

Box-Behnken 设计-响应面法结合基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方小承气汤的提取工艺

赵玥瑛, 王昌海, 张泽康, 张 晴, 郭明雪, 孙 萌, 席 铖, 杨雪颖, 董 爽, 张馨雨, 杜守颖, 陆 洋*, 白 洁*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要: 目的 应用 Box-Behnken 设计-响应面法, 结合基准关联度和层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP)-熵权法优化经典名方小承气汤的提取工艺。方法 以芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林含量、出膏率及指纹图谱相似度为关键质量属性 (critical quality attributes, CQAs), 以加水倍量、提取时间、提取次数为关键工艺参数 (critical process parameters, CPPs), 采用单因素实验确定各因素水平, Box-Behnken 设计优化提取工艺参数并进行验证。最后, 计算不同提取参数的各评价指标下各样品与基准样品的基准关联度, 采用 AHP-熵权法确定各种评价指标的权重系数, 进行综合评分, 预测最佳提取工艺。结果 方差分析结果显示, 2 次项回归模型的方差显著 ($P < 0.01$), 且失拟值不显著, 表明所建模型具有统计学意义, 各因素与响应值之间的关系可以用所建模型进行函数化。确定最佳提取工艺为全方饮片加 6 倍量水, 提取 30 min, 提取 1 次。平行 3 次的验证试验综合评分均值为 95.37, RSD 为 2.31%, 且符合基准样品质控标准。结论 基于质量源于设计 (quality by design, QbD) 理念、基准关联度和 AHP-熵权法筛选的经典名方小承气汤提取工艺参数稳健可靠, 同时为其他经典名方的制备工艺开发提供了参考。

关键词: 质量源于设计; 经典名方; 小承气汤; Box-Behnken 设计-响应面法; 基准关联度; 层次分析法-熵权法; 芦荟大黄素; 大黄酚; 厚朴酚; 辛弗林; 指纹图谱; 关键质量属性; 关键工艺参数

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)20-6472-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.20.019

Optimization of extraction process for classical prescription Xiaochengqi Decoction based on Box-Behnken experimental design, standard relation and analytic hierarchy process combined with entropy method

ZHAO Yue-ying, WANG Chang-hai, ZHANG Ze-kang, ZHANG Qing, GUO Ming-xue, SUN Meng, XI Cheng, YANG Xue-ying, DONG Shuang, ZHANG Xin-yu, DU Shou-ying, LU Yang, BAI Jie
Beijing University of Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Beijing 102488, China

Abstract: Objective The extraction process of the classical prescription Xiaochengqi Decoction (小承气汤, XD) was optimized based on Box-Behnken experimental design, standard relation and analytic hierarchy process combined with entropy method. **Methods** With the contents of aloe emodin and chrysophanol, magnolol, synephrine as well as the paste-forming rate and fingerprint similarity as critical quality attributes (CQAs). The amount of water, extraction time and frequency were used as the critical process parameters (CPPs). The single factor experiment design was used to determine the level of each factor, and the Box-Behnken experimental design was used to optimize the extraction process. Finally, the standard relation between each samples and standard decoction of various indexes of different extraction parameters was calculated, while AHP-entropy method was applied to determine the weight of each index for comprehensive score. **Results** The results of variance analysis showed that the P value of the quadratic regression model was significant ($P < 0.01$), and the lack-of-fit value was not significant, indicating that the model was statistically significant. The relationship between various factors and the response values could be functionalized by the established

收稿日期: 2022-04-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82173989)

作者简介: 赵玥瑛 (1998—), 女, 硕士研究生, 从事中药新剂型开发与研究。Tel: 18197341874 E-mail: ll2820064026@163.com

*通信作者: 陆 洋, 男, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型新技术研究。Tel: (010)53912123 E-mail: landocean28@163.com

白 洁, 女, 副教授, 硕士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。Tel: (010)84738657 E-mail: baijie22811@163.com

models. Through further optimization of design space, the optimal extraction process of XD was 6-fold volume of water, extracted once and extracted for 30 min. The average comprehensive evaluation of three parallel verification tests was 95.37, RSD value was 2.31%, and meet the quality requirements of standard decoction. **Conclusion** The extraction process parameters of XD based on the quality by design (QbD), standard relation and analytic hierarchy process combined with entropy method was stable and reliable, which would provide guidance for the process development of other classical prescriptions.

