· 药剂与工艺 ·

基于正交试验结合基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方黄连汤提取工艺

王晓丽[1]，沈哲苑[1]，李丽萍[1]，梅　茜[1]，何天雨[1]，赵晓莉[1]，毛　靖[1]，侯金才[2]，郭　勇[2]，毛春芹[1]，崔恩忠[1,3*]，陆兔林[1*]

1. 南京中医药大学药学院，江苏 南京　210023
2. 神威药业集团有限公司，河北 石家庄　051430
3. 东部战区总医院 药剂科，江苏 南京　210002

摘　要：目的　应用正交试验设计，结合基准关联度和层次分析法-熵权法优化经典名方黄连汤的提取工艺。**方法**　以黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸、指纹图谱相似度及干膏率为关键质量属性，以加水量、浸泡时间、提取时间为关键工艺参数，采用单因素确定各因素水平，正交试验设计优化工艺参数。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-熵权法确定各评价指标的综合权重系数，进行综合评分。**结果**　正交试验设计联用基准关联度和 AHP-熵权法建立的工艺评价函数模型为综合评分＝相对偏差（relative deviation，SR）$_{i,\text{黄连碱}}$×30%＋SR$_{i,\text{巴马汀}}$×24%＋SR$_{i,\text{小檗碱}}$×28%＋SR$_{i,\text{6-姜辣素}}$×5%＋SR$_{i,\text{甘草苷}}$×5%＋SR$_{i,\text{甘草酸}}$×6%＋SR$_{i,\text{干膏率}}$×2%，该模型稳定可靠，确定提取工艺为全方饮片加 6 倍量水，浸泡 60 min，煎煮 45 min。验证实验综合评分均值为 90.11，RSD 为 1.09%，符合基准样品的要求，且方法具有适用性。**结论**　筛选的黄连汤现代提取工艺参数具有可行性，可为其他经典名方的开发利用提供理论依据。

关键词：经典名方；黄连汤；提取工艺；基准关联度；层次分析法；正交设计；信息熵权法；质量源于设计；关键质量属性；关键工艺参数；黄连碱；巴马汀；小檗碱；6-姜辣素；甘草苷；甘草酸；指纹图谱

中图分类号：R283.6　　　**文献标志码**：A　　　**文章编号**：0253 - 2670(2023)15 - 4804 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.15.005

Optimization of extraction process for classical prescription Huanglian Decoction based orthogonal test, standard relation and analytic hierarchy process combined with entropy method

WANG Xiao-li[1], SHEN Zhe-yuan[1], LI Li-ping[1], MEI Xi[1], HE Tian-yu[1], ZHAO Xiao-li[1], MAO Jing[1], HOU Jin-cai[1], GUO Yong[2], MAO Chun-qin[1], CUI En-zhong[1, 3], LU Tu-lin[1]

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. Shenwei Pharmaceutical Group Co., Ltd., Shijiazhuang 051430, China
3. Department of Pharmaceutical Preparation, General Hospital of Easter Theater Command, Nanjing 210002, China

Abstract: Objective　The extraction process of the classical prescription Huanglian Decoction (黄连汤) was optimized based on orthogonal test, standard relation and analytic hierarchy process combined with entropy method. **Methods**　With the contents of coptisine, palmatine, berberine, 6-gingerol, liquiritin, glycyrrhizic acid, fingerprint similarity, paste-forming rate as critical quality attributes (CQAs). The amount of water, soaking time and extraction time were used as the critical process parameters (CPPs). The single factor experiment design was used to determine the level of each factor, and the orthogonal test was used to optimize the process parameters. 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**　A process evaluation function model was established by using orthogonal test combined with standard relation and AHP-entropy method

收稿日期：2022-12-21

基金项目：国家重点研发计划项目（2018YFC1707000）；江苏省研究生科研创新计划项目（KYCX23-2027）

作者简介：王晓丽，硕士研究生，主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。E-mail: 2667631348@qq.com

