗效各有差异。因此,有必要对盐车前子各个环节进行系统考察,制定规范化的生产工艺。目前,有关盐车前子工艺的研究已有一些报道,但炮制工艺评价指标较为单一,大多局限于化学成分,且缺乏相关药效学验证,不能全面反映该饮片的质量内涵。

本实验拟采用单因素试验和响应面法对车前子饮片炮制各个关键环节工艺参数进行研究,包括炮制辅料用量、炮制温度、炒制时间等。以京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷成分含量,干膏得率以及外观性状为综合指标,基于层次分析法(AHP)和指标相关性的指标权重确定方法(CRITIC),利用AHP-CRITIC混合加权法进行权重分配,优选盐车前子的炮制工艺,同时对所得炮制工艺进行药效学实验验证,为建立盐车前子饮片质量标准及其规范化生产工艺提供实验依据。

1 材料

ACQUITY UPLC H-Class型超高效液相色谱仪[美国 Waters 公司,包括二极管阵列(PDA)检测器

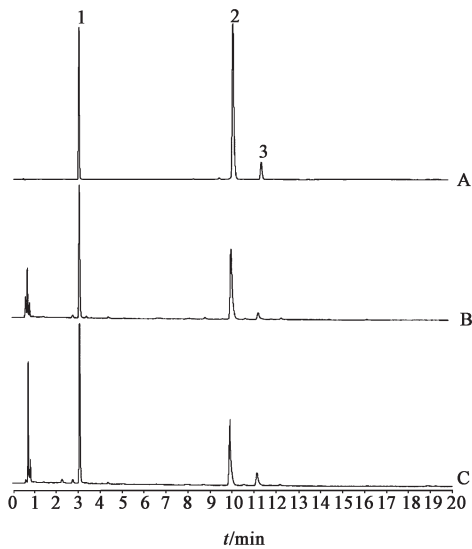
和 Empower 3 色谱工作站], AE240 型 1/10 万电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司], GZX-9076MBE 型电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂), HP-2000 型精密色差仪(深圳汉谱光彩科技有限公司), HK-02A 型 100 g 小型中药粉碎机(长沙旭朗粉碎机械有限公司), URIT-910A 型尿液电解质分析仪(桂林优利特医疗电子有限公司), WZJ-6A 型振动式药物超微粉碎机(济南倍力粉技术工程有限公司)。车前子饮片购自江西古汉精制中药饮片有限公司,批号 20180701,经江西中医药大学龚千锋教授鉴定为车前科植物车前 *Plantago asiatica* 的干燥成熟种子;京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷对照品(成都克洛玛生物科技有限公司,批号分别为 CHB171229, CHB171103, CHB170612,纯度均 $\geq 98\%$),呋塞米片(江苏亚邦爱普森药业有限公司,国药准字 H32021428,规格 20 mg \times 100 片/瓶),水为超纯水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

雄性 SD 大鼠,体质量 180~220 g,清洁级,许可证号 SYXK(湘)2017-0004,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。标准鼠笼饲养,光照周期 12/12 h,相对湿度 45%~50%,环境温度 22~23 °C。经江西中医药大学实验动物伦理委员会审查通过,批准号 JZLLSC2020_0108。

2 方法和结果

2.1 多指标成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B) 梯度洗脱(0~1 min, 5%~10%A; 1~2 min, 10%~20%A; 2~10 min, 20%~35%A; 10~18 min, 35%~50%A; 18~19 min, 50%A; 19~20 min, 50%~5%A), 流速 0.4 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 进样量 2 μL, 检测波长 254 nm。在该色谱条件下, 3个对照品(京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷)与其他色谱峰的分离度均>1.5, 理论板数按各成分计均>3 000, 色谱峰对称性良好, 见图1。



