

doi: 10.12452/j.fxcxb.24041801

Box-Behnken 响应面法结合基准关联度和 AHP-EWM 优化经典名方清金化痰汤的提取工艺

汤瑜晨¹, 胡云飞¹, 郭抒博¹, 陈伟³, 周桂芳³, 龚行楚^{1,4*}, 李文龙^{1,2*}

(1. 天津中医药大学 中药制药工程学院, 天津 301617; 2. 现代中医药海河实验室, 天津 301617; 3. 上海真仁堂药业有限公司, 上海 200000; 4. 浙江大学 药学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 该文通过多种研究方法确定了经典名方清金化痰汤的最佳提取工艺。选取加水倍量、提取次数、提取时间为清金化痰汤制备的关键工艺参数, 使用 Box-Behnken 试验制备了 17 组清金化痰汤冻干样品。并以物质基准样品的质量作为参照值, 计算各组样品与基准样品的基准关联度(SR)。采用层次分析-熵权法(AHP-EWM)即主客观相结合的方法确定栀子苷、芒果苷、黄芩苷、甘草酸、出膏率、指纹图谱相似度的权重系数分别为 0.529、0.127、0.083、0.055、0.206、0.000。综合评分后, 建立的数学模型具有统计学意义, 最终确定清金化痰汤的最佳提取工艺参数为加水 6 倍, 提取 30 min, 提取 1 次。重复试验结果显示其综合评分均值为 90.865, 符合清金化痰汤基准样品质控标准的要求, 表明优化后的工艺参数更加稳定可靠, 可为后续清金化痰汤颗粒剂的制备奠定基础。此外, 响应面结合 SR-AHP-EWM 的综合试验设计方法为今后其他经典名方的研究提供了思路。

关键词: 清金化痰汤; 基准关联度; 提取工艺; 层次分析-熵权法(AHP-EWM)

中图分类号: O657.7; R283 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2024)11-1794-09

A Study on the Extraction Process of the Classic Formula Qingjin Huatan Decoction Based on Box-Behnken Experimental Design and AHP-EWM

TANG Yu-chen¹, HU Yun-fei¹, GUO Shu-bo¹, CHEN Wei³, ZHOU Gui-fang³,
GONG Xing-chu^{1,4*}, LI Wen-long^{1,2*}

(1. College of Pharmaceutical Engineering of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. Haihe Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 3. Shanghai Zhen Ren Tang Pharmaceutical Co., Ltd, Shanghai 200000, China; 4. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The experiment combined multiple research methods to determine the optimal extraction process for the classical formula Qingjin Huatan Decoction. Based on the concept of quality by design (QbD), critical quality attributes (CQAs), including the water addition ratio, extraction time, and extraction frequency were selected. Seventeen sets of freeze-dried samples of QJHTD were prepared according to the Box-Behnken Design (BBD). Calculated the standard relationship (SR) between each group of samples and the material-based reference sample, using the quality of the material-based sample as the reference value. The analytic hierarchy process (AHP)-entropy weight method (EWM) method, which combined subjective and objective methods, the weight coefficients of geniposide, mangiferin, baicalin, glycyrrhizic acid, yield rate, and fingerprint similarity were determined to be 0.529, 0.127, 0.083, 0.055, 0.206, and 0.000, respectively. After comprehensive evaluation, the established mathematical model has statistical significance. The optimal extraction process parameters for QJHTD were determined to be adding 6 times the amount of water, extracting for 30 minutes, and extracting once. The repeated test results showed that the average comprehensive score was 90.865, which meet the requirements of the quality control standard for the material-based reference sample of QJHTD. This indicated that the optimized process parameters were

收稿日期: 2024-04-18; 修回日期: 2024-06-27

基金项目: 上海市 2022 年度“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项项目(22S21904600); 亳州市重点研发计划项目(bzzc2023031)

* **通讯作者:** 李文龙, 博士, 研究员, 研究方向: 中药质量控制技术, E-mail: wshlwl@tjutcm.edu.cn
龚行楚, 博士, 副教授, 研究方向: 中药质量控制, E-mail: gongxingchu@zju.edu.cn

more stable and reliable, laid a foundation for the subsequent preparation of QJHTD granules. In addition, the comprehensive experimental design method combining response surface methodology with SR-AHP-EWM can provide ideas for future research on other classic formulas.

Key words: Qingjin Huatan Decoction; standard relation; extraction process; analytic hierarchy process and entropy weight method (AHP-EWM)

清金化痰汤(Qingjin Huatan Decoction, QJHTD)始载于明代《医学统旨》^[1], 组方包括: 黄芩(一钱半)、栀子(一钱半)、桔梗(二钱)、麦冬(一钱)、贝母(一钱)、知母(一钱)、桑白皮(一钱)、橘红(一钱)、炒瓜蒌子(一钱, 炒)、茯苓(一钱)、甘草(四分)。折合成现代用法用量为: 黄芩、栀子各 5.60 g, 桔梗 7.46 g, 麦冬、桑白皮、贝母、知母、瓜蒌子(炒)、橘红、茯苓各 3.73 g, 甘草 1.49 g。方中, 黄芩长于清热燥湿, 为君药。炒瓜蒌子、桔梗、贝母清热涤痰、宽胸散结, 桑白皮、栀子清泻肺火, 共为臣药。橘红理气消痰, 茯苓健脾利湿, 知母清热生津、麦门冬养阴润肺, 四药合用共为佐药。甘草清热润肺、调和药性, 为使药。诸药合用, 共奏清热化痰、润肺止咳之功, 主要用于治疗寒热交错型咳嗽症状, 为一种经典中药复方。现代中医临床被广泛用于治疗由痰热引起的多种肺部疾病, 如肺炎^[2]、支气管炎^[3-4]等。然而, 传统汤剂形式存在煎煮繁琐、不易携带等缺点^[5], 为克服以上缺点, 现代制药技术将其制成颗粒剂, 以确保临床药性、药效的发挥。