***通信作者**：陆兔林，教授，博士生导师，主要从事中药炮制及中药饮片质量标准研究。E-mail: ltl2021@njucm.edu.cn

崔恩忠，高级工程师。Tel: 15952001774

as follow: comprehensive score = $SR_{i,\text{coptisine}} \times 30\% + SR_{i,\text{palmatine}} \times 24\% + SR_{i,\text{berberine}} \times 28\% + SR_{i,\text{6-gingerol}} \times 5\% + SR_{i,\text{liquiritin}} \times 5\% + SR_{i,\text{glycyrrhizic acid}} \times 6\% + SR_{i,\text{paste-forming rate}} \times 2\%$. The function model was stable and reliable. The extraction process was to add six times of water to the whole decoction pieces, soak for 60 min and extract for 45 min. The average score of the validation test was 90.11, and the RSD was 1.09%, which met the requirements of the reference material standard, and the method was applicable. **Conclusion** The modern extraction parameters of Huanglian Decoction screened by this method were feasible, which provided a theoretical basis for the development and utilization of other classic prescriptions.

Key words: classical prescription; Huanglian Decoction; extraction process; standard relation; analytic hierarchy process; orthogonal design; information entropy method; quality by design; critical quality attributes; critical process parameters; coptisine; palmatine; berberine; 6-gingerol; liquiritin; glycyrrhizic acid; fingerprint

经典名方黄连汤（Huanglian 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]。全方由黄连、甘草（炙）、干姜、桂枝（去皮）、人参、半夏（洗）、大枣（擘）7 味药组成，主治伤寒胸中有热，胃中有邪气，腹中痛，欲呕吐者[2]。现代黄连汤及其加减方常用于治疗胃肠疾病、妇科疾病及其他疾病，效果显著[3-4]。经典名方制剂研发是近年来中药新药研发热点。根据国家药品监督管理局发布《古代经典名方关键信息表（25 首方剂）（征求意见稿）》[5]、《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）》[6]（简称《原则》），制剂研究应以制剂质量与基准样品质量基本一致为目标。但在现代大生产中，中试产品的质量易受提取方式、提取容器等众多因素的影响，难以实现现代提取工艺与传统制法的质量一致性。质量标志物（quality marker，Q-Marker）最早于 2016 年由刘昌孝院士[7]提出，通过风险评估、试验设计等手段确定生产工艺的关键质量属性、关键物料属性与关键工艺参数间的关系模型，提高工艺稳健性和产品质量可控性[8-9]。基准关联度（standard relation，SR）可评价现代提取工艺下各样品与基准样品间质量的一致性，进而确定与传统工艺最接近的现代工艺。层次分析法（analytic hierarchy process，AHP）-熵权法可确定各个测定指标的权重系数，将主观赋权法和客观赋权法结合，实现主客观内在统一[10]，使筛选出的现代提取工艺参数更加科学可信。本研究基于质量源于设计（quality by design，QbD）理念，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，结合 AHP-熵权法对方中君臣佐使分别主观赋权，确定各评价指标的权重系数，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，确保提取工艺稳定可靠，为黄连汤的后续中试工艺和工业化生产提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪，配备四元泵、柱温箱、自动进样器、2998 检测器、Empower3 色谱工作站，美国 Waters 公司；Milli-Q 型超纯水机，美国 Millipore 公司；FA1104 型电子分析天平，d＝0.1 mg，上海精密科学仪器有限公司；MS105DU 型电子分析天平，d＝0.01 mg，瑞士梅特勒-托利多公司；KQ-500E 型超声波清洗器，昆山超声仪器有限公司；DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱，上海精宏实验设备有限公司；AE-1106A 型多功能红外炉，中山市爱米生活电器有限公司。

1.2 试药

对照品盐酸小檗碱（批号 110713-201814，质量分数 86.7%）、盐酸巴马汀（批号 110732-201611，质量分数 86.8%）、盐酸黄连碱（批号 112026-201601，质量分数 95.1%）、甘草苷（批号 111610-201607，质量分数 93.1%）、甘草酸铵（批号 110731-201720，质量分数 97.7%）、6-姜辣素（批号 111833-201806，质量分数 99.9%）均购自中国食品药品检定研究院。磷酸二氢钾，色谱级，上海阿拉丁生化科技有限公司；乙腈，色谱级，默克股份两合公司；甲醇，色谱级，江苏汉邦科技有限公司；磷酸，色谱级，上海阿拉丁生化科技有限公司；其他试剂为分析级。黄连（批号 22041211）、干姜（批号 22041811）、水炙甘草（批号 22041311）、桂枝（批号 22041511）、人参（批号 22041711）、汤洗半夏（批号 22042011）、大枣（批号 22041711）均由神威药业集团有限公司提供，均经过南京中医药大学药学院陈建伟教授鉴定，黄连为毛茛科黄连属植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.的干燥根茎、干姜为姜科姜属植物姜 *Zingiber officinale* Rosc.的干燥根茎、水炙甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎、桂枝为樟科樟属植物肉桂

