基于抗氧化活性的龙眼核标准汤剂提取工艺研究Δ

蒋佳丽[1,2,3]*，王艺洁[1,2,3]，谢谭芳[1,3]，王志萍[1,2,3#]（1.广西中医药大学药学院，南宁 530200；2.农作物废弃物功能成分研究协同创新中心，南宁 530200；3.广西高校中药制剂共性技术研发重点实验室，南宁 530200）

中图分类号 R283；R944.1 **文献标志码** A **文章编号** 1001-0408（2025）03-0330-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.03.12

摘 要 目的 优化龙眼核标准汤剂的提取工艺。**方法** 以加水量、提取时间、提取次数为影响因素，出膏率、没食子酸含量、柯里拉京含量、鞣花酸含量、1，1-二苯基-2-苦基肼（DPPH）自由基半数清除浓度（IC_{50}）和2，2′-联氮双（3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸）二胺盐（ABTS）自由基IC_{50}为评价指标，运用层次分析法（AHP）、基于指标相关性的权重赋权系数（CRITIC）法、AHP-CRITIC法计算各指标权重，结合单因素实验和正交实验优化龙眼核标准汤剂提取工艺，并进行验证。**结果** 根据AHP-CRITIC法确定上述各指标的权重依次为9.224%、11.784%、19.320%、11.206%、20.597%、27.869%。龙眼核标准汤剂的最佳提取工艺为第1次提取加14倍水，提取30 min；第2、3次提取均加12倍水，提取20 min。3次验证实验所得综合得分平均值为97.96分，RSD为0.97%（n=3）。**结论** 优选的工艺稳定可行，可为龙眼核标准汤剂的进一步开发和利用提供实验依据。

关键词 龙眼核；标准汤剂；抗氧化活性；正交实验；提取工艺

Research on the extraction process of standard decoction of Longan seed based on antioxidant activity

JIANG Jiali[1,2,3], WANG Yijie[1,2,3], XIE Tanfang[1,3], WANG Zhiping[1,2,3] (1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. Collaborative Innovation Center of Research on Functional Ingredients from Agricultural Residues, Nanning 530200, China; 3. Key Laboratory of Generic Technology Research and Development of Traditional Chinese Medicine Preparations in Colleges and Universities of Guangxi, Nanning 530200, China)

ABSTRACT OBJECTIVE To optimize the extraction process of standard decoction of Longan seed. **METHODS** The amount of water added, extraction time and extraction times as the influencing factors, using the extract yield, gallic acid content, corilagin content, ellagic acid content, half clearance concentration (IC_{50}) of 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) free radical and IC_{50} of 2,2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ammonium salt (ABTS) free radical as the evaluation indexes, the analytic hierarchy process (AHP), criteria importarue though inter-criteria correlation (CRITIC) and AHP-CRITIC method were used to calculate the weight values of each index; the extraction process of Longan seed standard decoction was optimized by single factor test combined with orthogonal experiment; validation test was also performed. **RESULTS** According to the AHP-CRITIC method, the weights of the above indicators were determined to be 9.224%, 11.784%, 19.320%, 11.206%, 20.597%, 27.869%, respectively. The best process of standard decoction of longan seed was to add 14 times water for the first extraction and extract for 30 minutes; and 12 times water for the second and third extractions, and extract for 20 minutes. Average comprehensive score of the 3 times validation experiments was 97.96 and the RSD was 0.97% (n=3). **CONCLUSIONS** The process is simple to operate, stable and feasible, which can provide a experimental basis for the further development and utilization of standard decoction of longan seed.

KEYWORDS Longan seed; standard decoction; antioxidant activity; orthogonal experiment; extraction process

龙眼核为无患子科Sapindaceae植物龙眼*Dimocarpus longan* Lour.的干燥成熟种子，性平，味微苦、涩，具有止血定痛、理气化湿的功效，可用于创伤出血、瘿疾、瘰疬、疝气等疾病的治疗[1]。由于龙眼核未被《中国药典》收录，且暂无质量标准，造成其质量控制难度增加、药效难以保证、临床应用受限以及广大患者权益难以保障等问题。据统计，全国每年作为加工副产品而被丢弃的龙眼核超过2万吨[2]，给环境造成了巨大压力。研究表明，龙眼核中含有丰富的多酚类、黄酮类等抗氧化活性成分[3]，这些抗氧化活性成分不仅可通过活化凝血因子激活凝血系统从而改善出血症状[4]，还可通过清除体

