正交实验结合AHP和GA-BP神经网络优化益黄散醇提工艺Δ

王　巍[1*]，杨武杰[1]，韩　宇[2]，安悦言[1]，郝　季[1]，张　强[1]，鞠成国[1#]（1.辽宁中医药大学药学院，辽宁 大连 116600；2.辽宁中医药大学医学检验学院，辽宁 沈阳　110874）

中图分类号　R284.2；R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）03-0327-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.03.11

摘　要　目的　优化益黄散的醇提工艺。**方法**　采用回流提取法，以乙醇体积分数、液料比、提取时间为考察因素设计正交实验，以橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、甘草苷、甘草酸、丁香酚含量和干浸膏得率为指标，采用层次分析法（AHP）进行赋权并计算综合评分。通过验证正交实验和遗传算法（GA）-反向传播神经网络（BP神经网络）所预测的结果确定益黄散最佳醇提工艺参数。**结果**　正交实验优选的最佳醇提工艺参数为乙醇体积分数60%、液料比14∶1（mL/g）、提取时间90 min、提取2次，验证所得综合评分为79.19分；GA-BP神经网络优选的最佳醇提工艺参数为乙醇体积分数65%、液料比14∶1（mL/g）、提取时间60 min、提取2次，验证所得综合评分为85.30分，高于正交实验所得结果。**结论**　采用正交实验结合GA-BP神经网络的寻优方法较传统的正交实验寻优方法效果更佳，其优选出的益黄散最佳醇提工艺稳定可靠。

关键词　益黄散；醇提工艺；正交实验；遗传算法；BP神经网络；层次分析法

Optimization of ethanol extraction process for Yihuang powder by orthogonal experiment combined with AHP and GA-BP neural network

WANG Wei[1], YANG Wujie[1], HAN Yu[2], AN Yueyan[1], HAO Ji[1], ZHANG Qiang[1], JU Chengguo[1]（1. School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China; 2. Medical Laboratory Science School, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To optimize ethanol extraction process of Yihuang powder. **METHODS** An orthogonal experiment was designed by reflux extraction with ethanol volume fraction, liquid-to-material ratio, and extraction time as investigation factors. The parameters used were the contents of hesperidin, nobiletin, tangeretin, gallic acid, chebulagic acid, chebulinic acid, liquiritin, glycyrrhizin, eugenol, and the paste-forming rate. The analytic hierarchy process (AHP) was used to calculate the comprehensive score. The optimal ethanol extraction process parameters of Yihuang powder were determined by verifying the results predicted by orthogonal experiment and genetic algorithm (GA)-back propagation neural network (BP neural network). **RESULTS** The optimal ethanol extraction process parameters, as optimized by orthogonal experiment, were as follows: ethanol volume fraction of 60%, liquid-solid ratio of 14∶1 (mL/g), extraction time of 90 min, and extraction for 2 times. The comprehensive score obtained by verification was 79.19. Meanwhile, the optimal ethanol extraction process parameters, optimized by GA-BP neural network, were ethanol volume fraction of 65%, liquid-solid ratio of 14∶1 (mL/g), extraction time of 60 min, and extraction for 2 times. The comprehensive score obtained by verification was 85.30, higher than the results obtained from orthogonal experiment. **CONCLUSIONS** The optimization method of orthogonal experiment combined with GA-BP neural network is superior to the traditional orthogonal experiment optimization method. The optimized ethanol extraction process of Yihuang powder is stable and reliable.

KEYWORDS　Yihuang powder; ethanol extraction process; orthogonal experiment; genetic algorithm; BP neural network; analytic hierarchy process

益黄散出自宋代钱乙的《小儿药证直诀》，又名补脾散，为补脾经典方剂。该方由陈皮、青皮、炮诃子、炙甘草、丁香组成，用于治疗小儿脾胃虚弱、脾疳、腹大、身瘦[1]。方中陈皮用量独大，为君药，性温，味辛、苦，专入脾胃，行气健脾；青皮性温，味苦，为臣药，有疏肝破气、消积化滞之效；诃子性温，味酸、涩，为臣药，炮制后涩肠止泻效果更佳；炙甘草性平，味甘，为佐药，补脾和胃，调和诸药；丁香性温，味辛，为使药，入胃，温中散寒降逆；诸药合用，共奏健运脾气、行气化湿之功[2]。该方在现代临床多用于治疗小儿厌食症及脾虚泄泻，用法以汤剂为主，但以上5味药材水煎液苦涩味重，儿童服用依从性