在现代制药工艺中, 颗粒剂的质量保证尤为关键。工业化生产受到多种因素的影响(提取容器、提取方式、成本、效率等), 保证产品质量的稳定性成为挑战。“基准关联度”(SR)^[6]被用来评估现代提取工艺与基准样品之间的质量一致性。SR 值越高, 意味着所采用的生产工艺越接近于传统煎煮方法。

本试验采用“质量源于设计”(QbD)理念, 强调在产品设计和开发阶段进行质量控制, 而非仅在产品完成后进行质量检测^[7-9], 并制备了 17 组不同提取条件下的 QJHTD 样品。通过计算制备的各样品与物质基准的 SR, 进行质量一致性评价。并采用层次分析-熵权法(AHP-EWM)即主客观相结合的方法计算权重系数, 实现综合评分。最后通过 Box-Behnken 响应面法^[10-13]建立数学模型, 预测和优化 QJHTD 的提取工艺。所建立的方法不仅提高了生产效率, 保证了产品的稳定性, 还为清金化痰汤的进一步开发和工业化生产奠定了坚实的基础。

1 实验部分

1.1 实验仪器与材料

AX523ZH 型分析天平(美国 OHAUS 公司); ME55 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); LQ-A10002 电子天平(浙江五鑫衡器有限公司); Milli-Q 纯水仪(Millipore, 美国); 全自动中药煎煮壶(湖州康雅顺电器有限公司); DZTW-2000 型可调式电热套(北京永光明医疗仪器有限公司); SB-5200DTD 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); N-1300 型旋转蒸发仪、FDL-1000 冷冻干燥机(EYELA, 日本); DZF-6051 型真空干燥器(北京利康达圣科技有限公司); H1650R 型高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); SN-HWS-24 电热恒温水浴锅(上海尚仪仪器设备有限公司); Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪配备 DAD 检测器(Agilent, 美国); Eclipse XDB-C₁₈ Column 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)。

芒果苷(批号: MUST-22061311)、栀子苷(批号: MUST-22101813)、黄芩苷(批号: MUST-22092701)、甘草酸(批号: MUST-22062007), 纯度均≥98%, 以上对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司。乙腈、甲酸(色谱纯, 德国默克公司); 甲醇(分析纯, 天津大茂化学试剂有限公司)。

黄芩饮片(批号: HQ-2022001, 产地内蒙古赤峰)、栀子饮片(批号: ZZ-2022001, 产地江西宜春)、桔梗饮片(批号: JG-2022001, 产地安徽太和)、麦冬饮片(批号: MD-2022001, 产地四川绵阳)、桑白皮饮片(批号: SBP-2022001, 产地四川绵阳)、贝母饮片(批号: BM-2022001, 产地浙江磐安)、知母饮片(批号: ZM-2022001, 产地河北安国)、瓜蒌子饮片(批号: GLZ-2022001, 产地河北安国)、橘红饮片(批号: JH-2022001, 产地湖北宜昌)、茯苓饮片(批号: FL-2022001, 产地安徽岳西)、甘草饮片(批号: GC-2022001, 产地陕西延安)均购自亳州市康美中药材市场, 经亳州学院中药学院胡云飞老师鉴定均符合《中国药典》2020 版相关规定。

1.2 QJHTD 基准样品的制备

取处方量饮片于全自动中药煎煮壶中,加入 400 mL 蒸馏水,放置浸泡 30 min 后,先加盖武火(500 W)煮沸,再转文火(300 W)煎至 160 mL,用双层尼龙纱布趁热过滤,即得 QJHTD 标准煎液。

根据《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则(试行)》(以下简称“指导原则”)的规定^[14],物质基准一般以干燥品或浓缩浸膏形式存在。根据经典名方 QJHTD 原料药的特点,选择冷冻干燥的方式制备基准样品。取 QJHTD 标准煎液在 37 °C 下减压浓缩,浓缩比约为 1:2,然后在 -80 °C 环境下预冻 12 h 后,至真空冷冻干燥机(真空度为 < 10 Pa)干燥 24 h,即得 QJHTD 物质基准冻干样品。

1.3 清金化痰汤指标性成分的含量测定

1.3.1 色谱条件 流动相为乙腈-0.1%甲酸水,梯度洗脱(0~38 min, 5%~16% 乙腈; 38~65 min, 16%~21% 乙腈; 65~102 min, 21%~25% 乙腈; 102~119 min, 25%~55% 乙腈; 119~123 min, 55%~95% 乙腈);柱温为 30 °C;流速为 1.0 mL/min;进样体积为 10 μL;检测波长为 254 nm。

1.3.2 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷、芒果苷、黄芩苷、甘草酸对照品适量,置 10 mL 量瓶中,加甲醇并定容至刻度,配成质量浓度分别为 460、600、500、430 μg/mL 的混合对照品溶液。

1.3.3 供试品溶液的制备 精密称取 QJHTD 冻干粉末 0.2 g(过 3 号筛),转入具塞锥形瓶中,加 20% 甲醇溶液 10 mL,称定重量,超声处理(200 W, 40 kHz) 30 min 后,放冷,待样品冷却至室温,再称定重量,并补足失重,以 10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

1.4 出膏率的测定

精密量取 QJHTD 煎煮液 25 mL,倒入已恒重的蒸发皿中,在 100 °C 水浴中蒸干,于 105 °C 烘箱干燥 3 h 后,置干燥器中冷却 30 min,随后迅速测量并记录干燥后的重量,计算出膏率(%),见公式(1)。

$$\text{出膏率}\% = \frac{(M_1 - M_0)V_{\text{总}}}{V_{\text{测}}M_{\text{总}}} \times 100\% \quad (1)$$