Cinnamomum cassia Presl 的干燥嫩枝、人参为五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey.的干燥根和根茎、汤洗半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* Breit.的干燥块茎、大枣为鼠李科枣属植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill.的干燥成熟果实，均符合《中国药典》2020 年版[11]饮片标准。

2 方法与结果

2.1 基准样品的制备

对黄连汤煎煮工艺进行研究，确定最佳工艺：称取黄连 41.40 g，甘草（水炙）41.40 g，干姜 41.40 g，桂枝 41.40 g，人参 27.60 g，半夏（汤洗）60.00 g，大枣 42.00 g 于砂锅中，加 2000 mL 水，浸泡 60 min，以武火（2200 W）煮沸后，调节火力至文火（900 W）保持微沸，煎煮约 60 min 后，趁热滤过，滤液放凉后加水调整体积至 1200 mL，即得黄连汤基准样品。

2.2 干膏率的测定

精密量取黄连汤基准样品 10 mL 于恒定质量后的蒸发皿中，水浴蒸干后，105 ℃干燥 3 h，记录质量，计算干膏率。

干膏率＝m/M

m 为黄连汤汤干膏粉的质量，M 为全方饮片质量

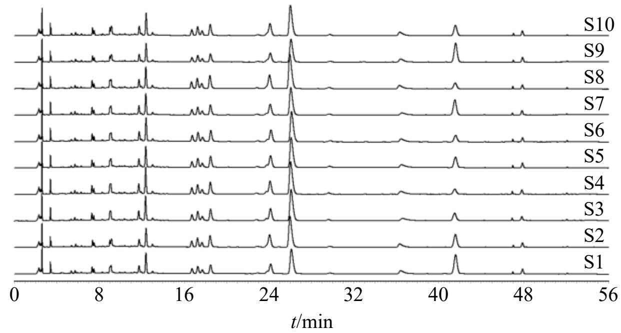
2.3 指纹图谱的测定[16]

2.3.1 色谱条件 Merck Purospher Star LP RP-$_{18}$ endcapped 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-水（含 0.05 mol/L 磷酸二氢钾，磷酸调节 pH 3.0）；梯度洗脱：0～7 min，10%～22%乙腈；7～19 min，22%～23.5%乙腈；19～28 min，23.5%～24%乙腈；28～42 min，24%～35%乙腈；42～52 min，35%～63%乙腈；52～54 min，63%～10%乙腈；54～56 min，10%乙腈；体积流量 1 mL/min；检测波长 280 nm；柱温 25 ℃；进样体积 10 μL。

2.3.2 方法学考察[16] 参考本课题组前期研究基础进行，结果均满足分析要求。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密量取黄连汤基准样品及正交水提液 2 mL 置 10 mL 量瓶中，加入甲醇 7 mL，再加水至刻度，使甲醇体积分数为 70%，称定质量，超声处理 30 min，放冷，用 70%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.3.4 指纹图谱的建立及其相似度分析 分别取“2.3.3”项下方法制得基准样品供试品溶液及正交水提液供试品溶液，按“2.3.1”项下色谱条件进样，测定指纹图谱。将色谱结果以 cdf.的格式导入 2012 年版《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》进行评价。以基准样品的指纹图谱为参照图谱，时间窗宽度为 0.1 s，采用中位数法，进行全谱峰匹配，计算相似度。图谱见图 1。