Δ **基金项目**　辽宁中医药大学自然科学类重点项目（No. 2021-LZY034）

＊**第一作者**　教授，博士。研究方向：中药质量评价及新药开发。E-mail：ww_101737@126.com

＃ **通信作者**　教授，博士。研究方向：中药炮制工艺及原理研究。E-mail：jcg7092357@163.com

差，因此将其开发成适合儿童使用的现代剂型尤为重要。文献研究表明，方中各味药材所含化学成分（如橙皮苷、诃子酸、甘草酸、丁香酚）等均具有良好的醇溶性[3—6]，加上本课题组前期预实验结果表明，方中各化学成分的水提取率较低。因此，为了充分提取该方中有效成分，本研究拟对该方醇提工艺进行优化研究。

层次分析法（analytic hierarchy process，AHP）是一种将定性与定量相结合的系统的层次化的分析方法，其通过将复杂问题分解成多个因素，再对多个因素进行两两比较，最终确定各因素的权重大小[7]。反向传播神经网络（back propagation neural network，简称BP神经网络）是按误差逆传播算法训练的多层前馈网络，通过梯度下降法的思想，使网络预期值与实际值均方误差最小，已在中药提取工艺研究中得到广泛应用[8]。但BP神经网络存在收敛速度慢，易陷入局部最小值等缺点[9]。遗传算法（genetic algorithm，GA）是结合了进化论和遗传学机理的全局寻优算法[10]，能对BP神经网络的初始权重和阈值进行优化，提高其收敛速度，避免陷入局部最小值[11]。

基于以上理论分析，本研究拟采用正交实验设计，利用AHP确定各指标权重并计算综合评分，再对正交实验结果和GA-BP神经网络预测结果进行验证，确定益黄散最佳醇提工艺参数，为新剂型开发提供实验依据。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用主要仪器有LC-16型高效液相色谱仪[岛津仪器（苏州）有限公司]、FA1004B型万分之一分析天平（上海精密科学仪器有限公司）、METTLER AE240型十万分之一天平（瑞士Mettler-Toledo公司）、U3010型紫外-可见分光光度仪（日本Hitachi公司）。

1.2　主要药品与试剂

陈皮（批号2209007，产地四川）、青皮（批号2210002，产地江西）、诃子（批号2208002，产地广西）、炙甘草（批号2208005，产地内蒙古）、丁香（批号2209001，产地广西）均购自安国市聚药堂药业有限公司，经辽宁中医药大学药学院宋慧鹏副教授鉴定分别为芸香科植物橘*Citrus reticulata* Blanco.的干燥成熟果皮和未成熟果实的果皮、使君子科植物诃子*Terminalia chebula* Retz.的干燥成熟果实、豆科植物甘草*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎的炮制加工品、桃金娘科植物丁香*Eugenia caryophyllata* Thunb.的干燥花蕾。

对照品橙皮苷（批号MUST-16041806）、没食子酸（批号MUST-13040103）、甘草苷（批号MUST-16032801）、甘草酸单铵盐（批号MUST-16032110）、丁香酚（批号MUST-16040204）均购自成都曼思特生物科技有限公司，纯度均大于98%；对照品川陈皮素（批号PCS-220412）、橘皮素（批号PCS-220402）均购自成都植标化纯生物技术有限公司，纯度均大于98%；对照品诃黎勒酸（批号PRF8112302）、诃子酸（批号PRF8071201）均购自成都普瑞法科技开发有限公司，纯度均大于98%；乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯，水为超纯水。

2　方法与结果

2.1　益黄散干浸膏的制备及干浸膏得率的测定

按处方配比称取陈皮40 g、青皮20 g、炮诃子（取净诃子置锅内，文火加热，炒至深黄色，取出，放凉，砸去果核，留取果肉，即得）20 g、炙甘草20 g、丁香8 g，共同置于粉碎机中粉碎，得处方样品。取处方样品加入一定量乙醇溶液，加热回流提取，4层200目绢布过滤，滤液经减压浓缩和60 ℃真空干燥，即得益黄散干浸膏。精密称定干浸膏质量，计算干浸膏得率。

2.2　益黄散干浸膏中9种活性成分的含量测定

2.2.1　混合对照品溶液的制备

精密称取各对照品适量，加甲醇配制成含橙皮苷1 820.0 μg/mL、川陈皮素220.0 μg/mL、橘皮素180.0 μg/mL、没食子酸860.0 μg/mL、诃黎勒酸1 220.0 μg/mL、诃子酸1 540.0 μg/mL、甘草苷820.0 μg/mL、甘草酸870.0 μg/mL、丁香酚340.0 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2　供试品溶液的制备