A. 混合对照品; B. 生品; C. 盐炙品; 1. 京尼平苷酸; 2. 毛蕊花糖苷; 3. 异毛蕊花糖苷

图1 车前子饮片的UPLC

Fig. 1 UPLC chromatograms of Plantaginis Semen decoction pieces

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷对照品适量, 置于10 mL量瓶中, 加60% 甲醇制成质量浓度分别为1.210, 1.208, 1.228 g·L⁻¹的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取车前子生品粉末(过三号筛)1.0 g, 置于50 mL具塞锥形瓶中, 精密加入60% 甲醇20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理30 min(功率550 W, 频率40 kHz), 放冷, 称重, 加60% 甲醇补足减失的质量, 过滤, 取续滤液, 过孔径为0.22 μm的微孔滤膜, 即得。

2.1.4 线性关系考察 精密移取2.1.2项下混合对照品溶液适量, 分别稀释2, 5, 10, 25, 50, 100倍, 得系列质量浓度的混合对照品溶液。按2.1.1项下色

谱条件测定。以对照品质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行回归分析, 得京尼平苷酸、毛蕊花糖苷以及异毛蕊花糖苷的回归方程分别为 $Y=1.080 \times 10^6 X - 2\ 660$ ($r=0.999\ 9$), $Y=2.21 \times 10^6 X - 2\ 290$ ($r=0.999\ 9$), $Y=2.41 \times 10^5 X - 1\ 250$ ($r=0.999\ 9$), 各成分线性范围依次为12.10~1 210.00, 12.08~1 208.00, 12.28~1 228.00 mg·L⁻¹。

2.1.5 精密度考察 精密吸取同一混合对照品溶液2 μL, 按2.1.1项下色谱条件连续进样6次, 计算京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷峰面积的RSD分别为0.8%, 1.2%, 1.6%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取车前子饮片适量, 按2.1.3项下方法制备6份供试品溶液, 按2.1.1项下色谱条件测定, 计算京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷的平均质量分数分别为1.449%, 1.374%, 0.226%, RSD分别为2.1%, 1.9%, 1.4%, 表明该方法重复性良好。

2.1.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液适量, 分别于制备后0, 2, 6, 12, 20, 24 h按2.1.1项下色谱条件测定, 计算京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷峰面积的RSD分别为0.9%, 1.4%, 1.7%, 表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.1.8 加样回收试验 取已知各指标成分含量的车前子饮片适量, 共6份, 每份0.5 g, 精密称定, 分别加入等量的京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷对照品, 按2.1.3项下方法制备供试品溶液, 按2.1.1项下色谱条件测定, 结果京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷的加样回收率分别为98.9%, 98.6%, 99.1%, RSD分别为1.8%, 2.0%, 2.9%。

2.1.9 样品测定 精密称取盐车前子饮片1.0 g, 按2.1.3项下方法制备供试品溶液, 按2.1.1项下色谱条件测定, 采用外标法计算各指标成分含量。

2.2 干膏得率的测定 取盐车前子饮片约10 g, 精密称定, 加入500 mL的烧杯中, 加水冷浸0.5 h, 置于电炉上加热煎煮3次, 第1次加水300 mL, 煎煮30 min, 第2, 3次各加水200 mL, 各煎煮20 min, 药液过滤, 合并3次滤液, 放冷。水浴加热浓缩至体积为200 mL, 精密吸取水煎液20 mL置已恒重的蒸发皿中, 置水浴锅上蒸干, 移至烘箱105 °C干燥3 h, 称定质量, 计算干膏得率。

2.3 外观性状评价 据2015年版《中国药典》对盐车前子的性状描述, 选择香气、色泽、性味3个指标为考察对象, 由经验丰富的老药工进行气味评判,

并结合色差仪对饮片粉末的外观颜色进行判定,盐车前子外观性状评价标准见表1。

表1 盐车前子外观性状的评分标准

Table 1 Appearance scoring standard of salt-processed Plantaginis Semen

等级	总分/分	气(评分/分)	粉末色泽(评分/分)	味(评分/分)
1	12~15	香(5)	明显加深(5)	气微,味微咸(5)
2	9~12	淡香(3)	加深(3)	咸(3)
3	<9	不明显(1)	不明显(1)	偏咸或淡(1)