Key words: quality by design; classical prescription; Xiaochengqi Decoction; Box-Behnken design-response surface method; standard relation; analytic hierarchy process-entropy weight method; aloe emodin; chrysophanol; magnolol; sinflin; fingerprint; critical quality attributes; critical process parameters

经典名方小承气汤 (Xiaochengqi Decoction) 出自《伤寒论》(东汉·张仲景), 被收载于《古代经典名方目录 (第一批)》^[1]。全方由大黄、厚朴、枳实 3 味药组成, 具有泻热通便、消胀除满的功效, 主治痞、满、实而不燥之阳明腑实证, 症见潮热、谵语、大便不通, 效果显著^[2]。现代应用主要集中在便秘^[3-6]、术后胃肠功能紊乱^[7-10]、和术后早期炎性肠梗阻^[11-12]。临床上热性感染性疾病中期, 如大叶性肺炎、流行性脑膜炎等出现便秘, 胸腹胀满, 高热谵语, 口渴, 舌苔老黄等实热症候时, 用小承气汤酌加清热解毒之品, 收效颇著^[13]。

经典名方中药复方制剂的开发需基于基准样品的质量标准, 应保证关键质量属性与基准样品的一致性。但由于工业化生产时提取方式、提取容器等的变化以及受成本、效率的影响, 提取时间可能发生较大改变, 导致中试产品和基准样品的质量不一致, 因此, 实现现代提取工艺与传统制法的质量一致性是经典名方研究的关键所在, 需统筹考虑提取工艺各因素对关键质量属性的影响。质量源于设计 (quality by design, QbD) 是一种系统的研发方法, 需要在可靠的科学和质量风险管理基础上, 预先定义好目标, 强调对产品和工艺的理解以及对工艺的控制^[14-15]。本研究采用基准关联度 (standard relation, SR) 来评价现代提取工艺下各样品与基准样品间质量的一致性, SR 值越接近 100%, 则该样品与基准样品越接近。层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP)-熵权法将主观赋权法和客观赋权法相结合, 用于确定不同测定指标的权重系数, 所得评价结果更加真实科学^[16]。本研究基于 QbD 理念筛选小承气汤的最优提取工艺参数。计算不同提取参数的各种评价指标下各样品与基准样品的基准关联度, 采用 AHP-熵权法确定各评价指标的权重系数, 进行综合评分, 结合 Box-Behnken 响应面法进行模型预测, 以保证在所筛选的提取工艺参数下制备的样品与基准样品保持质量一致, 确保

提取工艺的稳定可靠, 为小承气汤的后续开发和工业化生产夯实基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

WT3003 型电子天平, 杭州万特衡器有限公司; JM-B10002 型电子天平, 余姚市纪铭称重校验设备有限公司; BSA 224S 型电子分析天平、BT 125D 型电子分析天平, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司; HH-6 型电热恒温水浴锅, 北京科伟永兴仪器有限公司; DZF-6051 型真空干燥器, 北京利康达圣科技有限公司; BY-400C-1 型医用离心机、G20 型医用离心机, 北京白洋医疗器械有限公司; SHB-III 型循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; DHG-9140 A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; KQ5200DA 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; DZTW 型电子调温电热套 500 mL, 北京中仪泓瑞科技发展有限公司; MH-2000 可调式电热套 2000 mL、MH-3000 可调式电热套 3000 mL、MH-5000 可调式电热套 5000 mL, 北京科伟永兴仪器有限公司; Thermo Ultimate 3000 高效液相色谱仪, DAD 检测器, CM7.2 色谱工作站, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。

1.2 试剂

酒洗大黄饮片 (批号 1-21030301, 产地四川阿坝县)、姜厚朴饮片 (批号 1-20042001, 产地陕西城固县)、清炒枳实饮片 (批号 1-21030601, 产地湖南汉寿县), 均购自河北万岁药业有限公司, 分别经北京中医药大学中药鉴定系刘春生教授鉴定为蓼科大黄属植物药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根和根茎, 木兰科木兰属植物厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 的干燥干皮、根皮及枝皮和芸香科柑橘属植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥幼果的炮制加工品。

对照品芦荟大黄素 (批号 110795-202011, 质量分数 97.5%)、大黄酚 (批号 110796-201922, 质

量分数 99.4%)、厚朴酚(批号 110729-202015, 质量分数 99.0%)、辛弗林(批号 110727-202110, 质量分数 99.8%), 中国食品药品检定研究院。

乙腈、甲醇, 色谱级, 美国 Fisher 公司; 纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司; 甲酸, 色谱级, 天津市大茂化学试剂厂; 去离子水。

2 方法与结果

2.1 小承气汤提取液的制备^[17]

称取酒洗大黄 55.2 g、姜厚朴 27.6 g、清炒枳实 39.0 g, 加入一定倍量的去离子水, 加热回流提取, 用 1 层 300 目尼龙筛网滤过, 调整滤液体积至适宜体积即得小承气汤。

2.2 小承气汤指标成分的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芦荟大黄素对照品 3.63 mg、大黄酚对照品 5.59 mg、厚朴酚对照品 6.62 mg, 用甲醇充分溶解后转移至 25 mL 量瓶中; 精密称取辛弗林对照品 9.47 mg, 用甲醇充分溶解后转移至 25 mL 量瓶中; 分别加甲醇溶解定容至刻度, 配成质量浓度分别为 141.57、222.26、262.15、378.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品母液。再精密移取 1 mL 母液至 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解定容至刻度, 配成质量浓度分别为 5.66、8.89、10.49、15.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备^[17] 移取小承气汤提取液 3 mL 于 15 mL 离心管内, 加入 7 mL 甲醇, 摇匀后, 5000 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液 1。精密移取上述离心后的上清液 5 mL, 通过聚酰胺柱(60~90 目, 2.5 g, 内径 1.5 cm, 干法装柱), 用水 20 mL 洗脱, 收集洗脱液于 25 mL 量瓶内, 加水定容摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 得供试品溶液 2。