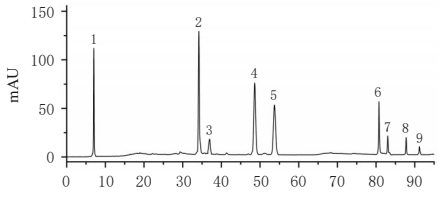
取“2.1”项下所得干浸膏0.3 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入40%甲醇10 mL，超声（功率240 W，频率40 kHz）5 min使完全溶解，经0.45 μm微孔滤膜过滤，即得。

2.2.3　阴性对照溶液的制备

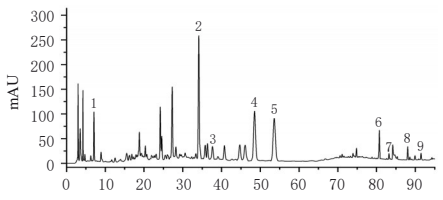
分别称取缺陈皮和青皮、缺炮诃子、缺炙甘草、缺丁香的益黄散处方，按“2.1”项下方法制备干浸膏，再按“2.2.2”项下方法制备各阴性对照溶液。

2.2.4　色谱条件、系统适用性试验及色谱峰的归属

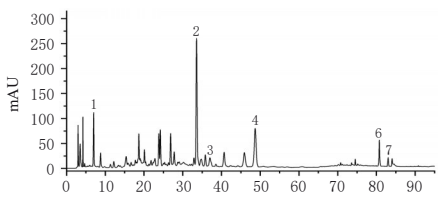
色谱柱为菲罗门Titank C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相A为乙腈，流动相B为0.1%甲酸-5%甲醇溶液，梯度洗脱（0～8 min，5%A→6%A；8～12 min，6%A→12%A；12～30 min，12%A→17%A；30～58 min，17%A；58～68 min，17%A→30%A；68～80 min，30%A→50%A；80～90 min，50%A→60%A；90～95 min，60%A→80%A）；流速为1 mL/min；柱温为30 ℃；进样量为20 μL；检测波长分别为283 nm（0～80 min）、250 nm（80～82 min）、283 nm（82～86 min）、330 nm（86～95 min）。取“2.2.1”“2.2.2”“2.2.3”项下各溶液，按上述色谱条件进样测定，色谱图见图1。结果显示，该色谱条件下各成分色谱峰的分离度均大于1.5，理论板数均大于5 000。其中色谱峰5（橙皮苷）、8（川陈皮素）、9（橘皮素）来源于陈皮与青皮，色谱峰1（没食子酸）、2（诃黎勒酸）、4（诃子酸）来源于炮诃子，色谱峰3（甘草苷）、6（甘草酸）来源于炙甘草，色谱峰7（丁香酚）来源于丁香。