Δ **基金项目** 广西中医药大学农作物废弃物功能成分研究协同创新中心课题（No.CICAR2023-P2）

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向：中药药剂学。E-mail：1603880791@qq.com

通信作者 教授，硕士生导师。研究方向：中药、民族药新制剂与新剂型的研发。电话：0771-3137585。E-mail：318007460@qq.com

内自由基，减少细胞氧化损伤，起到减轻炎症反应和缓解炎症反应引起的疼痛的作用[5]。中医理论认为，气机不畅、湿邪阻滞会引起自由基代谢紊乱，导致机体过氧化和抗氧化失衡，具体表现为氧自由基增加、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）减少、丙二醛（malondialdehyde，MDA）增加[6]。龙眼核中的抗氧化成分有较强的自由基清除能力，有助于保持机体气机的通畅和促进湿气的运化，这也提示龙眼核药用价值较大。

标准汤剂是一种以中医理论为基础，结合现代制药技术而形成的标准化提取制剂，具有无辅料干扰、质量稳定、疗效可控等优点，可以保障用药的准确性和剂量的一致性[7]，是配方颗粒以及其他剂型的基础。在中药提取工艺研究中，加水量、提取时间、提取次数对中药有效成分的溶出均具有一定的影响[8]。为全面考察龙眼核标准汤剂工艺合理性，本研究采用单因素实验结合正交实验，以出膏率、没食子酸含量、柯里拉京含量、鞣花酸含量及自由基清除能力为评价指标，结合层次分析法（analytic hierarchy process，AHP）法和基于指标相关性的权重赋权系数（criteria importance though inter-criteria correlation，CRITIC）法进行提取工艺研究，旨在为龙眼核标准汤剂的质量控制和临床应用奠定基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LC-2030 Plus型高效液相色谱（HPLC）仪（日本Shimadzu公司）、SQP型万分之一电子天平（北京赛多利斯科学仪器有限公司）、XSR205DU/A型十万分之一电子天平（瑞士Mettler-Toledo公司）、KQ-800DE型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、HWS-28型电热恒温水浴锅（上海齐欣科学仪器有限公司）、InfiniteM200pro型多功能酶标仪（瑞士Tecan公司）、UPH-Ⅳ-20TN型优普系列超纯水机（四川优谱超纯科技有限公司）、SCIENTZ-12N型冷冻干燥机（宁波新芝生物科技股份有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

本研究所用龙眼核药材于2023年8月采集于福建莆田，经广西中医药大学药学院田慧教授鉴定为无患子科Sapindaceae植物龙眼*D. longan* Lour.的干燥成熟种子。

对照品没食子酸（批号MUST-22112411，纯度99.96%）、柯里拉京（批号MUST-23060211，纯度99.99%）、鞣花酸（批号MUST-23033114，纯度99.89%）均购自成都曼斯特生物科技有限公司；2，2′-联氮双（3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸）二胺盐[2，2′-azino-bis（3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid）ammonium salt，ABTS]试剂（批号B2308190，纯度98%）购自上海阿拉丁生化科技有限公司；1，1-二苯基-2-苦基肼（1，1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical，DPPH）试剂（批号S041S224966，纯度98%）购自上海源叶生物科技有限公司；乙腈、甲醇、磷酸均为色谱纯，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 出膏率的测定

将龙眼核标准汤剂浓缩至500 mL，精密吸取浓缩液10 mL到已干燥至恒重的蒸发皿中，蒸干，再于105 ℃下干燥3 h，转移至干燥器中冷却30 min，迅速称质量，按下式计算出膏率：出膏率$=\frac{(m_2-m_1)\times 500}{10\times M}$（式中，$M$为饮片质量，$m_1$为空皿恒重，$m_2$为含浓缩液蒸发皿恒重后质量）。

2.2 指标成分含量测定

2.2.1 色谱条件

采用岛津ShimNex CS C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，以乙腈（A）-0.1%磷酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～10 min，5%A；10～20 min，5%A→13%A；20～50 min，13%A→17%A；50～60 min，17%A→20%A；60～80 min，20%A→50%A；80～90 min，50%A→5%A）；流速为1.0 mL/min；柱温为30 ℃；检测波长为270 nm；进样体积为10 μL。

2.2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取没食子酸、柯里拉京、鞣花酸对照品适量，加甲醇溶解，制成质量浓度依次为413.43、409.56、531.81 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.3 冻干粉供试品溶液的制备