2.4 盐车前子的炮制工艺优选^[3-4] 在单因素试验基础上,选择炒制温度、炒制时间、加盐量以及加水量为考察因素,以京尼平苷酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷质量分数,干膏得率以及外观性状评分的综合评分(OD)为评价指标,计算公式为OD=京尼平苷酸质量分数×权重系数+毛蕊花糖苷质量分数×权重系数+异毛蕊花糖苷质量分数×权重系数+外观性状评分×权重系数+干膏得率×权重系数。称取车前子饮片共30份,每份100g,进行4因素5水平的实验设计(-2, -1, 0, 1, 2),响应面试验安排及结果见表2。

2.5 盐车前子评价指标权重的确立

2.5.1 AHP^[5] 根据车前子炮制前后各指标性成分的增减变化,将各指标成分含量、干膏得率及外观性状作为权重指标予以量化,即5项指标分成4个层次,确定各指标的优先顺序为京尼平苷酸质量分数=毛蕊花糖苷质量分数>外观性状评分>异毛蕊花糖苷质量分数>干膏得率,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。根据评分结果,5项指标京尼平苷酸质量分数、毛蕊花糖苷质量分数、外观性状评分、异毛蕊花糖苷质量分数及干膏得率经层次分析后得到的权重系数分别为0.318, 0.318, 0.189, 0.109, 0.065,一致性比例因子(CR)=0.009<0.10,即指标优先比较判断矩阵具有满意的一致性,权重系数有效,见表3。

2.5.2 CRITIC^[6] 将表3中的数据进行标准化处理[评价指标值=(实测值-最小值)/(最大值-最小值)],根据SPSS 21.0软件处理数据得到相关系数矩阵,表明两两指标比较呈正相关,由公式

$C_j = \delta_j \sum_{i=1}^n (1 - r_{ij})$, $W_j = C_j / \sum_{j=1}^m C_j$ 计算得到京尼平苷酸质量分数、毛蕊花糖苷质量分数、外观性状评分、异毛蕊花糖苷质量分数、干膏得率5项指标的权重系数分别为0.188, 0.114, 0.206, 0.470, 0.023。式中 C_j

表示第j个(j=1, 2, 3, …, n)指标所包含的信息量, r_{ij} 表示指标i(i=1, 2, 3, …, n)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。

2.5.3 AHP-CRITIC混合加权法 通过AHP和CRITIC分别计算得到盐车前子中京尼平苷酸质量分数、毛蕊花糖苷质量分数、外观性状评分、异毛蕊花糖苷质量分数、干膏得率的相关权重,按复合权重($\omega_{复合j}$)= $\omega_{AHPj} \omega_{CRITICj} / \sum \omega_{AHPj} \omega_{CRITICj}$,式中 ω_{AHP} 表示AHP计算的权重系数, ω_{CRITIC} 表示CRITIC计算的权重系数,按公式计算5种成分的复合权重分别为0.319, 0.193, 0.207, 0.273, 0.008。

2.5.4 综合评价结果的比较 分别采用AHP, CRITIC及AHP-CRITIC混合加权法计算得到的权重系数对表2中实验数据进行综合评分比较,见表4。结果发现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,CRITIC与AHP, CRITIC与AHP-CRITIC混合加权法以及AHP与AHP-CRITIC混合加权法的相关系数分别为0.982, 0.995, 0.996,三者相关性显著(P<0.01),说明3种方法的评分结果具有一致性。从权重系数分析,CRITIC与AHP的相关系数为0.258,相关性不显著(P=0.675>0.05),说明二者所反映信息不具有叠加性^[7]。综合考虑,最终选择AHP-CRITIC混合加权法。