2.2.3 色谱条件^[17]

(1) 供试品溶液 1: 色谱柱为 Thermo Hypersil Gold C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 柱; 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液, 洗脱梯度: 0~10 min, 15% 乙腈; 10~30 min, 15%~20% 乙腈; 30~95 min, 20%~30% 乙腈; 95~135 min, 30%~60% 乙腈; 135~140 min, 60%~95% 乙腈; 体积流量 1 mL/min; 检测波长为 260 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积 20 μL 。

(2) 供试品溶液 2: 色谱柱为 Thermo Umisil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 柱; 流动相为甲醇-磷酸二氢钾溶液(取磷酸二氢钾 0.6 g, 十二烷基磺酸钠

1.0 g, 冰醋酸 1 mL, 加水溶解并稀释至 1000 mL), 等度洗脱: 0~20 min, 51% 甲醇; 体积流量为 1 mL/min; 检测波长为 275 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积 30 μL 。

2.3 出膏率的测定

将小承气汤提取液浓缩到相对密度 1.20~1.25, 再转移至已恒定质量的 250 mL 蒸发皿中, 水浴蒸干, 60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥 72 h, 即得小承气汤干膏粉, 计算出膏率(出膏率= m/M , m 为小承气汤干膏粉的质量, M 为全方饮片质量)。

2.4 指纹图谱的测定^[17]

2.4.1 供试品溶液的制备 同“2.2.2”项下供试品溶液 1 的制备方法。

2.4.2 色谱条件 同“2.2.3”项下供试品溶液 1 的色谱条件。

2.5 提取工艺研究

2.5.1 单因素考察

(1) 加水量: 称取全方饮片置于圆底烧瓶中, 分别加水 6、8、10、12、14、20 倍, 加热回流 1 h, 依法测定芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林含量及出膏率, 平行操作 3 份, 根据实验结果平均值确定加水倍量的低水平和高水平。由表 1 可知, 加 6~14 倍量水时, 各指标整体呈上升趋势, 超过 14 倍量水后趋于平稳, 故选加水量为 6 倍和 14 倍。

(2) 提取时间: 称取全方饮片置于圆底烧瓶中, 加水 8 倍, 分别回流提取 30、60、90、120、150 min, 依法测定芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林含量及出膏率, 平行操作 3 份, 根据实验结果平均值确定提取时间的低水平和高水平。由表 2 可知, 提取时间为 30~120 min 时, 除 90 min 的芦荟大黄素和大黄酚含量低于 60 min 外, 其他指标均呈上升趋势。

表 1 加水量对指标成分含量和出膏率的影响

Table 1 Effects of water addition on index component content and paste-forming rate

加水量/ 倍	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			出膏率/%
	芦荟大黄素 和大黄酚	厚朴酚	辛弗林	
6	0.11	0.09	0.34	14.55
8	0.16	0.12	0.36	16.18
10	0.20	0.15	0.44	17.66
12	0.20	0.19	0.48	18.41
14	0.25	0.20	0.48	18.37
20	0.25	0.25	0.51	18.64

表2 提取时间对指标成分含量和出膏率的影响
Table 2 Effects of extraction time on index component content and paste-forming rate

提取时间/min	质量分数/(mg·g ⁻¹)			出膏率/%
	芦荟大黄素和大黄酚	厚朴酚	辛弗林	
30	0.16	0.09	0.28	14.82
60	0.16	0.12	0.36	16.18
90	0.15	0.13	0.44	17.19
120	0.19	0.16	0.49	20.17
150	0.18	0.14	0.59	20.18

势, 超过 120 min 后, 芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚的含量下降, 辛弗林含量增加, 出膏率无明显变化, 故选提取时间为 30 min 和 120 min。

2.5.2 基准样品的制备 小承气汤出自东汉张仲景所著的《伤寒论》, 原文记载制法为“上三味, 以水四升, 煮取一升二合, 去滓, 分温二服”^[2]。综合古籍和实际生产要求, 确定全方的煎煮工艺为按处方量称取 3 味饮片于陶瓷锅中, 加 800 mL 去离子水, 武火 (1600 W) 煮沸转文火, 文火 (600 W) 煎煮约 47 min 至 240 mL, 用 1 层 300 目尼龙筛网过滤, 调整滤液体积至 240 mL, 得水煎液。

分别取 5 mL 水煎液于 25 mL 西林瓶中, 放入 -20 °C 冰箱中预冷冻 12 h 后, 置于 -80 °C 预冷 2 h 的冷冻干燥机, 冻干温度为 -80 °C, 真空度为 (5 ± 1) Pa, 干燥 72 h, 即得小承气汤基准样品^[17]。