取龙眼核100 g，加8倍水浸泡30 min后提取30 min，收集滤液；药渣加6倍水提取20 min，合并滤液并浓缩至500 mL。将浓缩液于－80 ℃冰箱中预冻12 h，真空冷冻干燥机中冻干，得龙眼核标准汤剂冻干粉。取冻干粉0.2 g，精密称定，置于50 mL具塞锥形瓶中，加甲醇25 mL，精密称定，超声15 min，放冷，加甲醇补足减失的质量，摇匀，过0.45 μm微孔滤膜，取续滤液，即得冻干粉供试品溶液。

2.2.4 方法学考察

参照2020年版《中国药典》（四部）分析方法验证指导原则进行方法学考察。系统适用性试验结果显示，冻干粉供试品溶液与混合对照品溶液在相同保留时间处有相同色谱峰出现（图略），各待测成分色谱峰与相邻色谱峰的分离度均大于1.5，理论板数均不少于5 000，且空白溶液（甲醇）对测定无干扰，表明本方法系统适用性较好。以各对照品质量浓度为横坐标（X）、峰面积为纵坐标（Y）绘制标准曲线，得没食子酸、柯里拉京、鞣花酸的线性回归方程分别为Y=32 191.00X+36 752.00（r=0.999 9）、Y=19 671.00X+5 411.20（r=1.000 0）、Y=50 255.00X－1 512.90（r=0.999 7），线性范围分别为10.33～413.43、10.24～409.56、13.30～531.81 μg/mL。

上述3种成分精密度试验的RSD分别为0.81%、0.62%、0.68%（n=6）；重复性试验的RSD分别为1.36%、1.01%、0.90%（n=6）；稳定性试验的RSD分别为1.44%、1.67%、1.73%（n=6）；平均加样回收率分别为97.04%、94.73%、101.04%，RSD分别为2.21%、2.24%、2.09%（n=6）。

2.3 DPPH自由基清除实验

2.3.1 溶液的配制

精密称取龙眼核标准汤剂冻干粉适量，加甲醇制成质量浓度为0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1 mg/mL的供试品溶液。取DPPH适量，加甲醇制成质量浓度为0.3 mg/mL的DPPH甲醇溶液。上述溶液均避光保存，备用。

2.3.2 DPPH自由基清除率的测定

参考文献[9]方法，取“2.3.1”项下不同质量浓度的供试品溶液与DPPH甲醇溶液各100 μL于同一孔中，作为实验组。以甲醇溶液代替DPPH甲醇溶液，其余操作同实验组，作为对照组；以甲醇溶液代替供试品溶液，其余操作同实验组，作为标准组。将各组样品置于暗处反应30 min，使用酶标仪于517 nm波长处测定各组吸光度（A），按下式计算DPPH自由基清除率：DPPH自由基清除率＝1－（A_2－A_1）/A_0（式中，A_2为实验组A，A_1为对照组A，A_0为标准组A）。运用GraphPad Prism 8.3.0软件计算样品对DPPH自由基的半数清除浓度（half clearance concentration，IC_{50}），记为DPPH自由基IC_{50}。

2.4 ABTS自由基清除实验

2.4.1 溶液的配制

精密称取龙眼核标准汤剂冻干粉适量，加甲醇制成质量浓度为0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1 mg/mL的供试品溶液。将3.84 mg/mL的ABTS溶液与1.34 mg/mL的过硫酸钾溶液按体积比1∶1混合，于室温、暗处静置16 h后得ABTS自由基储备液。使用前，以磷酸盐缓冲液（PBS，pH7.4）稀释约20倍，得ABTS自由基工作液。

2.4.2 ABTS自由基清除率的测定

参考文献[10]方法并适当修改后进行测定。取“2.4.1”项下不同质量浓度的供试品溶液20 μL和ABTS自由基工作液180 μL于同一96孔板中，作为实验组。以PBS代替ABTS工作液，其余操作同实验组，作为对照组。以PBS代替供试品溶液，其余操作同实验组，作为标准组。将各组样品置于暗处反应30 min，使用酶标仪于734 nm波长处测定各组吸光度（A），按下式计算ABTS自由基清除率：ABTS自由基清除率＝1－（A_2－A_1）/A_0（式中，A_2为实验组A，A_1为对照组A，A_0为标准组A）。运用GraphPad Prism 8.3.0软件计算样品对ABTS自由基的IC_{50}，记为ABTS自由基IC_{50}。