2.6 数据处理与分析 运用Design-Expert 8.0.6软件对表2与表4中数据进行拟合,得各因素与AHP-CRITIC混合加权法计算所得综合评分(OD)回归方程 $OD = 3.58 + 0.39A + 0.12B - 0.087C - 0.018D - 0.04AB + 0.00764AC + 0.013AD - 0.083BC + 0.00843BD + 0.11CD - 0.34A^2 - 0.17B^2 - 0.23C^2 - 0.28D^2$ (r=0.9271),校正系数0.9106,说明该模型拟合度良好,试验误差小,可用此模型对综合评分进行分析和预测,该模型的方差分析见表5。结果发现以综合评分为响应值时P<0.0001,表明该回归方程极显著,而失拟项P=0.3617,不显著,表明未知因素对试验干扰性小,利用Design-Expert 8.0.6软件得到方程等高线及响应面图,以确定最佳炮制工艺参数,见图2。根据模型拟合结果,并结合实际操作情况,在预试验基础上,确定盐车前子的炮制工艺为每100g车前子于150~180℃文火炒制10min(由单因素试验考察所得),均匀喷淋盐水(食盐2g加水20mL使溶解)20mL,再于150~180℃炒制15min,取出,放凉。

2.7 炮制工艺的验证试验 称取车前子饮片3份,

表2 盐车前子炮制工艺优选的响应面试验分析

Table 2 Analysis of processing technology of salt-processed Plantaginis Semen optimized by response surface test

No.	A炒制温度/°C	B炒制时间/min	C加盐量/g	D加水量/mL	京尼平苷酸 质量分数/%	毛蕊花糖苷 质量分数/%	异毛蕊花糖苷 质量分数/%	外观性状评 分/分	干膏得率 /g·g ⁻¹
1	120~150	10	1	15	0.719	0.380	0.422	7	0.127
2	180~210	10	1	15	1.528	0.667	1.609	10	0.150
3	120~150	20	1	15	1.458	0.724	1.119	9	0.136
4	180~210	20	1	15	1.497	0.651	1.723	9	0.127
5	120~150	10	3	15	1.191	0.643	0.824	6	0.130
6	180~210	10	3	15	1.398	0.671	1.219	8	0.168
7	120~150	20	3	15	0.824	0.442	0.523	6	0.124
8	180~210	20	3	15	1.380	0.605	1.500	9	0.159
9	120~150	10	1	25	1.264	0.688	0.826	5	0.147
10	180~210	10	1	25	1.416	0.656	1.312	9	0.147
11	120~150	20	1	25	1.620	0.851	0.931	7	0.153
12	180~210	20	1	25	1.572	0.606	1.849	9	0.140
13	120~150	10	3	25	1.440	0.744	0.970	6	0.161
14	180~210	10	3	25	1.505	0.780	0.951	10	0.177
15	120~150	20	3	25	1.469	0.745	0.975	6	0.165
16	180~210	20	3	25	1.506	0.699	1.302	10	0.150
17	90~120	15	2	20	1.355	0.711	0.921	5	0.147
18	210~240	15	2	20	1.460	0.533	2.031	8	0.148
19	150~180	5	2	20	1.365	0.742	0.816	10	0.152
20	150~180	25	2	20	1.466	0.762	1.023	12	0.186
21	150~180	15	0	20	1.630	0.841	1.056	10	0.120
22	150~180	15	4	20	1.366	0.689	1.110	9	0.180
23	150~180	15	2	10	1.449	0.713	1.203	9	0.122
24	150~180	15	2	30	1.349	0.666	1.095	8	0.168
25	150~180	15	2	20	1.448	0.751	0.931	14	0.158
26	150~180	15	2	20	1.382	0.653	1.275	12	0.163
27	150~180	15	2	20	1.419	0.607	1.600	14	0.127
28	150~180	15	2	20	1.396	0.660	1.353	12	0.120
29	150~180	15	2	20	1.481	0.682	1.046	14	0.155
30	150~180	15	2	20	1.401	0.592	0.964	12	0.124