其中, M_1 为最终含干膏蒸发皿的质量, M_0 为蒸发皿恒重后的质量, $M_{\text{总}}$ 为清金化痰汤处方饮片总量, $V_{\text{总}}$ 为煎煮结束后煎液总体积, $V_{\text{测}}$ 为 25 mL。

1.5 指纹图谱测定

1.5.1 供试品溶液的制备 同“1.3.3”项下供试品溶液的制备方法。

1.5.2 色谱条件 同“1.3.1”项下供试品溶液的色谱条件。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 QJHTD 加水倍量考察 按照处方量精密称取 QJHTD 饮片于圆底烧瓶内,分别加入相当于处方量 6 倍、8 倍、10 倍、12 倍、14 倍、20 倍的蒸馏水,浸泡 30 min 后,回流提取 1 h。测定栀子苷、芒果苷、黄芩苷、甘草酸含量及出膏率。进行 3 组平行试验,通过计算平均值确定加水量的低水平和高水平。研究结果表明,加 6~10 倍量水时,测定指标呈上升趋势。因此,确定以 6 倍加水量为低水平,10 倍加水量为高水平,加水量的影响见表 1。

表 1 加水量对 QJHTD 指标成分含量和出膏率的影响

Table 1 Impacts of vary water additions on the index component contents and paste yields in QJHTD

Water addition/time (加水量/倍)	Content/(mg·g ⁻¹)				Paste yield/% (出膏率/%)
	Geniposide(栀子苷)	Mangiferin(芒果苷)	Baicalin(黄芩苷)	Glycyrrhizic acid(甘草酸)	
6	9.68	12.02	6.70	8.50	14.97
8	9.86	15.83	7.38	7.62	15.50
10	10.23	19.57	8.50	9.64	16.34
12	9.76	15.68	7.62	9.59	15.56
14	9.71	13.23	7.66	9.47	18.55
20	10.23	16.41	8.50	12.18	16.62

2.1.2 QJHTD 提取时间的考察 按照处方量精密称取 QJHTD 饮片于圆底烧瓶中,加水 8 倍,分别回流提取 30、60、90、120、150 min,对栀子苷、芒果苷、黄芩苷、甘草酸含量及出膏率进行测定。进

行 3 组平行试验, 通过计算平均值确定提取时间的低水平和高水平。结果表明, 提取时间为 30 ~ 90 min 时, 除芒果苷和甘草酸在回流提取 90 min 时含量下降外, 其他测定指标均呈上升趋势, 出膏率无明显变化, 故选提取时间 30 min 低水平, 90 min 为高水平, 提取时间的影响见表 2。

表 2 提取时间对 QJHTD 指标成分含量和出膏率的影响

Table 2 Effects of vary extraction times on the index component contents and paste yields in QJHTD

Extraction time/min	Content/(mg·g ⁻¹)				Paste yield/%
	Geniposide	Mangiferin	Baicalin	Glycyrrhizic acid	
30	10.19	18.73	6.20	11.82	17.62
60	10.20	19.65	8.22	9.67	18.43
90	10.56	17.53	8.50	9.05	18.20
120	10.04	16.07	8.54	10.84	17.46
150	10.71	22.02	8.53	9.40	17.20

2.2 Box-Behnken 试验

2.2.1 CQAs 和 CPPs 的确定 结合 QJHTD 的临床应用及其实践可操作性, 选取 6 个关键质量属性 (CQAs) 确保 QJHTD 的制备工艺符合标准, 包括: 单处方指标性成分含量 栀子苷 (Y_1)、芒果苷 (Y_2)、黄芩苷 (Y_3)、甘草酸 (Y_4)、出膏率 (Y_5) 以及指纹图谱相似度 (Y_6)。基于经验和相关文献报道, 确定 3 个关键过程参数 (CPPs) 用来控制 QJHTD 的提取过程, 包括提取时间 (X_1)、加水倍量 (X_2) 和提取次数 (X_3)。

2.2.2 Box-Behnken 试验设计 根据生产需求和临床经验, 提取次数设定为 1 次、2 次、3 次。基于前期加水倍数、提取时间的单因素试验结果, 运用 Design-Expert 10 软件进行一个包含 12 个因子点和 5 个中心点的 3 因素 3 水平 17 组响应面试验。其中, 17 组 QJHTD 冻干品的制备方法参照 “1.2” 基准样品的制备, 并根据 Box-Behnken 试验设计调整提取次数、加水倍量、提取时间。按 “1.3.1” 色谱条件进样分析, 记录色谱图, 混合对照品的高效液相色谱 (HPLC) 图如图 1 所示, 各成分分离度良好。17 组 QJHTD 样品的指纹图谱见图 2。

2.3 基准关联度

2.3.1 确定评价对象 本方法的基本流程如图 3 所示, 基准相似度在评价样品与基准样品之间相似性时至关重要。通过对比基准样品与 17 组经过 Box-Behnken 试验设计的样品, 以 6 个 CQAs 作为关键评价指标, 比较并评价样品的 X_{ij} 和基准样品的 S_j 。其中 X_{ij} 是指第 i 个样品 ($i=1, 2, \dots, m$) 在第 j 个指标 ($j=1, 2, \dots, n$) 下的实测值, S_j 则对应于基准样品在第 j 个指标下的数值; n 、 m 分别为评价所需的指标数目和样品总数。