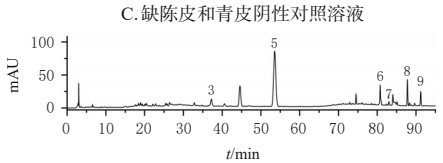
A.混合对照品溶液



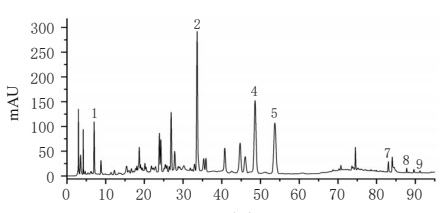
B.益黄散供试品溶液



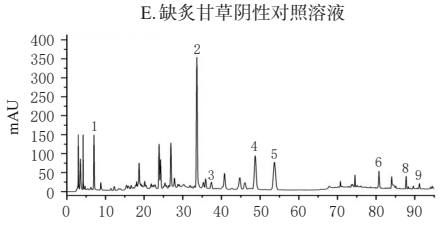
C.缺陈皮和青皮阴性对照溶液



D.缺炮诃子阴性对照溶液



E.缺炙甘草阴性对照溶液



F.缺丁香阴性对照溶液

1:没食子酸;2:诃黎勒酸;3:甘草苷;4:诃子酸;5:橙皮苷;6:甘草酸;7:丁香酚;8:川陈皮素;9:橘皮素。

图1　混合对照品和各缺味阴性样品的HPLC图

2.2.5　线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液，用甲醇依次稀释2、4、8、16、32、64、128倍，然后按“2.2.4”项下色谱条件进样检测，记录各成分色谱峰峰面积，以各成分的质量浓度为横坐标（X）、峰面积为纵坐标（Y）绘制标准曲线。所得线性回归方程和线性范围如下：橙皮苷 Y=12 559X−225.4（r=0.999 9），线性范围为56.9～1 820.0 μg/mL；川陈皮素 Y=27 193X+200.65（r=0.999 9），线性范围为6.9～220.0 μg/mL；橘皮素 Y=32 786X+151.4（r=0.999 6），线性范围为5.6～180.0 μg/mL；没食子酸 Y=24 286X+85.7（r=0.999 7），线性范围为26.9～860.0 μg/mL；诃黎勒酸 Y=9 485.2X+14.8（r=0.999 9），线性范围为38.1～1 220.0 μg/mL；诃子酸 Y=11 410X+90.1（r=0.999 8），线性范围为48.1～1 540.0 μg/mL；甘草苷 Y=10 113X+78.8（r=0.999 9），线性范围为25.6～820.0 μg/mL；甘草酸 Y=4 710.4X+46.6（r=0.999 8），线性范围为27.2～870.0 μg/mL；丁香酚 Y=3 367.1X−33.8（r=0.999 7），线性范围为10.6～340.0 μg/mL。结果表明，各成分在其进样质量浓度范围内均呈现良好的线性关系。

2.2.6　精密度试验

取“2.2.2”项下供试品溶液，按“2.2.4”项下色谱条件连续进样6次进行检测，测得橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、甘草苷、甘草酸、丁香酚峰面积的RSD分别为0.42%、0.63%、0.24%、1.12%、0.44%、0.39%、1.27%、0.82%、1.24%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.2.7　稳定性试验

按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，并于制备后0、2、4、8、12、24 h按“2.2.4”项下色谱条件进样检测，测得橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、甘草苷、甘草酸、丁香酚峰面积的RSD分别为0.53%、0.76%、0.71%、0.48%、1.05%、0.78%、1.26%、0.92%、0.74%（n=6），表明该供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.2.8　重复性试验

按“2.1”项下方法平行制备6份益黄散干浸膏，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，再按“2.2.4”项下色谱条件进样检测，记录色谱峰峰面积，代入“2.2.5”项下线性回归方程计算各成分含量。结果显示，橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、甘草苷、甘草酸、丁香酚的平均含量分别为4.44、0.33、0.17、1.33、8.54、10.29、1.41、1.47、1.69 mg/g，RSD分别为0.36%、0.75%、0.52%、0.95%、1.06%、1.25%、0.78%、0.52%、0.93%（n=6），表明该方法重复性良好。

2.2.9　加样回收率试验

取“2.1”项下已知待测成分含量的处方样品6份，每份2 g，分别按1∶1的比例精密加入各对照品，按“2.1”项下方法制备益黄散干浸膏，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.4”项下色谱条件进样检测，记录峰面积并计算加样回收率。结果显示，橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、甘草苷、甘草酸、丁香酚的平均加样回收率分别为98.16%、99.32%、101.47%、99.02%、97.25%、98.72%、101.24%、98.29%、99.22%，RSD分别为0.78%、1.32%、0.83%、0.68%、1.41%、0.87%、0.74%、1.06%、0.93%（n=6），表明该方法准确度较好。

2.3 益黄散中各指标权重的确定及样品综合评分计算

2.3.1 AHP判断矩阵的建立

采用SPSSPRO在线数据分析平台（https://www.spsspro.com）进行分析。根据“君臣佐使”原则、主要活性成分的药效作用及含量，设置各指标的重要程度依次为橙皮苷＞川陈皮素＝橘皮素＝没食子酸＝诃黎勒酸＝诃子酸＞甘草苷＝甘草酸＞丁香酚≈干浸膏得率，再利用AHP一致矩阵法，将各项指标进行两两比较，构建AHP指标成对比较的判断优先矩阵，详见表1。

表1 AHP指标成对比较的判断优先矩阵

指标	橙皮苷	川陈皮素	橘皮素	没食子酸	诃黎勒酸	诃子酸	甘草苷	甘草酸	丁香酚	干浸膏得率
橙皮苷	1	2	2	2	2	2	3	3	4	4
川陈皮素	1/2	1	1	1	1	1	2	2	3	3
橘皮素	1/2	1	1	1	1	1	2	2	3	3
没食子酸	1/2	1	1	1	1	1	2	2	3	3
诃黎勒酸	1/2	1	1	1	1	1	2	2	3	3
诃子酸	1/2	1	1	1	1	1	2	2	3	3
甘草苷	1/3	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1	1	2	2
甘草酸	1/3	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1	1	2	2
丁香酚	1/4	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/2	1/2	1	1
干浸膏得率	1/4	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/2	1/2	1	1