2.5 单因素实验筛选提取工艺条件

称取龙眼核药材，每份100 g，捣碎表皮及种仁，浸泡30 min，按表1水平分别对加水量、提取时间、提取次数进行系统考察。将龙眼核标准汤剂浓缩至500 mL，分别按“2.1”～“2.4”项下方法测定出膏率、指标成分含量、DPPH自由基IC_{50}和ABTS自由基IC_{50}。结果（表1）显示，在加水量为10～14倍时，出膏率变化不大，没食子酸含量、柯里拉京含量、鞣花酸含量增加较为明显，DPPH、ABTS自由基IC_{50}较低，故选择加水量为10～14倍进行正交实验。在提取时间为50 min时出膏率最高，没食子酸含量在提取90 min时最高，提取时间为30 min时柯里拉京含量、鞣花酸含量最高并且DPPH、ABTS自由基IC_{50}最低，结合时间成本，选择提取时间为15～50 min进行正交实验。出膏率随提取次数的增加而升高，没食子酸含量在提取4次时最高；柯里拉京含量、鞣花酸含量均在提取5次时最高，但与提取2～4次含量相差不大；ABTS自由基IC_{50}变化趋势亦如此，但在提取2次时DPPH自由基IC_{50}最低。综合时间、耗能等因素选择提取2～4次进行正交实验。

表1 单因素实验水平设计及结果

因素	水平	出膏率/%	没食子酸含量/(mg/g)	柯里拉京含量/(mg/g)	鞣花酸含量/(mg/g)	DPPH自由基IC_{50}/(mg/mL)	ABTS自由基IC_{50}/(mg/mL)
加水量/倍	6	18.55	4.78	4.90	7.73	0.299 3	0.268 3
	8	20.78	5.37	5.90	10.12	0.269 7	0.234 2
	10	20.89	5.68	6.04	10.70	0.265 2	0.203 2
	12	20.31	6.67	6.51	11.99	0.247 1	0.202 2
	14	20.80	6.68	6.84	12.33	0.243 5	0.208 4
提取时间/min	15	18.61	5.99	5.83	11.30	0.238 9	0.369 5
	30	20.67	6.62	7.14	12.55	0.194 7	0.228 3
	50	22.70	6.66	6.98	11.50	0.286 8	0.234 2
	70	20.24	6.43	6.31	9.68	0.289 2	0.264 4
	90	19.51	7.30	6.44	9.69	0.281 1	0.253 9
提取次数/次	1	17.71	5.17	5.34	9.41	0.240 2	0.240 6
	2	19.19	6.48	6.97	12.52	0.211 6	0.219 6
	3	22.34	6.84	7.27	13.88	0.236 8	0.180 9
	4	23.92	6.98	7.04	13.86	0.243 2	0.176 3
	5	24.74	6.78	7.48	14.64	0.260 1	0.170 6

2.6 AHP-CRITIC法结合正交实验优选提取工艺

2.6.1 AHP法计算权重

多项研究结果表明，龙眼核具有良好的抗氧化活性[11－12]，为确保龙眼核标准汤剂的抗氧化效果，故将龙眼核标准汤剂对DPPH、ABTS自由基的清除能力作为第一重要指标。多酚类成分为龙眼核抗氧化作用主要化学成分[3]，故将龙眼核标准汤剂中3种多酚类成分（没食子酸、柯里拉京、鞣花酸）含量作为第二重要指标。出膏率虽然是判断提取工艺稳定性的重要指标，但未直接反映龙眼核标准汤剂抗氧化效果和化学信息[13]，故将其作为第三重要指标。按DPPH自由基IC_{50}＝ABTS自由基IC_{50}＞没食子酸含量＝柯里拉京含量＝鞣花酸含量＞出膏率的顺序，采用SPSS PRO在线系统（https://www.spsspro.com/）对评价指标进行两两比较，构建判断矩阵并进行一致性评价。一致性检验结果显示，最大特征根为6，一致性指标为0，平均随机一致性指标为1.25，一致

性比例＝0＜0.1，表明该判断矩阵一致性良好[14]。根据该比较矩阵，得到出膏率、没食子酸含量、柯里拉京含量、鞣花酸含量、DPPH自由基IC_{50}、ABTS自由基IC_{50}的权重分别为7.692%、15.385%、15.385%、15.385%、23.077%、23.077%。故AHP法的综合得分＝出膏率实测值/最大值×7.692%+没食子酸含量实测值/最大值×15.385%+柯里拉京含量实测值/最大值×15.385%+鞣花酸含量实测值/最大值×15.385%+DPPH自由基IC_{50}最小值/实测值×23.077%+ABTS自由基IC_{50}最小值/实测值×23.077%。