2.5.3 Box-Behnken 试验

(1) 关键质量属性 (critical quality attributes, CQAs) 和关键工艺参数 (critical process parameters, CPPs) 的确定: 小承气汤主治阳明邪热与肠中糟粕互结但燥结不甚之证, 方中与此主治病症相关的药效成分为芦荟大黄素、大黄酚、厚朴酚和辛弗林^[18], 同时这 4 个成分分别归属不同药材, 可以全面控制小承气汤基准样品的质量, 故以 4 个指标性成分含量 (Y₁ 为芦荟大黄素和大黄酚含量, Y₂ 为厚朴酚含量, Y₃ 为辛弗林含量)、出膏率 (Y₄) 和指纹图谱相似度 (Y₅) 作为小承气汤制备工艺的 CQAs^[19-22]。基于经验和已发表文献, 选择提取时间 (X₁)、加水倍量 (X₂)、提取次数 (X₃) 作为小承气汤提取工艺的 CPPs^[23-25]。

(2) Box-Behnken 试验设计: 称取与基准样品相同处方量的同一批饮片, 通过单因素实验结果确定提取时间 (X₁) 和加水倍量 (X₂) 的范围, 依据

经验将提取次数 (X₃) 设计为 1、2、3 次, 因素水平见表 3。采用 Design Expert 10.0 软件, 进行 3 因素 3 水平 17 个试验点的设计, 其中 12 个析因点, 5 个中心点。

(3) 试验结果与响应面分析: Box-Behnken 试验设计及小承气汤样品检测结果见表 3。方差分析结果见表 4。2 次多项式模型优于交互 2 项式和 1 项式模型, 且总模型显著 (P < 0.001), 失拟值不显著, 表明所建模型有统计学意义, 各因素与响应值之间的关系可以用此模型函数化。多元线性回归方程为 Y = -106.58 - 47.64 X₁ - 66.13 X₂ - 120.69 X₃ - 16.00 X₁X₂ - 22.91 X₁X₃ - 25.73 X₂X₃ + 24.93 X₁² + 5.14 X₂² + 5.11 X₃², 模型 R_{adj}² 为 0.980 8, 表明方程的拟合度较好, R_{pred}² 为 0.893 5, 表明模型的预测性能良好, 因此, 可用此模型来预测各指标的实际情况。

2.6 基准关联度的原理方法

2.6.1 确定评价对象 基准关联度是评价某样品与基准样品相似度的关键参数, 本方法的基本路线如图 1 所示。应首先确定样品评价的指标数目 n 和样品数目 m。本实验将 Box-Behnken 设计的 17 个样品和基准样品进行对比, 以芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林的含量和出膏率以及指纹图谱相似度 5 个指标为评价指标, 以 X_{ij}、S_j 为评价对象, X_{ij} 表示 Box-Behnken 设计的第 i (i = 1, 2, ..., m) 个样品的第 j (j = 1, 2, ..., n) 个指标下的测量值, S_j 表示基准样品的第 j (j = 1, 2, ..., n) 个指标下的测量值。

2.6.2 计算相对偏差 (relative deviation, RD_{ij}) 值 RD_{ij} 表示第 i (i = 1, 2, ..., m) 个样品的第 j (j = 1, 2, ..., n) 个指标下的相对偏差, 能够更科学全面地分析不同样品与基准样品之间的相似度。RD_{ij} 值越小, 代表 X_{ij} 相对于 S_j 的偏差越小, 即该样品与基准样品相似度越高。利用公式 (1) 计算 X_{ij} 相对于 S_j 的 RD_{ij} 值, 计算结果见表 5。结果表明, 当以芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林含量以及指纹图谱相似度为评价指标时, 与基准样品质量最为接近的试验号是 5, 以出膏率为评价指标时, 与基准样品质量接近的试验号为 14。

$$RD_{ij} = |X_{ij} - S_j| / S_j \tag{1}$$

2.6.3 计算基准关联度 (standard relation, SR_{ij}) 以基准样品质量为标准值 (S), 以 Box-Behnken 试验设计下的各样品质量为测得值 (X), 以不同的指标

表3 Box-Behnken 实验设计与响应值
Table 3 Box-Behnken experimental design and response value