2.3.2 计算相对偏差 (RD_{ij}) 根据公式 (2) 计算 X_{ij} 与 S_j 之间的 RD_{ij} 值, 结果见表 3。

$$RD_{ij} = |X_{ij} - S_j| / S_j \quad (2)$$

其中, RD_{ij} 表示第 i 个样本 ($i=1, 2, \dots, m$) 在第 j 指标 ($j=1, 2, \dots, n$) 上相对于基准样在同一个指标的偏差。

RD_{ij} 值越小, 表示试验样品与基准样品的相似性越高。由表 3 可知, 以栀子苷 (Y_1) 为评价指标时, 第 12 号试验样品与基准样品的一致性较高; 而以出膏

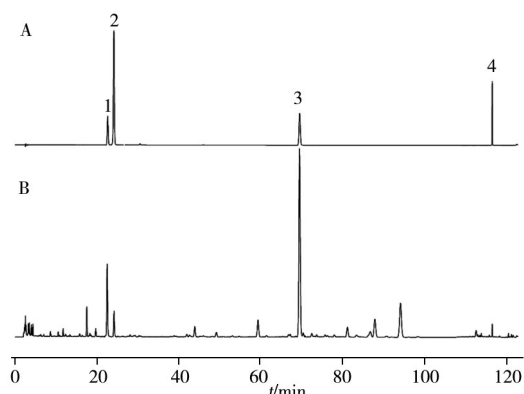


图 1 混合对照品(A)和清金化痰汤基准样品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substance(A) and QJHTD(B) benchmark sample
1. geniposide(栀子苷); 2. mangiferin(芒果苷); 3. baicalin(黄芩苷); 4. glycyrrhizic acid(甘草酸)

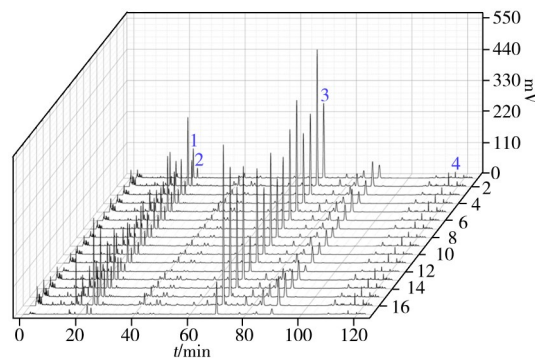


图 2 Box-Behnken 试验设计 17 个批次 QJHTD 基准样品的液相色谱指纹图谱

Fig. 2 Liquid chromatography fingerprints for 17 batches of QJHTD benchmark sample by Box-Behnken experimental design

1. geniposide(栀子苷); 2. mangiferin(芒果苷); 3. baicalin(黄芩苷); 4. glycyrrhizic acid(甘草酸)

率(Y_5)作为评价标准时,第9号试验样品的质量与基准样品相似度较高。鉴于不同的评价指标可能会出现不同的最优工艺结果,将这些评价因素综合起来,才能确立最佳的提取工艺参数。

2.3.3 基准关联度 由于 RD_{ij} 值无法用于最终综合评分的计算,需根据公式(3)计算这些指标的 SR_{ij} ,即以基准样品的质量为标准值(S)、以各样品的质量作为实测值(X)、6个不同指标作为评价对象进行计算,结果见表4。

$$SR_{ij} = 1 - RD_{ij} = 1 - \frac{|X_{ij} - S_j|}{S_j} \quad (3)$$

其中, SR_{ij} 指第 i 个样本在第 j 项指标的基准关联度。 SR_{ij} 的值愈接近100%,则样品与基准样品的相似性愈高。随后使用AHP-EWM方法确定不同指标的权重系数,进行整体评分。

表3 Box-Behnken 试验设计中样品的 RD_{ij} 值
Table 3 RD_{ij} values for samples in Box-Behnken design

No.	RD_{ij}					
	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_5	Y_6
1	2.060	0.716	1.778	2.218	0.204	0.006
2	5.077	2.721	3.113	5.428	0.289	0.006
3	2.060	0.933	1.409	2.127	0.491	0.004
4	1.032	0.474	0.562	1.714	0.940	0.004
5	5.075	2.519	3.135	4.931	0.101	0.007
6	1.810	-0.958	1.695	2.054	0.076	0.002
7	1.639	0.480	1.125	2.193	0.201	0.004
8	1.148	0.440	0.736	1.391	0.138	0.004
9	2.475	1.117	1.769	2.913	0.073	0.003
10	2.276	1.149	1.490	2.919	0.263	0.004
11	2.456	1.084	1.779	3.016	0.081	0.003
12	0.163	0.085	0.053	1.017	1.017	0.004
13	2.258	1.359	1.530	2.820	0.118	0.005
14	2.068	1.317	1.248	2.298	0.076	0.005
15	5.159	2.702	2.835	3.788	0.339	0.009
16	4.394	3.193	2.593	3.106	0.192	0.084
17	5.034	0.107	0.180	0.946	0.093	0.005