2.6.2　CRITIC法计算权重

根据文献[15]方法，先对数据予以标准化处理，然后采用SPSS PRO在线系统（https://www.spsspro.com/）计算各指标权重，得到出膏率、没食子酸含量、柯里拉京含量、鞣花酸含量、DPPH自由基IC_{50}、ABTS自由基IC_{50}的权重分别为19.823%、12.663%、20.759%、12.040%、14.754%、19.963%。故CRITIC法的综合得分＝出膏率实测值/最大值×19.823%+没食子酸含量实测值/最大值×12.663%+柯里拉京含量实测值/最大值×20.759%+鞣花酸含量实测值/最大值×12.040%+DPPH自由基IC_{50}最小值/实测值×14.754%+ABTS自由基IC_{50}最小值/实测值×19.963%。

2.6.3　AHP-CRITIC法计算综合权重

根据AHP法、CRITIC法所得权重计算综合权重（$G_{综合}$）：$G_{综合ij}=(W_{AHPij}\times W_{CRITICij})/\sum(W_{AHPij}\times W_{CRITICij})$；式中，$W_{AHPij}$表示用AHP法计算得到的权重，$W_{CRITICij}$表示用CRITIC法计算得到的权重，$i$、$j$分别表示指标$i$和指标$j$。经计算，出膏率、没食子酸含量、柯里拉京含量、鞣花酸含量、DPPH自由基IC_{50}、ABTS自由基IC_{50}的$G_{综合}$分别为9.224%、11.784%、19.320%、11.206%、20.597%、27.869%。

2.6.4　3种权重方法比较

分别按AHP法、CRITIC法及AHP-CRITIC法计算综合得分，并采用SPSS 27.0.1软件对3种方法计算所得的综合得分进行相关性分析。经计算，AHP法与CRITIC法、AHP法与AHP-CRITIC法、CRITIC法与AHP-CRITIC法的相关系数分别为0.983、0.999、0.986，三者两两比较均具有显著相关性（$P<0.01$），说明3种评分方法具有良好的一致性。同法对3种方法的权重进行相关性分析，结果显示，AHP法与CRITIC法权重的相关系数为－0.119，且不具有显著性（$P=0.823>0.05$），表明二者所呈现的信息不存在重叠。由于AHP-CRITIC法同时兼顾主观判断与客观数据，因此本研究最终采用AHP-CRITIC法计算综合得分，即综合得分＝出膏率实测值/最大值×9.224%+没食子酸含量实测值/最大值×11.784%+柯里拉京含量实测值/最大值×19.320%+鞣花酸含量实测值/最大值×11.206%+DPPH自由基IC_{50}最小值/实测值×20.597%+ABTS自由基IC_{50}最小值/实测值×27.869%。

2.6.5　正交实验设计

根据前期单因素结果，以加水量（A）、提取时间（B）、提取次数（C）为影响因素，以出膏率、没食子酸含量、柯里拉京含量、鞣花酸含量、DPPH自由基IC_{50}、ABTS自由基IC_{50}为评价指标，以AHP-CRITIC法计算各评价指标综合得分，采用$L_9(3^4)$正交实验优化龙眼核标准汤剂提取工艺。因素与水平见表2，正交实验设计与结果见表3，方差分析结果见表4。

表2　因素与水平表

水平	A(加水量)/倍	B(提取时间)/min	C(提取次数)/次	D(空白)
1	10	15	2	1
2	12	30	3	2
3	14	50	4	3

表3　正交实验设计与结果

实验序号	A	B	C	D(空白)	出膏率/%	没食子酸含量/(mg/g)	柯里拉京含量/(mg/g)	鞣花酸含量/(mg/g)	DPPH自由基IC_{50}/(mg/mL)	ABTS自由基IC_{50}/(mg/mL)	综合得分/分
1	1	1	1	1	17.94	5.11	5.22	10.19	0.330 1	0.261 8	68.40
2	1	2	2	2	23.05	6.38	7.03	12.96	0.241 1	0.204 6	89.29
3	1	3	3	3	27.73	6.72	6.31	12.06	0.275 3	0.218 9	85.04
4	2	1	2	3	21.29	5.98	5.65	12.39	0.242 0	0.191 4	85.43
5	2	2	3	1	24.39	7.00	6.65	13.84	0.200 7	0.177 8	97.54
6	2	3	1	2	23.20	6.07	6.72	11.29	0.317 6	0.285 1	75.68
7	3	1	3	2	21.14	6.82	6.36	13.63	0.251 8	0.212 3	86.50
8	3	2	1	3	23.01	5.80	6.20	12.29	0.292 0	0.204 5	82.52
9	3	3	2	1	25.44	6.93	7.07	14.09	0.236 0	0.185 1	94.95
K_1	80.910	80.110	75.533	86.963							
K_2	86.217	89.783	89.890	83.823							
K_3	87.990	85.223	89.693	84.330							
R	7.080	9.673	14.357	3.140							