2.3.2 计算各指标权重系数

根据“2.3.1”项下所得的AHP指标成对比较的判断优先矩阵，采用和积法计算各指标权重系数，得到橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、甘草苷、甘草酸、丁香酚、干浸膏得率的权重系数（W_1～W_{10}）依次为20.631%、11.741%、11.741%、11.741%、11.741%、11.741%、6.449%、6.449%、3.884%、3.884%。

2.3.3 一致性检验

对矩阵进行一致性检验，所得一致性指标（consistency index，CI）为0.005，一致性比例（consistency ratio，CR）为0.004，均小于0.1，表明该矩阵具有一致性[7]。

2.3.4 综合评分计算

根据“2.3.2”项下所得权重系数，按公式（1）计算单因素考察和正交实验所得供试品的综合评分。式中Y_1～Y_9依次为供试品中橙皮苷、川陈皮素、橘皮素、没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸、甘草苷、甘草酸、丁香酚的含量，Y_{10}为干浸膏得率，Y_{1MAX}～Y_{9MAX}依次为同一实验的供试品中上述成分含量的最大值，Y_{10}为同一实验的供试品干浸膏得率的最大值。

$$综合评分=\frac{Y_1}{Y_{1MAX}}\times W_1+\frac{Y_2}{Y_{2MAX}}\times W_2+\cdots\cdots+\frac{Y_{10}}{Y_{10MAX}}\times W_{10} \quad \cdots\cdots (1)$$

2.4 正交实验优化益黄散醇提工艺

2.4.1 因素与水平的确定

本研究前期以乙醇体积分数、液料比、提取时间、提取次数为考察因素，以综合评分为考察指标进行了单因素考察，并根据单因素考察结果确定了乙醇体积分数为50%～70%、液料比为10∶1～14∶1（mL/g）、提取时间为60～120 min、提取次数为2次。

2.4.2 正交实验设计

按“2.1”项下方法放大制备处方样品，取该处方样品9份，每份10 g，用于正交实验。根据单因素考察结果，以乙醇体积分数（A）、料液比（B）、提取时间（C）为考察因素，以综合评分为考察指标，设计3因素3水平的$L_9(3^4)$正交实验，因素与水平见表2。按“2.1”项下方法制得益黄散干浸膏，测定干浸膏得率，每个序号平行3次实验；按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2.4”项下色谱条件进样检测并代入线性回归方程计算各成分含量，取平均值，计算综合评分。

表2 正交实验优化益黄散醇提取工艺的因素与水平

水平	A/%	B/(mL/g)	C/min
1	50	10∶1	60
2	60	12∶1	90
3	70	14∶1	120

2.4.3 正交实验结果及分析

正交实验安排与结果见表3，由直观分析结果可知，各因素对综合评分的影响作用强弱依次为B＞A＞C，各因素不同水平对综合评分的影响作用强弱依次为A_2＞A_3＞A_1、B_3＞B_1＞B_2、C_2＞C_3＞C_1。方差分析结果见表4，由结果可知，B因素对综合评分有显著影响（P＜0.05），A、C因素对综合评分无显著影响（P＞0.05）。因此，确定正交实验所得益黄散最佳醇提工艺为$A_2B_3C_2$，即乙醇体积分数为60%、液料比为14∶1（mL/g）、提取时间为90 min、提取2次。

表3 正交实验安排与结果（n=3）

序号	A	B	C	D（误差）	各成分含量/(mg/g) 橙皮苷	川陈皮素	橘皮素	没食子酸	诃黎勒酸	诃子酸	甘草苷	甘草酸	丁香酚	干浸膏得率/%	综合评分/分
1	1	1	1	1	11.63	0.40	0.20	2.22	16.68	4.50	3.22	2.23	1.76	49.61	63.53
2	1	2	2	2	10.66	0.42	0.24	2.30	12.87	9.70	3.97	2.38	1.24	51.30	67.42
3	1	3	3	3	13.32	0.58	0.32	2.30	11.51	7.88	3.94	2.38	1.18	51.67	73.59
4	2	1	2	3	15.96	0.45	0.21	2.41	15.24	6.76	4.02	2.23	2.45	50.32	73.65
5	2	2	3	1	12.29	0.53	0.28	2.47	12.04	6.85	4.73	2.35	2.02	50.23	71.87
6	2	3	1	2	16.50	0.41	0.24	2.30	15.95	10.59	4.26	2.64	1.90	52.08	78.51
7	3	1	3	2	11.81	0.46	0.22	2.34	20.61	8.14	4.24	2.19	2.55	47.89	73.26
8	3	2	1	3	12.27	0.41	0.19	2.45	17.70	10.61	3.79	2.22	1.32	47.21	69.93
9	3	3	2	1	11.70	0.59	0.35	3.17	15.31	8.51	4.01	2.36	1.50	47.78	78.76
K_1	204.55	210.44	211.98	214.16											
K_2	224.03	209.22	219.83	219.19											
K_3	221.95	230.86	218.72	217.18											
R	19.48	21.64	7.86	5.04											