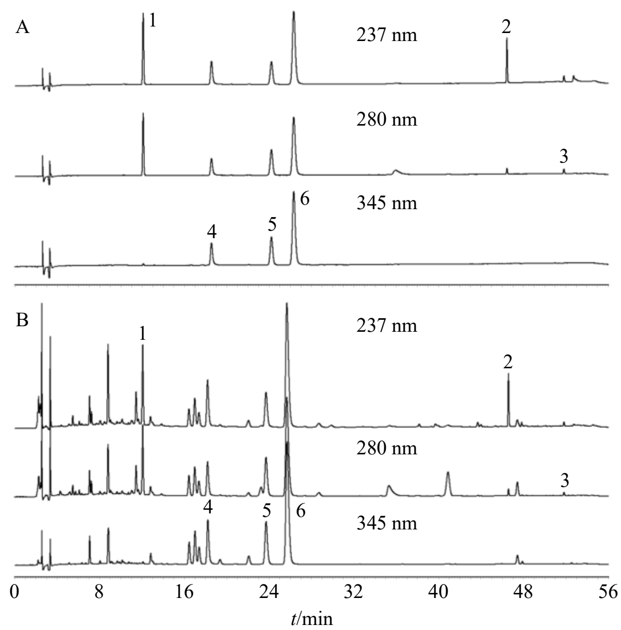


S1-基准样品的指纹图谱 S2～S10-正交试验 1～9 号样品的指纹图谱
S1-fingerprint of reference sample S2—S10-fingerprint of sample No. 1—9 of orthogonal experiment

图 1 黄连汤基准样品及正交样品的指纹图谱
Fig. 1 Fingerprint of Huanglian Decoction reference sample and orthogonal sample

2.4 指标成分的含量测定[17]

2.4.1 色谱条件 检测波长 237、280、345 nm，色谱柱等其余条件与“2.3.1”项下一致。典型色谱图见图 2。



1-甘草苷 2-甘草酸 3-6-姜辣素 4-黄连碱 5-巴马汀 6-小檗碱
1-liquiritin 2-glycyrrhizic acid 3-6-gingerol 4-coptisine 5-palmatine 6-berberine

图 2 混合对照品 (A) 和黄连汤基准样品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 2 HPLC of mixed reference substances (A) and Huanglian Decoction reference samples (B)

2.4.2 方法学考察[17] 参考本课题组前期研究基础进行，结果均满足分析要求。

2.4.3 对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量，加入甲醇配制成分别含盐酸小檗碱 483.92 μg/mL、盐酸黄连碱 103.83 μg/mL、盐酸巴马汀 124.66 μg/mL、甘草苷 292.80 μg/mL、甘草酸单铵盐 493.61 μg/mL、6-姜辣素 58.98 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.4.4 供试品溶液的制备 同“2.3.3”项下供试品溶液的制备方法。

2.5 黄连汤基准样品干膏率及指标成分的测定

取制得的基准样品，按“2.2”～“2.4”项下方法，平行制备 2 份供试品溶液，测定黄连汤基准样品的干膏率及各指标成分含量，算取平均值。

2.6 单因素考察

2.6.1 加水量考察 依次称取处方量的饮片于 5 L 圆底烧瓶中，分别加入 4、6、8、10、12 倍处方量的去离子水进行回流提取，分别浸泡 60 min，提取 60 min。按“2.3.3”项下方法平行制备 2 份供试品溶液，测定水提液中黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸及干膏率，算取平均值，结果见表 1。随着加水量增加，黄连碱、巴马汀、小檗碱、甘草苷、甘草酸含量及干膏率呈上升趋势，超过 10 倍水后，6-姜辣素含量下降。结合随性物质基准考察指标，加水量的低水平及高水平分别为 6 倍量水和 10 倍量水。

2.6.2 浸泡时间考察 依次称取处方量的饮片于 5 L 圆底烧瓶中，加入 8 倍处方量的去离子水进行回流提取，分别浸泡 20、40、60、80 min，提取 60 min。按“2.3.3”项下方法平行制备 2 份供试品溶液，测定水提液中黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸及干膏率，算取平均值，结果见表 2。随着浸泡时间增加，黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素的含量呈缓慢上升趋势，超过 60 min 后，甘草苷、甘草酸含量略有下降，干膏率无明显变化。因此，浸泡时间的低水平及高水平分别为 20、60 min。