表3 各评价指标成对比较的优先判断矩阵及权重系数

Table 3 Priority judgment matrices and weight coefficients for pairwise comparison of indicators

指标	京尼平苷酸质量分数	毛蕊花糖苷质量分数	外观性状评分	异毛蕊花糖苷质量分数	干膏得率	权重系数
京尼平苷酸质量分数	1	1	2	3	4	0.318
毛蕊花糖苷质量分数	1	1	2	3	4	0.318
外观性状评分	1/2	1/2	1	2	3	0.189
异毛蕊花糖苷质量分数	1/3	1/3	1/2	1	2	0.109
干膏得率	1/4	1/4	1/3	1/2	1	0.065

表4 盐车前子炮制工艺优选的3种赋权法的综合评分

Table 4 Composite scores of three weighting methods for optimizing processing technology of salt-processed Plantaginis Semen

No.	AHP	CRITIC	AHP-CRITIC 混合加权法
1	1.731	1.819	1.869
2	2.777	3.178	3.127
3	2.529	2.736	2.775
4	2.583	3.018	2.938
5	1.820	1.922	1.973
6	2.317	2.560	2.566
7	1.608	1.689	1.735
8	2.509	2.887	2.831
9	1.670	1.736	1.798
10	2.516	2.811	2.801
11	2.224	2.282	2.386
12	2.608	3.086	2.988
13	1.949	2.049	2.112
14	2.735	2.878	2.962
15	1.959	2.057	2.122
16	2.746	3.033	3.043
17	1.714	1.800	1.857
18	2.380	2.937	2.781
19	2.662	2.784	2.873
20	3.104	3.314	3.380
21	2.802	2.957	3.042
22	2.490	2.711	2.737
23	2.531	2.772	2.793
24	2.286	2.492	2.516
25	3.461	3.677	3.761
26	3.069	3.403	3.401
27	3.479	3.969	3.907
28	3.084	3.444	3.428
29	3.462	3.729	3.790
30	3.020	3.254	3.310

每份100g,按优选的工艺条件进行炮制,按上述方法计算盐车前子中京尼平苷酸平均质量分数1.399%,毛蕊花糖苷平均质量分数0.64%,外观性状评分平均值12.333分,异毛蕊花糖苷平均质量分数1.324%,干膏得率平均值0.145g·g⁻¹,OD平均值3.485,与预测值(3.579)的偏差2.6%,说明优选的工艺稳定可行。见表6。

2.8 药效学验证^[8] 取车前子生品及其盐炙品适量,粉碎过三号筛,分别加4倍量80%乙醇回流提取

表5 回归方程的方差分析

Table 5 Analysis of variance of regression equation

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	9.412	14	0.667	8.431	<0.000 1
A	2.886	1	2.891	36.273	<0.000 1
B	0.287	1	0.286	3.621	0.077 3
C	0.162	1	0.163	1.984	0.179 3
D	1.008×10 ⁻³	1	1.012×10 ⁻³	0.013	0.911 7
AB	0.052	1	0.053	0.673	0.426 4
AC	0.012	1	0.012	0.154	0.706 4
AD	4.352×10 ⁻³	1	4.351×10 ⁻³	0.055	0.818 5
BC	0.123	1	0.124	1.476	0.243 0
BD	9.126×10 ⁻⁴	1	9.132×10 ⁻⁴	0.011	0.916 2
CD	0.224	1	0.218	2.742	0.118 8
A ²	3.567	1	3.569	44.832	<0.000 1
B ²	0.687	1	0.685	8.713	0.009 9
C ²	1.313	1	1.312	16.401	0.001 0
D ²	2.109	1	2.114	26.422	0.000 1
残差	1.214	15	0.084		
失拟项	0.887	10	0.089	1.438	0.361 7
纯误差	0.306	5	0.062		
校正总和	10.612	29			