表4　方差分析结果

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F	P
A	81.432	2	40.716	4.776	>0.05
B	140.513	2	70.257	8.241	>0.05
C	406.658	2	203.329	23.850	<0.05
D(误差)	17.051	2	8.525		

$F_{0.05}(2,2)=19.000$。

由表3可知，各因素对提取工艺的影响顺序为$C>B>A$，且$A_3>A_2>A_1$、$B_2>B_3>B_1$、$C_2>C_3>C_1$。由表4可知，因素C对提取工艺的影响显著（$P<0.05$），而因素A和B的影响不显著（$P>0.05$）。故确定最佳提取工艺为$A_3B_2C_2$，即第1次提取加14倍水，提取30 min，第2、3次提取均加12倍水，提取20 min。

2.6.6　提取工艺验证

按“2.6.5”项下工艺制备3批样品，进行工艺验证，并按“2.1”～“2.4”项下方法测定各项指标，结果见表5。由表5可知，3批验证实验数据一致性较高，证明所选的提取工艺稳定可靠，具备良好的可重复性。

表5　验证实验结果

试验序号	出膏率/%	没食子酸含量/(mg/g)	柯里拉京含量/(mg/g)	鞣花酸含量/(mg/g)	DPPH自由基 IC_{50}/(mg/mL)	ABTS自由基 IC_{50}/(mg/mL)	综合得分/分
1	20.48	7.39	7.24	13.51	0.224 1	0.183 5	98.17
2	20.07	7.45	7.61	13.61	0.230 8	0.173 7	98.79
3	20.12	7.39	7.27	13.39	0.230 2	0.184 8	96.92
均值	20.22	7.41	7.37	13.50	0.228 4	0.180 7	97.96
RSD/%	1.11	0.47	2.79	0.82	1.62	3.36	0.97

3　讨论

3.1　色谱条件

本研究前期分别对冻干粉的提取条件(提取方式、提取溶剂种类、提取溶剂用量)以及液相色谱条件进行了系统考察。最终确定冻干粉最佳提取条件为25 mL甲醇超声提取15 min。色谱条件考察结果显示,在270 nm波长处各指标成分吸收好,在流动相体系为乙腈-0.1%磷酸溶液时基线平稳、各峰峰形尖锐且对称,当柱温为30 ℃、流速为1.0 mL/min时各色谱峰分离度较好。

3.2　龙眼核破碎程度

传统煎煮认为“逢壳必捣,逢子必破”。龙眼核为龙眼干燥成熟种子,呈类球形,表皮呈红褐色,剖开后有2片子叶,质坚硬。本研究前期对龙眼核破碎程度进行了考察,在仅捣碎龙眼核表皮、不捣碎子叶的情况下,龙眼核标准汤剂出膏率为6.54%,没食子酸、柯里拉京、鞣花酸含量分别为5.26、2.89、5.50 mg/g,DPPH、ABTS自由基的IC_{50}分别为0.284 4、0.370 0 mg/mL,该情况下多酚类成分含量少,抗氧化效果较差,也不易冻干。结合实验现象和文献[16]分析,可能原因是此时提取液中化学成分多为龙眼核多糖,使得提取液较为黏稠,从而导致样品在冻干和升华过程中扩散困难,影响冻干效率;当龙眼核表皮及子叶均被捣碎时,溶剂更易进入药材内部,促使多酚类有效成分溶出,增强了抗氧化效果,也更易冻干,此时出膏率为18.44%,没食子酸、柯里拉京、鞣花酸含量分别为6.42、6.65、11.38 mg/g,DPPH、ABTS自由基的IC_{50}分别为0.246 6、0.243 3 mg/mL。故本研究在进行提取之前,将龙眼核表皮及子叶捣碎,并浸泡30 min,以便有效成分溶出。