2.4 AHP-EWM组合权重

2.4.1 AHP (1)构建判断矩阵:在经典名方标准化生产中,出膏率处于关键地位,它不仅体现了中药活性成分的提取效率,而且是决定不同批次产品质量稳定性和一致性的核心参数。因此,将出膏率(Y_5)视作优先考量的关键因子,重要程度视为最高^[15]。其次,根据经典名方QJHTD的处方组成,遵循“君臣佐使”的配伍原则,保证QJHTD成分“煎的出,检的出”^[16]。黄芩中以黄芩苷为代表的黄酮类是其活性成分,具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化、保护神经元等药理作用^[17];栀子中以栀子苷为代表的环烯醚萜类主要活性成分,具有调节机体免疫、抗氧化、抗炎镇痛等药理作用^[18];知母中以芒果苷为代表的黄酮类主要活性成分,具有抗肿瘤、抗炎、抗血小板血栓、解热等药理作用^[19];甘草中以甘草酸为代表的皂苷类主要活性成分,具有抗炎、抗病毒、抗肿瘤、抗菌和免疫调节等药理作用^[20]。以上指标性成分均为《中国药典》2020年版中规定的含量测定指标^[21]。因此,选取君药黄芩中的黄芩苷(Y_3)、臣药栀子中的栀子苷(Y_1)、佐药知母中的芒果苷(Y_2)、使药甘草中的甘草酸(Y_4),共同构成质量控制的标准。此外,指纹图谱相似度(Y_6)为质控的手段之一,主要反映了小分子成分的定性轮廓,但相对于其他指标的信息含量较少,并不作为主要的质量评判标准^[22]。故重要性排序为出膏率(Y_5)最重

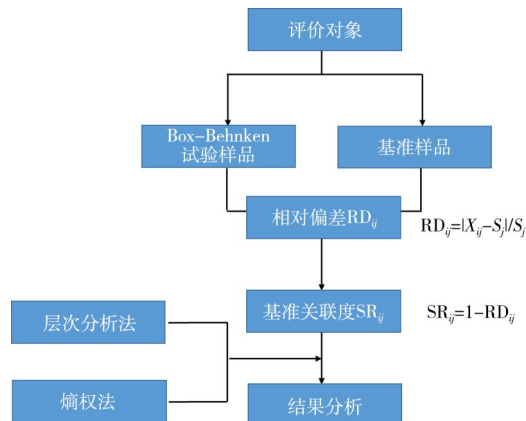


图3 Box-Behnken 试验设计结合SR-AHP-EWM方法优化的提取工艺流程图

Fig. 3 Schematic diagram for refining the extraction process using the Box-Behnken design framework and SR-AHP-EWM approach

要, 其后依次为黄芩苷(Y_3)、栀子苷(Y_1)、芒果苷(Y_2)、甘草酸(Y_4), 最后是指纹图谱相似度(Y_6)。基于 1~9 标度法, 构建了层次分析法(AHP)的理论判断矩阵, 并对各指标按其相对重要性进行评分, 具体结果见表 5。利用公式(4)建立判断矩阵(A), 其详细数据见表 6。

表 4 Box-Behnken 试验设计中的 SR_{ij} 值Table 4 SR_{ij} ratings for samples within the Box-Behnken design experiment

No.	SR_{ij}					
	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_5	Y_6
1	-106.042	28.379	-77.816	-121.769	79.595	99.400
2	-407.692	-172.077	-211.345	-442.803	71.139	99.400
3	-105.988	6.726	-40.861	-112.692	50.943	99.600
4	-3.236	52.588	43.780	-71.430	5.966	99.600
5	-407.548	-151.904	-213.518	-393.090	89.937	99.300
6	-80.984	195.768	-69.470	-105.431	92.418	99.800
7	-63.875	52.038	-12.520	-119.293	79.944	99.600
8	-14.820	55.983	26.426	-39.126	86.164	99.600
9	-147.548	-11.712	-76.874	-191.302	92.732	99.700
10	-127.609	-14.881	-48.957	-191.913	73.655	99.600
11	-145.613	-8.406	-77.941	-201.608	91.894	99.700
12	83.685	91.532	94.715	-1.663	-1.663	99.600
13	-125.812	-35.913	-53.027	-181.963	88.225	99.500
14	-106.800	-31.744	-24.800	-129.753	92.383	99.500
15	-415.868	-170.211	-183.511	-278.768	66.143	99.100
16	-339.425	-219.309	-159.335	-210.643	80.783	91.600
17	-403.411	89.282	81.992	5.410	90.741	99.500

表 5 基于 1~9 标度法构建 AHP 判断矩阵的标准

Table 5 Criteria for establishing the AHP decision matrix using the 1 to 9 scale method

Scale	Meaning
1	表示 2 个因素相比, 具有相同重要性
3	表示 2 个因素相比, 前者比后者稍重要
5	表示 2 个因素相比, 前者比后者明显重要
7	表示 2 个因素相比, 前者比后者强烈重要
9	表示 2 个因素相比, 前者比后者极端重要
2、4、6、8	表示上述相邻判断的中间值
倒数	若因素 e 与因素 f 的重要性之比为 a_{ef} , 那么因素 f 与因素 e 重要性之比为 $a_{fe}=1/a_{ef}$

$$A = (a_{ef})_{n \times n} = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{pmatrix} \quad (4)$$

其中, a_{ef} 为因素 e 与因素 f 相比较的相对重要性, 即因素 e 相对于因素 f 的比较结果。

(2) 权重计算:

首先, 对判断矩阵 A 进行几何平均, 通过公式(5)确定初始权重系数 W'_j 。

$$W'_j = (a_{j1} a_{j2} \cdots a_{jn})^{1/n} \quad (5)$$

其中 a_{jn} 表示第 j 个指标因素相对于第 n 个指标因素的重要性评价。再根据公式(6)计算归一化权重系数 W_j^s , 最终得到 6 个指标的权重系数, 分别为 0.388、0.185、0.153、0.127、0.094、0.053。

表 6 6 个指标成分比较的 AHP 判断矩阵

Table 6 AHP judgment matrix for comparing six indicator components

Indicator	Y_5	Y_3	Y_1	Y_2	Y_4	Y_6
Y_5	1	3	3	3	4	6
Y_3	1/4	1	2	2	3	5
Y_1	1/5	1/2	1	2	3	4
Y_2	1/5	1/3	1/3	1	3	4
Y_4	1/5	1/4	1/3	1/2	1	4
Y_6	1/6	1/5	1/4	1/4	1/2	1

$$W_j^s = W'_j / \sum_{j=1}^n W'_j \quad (6)$$

(3) 一致性检验:

为确保决策过程的准确性和各项判断的协调一致性, 需要进行一致性检验。使用公式(7)计算最大特征值 $\lambda_{\max}$, 通过公式(8)计算得到一致性指数(CI)为 0.035 7。引入自由度指数(RI), 运用公式(9)评估一致性比率(CR), 得 CR 值为 0.028 8。这两个一致性指标均低于通常接受的阈值 0.1, 表明判断矩

阵在统计上具有一致性^[23]。

$$\lambda_{\max} = \left[\sum_{j=1}^n \left(\sum_{i=1}^n a_{ij} W_j' / W_j' \right) \right] / n \quad (7)$$

$$CI = (\lambda_{\max} - n) / (n - 1) \quad (8)$$

$$CR = CI / RI \quad (9)$$

2.4.2 EWM (1)建立 Box-Behnken 试验原始数据矩阵:

以现有样本($m=17$)、评价指标($n=6$)构建原始数据矩阵 $R=(X_{ij})_{m \times n}$ 。

(2)使用公式(10)将原始矩阵 R 转化为概率矩阵 P :

$$P_{ij} = X_{ij} / \sum_{i=1}^m X_{ij} \quad (10)$$

其中, P_{ij} 表示第 i 个样本在第 j 个指标下出现的概率。

(3)信息熵和权重系数的计算:

信息熵 H_j 越低, 代表第 j 个指标下数据的离散程度越高, 能够提供更多的有效信息。通过运用公式(11)评估各个指标的 H_j , 其值分别为 0.968 2、0.990 8、0.995 9、0.994 7、0.995 1、1.000 0。随后根据公式(12)计算得到每个指标的权重系数 W_j^* 依次为 0.575、0.166、0.075、0.096、0.088 和 0.000。

$$H_j = -k / \sum_{i=1}^m P_{ij} \ln P_{ij}, \quad k = 1 / \ln m \quad (11)$$

$$W_j^* = (1 - H_j) / \sum_{j=1}^n (1 - H_j) \quad (12)$$

2.4.3 AHP-EWM 组合赋权法确定权重系数 本研究采用一种综合加权方法, 融合来自 AHP 的主观权重系数与熵权法(EWM)提供的客观权重系数, 根据公式(13)计算综合权重, 具体结果见表 7。

$$W_j = W_j^S W_j^* / \sum_{j=1}^n W_j^S W_j^* \quad (13)$$

2.5 综合评分

根据 AHP 和 EWM 的组合权重系数, 得到栀子苷(Y_1)的权重为 52.9%, 芒果苷(Y_2)的权重为 12.7%, 黄芩苷(Y_3)为 8.3%, 甘草酸(Y_4)为 5.5%, 出膏率(Y_5)为 20.6%, 指纹图谱相似度(Y_6)为 0%。结合基准关联度 SR_{ij} , 依据公式(14)计算综合评分, 结果见表 8。综合评分达 100 分时, 表明基准样品与样本在该工艺参数下的质量最为一致。

$$\text{综合评分} = SR_{i,Y_1} \times 0.529 + SR_{i,Y_2} \times 0.127 + SR_{i,Y_3} \times 0.083 + SR_{i,Y_4} \times 0.055 + SR_{i,Y_5} \times 0.206 \quad (14)$$

表 7 6 种指标的组合权重

Table 7 The weight value of the indices on six indexes

Indicator	W_j^S	W_j^*	W_j
Y_1	0.153	0.575	0.529
Y_2	0.127	0.166	0.127
Y_3	0.185	0.075	0.083
Y_4	0.094	0.096	0.055
Y_5	0.388	0.088	0.206
Y_6	0.053	0.000	0.000

表 8 Box-Behnken 试验设计与结果

Table 8 Box-Behnken experimental design and results

No.	X_1/min	X_2/Time	X_3/Time	Content/(mg·g ⁻¹)				Paste yield/%	Fingerprint similarity/ Y_6	Comprehensive score
				Y_1	Y_2	Y_3	Y_4			
1	90	10	2	5.452	8.374	5.755	6.124	22.780	0.994	-49.244
2	90	8	1	10.827	18.155	8.520	12.234	20.360	0.994	-264.720
3	60	8	2	5.451	9.431	4.989	5.951	14.580	0.996	-54.289
4	60	6	3	3.621	7.193	3.236	5.166	14.750	0.996	5.956
5	60	10	1	10.824	17.171	8.565	11.288	31.500	0.993	-255.676
6	60	8	2	5.006	9.552	5.582	5.813	26.450	0.998	-10.469
7	30	8	2	4.701	9.377	4.402	6.077	34.360	0.996	-18.275
8	60	8	3	3.827	8.716	3.595	4.551	32.580	0.996	17.081
9	30	8	2	6.192	10.330	5.735	7.447	26.540	0.997	-77.315
10	30	10	2	5.837	10.485	5.157	7.459	21.080	0.996	-68.801
11	60	8	2	6.157	10.169	5.757	7.644	26.300	0.997	-76.695
12	90	8	3	2.072	5.293	2.181	3.838	28.620	0.996	63.378
13	90	6	2	5.805	11.511	5.241	7.270	25.250	0.995	-67.324
14	30	6	2	5.466	11.308	4.656	6.276	30.800	0.995	-50.675
15	30	8	1	10.972	18.064	7.944	9.112	18.930	0.991	-258.559

(续表 8)