3次,合并提取液,过滤,减压回收溶剂至干,加等渗盐水(0.9% NaCl溶液)混悬,分别制成生药质量浓度为0.5g·mL⁻¹的药液。取阳性药呋塞米片适量,配成质量浓度为0.5g·L⁻¹的等渗盐水溶液。将SD大鼠置代谢笼中适应3d,实验前禁食不禁水18h。实验前轻轻挤压骨盆和拉尾巴以清空大鼠膀胱,排尽余尿。每只大鼠按0.05mL·g⁻¹(以体质量计算)口服等渗盐水,以施加均匀的水负荷。30min后将大鼠随机分为4组,每组8只,组别分别为空白组(给予生理盐水),呋塞米组(给药剂量0.01g·kg⁻¹),车前子组(给药剂量10g·kg⁻¹)和盐车前子组(给药剂量10g·kg⁻¹),给药体积均为0.02mL·g⁻¹。将每只大鼠单独置于代谢笼中,分别测定每只大鼠持续4h的尿量,采用离子选择性电极法测定尿液电解质(Na⁺,K⁺和Cl⁻)的浓度,采用SPSS 21.0软件进行数据处理,实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以P<0.05表示差异具有统计学意义。结果发现各组大鼠体质量无明显差异;与空白组比较,呋塞米组的尿量显著升高(P<0.01),尿液电解质排泄均具有统计学意义,其中K⁺浓度显著升高(P<0.01),Na⁺和Cl⁻浓度明显升高(P<0.05);车前子组

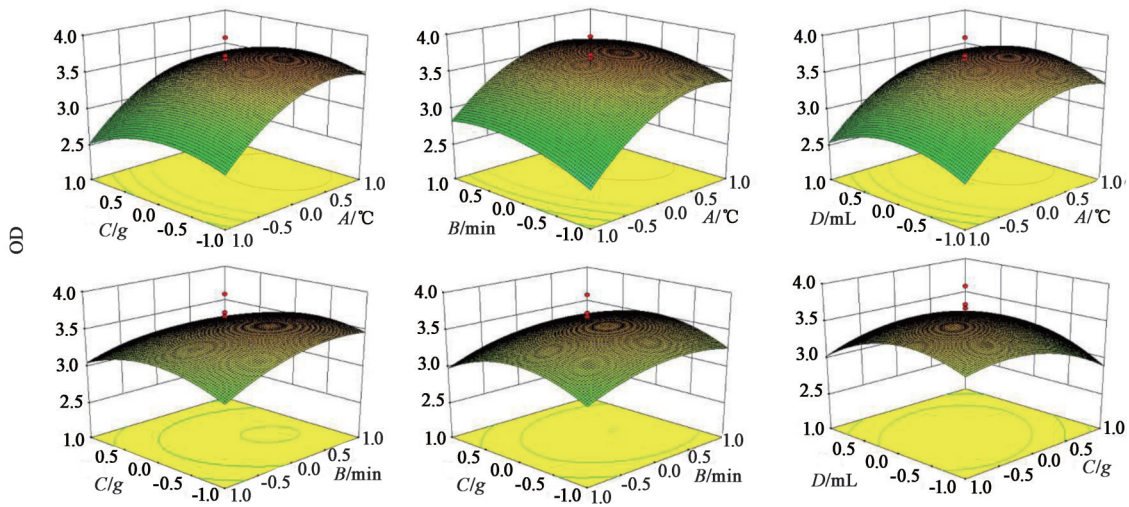


图2 各因素对盐车前子炮制工艺影响的影响面

Fig. 2 Response surface of effects of each factor on processing technology of salt-processed Plantaginis Semen

表6 盐车前子炮制工艺的验证试验

Table 6 Validation test of processing technology of salt-processed Plantaginis Semen