试验编号	X_1/min	$X_2/\text{倍}$	$X_3/\text{次}$	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			出膏率/%	指纹图谱相似度	综合评分
				Y_1	Y_2	Y_3			
1	75 (0)	14 (+1)	1 (-1)	0.22	0.24	0.75	18.65	0.976	-17.61
2	30 (-1)	10 (0)	3 (+1)	0.36	0.34	0.64	36.51	0.969	-123.42
3	75	10	2 (0)	0.29	0.33	0.87	29.26	0.976	-92.36
4	30	14	2	0.30	0.28	0.62	22.25	0.969	-66.21
5	75	6 (-1)	1	0.13	0.08	0.34	14.24	0.986	80.78
6	120 (+1)	14	2	0.37	0.49	1.05	35.15	0.964	-201.46
7	75	6	3	0.30	0.39	0.82	31.92	0.961	-123.58
8	120	10	3	0.44	0.55	0.99	39.18	0.946	-256.57
9	75	10	2	0.34	0.32	0.82	28.75	0.969	-106.30
10	75	14	3	0.44	0.71	0.86	36.12	0.979	-324.90
11	75	10	2	0.33	0.33	0.78	28.79	0.967	-106.20
12	120	6	2	0.26	0.28	0.68	29.27	0.969	-54.79
13	75	10	2	0.35	0.32	0.82	28.22	0.970	-109.97
14	30	10	1	0.17	0.13	0.51	14.19	0.965	57.67
15	75	10	2	0.29	0.39	0.86	26.73	0.964	-118.05
16	120	10	1	0.21	0.18	0.53	20.88	0.968	16.18
17	30	6	2	0.20	0.19	0.54	18.56	0.982	16.45
基准样品				0.11	0.10	0.34	11.13	1.000	

表4 Box-Behnken 实验设计方差分析
Table 4 Variance analysis of Box-Behnken

误差来源	模型 F 值		
	二次多项式模型	交互二项式模型	一项式模型
总模型	91.95***	65.02***	71.58***
X_1	84.22***	40.38***	22.98***
X_2	162.27***	77.80***	44.28***
X_3	540.45***	259.10***	147.49***
X_1X_2	4.75	2.28	
X_1X_3	9.74	4.67	
X_2X_3	12.28	5.89	
X_1^2	12.14		
X_2^2	0.52		
X_3^2	0.51		
失拟值	4.49	8.01	12.77
R_{adj}^2	0.980 8	0.960 0	0.929 7

*** $P < 0.001$

为评价指标,按公式(2)计算所得结果,称为基准关联度,结果见表6。 SR_{ij} 表示第*i*($i=1, 2, \dots, m$)个样本的第*j*($j=1, 2, \dots, n$)个指标下的基准关联度。 SR_{ij} 越接近100%,在该指标下的工艺参

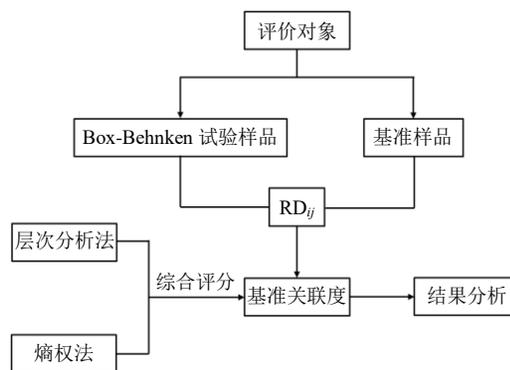


图1 方法流程图

Fig. 1 Flow chart of algorithm

数制得的样品与基准样品相似度越高。

$$SR_{ij} = 1 - RD_{ij} = 1 - |X_{ij} - S_j| / S_j \quad (2)$$

2.7 AHP-熵权法组合权重的计算

2.7.1 AHP 主观赋权

(1) 构建判断矩阵: 根据君臣佐使原则^[26], 小承气汤方中大黄为君药, 味苦寒, 主泻热祛实, 泻火解毒, 以荡涤胃肠实热; 厚朴味苦辛温, 温中行气, 除胀满, 为臣药; 枳实味苦微寒, 破气消积导滞, 以消痞实, 为佐使, 3药配合, 共奏泻热通便, 宽中行气之效^[13]。本研究参考《中药新药质量标准

表5 Box-Behnken 设计的 RD_{ij}
Table 5 RD_{ij} of Box-Behnken test

试验号	RD _{ij}					试验号	RD _{ij}					试验号	RD _{ij}				
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅		Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅		Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅
1	1.00	1.40	1.21	0.68	0.02	7	1.73	2.90	1.41	1.87	0.04	13	2.18	2.20	1.41	1.54	0.03
2	2.27	2.40	0.88	2.28	0.03	8	3.00	4.50	1.91	2.52	0.05	14	0.55	0.30	0.50	0.27	0.04
3	1.64	2.30	1.56	1.63	0.02	9	2.09	2.20	1.41	1.58	0.03	15	1.64	2.90	1.53	1.40	0.04
4	1.73	1.80	0.82	1.00	0.03	10	3.00	6.10	1.53	2.25	0.02	16	0.91	0.80	0.56	0.88	0.03
5	0.18	0.20	0.00	0.28	0.01	11	2.00	2.30	1.29	1.59	0.03	17	0.82	0.90	0.59	0.67	0.02
6	2.36	3.90	2.09	2.16	0.04	12	1.36	1.80	1.00	1.63	0.03						