表4 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	显著性
A	76.323	2	38.161	17.794	0.053
B	98.513	2	49.257	22.968	0.042
C	12.053	2	6.026	2.810	0.262
D(误差)	4.289	2	2.145		

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

2.5 GA-BP神经网络建模预测益黄散最佳醇提工艺

2.5.1 GA-BP神经网络建模

利用MATLAB R2021b软件构建3层结构的BP神经网络，输入层神经元个数设置为3，分别为乙醇体积分

数（*A*）、液料比（*B*）、提取时间（*C*）；输出层神经元个数设置为1，即综合评分；通过查阅文献和试错法确定隐藏神经元个数为5。以9组正交实验数据为训练样本进行GA-BP神经网络建模，选择tansig函数作为隐含层传递函数，purelin函数作为输出层传递函数，采用GA全局搜索BP神经网络的最佳初始权值和阈值，提高BP神经网络收敛速度和预测精度。设置总体进化迭代次数为80、种群规模为10、交叉概率为0.4、变异概率为0.05，进行全局寻优，确定BP神经网络最佳初始权值和阈值。设定网络训练参数值，最大训练次数为5 000 000次，训练精度为0.001，学习率为0.5；采用sim仿真函数进行仿真输出网络预测，最终对构建好的GA-BP神经网络模型进行验证。验证结果显示，所构建的GA-BP神经网络的均方误差为0.000 12，预测值与真实值之间的相对误差为0.82%，表明训练后的GA-BP神经网络预测性能良好。

2.5.2　益黄散最佳提取工艺预测

设置醇提工艺参数为乙醇体积分数50%～70%（步长为5）、液料比10∶1～14∶1（步长为1）、提取时间为60～120 min（步长为10），将各因素进行排列组合，共排列出150种组合。在训练好的GA-BP神经网络基础上，输入排列出的150种醇提工艺参数进行预测。预测结果显示，乙醇体积分数为65%、液料比为14∶1（mL/g）、提取时间为60 min时综合评分最高，为84.45分，因此确定以上参数为最佳预测醇提工艺参数。

2.6　两种方法所得最佳提取工艺的验证实验

分别对正交实验以及正交实验结合AHP和GA-BP神经网络预测得到的最佳提取工艺进行验证。按“2.1”项下方法平行制备3份益黄散干浸膏，测定干浸膏得率；按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，测定各成分含量，计算综合评分，验证实验结果见表5。结果显示，GA-BP神经网络预测的益黄散最佳醇提工艺综合评分较高，因此确定益黄散最佳醇提工艺参数：乙醇体积分数为65%，液料比为14∶1（mL/g），提取时间为60 min，提取2次。

表5　验证实验结果（n=3）

优化方法	各成分含量/(mg/g)									干浸膏得率/%	综合评分	平均值	RSD/%
	橙皮苷	川陈皮素	橘皮素	没食子酸	诃黎勒酸	诃子酸	甘草苷	甘草酸	丁香酚				
正交实验	16.74	0.50	0.25	1.73	14.98	11.09	3.70	2.14	1.69	51.08	79.52	79.19	1.37
	15.47	0.51	0.26	1.90	14.37	11.82	3.99	2.22	1.59	49.56	80.07		
	15.36	0.48	0.24	1.84	15.33	11.07	4.03	2.13	1.63	50.07	77.98		
GA-BP神经网络	12.33	0.54	0.33	1.69	20.58	11.98	5.58	2.59	1.78	49.90	84.60	85.30	0.92
	11.91	0.54	0.31	1.87	20.20	12.56	5.83	2.68	1.77	50.58	85.14		
	12.96	0.53	0.34	1.62	21.05	12.27	5.57	2.64	1.90	50.13	86.15		