No.	京尼平苷 酸质量分 数/%	毛蕊花糖 苷质量分 数/%	外观性 状评分 /分	异毛蕊花糖 苷质量分 数/%	干膏得 率/g·g ⁻¹	OD
1	1.382	0.653	12	1.278	0.153	3.401
2	1.419	0.607	13	1.341	0.137	3.628
3	1.396	0.660	12	1.353	0.144	3.428

表7 各组大鼠排尿量及尿液电解质排泄情况($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 7 Urinary volume and urine electrolyte excretion of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	尿量/mL	Na ⁺ 浓度/mmol·L ⁻¹	K ⁺ 浓度/mmol·L ⁻¹	Cl ⁻ 浓度/mmol·L ⁻¹	体质量/g
空白	-	4.57±0.48	20.28±1.90	10.79±2.52	32.14±11.91	220.13±9.39
车前子	10	5.58±0.43 ²⁾	22.27±0.96 ¹⁾	11.14±1.10	38.32±6.47	218.88±4.39
盐车前子	10	6.73±0.55 ²⁾	24.14±1.75 ^{2,3)}	10.98±0.89	45.11±6.85 ²⁾	223.00±7.19
呋塞米	0.01	7.02±0.75 ²⁾	22.63±2.16 ¹⁾	13.12±1.69 ²⁾	40.90±6.69 ¹⁾	221.75±7.34

注:尿量与电解质浓度均以大鼠体质量100g计算;与空白组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01;与车前子组比较³⁾P<0.05。

发亮、粒大、饱满、种脐明显、含杂少者为优^[9],但由于车前子样品外观性状较为均一,肉眼不易观察色差。因此,本文选择以盐炙品粉末为研究对象,采用色差仪对盐炙车前子的表观颜色进行打分评价,结果更具客观性。对于盐车前子的内在质量评价指标选取应多元化与综合化,化学成分的研究也应注重整体性。有研究表明,车前中苯乙醇苷类化合物是降低急性高尿酸血症小鼠血清尿酸水平^[10]的重要药效成分^[11],且主要为毛蕊花糖苷与异毛蕊花糖苷^[12],另外,异毛蕊花糖苷能作为区分江西不同产区样品的指标成分之一^[13];同时,2015年版《中国

与盐车前子组的尿量均显著升高(P<0.01),盐车前子组的Na⁺和Cl⁻浓度亦显著升高(P<0.01),车前子组的Na⁺浓度则明显升高(P<0.05)。另外,与车前子组比较,盐车前子组尿液Na⁺浓度显著升高(P<0.05)。见表7。

3 讨论

中药饮片的质量评价主要由外观性状和内在质量综合确定,因此,本研究将表观颜色与内在成分进行综合分析。传统经验认为,车前子以色棕黑

药典》选择用于含量测定的指标成分为京尼平苷酸和毛蕊花糖苷。因此,本文选择了上述3个化学成分作为部分评价指标。车前子炮制后多以汤剂方式入药,种子类药物炒法炮制能提高煎出效果,有利于有效成分的溶出^[14],因此,干膏得率也可作为车前子炮制品内在指标之一。

前期采用单因素试验考察了炮制温度、炮制时间、盐水浓度、盐水量对盐车前子饮片质量的影响,筛选出相应因素水平。权重系数的选择是工艺优选多指标评价需重点考虑的问题,目前确定权重系数的方法有AHP,CRITIC,总评“归一值”法等,

而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,体现的数据信息也更全面,可保证数据点均匀分散、结果稳定可靠,故本文通过比较后,最终采用AHP-CRITIC混合加权法确定盐车前子炮制工艺中各评价指标的权重系数,按其优选的炮制工艺稳定可行,可为该饮片的工业化生产提供数据支持。