表6 Box-Behnken 设计的 SR_{ij}
Table 6 SR_{ij} of Box-Behnken test

试验号	SR _{ij}					试验号	SR _{ij}				
	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅		Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅
1	0.00	-40.00	-20.59	32.43	97.60	10	-200.00	-510.00	-52.94	-124.53	97.90
2	-127.27	-140.00	11.76	-128.03	96.90	11	-100.00	-130.00	-29.41	-58.67	96.70
3	-63.64	-130.00	-55.88	-62.89	97.60	12	-36.36	-80.00	0.00	-62.98	96.90
4	-72.73	-80.00	17.65	0.09	96.90	13	-118.18	-120.00	-41.18	-53.55	97.00
5	81.82	80.00	100.00	72.06	98.60	14	45.45	70.00	50.00	72.51	96.50
6	-136.36	-290.00	-108.82	-115.81	96.40	15	-63.64	-190.00	-52.94	-40.16	96.40
7	-72.73	-190.00	-41.18	-86.79	96.10	16	9.09	20.00	44.12	12.40	96.80
8	-200.00	-350.00	-91.18	-152.02	94.60	17	18.18	10.00	41.18	33.24	98.20
9	-109.09	-120.00	-41.18	-58.31	96.90						

研究技术指导原则（试行）》要求^[27]，根据小承气汤的处方组成，首选君药中的有效成分为含量测定指标，兼顾与制备工艺、稳定性的相关性，确定以大黄中的芦荟大黄素和大黄酚（Y₁）、厚朴的厚朴酚（Y₂）、枳实的辛弗林（Y₃）作为质量控制指标，同时辅以出膏率（Y₄）和指纹图谱相似度（Y₅）。指纹图谱可反映小分子成分轮廓和定性特质，但与含量测定的指标性成分相比，其所包含的质量信息仍较少^[28]，故将其重要程度视为与出膏率同等重要。故按芦荟大黄素和大黄酚>厚朴酚>辛弗林>出膏率~指纹图谱相似度的顺序，再根据 AHP 理论判断矩阵 1~9 标度法，按同一层次内 n 个指标的相对重要程度进行打分（表 7）。芦荟大黄素和大黄酚为君药的主要药效成分，相对于厚朴中的厚朴酚较明显重要，故标为 4，相对于枳实中的辛弗林明显重要，标为 5，相对于出膏率和指纹图谱相似度明显更为重要，标为 6，以此类推，根据公式（3）构建判断矩阵 A，数据见表 8，用 a_{ef}表示因素 e 相对于因素 f 的比较结果。

$$A=(a_{ef})_{n \times n} = \begin{vmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{vmatrix} \quad (3)$$

表7 AHP 构建判断矩阵的标准^[16]

Table 7 Criterion of constructing judgment matrix of AHP^[16]

标度	含义
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}

（2）计算权重：首先对判断矩阵 A 进行几何平均（方根法），按公式（4）计算得到初始权重系数 W_j'，a_{jn} 表示第 j（j=1, 2, …, n）个指标因素对

表 8 指标成对比较的判断优先矩阵

Table 8 Decision matrix of paired comparison on indexes

评价指标	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅
Y ₁	1	4	5	6	6
Y ₂	1/4	1	3	4	4
Y ₃	1/5	1/3	1	2	2
Y ₄	1/6	1/4	1/2	1	1
Y ₅	1/6	1/4	1/2	1	1

第 n ($n=1, 2, \dots, j$) 个指标因素的比较结果, 然后按照公式 (5) 计算归一化权重系数 (主观权重系数, W_j^S), 得到 5 个指标的 W_j^S , 结果见表 9。

$$W_j^S = (a_{j1}a_{j2}\dots a_{jn})^{1/n} \quad (4)$$

表 9 组合权重系数

Table 9 Combination weight coefficient

评价指标	W_j^S	W_j^O	W_j
Y ₁	0.53	0.20	0.43
Y ₂	0.23	0.47	0.45
Y ₃	0.11	0.14	0.06
Y ₄	0.07	0.18	0.05
Y ₅	0.07	0.00	0.00

$$W_j^S = W_j^O / \sum_{j=1}^n W_j^O \quad (5)$$

(3) 一致性检验: 对矩阵进行一致性检验。首先根据公式 (6) 计算最大特征根 λ_{\max} , 再根据公式 (7) 计算一致性指标 (consistency index, CI), 得到 CI 为 0.04, 一致性比例 (consistency ratio, CR) ($CR=CI/RI$, RI 为自由度指标) 为 0.03, 均小于 0.1, 表明该矩阵具有一致性^[16]。

$$\lambda_{\max} = \sum_{j=1}^n \left(\sum_{i=1}^n a_{ij} W_j^O / W_j^O \right) / n \quad (6)$$

$$CI = (\lambda_{\max} - n) / (n - 1) \quad (7)$$

2.7.2 信息熵客观赋权

(1) 建立 Box-Behnken 试验原始数据矩阵: 现有 m 个样本, n 个评价指标, 原始数据矩阵 $R = (X_{ij})_{m \times n}$, 以芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林含量, 出膏率及指纹图谱相似度 5 个指标为评价指标, 建立原始数据矩阵 R 。