No.	X_1/min	X_2/Time	X_3/Time	Content/(mg·g ⁻¹)				Paste yield/%	Fingerprint similarity/ Y_6	Comprehensive score
				Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_5		
16	60	6	1	9.610	20.460	7.443	7.816	23.120	0.916	-215.617
17	60	10	3	10.750	5.402	2.444	3.704	31.270	0.995	-176.240
Reference sample				1.782	4.879	2.071	1.903	28.620	1.000	100.00

2.6 提取工艺的优化与验证

2.6.1 响应面分析 对模型进行方差分析(ANOVA), 结果见表 9。采用二次多项式模型拟合, 方差显著而失拟项不显著, 表明所建模型具有统计学意义。通过建立多元线性回归方程, 进行综合评分预测: 综合评分= $-39.37+15.23 \times X_1-27.79 \times X_2+107.26 \times X_3+9.05 \times X_1 X_2+34.64 \times X_1 X_3-35.53 \times X_2 X_3+3.17 \times X_1^2-26.82 X_2^2-90.19 X_3^2$ 。综合评分生成的等高线及响应面分析见图 4。

表 9 方差分析结果

Table 9 Summary of variance analysis results

Error source	Sum of squares	Degree of freedom	Mean square	F value	P value
Model	150 800	9	16 759.57	5.81	0.015 0
X_1	1 781.62	1	1 781.62	0.62	0.457 5
X_2	6 177.25	1	6 177.25	2.14	0.186 6
X_3	80 368.46	1	80 368.46	27.88	0.001 1
$X_1 X_2$	327.70	1	327.70	0.11	0.745 9
$X_1 X_3$	2 839.92	1	2 839.92	0.99	0.354 0
$X_2 X_3$	5 050.69	1	5 050.69	1.75	0.227 2
X_1^2	35.36	1	35.36	0.012	0.914 9
X_2^2	2 968.92	1	2 968.92	1.03	0.343 9
X_3^2	27 266.28	1	27 266.28	9.46	0.017 9
Residual	20 176.65	7	2 882.38		
Omission item	16 164.48	4	4 041.12	3.02	0.195 2
Pure error	4 012.17	3	1 337.39		
Sum	171 000	16			

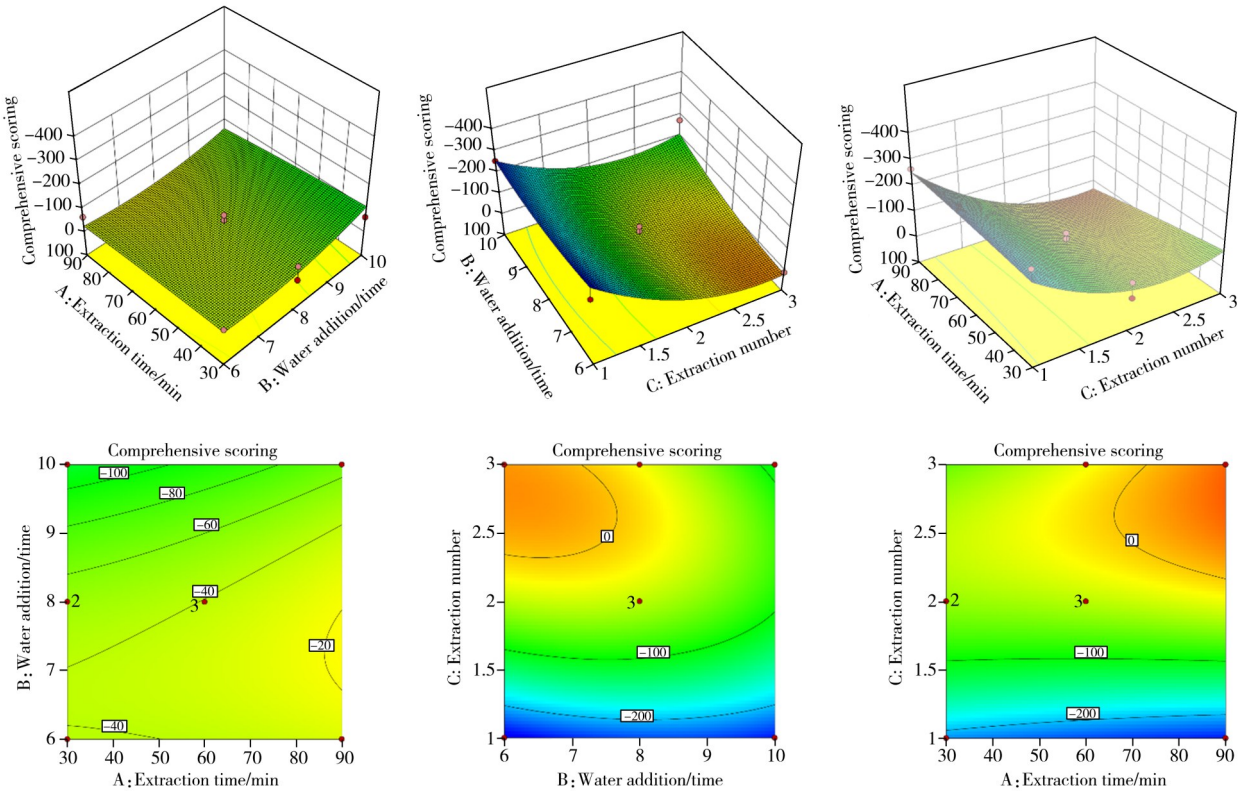


图 4 综合评分影响因素的响应面图与等高线图

Fig. 4 Response surface and contour maps of the influencing factors of comprehensive scoring