3.3　评价指标及方法选择原因

以往提取工艺研究多以出膏率、指标成分含量作为评价指标[17-18],但中药成分复杂,仅通过控制出膏率及有效成分含量无法确保得到的是最佳提取工艺。因此,为了更全面、深入地进行评价,本研究在以关键指标含量和出膏率为评价指标的基础上,将2个抗氧化药效实验结果作为主要评价指标。AHP法是一种主观的评价方法,主要由研究者根据评价指标的重要性进行打分确定权重,CRITIC法则基于数据自身的变异性和指标间的冲突性来确定权重[19]。本研究将AHP法与CRITIC法相结合,相较于单一的评分方法,既体现了研究者的主观判断,也反映了数据的客观特征,可以减少单一评分方法所带来的偏差和局限性,使评价结果更为科学、合理。再通过对加水量、提取时间、提取次数3个因素的综合考察,优化出龙眼核标准汤剂最佳提取工艺为第1次提取加14倍水,提取30 min;第2、3次提取均加12倍水,提取20 min。用此条件进行3批验证实验,平均综合得分为97.96分,RSD为0.97%,表明该工艺稳定、可行。

综上,本研究基于抗氧化活性,采用AHP-CRITIC法结合正交实验优化的龙眼核标准汤剂提取工艺稳定可行。本研究结果可为龙眼核标准汤剂的深入开发利用提供依据。

参考文献

[1] 梅徐,俞晓敏,庞亚飞,等. 龙眼核药用价值概述[J]. 中国民间疗法,2019,27(13):104-105.
MEI X, YU X M, PANG Y F, et al. Overview of medicinal value of Longan seed[J]. China's Naturopathy, 2019, 27(13):104-105.

[2] 王莲. 龙眼在食品加工中的应用研究进展[J]. 现代食品,2023,29(6):23-25.
WANG L. Research progress of Longan application in food processing[J]. Mod Food, 2023, 29(6):23-25.

[3] 梁志,胡鑫鑫. 废弃龙眼核壳多酚、黄酮含量与抗氧化性的相关性研究[J]. 山东化工,2022,51(24):132-134.
LIANG Z, HU X X. Correlation of antioxidant properties with contents of total polyphenols and total flavonoids in solvent extracts of abandoned Longan seeds and shells[J]. Shandong Chem Ind, 2022, 51(24):132-134.

[4] 周颖欣,黄宇虹,黎慧琳,等. 基于体内暴露及网络药理学探讨鞣花酸干预胃肠道出血的作用机制[J]. 中国现代应用药学,2023,40(9):1153-1162.
ZHOU Y X, HUANG Y H, LI H L, et al. Investigation on intervention mechanism of ellagic acid on gastrointestinal bleeding based on *in vivo* exposure and network pharmacology[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2023, 40(9):1153-1162.

[5] 范风颖,骆姗,赵莉. 龙眼核多酚对LPS诱导的ALI小鼠肺组织的保护作用及机制[J]. 西南国防医药,2021,31(6):497-500.
FAN F Y, LUO S, ZHAO L. Protective effect of Longan seed polyphenols on lung tissue in mice with LPS-induced ALI and its mechanism[J]. Med J Natl Defending Forces Southwest China, 2021, 31(6):497-500.

[6] 樊慧芳,李国峰,陈海芳,等. 勒哲多糖粗提物体外抑制H_2O_2诱导HepG2细胞氧化损伤的作用及机制研究[J]. 中国新药杂志,2024,33(8):810-817.
FAN H F, LI G F, CHEN H F, et al. Study on the effect and mechanism of inhibition of H_2O_2-induced oxidative

damage in HepG2 cells *in vitro* by crude extraction of Lezhe polysaccharides[J]. Chin J New Drugs, 2024, 33(8):810-817.

[7] 陈士林,刘安,李琦,等. 中药饮片标准汤剂研究策略[J]. 中国中药杂志,2016,41(8):1367-1375.
CHEN S L, LIU A, LI Q, et al. Research strategies in standard decoction of medicinal slices[J]. China J Chin Mater Med,2016,41(8):1367-1375.

[8] 王单单,宁萌,吴作敏,等. 多指标综合评分法结合正交实验优选黄芪-葛根药对提取工艺[J]. 中国药房,2023,34(1):57-61.
WANG D D, NING M, WU Z M, et al. Optimization of extraction technology for couplet medicinals of *Astragalus membranaceus-Puerariae lobata* by multi-index comprehensive scoring method combined with orthogonal experiment[J]. China Pharm,2023,34(1):57-61.