(2) 将原始数据转化为概率矩阵: 根据公式 (8) 将原始数据矩阵 R 转化为概率矩阵 P , P_{ij} 表示在第 j 个指标下第 i 个样本的概率。

$$P_{ij} = X_{ij} / \sum_{i=1}^m X_{ij} \quad (8)$$

(3) 计算各指标的信息熵和权重系数: 信息熵 (H_j) 越小, 代表 j 指标下的数据离散程度较高, 则其所提供的信息量就越大^[16]。根据公式 (9) 计算出各指标的 H_j , 依次为 0.984 4、0.963 0、0.988 8、0.985 7、1.000 0, 按照公式 (10) 计算各指标客观权重系数 (W_j^O)。

$$H_j = -k \sum_{i=1}^m P_{ij} \ln P_{ij}, \quad k = 1 / \ln m \quad (9)$$

$$W_j^O = (1 - H_j) / \sum_{j=1}^n (1 - H_j) \quad (10)$$

2.7.3 组合权重的确定 采用 AHP 得到 W_j^S , 熵权法得到 W_j^O , 根据公式 (11) 计算各指标组合权重系数 (W_j), 结果见表 9。

$$W_j = W_j^S W_j^O / \sum_{j=1}^n W_j^S W_j^O \quad (11)$$

2.8 综合评分

通过 AHP-熵权法得到的综合权重系数可知, 芦荟大黄素和大黄酚指标占比 43%, 厚朴酚占比 45%, 辛弗林占比 6%, 出膏率占比 5%, 因此根据公式 (12) 计算综合评分, 结果见表 3。综合评分为 100 时, 所对应工艺参数下制得的样品与基准样品的质量最为一致。Box-Behnken 模型预测的最佳工艺为加水 6 倍量, 提取时间 30 min, 提取 1 次。

$$\text{综合评分} = SR_{i,Y_1} \times 0.43 + SR_{i,Y_2} \times 0.45 + SR_{i,Y_3} \times 0.06 + SR_{i,Y_4} \times 0.05 \quad (12)$$

2.9 验证试验

对优化后的提取工艺参数进行验证, 重复试验 3 次, 测定芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林含量, 出膏率及指纹图谱相似度, 计算综合评分, 结果见表 10。验证试验的综合评分均值为 95.37 (理论预测值为 98.41), 在课题组前期研究建立的小承气汤基准样品质控标准范围内 (芦荟大黄素和大黄酚总质量分数 0.11~0.20 mg/g, 厚朴酚质量分数 0.08~0.15 mg/g, 辛弗林质量分数 0.23~0.40 mg/g;

表 10 验证试验结果

Table 10 Validation of experimental results

试验编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)			Y ₄ /%	Y ₅	综合评分	RSD/%
	Y ₁	Y ₂	Y ₃				
1	0.12	0.10	0.34	13.30	0.985	94.12	2.31
2	0.11	0.10	0.34	13.55	0.989	97.91	
3	0.12	0.10	0.34	13.40	0.986	94.07	
基准样品	0.11	0.10	0.34	11.13	1.000		

出膏率 9.25%~11.25%；指纹图谱与对照图谱相似度 >0.9)^[17]，且综合评分的 RSD 值为 2.31%，表明本方法建立的数学模型具有良好的预测性，所确定的提取工艺条件重复性高。

3 讨论

在确定了处方、制法、用法等关键信息后，严格按照传统工艺制得的基准样品质量是衡量经典名方小承气汤中试产品及商业化规模产品质量的标准。古籍记载小承气汤以水为提取溶剂，最终根据药液量来确定煎煮时间，与回流提取的实际工业生产情况不符。因此本研究对加水量、提取时间、提取次数进行深入考察，以基准样品的质控标准为指标来对提取工艺进行整体评价，确定与传统工艺基本一致的小承气汤现代提取工艺参数。

本研究基于 QbD 理念，以现行标准规范为参照，衔接古籍记载和现行规范，建立了以芦荟大黄素和大黄酚、厚朴酚、辛弗林、出膏率和指纹图谱相似度为主的质量控制体系，确定以加水倍量、提取时间、提取次数作为关键工艺参数，采用单因素实验确定各因素水平，进一步应用 Box-Behnken 设计优化经典名方小承气汤提取工艺。AHP 是人为确定各个评价指标的权重系数，受主观影响较大；熵权法根据数据的变化规律判断评价指标的重要程度，但不能体现方剂各药味君臣佐使的配伍关系。本研究结合基准关联度和 AHP-熵权法对质量评价体系进行赋权，明确 5 个指标在质量控制体系中的权重系数，即可通过综合评分及模型预测确定与基准样品质量最为接近的提取工艺参数，所得数据更加科学全面。

基于 QbD 理念结合基准关联度和 AHP-熵权法优化得到的小承气汤提取工艺参数稳健可靠，符合经典名方“传承精华、古为今用、古今衔接”的基本研究原则，实现了其由古方向现代工业化生产转化的关键一步，为其它经典名方的现代提取工艺研究提供了理论参考，同时也为目前工业生产中如何保证中间体或制剂与基准样品间的一致性提供了评价方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 国家中医药管理局. 国家中医药管理局关于发布《古代经典名方目录(第一批)》的通知 [EB/OL]. [2018-04-13]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.