3　讨论

文献研究表明，陈皮中橙皮苷、川陈皮素、橘皮素是其发挥燥湿健脾的主要活性成分，常作为陈皮的质量标志物[12—13]。青皮、陈皮植物来源相同，采收时间不同，两者化学成分相近但含量有所差异[14]。研究表明，陈皮与青皮中橙皮苷、川陈皮素、橘皮素含量的明显差异可用于解释两者功效的差异[15]，故笔者推测橙皮苷、川陈皮素、橘皮素同样可作为青皮的质量标志物。赵鹿等[16]通过对诃子的化学成分、药理作用等进行分析，推测没食子酸、诃黎勒酸、诃子酸可作为诃子及其炮制品的质量标志物。孙媛等[17]结合指纹图谱及网络药理学研究，推测甘草苷、甘草酸可作为甘草及其炮制品的质量标志物。丁香中的丁香酚是丁香挥发油的主要活性成分，占70%以上[18]，可作为丁香的质量标志物。本研究以各药味的质量标志物为指标优化益黄散醇提工艺，有利于保证复方药效的发挥。另外，由于质量标志物与药味的功效具有极高的相关性，以质量标志物为指标进行提取工艺优化，所得提取物可代表该药味的主要药效成分群，亦可代表该药味所发挥的功效。因此，可根据药味在复方中“君臣佐使”的地位进行对应指标成分的权重设置。

正交实验因其高效率、快速、经济等优点，已在中药提取工艺研究中得到广泛应用，但这种优化方式所得结果具有一定局限性，而基于正交实验结果所搭建的GA-BP神经网络能对任意提取工艺参数进行预测，可得到最佳预测提取工艺参数。本研究对正交实验所得最佳工艺参数与GA-BP神经网络预测所得最佳工艺参数进行比较验证，结果表明预测所得工艺的综合评分高于正交实验工艺，证明了GA-BP神经网络预测结果的可靠性。

综上，采用正交实验结合GA-BP神经网络的寻优方法较传统的正交实验寻优方法效果更佳，其优选出的益黄散最佳醇提工艺[乙醇体积分数65%、液料比14∶1（mL/g）、提取时间60 min、提取2次]稳定可靠。

参考文献

[1] 钱乙. 小儿药证直诀[M]. 阎孝忠，校. 沈阳：辽宁科学技术出版社，1997：14.
QIAN Y. Key to therapeutics of children’s disease[M]. Tuya，proofreading. Shengyang：Liaoning Science and Technology Press，1997：14.

[2] 弓雪峰，张立山，戴雁彦，等. 以苦欲补泻法度浅析《小儿药证直诀》治脾胃方药[J]. 中华中医药杂志，2018，33（6）：2428-2430.
GONG X F，ZHANG L S，DAI Y Y，et al. Analysis of traditional Chinese medicine prescriptions of spleen and stomach in *Key to Therapeutics of Children’s Disease* in accordance with the Kuyu buxie principle[J]. China J Tradit Chin Med Pharm，2018，33（6）：2428-2430.

[3] 杨丽丽，高尧春，王春茜，等. 响应面法优化陈皮中橙皮苷提取工艺[J]. 环球中医药，2018，11（4）：520-524.
YANG L L，GAO Y C，WANG C Q，et al. Optimization of hesperidin extraction from *Citrus reticulata* by response surface methodology[J]. Glob Tradit Chin Med，2018，11（4）：520-524.

[4] 陈九妹，朱麒臻，鞠成国，等. 诃黎勒酸和诃子酸的提取、分离工艺优化[J]. 中国药房，2022，33（22）：2733-2737.

CHEN J M, ZHU Q Z, JU C G, et al. Optimization of the extraction and separation process of chebulagic acid and chebulinic acid[J]. China Pharm, 2022, 33(22): 2733-2737.

[5] 魏宁,郎伟君. 甘草中甘草酸和甘草苷的提取工艺研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2015,31(2):143-145.
WEI N, LANG W J. Study on extraction technology for glycyrrhizic acid and liquorice glycosides from *Glycyrrhiza uralensis*[J]. J Harbin Univ Commer Nat Sci Ed, 2015,31(2):143-145.

[6] 郭超,侯伟峰,范云鹏,等. 响应面法优化丁香提取物的制备工艺[J]. 黑龙江畜牧兽医,2017(4):146-148.
GUO C, HOU W F, FAN Y P, et al.Optimization of extraction of clove using response surface method[J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med,2017(4):146-148.

[7] 任爱农,卢爱玲,田耀洲,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.
REN A N, LU A L, TIAN Y Z, et al. AHP application to study of weighted coefficient on multicriteria optimization of extraction technology about Chinese traditional compound drugs[J]. China J Chin Mater Med, 2008, 33(4): 372-374.