车前子为利尿通淋之要药,故本文采用经典利尿模型考察大鼠水钠潴留状态下车前子生品和盐炙品对大鼠尿液和电解质排泄量的影响,即对车前子生品和盐炙品进行利尿药效验证。结果表明盐炙品与生品均能显著提高大鼠尿量,但盐炙品对尿液电解质的影响较生品更高,原因可能是炮制后苯乙醇苷类物质含量升高,作为车前子主要成分之一,其具有多种生物活性,其中包括利尿及降压功能^[15-17],但具体作用机制还需进一步探索。本文运用现代分析技术和响应面法相结合的方式优化盐车前子的炮制工艺,量化了盐车前子炮制工艺参数,并进行了药效试验验证,使研究更加准确、客观,有利于该饮片质量标准的建立。规范中药饮片生产工艺并制定其质量标准是中药可持续发展的基础,传统炮制的研究应结合国内外先进技术与方法,以揭示炮制机制、改进炮制工艺,为中药饮片标准化、现代化、国际化提供可靠的实验依据。

[参考文献]

[1] 郑秀棉,杨莉,王峥涛.车前子的化学成分与药理活性研究进展[J].中药材,2013,36(7):1190-1196.
[2] 李果,张的风,王文凯,等.车前子炮制历史沿革[J].中药材,2008,31(5):776-779.
[3] 温柔,龚千锋,于欢,等.基于多指标评价优选草珊瑚炮制工艺[J].中草药,2019,50(12):2868-2875.
[4] 王仁广,贾艾玲,邱智东,等.响应面法优化黄芩中黄芩苷的电磁裂解提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(21):106-111.
[5] 任爱农,田耀洲,何素芳,等.层次分析法用于中药复方提取工艺的多指标权重研究[J].中国中药杂志,2008,33(4):372-374.
[6] 李颖,朱志军,李莹丽,等.基于多指标权重分析和均

匀设计法优选麦冬提取工艺[J].中国药师,2019,22(1):44-47.
[7] 常占瑛,古丽巴哈尔·卡吾力,王梅,等.基于多指标权重分析和正交设计法优选复方必清颗粒的提取工艺[J].中国现代应用药学,2019,36(1):64-68.
[8] FENG Y L, CHEN H, TIAN T, et al. Diuretic and anti-diuretic activities of the ethanol and aqueous extracts of *Alismatis Rhizoma* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 154(2):386-390.
[9] 姚闽,詹志来,白吉庆,等.车前子资源调查及外观品质评价研究[J].实用中西医结合临床,2018,18(7):177-179.
[10] 曾金祥,魏娟,毕莹,等.车前子醇提物降低急性高尿酸血症小鼠血尿酸水平及机制研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(9):173-177.
[11] 曾金祥,毕莹,许兵兵,等.车前子提取物部位群抗痛风的作用[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(8):132-135.
[12] 万茵.车前子多糖,黄酮和苯乙醇苷类的纯化,结构解析及其活性功能研究[D].南昌:南昌大学,2007.
[13] 李潮,于欢,龚千锋,等.江西不同产区车前子药材的HPLC指纹图谱及其多成分化学模式识别分析[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(15):161-167.
[14] 张振凌,王一硕,杨振祥,等.炮制对白芥子中芥子碱硫酸盐含量及水煎出量的影响[J].中国中药杂志,2007,32(19):2067-2069.
[15] QI M, XIONG A Z, GENG F, et al. A novel strategy for target profiling analysis of bioactive phenylethanoid glycosides in *Plantago* medicinal plants using ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem quadrupole mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2012, 35(12):1470-1478.
[16] LIU X L, WANG D D, WANG Z H, et al. Diuretic properties and chemical constituent studies on *Stauntonia brachyanthera* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, doi: 10.1155/2015/432419.
[17] TONG R C, QI M, YANG Q M, et al. Extract of *Plantago asiatica* L. seeds ameliorates hypertension in spontaneously hypertensive rats by inhibition of angiotensin converting enzyme [J]. *Front Pharmacol*, 2019, doi: 10.3389/fphar.2019.00403.

[责任编辑 刘德文]