- [2] 姜建国. 伤寒论 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2004: 131, 189.
- [3] 胡时友. 小承气汤配合中药穴位贴敷治疗中风后便秘的临床效果 [J]. 中外医学研究, 2018, 16(2): 139-141.
- [4] 李梅, 欧阳群, 吴小宇. 小承气汤和厚朴三物汤药理作用与临床应用探析 [J]. 亚太传统医药, 2015, 11(12): 111-112.
- [5] 沈亚红, 童树洪. 小承气汤与厚朴三物汤的药理作用分析和临床应用比较 [J]. 中国药业, 2013, 22(6): 122-123.
- [6] 张红, 陈孟溪. 小承气汤治疗癌痛镇痛药胃肠副作用 40 例 [J]. 新中医, 1996, 28(2): 52.
- [7] 张良清, 高海鸿, 冯时侯, 等. 胃肠手术前后应用小承气汤对康复的影响 [J]. 广西医学, 2013, 35(2): 184-186.
- [8] 蒋旭华. 小承气汤口服加穴位按摩促进腹部术后肠蠕动恢复的临床护理 [J]. 中国医学工程, 2011, 19(5): 87-88.
- [9] 姜玉芳. 小承气汤预防术后病人肠胀气的临床观察 [J]. 护理研究, 2003, 17(15): 908-909.
- [10] 龙期伯, 徐晋. 小承气汤保留灌肠防治胃切除术后残留排空延迟症 176 例 [J]. 南京中医药大学学报, 1997, 13(3): 15-16.
- [11] 王素利, 王存志. 中西医结合治疗术后早期炎性肠梗阻疗效观察 [J]. 中国中医急症, 2014, 23(4): 731-732.
- [12] 连爱霞. 小承气汤保留灌肠辅助治疗术后早期炎性肠梗阻的疗效观察 [J]. 中国中医急症, 2013, 22(12): 2128-2129.
- [13] 陈潮祖, 李大琦. 中医方剂与治法 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1984: 72.
- [14] 陈泽麒, 赵芳, 袁玮, 等. 基于质量源于设计 (QbD) 理念研究参麦注射液醇提水沉工艺 [J]. 中草药, 2020, 51(17): 4433-4441.
- [15] 戴胜云, 徐冰, 史新元, 等. 中药质量源于设计方法和应用: 产品和工艺设计 [J]. 世界中医药, 2018, 13(3): 550-555.
- [16] 代珊, 李帅, 张爱军, 等. 基于基准关联度和 AHP-熵权法综合评价经典名方小续命汤古今提取工艺 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 726-734.
- [17] 齐琪, 赵玥瑛, 张晴, 等. 经典名方小承气汤的物质基准量值传递研究 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2927-2937.
- [18] 谢臻. 大承气汤方药物质基础及其配伍规律研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2009.
- [19] 王琦, 盛增秀. 经方应用 [M]. 银川: 宁夏人民出版社, 1981: 263.
- [20] 张植轩. 小承气汤证探究 [J]. 北京中医, 1994(4): 46-47.
- [21] 罗思妮, 彭致铨, 范倩, 等. 经典名方小承气汤中化学

- 成分的 UPLC-Q-Orbitrap-MS 分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(23): 1-10.
- [22] 施理画. Box-Behnken 响应面法用于小承气汤的煎煮工艺优化 [J]. 中国药师, 2018, 21(5): 813-817.
- [23] 陈泽麒, 谢欣媛, 陈思铭, 等. 基于数据驱动和机制模型的丹参提取动力学研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 51-59.
- [24] 黄兴国, 张静, 杜文慧, 等. QbD 理念的经典名方研究: 四物汤加减方的提取工艺优化研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(20): 4329-4335.
- [25] 杨艳玲, 李花花, 黄嘉怡, 等. 基于质量源于设计 (QbD) 理念的经典名方桃红四物汤的提取工艺研究 [J]. 中草药, 2022, 53(2): 403-412.
- [26] 李锐华, 孙增涛, 王永香, 等. 运用 AHP 结合熵权法优化疏风定喘颗粒炙麻黄组的醇沉工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 1-5.
- [27] 国家药品监督管理局药品审评中心. 中药新药质量标准研究技术指导原则 (试行) [EB/OL]. (2020-10-12) [2021-11-04]. <https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=b30261779e4848579b15cf34608a06e7.html>.
- [28] 王智民, 刘菊妍, 王德勤, 等. 关于经典名方研发的一些重要关键信息和科学问题的几点看法 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(1): 212-217.

[责任编辑 郑礼胜]