[8] 黄莉,邹纯才,鄢海燕,等. 基于指纹图谱的Box-Behnken响应面法结合BP神经网络多指标优化决明子总蒽醌提取工艺[J]. 中国药学杂志,2023,58(7):619-631.
HUANG L, ZOU C C, YAN H Y, et al. Multi-index optimization of extraction process for total anthraquinone in *Cassia* seed by Box-Behnken response surface method combined with BP neural network based on fingerprint[J]. Chin Pharm J,2023,58(7):619-631.

[9] 刘春艳,凌建春,寇林元,等. GA-BP神经网络与BP神经网络性能比较[J]. 中国卫生统计,2013,30(2):173-176,181.
LIU C Y, LING J C, KOU L Y, et al. Performance comparison between GA-BP neural network and BP neural network[J]. Chin J Health Stat, 2013, 30(2): 173-176,181.

[10] 郑平平,何昱,金湛,等. 遗传算法优化红腺忍冬叶中绿原酸的酶解提取工艺[J]. 中华中医药学刊,2017,35(3):721-724.
ZHENG P P, HE Y, JIN Z, et al. Optimization of enzyme extraction process of chlorogenic acid from leaves of *Lonicera hypoglauca* miq. by genetic algorithm[J]. Chin Arch Tradit Chin Med,2017,35(3):721-724.

[11] 谢平,魏海峰,温仁华,等. 基于BP神经网络-遗传算法和信息熵理论优化凉粉草煎煮提取工艺[J]. 中国中医药信息杂志,2022,29(2):86-92.
XIE P, WEI H F, WEN R H, et al. Optimization on extraction process of *Mesona chinensis* Benth. based on BP neural network-genetic algorithm and information entropy theory[J]. Chin J Inf Tradit Chin Med,2022,29(2):86-92.

[12] 李哲. 基于中药血清药物化学和网络药理学的陈皮质量标志物研究[D]. 承德:承德医学院,2023.
LI Z. Study on quality markers of dried tangerine peel based on serum pharmacochemistry and network pharmacology of traditional Chinese medicine[D]. Chengde: Chengde Medical College,2023.

[13] 肖建才,闫滨滨,万修福,等. 基于指纹图谱和UPLC-MS/MS定量测定对不同产地陈皮的质量评价研究[J]. 中草药,2023,54(10):3302-3311.
XIAO J C, YAN B B, WAN X F, et al. Study on quality evaluation of *Citrus reticulata* from different origins by fingerprint and UPLC-MS/MS flavonoid content determination[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(10): 3302-3311.

[14] 刘龙婵,王星宇,李林楠,等. 青皮与陈皮化学成分及分析方法研究进展[J]. 中国中药杂志,2022,47(11):2866-2879.
LIU L C, WANG X Y, LI L N, et al. Research advances of chemical constituents and analytical methods of Citri Reticulatae Pericarpium Viride and Citri Reticulatae Pericarpium[J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(11): 2866-2879.

[15] 邱蓉丽,吴玉兰,乐巍. 陈皮、青皮中4种黄酮成分的比较研究[J]. 中成药,2015,37(1):149-153.
QIU R L, WU Y L, YUE W. Comparison of four flavonoids from Citri Reticulatae Pericarpium and Citri Reticulatae Pericarpium Viride by HPLC[J]. Chin Tradit Pat Med,2015,37(1):149-153.

[16] 赵鹿,廖翠萍,杨秀娟,等. 诃子的研究进展及质量标志物的预测[J]. 中草药,2020,51(10):2732-2744.
ZHAO L, LIAO C P, YANG X J, et al.Research progress in *Terminalia chebula* and its predictive analysis on Q-marker[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(10): 2732-2744.

[17] 孙媛,王璐,彭梅梅,等. 甘草不同炮制品的指纹图谱研究及质量标志物预测分析[J]. 中国中药杂志,2020,45(21):5209-5218.
SUN Y, WANG L, PENG M M, et al. Fingerprint analysis and Q-marker prediction of processed liquorice products [J]. China J Chin Mater Med,2020,45(21):5209-5218.

[18] 王萍,汪镇朝,刘英孟,等. 丁香挥发油的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药,2022,44(3):871-878.
WANG P, WANG Z C, LIU Y M, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of volatile oil from clove[J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(3):871-878.

(收稿日期:2023-09-17　修回日期:2023-11-22)
(编辑:林　静)