[9] 杨川川. 壮药姜三七镇痛抗炎作用的谱效关系研究[D]. 南宁:广西中医药大学,2020.
YANG C C. Study on the spectrum-effect relationship of analgesic and anti-inflammatory effects of Zhuangyao Jiangsanqi[D]. Nanning: Guangxi University of Chinese Medicine,2020.

[10] 朱蔚芊,殷鑫,汪祖华,等. 薏苡仁的化学成分及抗氧化活性研究[J]. 中国药学杂志,2023,58(22):2054-2061.
ZHU W Q, YIN X, WANG Z H, et al. Chemical constituents and antioxidant activity of Coicis Semen[J]. Chin Pharm J,2023,58(22):2054-2061.

[11] 孙菡峥. 龙眼核多酚的分离纯化及抗氧化性能的研究[D]. 无锡:江南大学,2019.
SUN H Z. Isolation, purification and antioxidant activity of polyphenols from Longan seed[D]. Wuxi:Jiangnan University,2019.

[12] 覃豪丽,张智,郑晓霞,等. 两种无患子科植物的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中药材,2024,47(8):2102-2113.
QIN H L, ZHANG Z, ZHENG X X, et al. Research progress on the chemical composition and pharmacological activity of two species plants of the Sapindaceae[J]. J Chin Med Mater,2024,47(8):2102-2113.

[13] 杜义龙,高静云,刘文通,等. 山楂叶标准汤剂制备工艺优化[J]. 中成药,2023,45(11):3724-3728.
DU Y L, GAO J Y, LIU W T, et al. Optimization of preparation technology of hawthorn leaf standard decoction[J]. Chin Tradit Pat Med,2023,45(11):3724-3728.

[14] 卢新颖,毕嘉谣,李明慧,等. Box-Behnken响应面法结合基准关联度和AHP-EWM优化经典名方易黄汤的提取工艺[J]. 中国中药杂志,2023,48(21):5798-5808.
LU X Y, BI J Y, LI M H, et al. Optimization of extraction process for classic prescription Yihuang decoction based on Box-Behnken design-response surface methodology, standard relation, and analytic hierarchy process combined with entropy weight method[J]. China J Chin Mater Med,2023,48(21):5798-5808.

[15] 谢谭芳,何结思,程哲,等. 滇桂艾纳香配方颗粒喷雾干燥工艺的优化[J]. 中成药,2022,44(5):1575-1579.
XIE T F, HE J S, CHENG Z, et al. Optimization of spray drying process of *Blumea balsamifera* formula granules[J]. Chin Tradit Pat Med,2022,44(5):1575-1579.

[16] 沈玉彬,郝二伟,杜正彩,等. 龙眼多糖化学结构、构效关系与药理活性研究进展[J]. 中草药,2022,53(23):7624-7632.
SHEN Y B, HAO E W, DU Z C, et al. Research progress on the chemical structure, structure-activity relationship and pharmacological activity of Longan polysaccharides[J]. Chin Tradit Herb Drugs,2022,53(23):7624-7632.

[17] 徐志伟,毕映燕,冯芸梅,等. 基于BP-ANN结合CRITIC法优化当归尾提取工艺参数[J]. 天然产物研究与开发,2023,35(8):1416-1421.
XU Z W, BI Y Y, FENG Y M, et al. Optimization of extraction process for the tail of *Angelica sinensis* based on CRITIC combined with BP-ANN[J]. Nat Prod Res Dev,2023,35(8):1416-1421.

[18] 王巍,杨武杰,韩宇,等. 正交实验结合AHP和GA-BP神经网络优化益黄散醇提工艺[J]. 中国药房,2024,35(3):327-332.
WANG W, YANG W J, HAN Y, et al. Optimization of ethanol extraction process for Yihuang powder by orthogonal experiment combined with AHP and GA-BP neural network[J]. China Pharm,2024,35(3):327-332.

[19] 武艳雪,陈天丽,侯晓琳,等. 酒赤芍炮制工艺优化及其体外抗凝血作用考察[J]. 中国药房,2021,32(21):2613-2618.
WU Y X, CHEN T L, HOU X L, et al. Optimization of processing technology of *Paeonia lactiflora* stir-baked with wine and investigation of its anticoagulant effect[J]. China Pharm,2021,32(21):2613-2618.

(收稿日期:2024-07-19　修回日期:2024-12-14)
(编辑:林　静)