2.6.2 优化工艺的验证 根据 Box-Behnken 设计试验结果, 在 Design-Expert 10 软件中构建预测模型并确定最优提取条件: 加水倍量为 6 倍、提取时间为 30 min、提取次数为 1 次。为验证优化后的提取工艺, 进行 3 组重复试验, 测定 6 个评价指标, 计算综合评分, 结果见表 10。优化后样品的综合评分平均值达 90.664, 高于 Box-Behnken 试验下的测定值, 接近基准物质的质量, 符合《原则》中相关制剂生产指标要求, 表明该提取工艺稳定性好。

表 10 验证试验结果($n=3$)
Table 10 Results from the validation tests($n=3$)

No.	Content/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)				Paste yield/%	Fingerprint similarity	Comprehensive score
	Geniposide	Mangiferin	Baicalin	Glycyrrhizic acid			
1	1.885	5.235	2.947	1.945	30.997	0.997	90.664
2	1.861	5.441	2.834	1.813	30.589	0.996	91.968
3	1.850	5.721	2.635	2.324	31.874	0.997	89.962

3 结 论

本研究以清金化痰汤基准样品为参照物, 基于 QbD 理念结合 SR-AHP-EWM 的复合赋权模式确定各评价指标的权重系数进行综合评分。运用 Box-Behnken 设计试验方法, 建立了以梔子苷、芒果苷、黄芩苷、甘草酸、出膏率、指纹图谱相似度为主的质量控制体系, 确定加水倍量、提取时间、提取次数为关键工艺参数, 并采用单因素试验确定各因素水平, 建立了 QJHTD 提取工艺的综合评价模型。该模型在尊古的同时, 还考虑到工艺的实际可操作性、制备方法的科学性。工艺参数优化后制备的样品的各指标与基准样品之间的偏差较小, 符合将古代经典名方传承并沿用的宗旨。本研究不仅实现了 QJHTD 从传统制备到现代化生产的重要转变, 为今后 QJHTD 的开发奠定了坚实基础, 也为其他传统中药复方制剂的现代化研究提供了重要参考。

参考文献:

- [1] Zhang Q L, Li Y, Xiao S P, You Y. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Formulae*(张琼玲, 李颖, 肖苏萍, 游云. 中国实验方剂学杂志), **2021**, 27(3): 198-207.
- [2] Zhao M, Xu G L, Li J, Chen P, Zhong Y Q, Li G S. *J. Tradit. Chin. Med.* (赵媚, 许光兰, 李娇, 陈平, 钟云青, 李国生. 中医杂志), **2019**, 60(8): 696-700.
- [3] Yang Z H, Mo B W. *World Latest Med. Inf.* (阳志华, 莫碧文. 世界最新医学信息文摘), **2018**, 18(6): 70-80, 83.
- [4] Li Y Y, Mo L L. *Hunan J. Tradit. Chin. Med.* (李永仪, 莫玲岚. 湖南中医杂志), **2017**, 33(9): 83-84.
- [5] Wang L, Gao X, Yan X H, Cai T X, Zhang K, Li Y X, Li W L. *Central South Pharm.* (王龙, 高鑫, 闫信豪, 蔡通祥, 张坤, 李元祥, 李文龙. 中南药学), **2022**, 20(9): 2008-2014.
- [6] Dai S, Li S, Zhang A J, Mao J Z, Zhu H M. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (代珊, 李帅, 张爱军, 毛九州, 朱红梅. 中草药), **2022**, 53(3): 726-734.
- [7] Pei X T, Liu K, Peng L, Yin D K, Zeng J K, Chen W D. *China J. Chin. Meter. Med.* (裴晓婷, 刘珂, 彭雷, 尹登科, 曾纪锴, 陈卫东. 中国中药杂志), **2023**, 48(24): 6653-6662.
- [8] Chen H R, Ding Y, Liu Z Z, Liu J J, Wang Y X, Shen A Z, Guo J, Gui S Y. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (陈海溶, 丁杨, 刘贞贞, 刘佳佳, 王雨宵, 沈爱宗, 郭健, 桂双英. 中草药), **2022**, 53(23): 7384-7392.
- [9] Li Z R, Wang Y T, Lan F, Zhou S H, Li Y. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (李姿锐, 王一婷, 兰帆, 周素华, 李雅. 中草药), **2022**, 53(15): 4678-4686.
- [10] Zhao G D, Hong L, Wang N, He L, Zhang S T, Chen W D. *Central South Pharm.* (赵国栋, 洪璐, 王倪, 何玲, 张善堂, 陈卫东. 中南药学), **2021**, 19(9): 1848-1853.
- [11] He Y, Jiang H J, Cheng Y F, Du K Q, Li M M, Yang Q B, Wang Z Z, Fu C M, Duan Y. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (何瑶, 江华娟, 成颜芬, 杜克群, 李敏敏, 杨青波, 王振中, 傅超美, 段毅. 中草药), **2021**, 52(22): 6845-6855.
- [12] Li Y, Wu B Z, Yang Y L, Hu D H, Wang X L. *Mod. Chin. Med.* (李越, 吴中宝, 杨艳玲, 胡等慧, 王秀丽. 中国现代中药), **2020**, 22(4): 609-614.
- [13] Zeng H R, Li T N, Ran Q, Wang L, Ren Y Y, Peng W, Gao Y X, Huang Q M, Tan J. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (曾海蓉, 李婷婷, 冉倩, 王琳, 任媛媛, 彭伟, 高永翔, 黄勤挽, 谭瑾. 中草药), **2020**, 51(1): 84-90.
- [14] Center for Drug Evaluation. Guiding Principles for Pharmaceutical Research Technology of Traditional Chinese Medicine Compound Formulations Managed by the Catalogue of Ancient Classic Prescriptions(to try out)(国家药监局药审中心. 按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则(试行)). [2021-08-27]. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/1c18dd163e7c9221786e5469889367d0>.