表 1 加水量考察结果

Table 1 Results of water addition

加水量	质量分数/(mg·g−1)						出膏
(倍数)	黄连碱	巴马汀	小檗碱	6-姜辣素	甘草苷	甘草酸	率/%
4	1.67	1.18	5.13	0.22	2.63	4.35	10.05
6	1.83	1.65	5.73	0.57	3.60	5.63	13.33
8	2.74	2.38	8.46	0.84	4.52	7.42	15.96
10	2.72	2.51	8.81	0.93	4.96	9.15	16.23
12	3.91	3.09	14.25	0.67	5.54	10.38	17.39

表 2 浸泡时间考察结果

Table 2 Results of soaking time

浸泡时	质量分数/(mg·g−1)						出膏
间/min	黄连碱	巴马汀	小檗碱	6-姜辣素	甘草苷	甘草酸	率/%
20	2.86	2.68	12.19	0.52	5.07	8.72	14.98
40	2.84	2.67	11.71	0.53	5.66	10.18	15.05
60	3.14	2.92	13.33	0.54	6.17	10.81	15.00
80	3.22	3.10	13.83	0.58	5.73	9.60	14.86

2.6.3 提取时间考察 依次称取处方量的饮片于 5 L 圆底烧瓶中，加入 8 倍处方量的去离子水进行回流提取，浸泡 60 min，分别提取 30、40、50、60 min。按“2.3.3”项下方法平行制备 2 份供试品溶液，测定水提液中黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸及干膏率，算取平均值，结果见表 3。随着提取时间增加，黄连碱、巴马汀、小檗碱的含量和干膏率呈上升趋势，6-姜辣素的含量无明显趋势，提取时间超过 50 min 后，甘草苷上升缓慢且甘草酸含量下降。结合物质基准的各项指标，由此确定提取时间的低水平及高水平分别为 30、60 min。

表 3 提取时间考察

Table 3 Results of extraction time

提取时	质量分数/(mg·g−1)						出膏
间/min	黄连碱	巴马汀	小檗碱	6-姜辣素	甘草苷	甘草酸	率/%
30	2.98	2.12	8.30	0.52	4.22	7.64	13.22
40	3.07	2.17	8.75	0.51	4.29	7.65	15.02
50	3.20	2.29	9.13	0.52	4.32	7.67	15.99
60	3.41	2.48	9.76	0.51	4.33	7.08	16.68

2.7 提取正交试验

（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：基于前期研究，物质基准初步预测黄连碱、巴马汀、小檗碱、甘草苷、甘草酸、桂皮醛、6-姜辣素为黄连汤潜在的质量标志物（Q-Marker）[16]。由于桂皮醛在制剂中的浓缩、干燥阶段损耗较大，故先提取桂枝挥发油，后用 β-环糊精进行包合，在制粒环节加入颗粒中。因此，在提取正交试验中，选择 6 个指标成分含量（黄连碱、巴马汀、小檗碱、甘草苷、甘草酸、6-姜辣素）、干膏率及指纹图谱相似度作为黄连汤提取工艺的 CQAs。结合文献分析，选择料液比（A）、浸泡时间（B）、提取时间（C）

3 个因素作为黄连汤制剂工艺的 CPPs。

（2）正交试验设计：称取与传统工艺相同处方量的同一批的药材饮片，共 9 份，以料液比（A）、浸泡时间（B）、提取时间（C）3 个因素为考察对象，以提取物中黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸含量，指纹图谱相似度以及干膏率为评价指标，按 $L_9(3^4)$正交表进行提取，检测结果见表 4。

表 4　正交试验设计与响应值

Table 4　Orthogonal test design and response value

实验号	A/	B/	C/	D	质量分数/(mg·g^{-1})						指纹图谱	干膏率/	综合
	倍数	min	min	(空白)	黄连碱	巴马汀	小檗碱	甘草苷	甘草酸	6-姜辣素	相似度	%	评分
1	1∶6 (1)	20 (1)	30 (1)	(1)	3.07	2.72	12.44	4.54	7.95	0.64	0.979	13.41	63.23
2	1∶8 (2)	20 (1)	45 (2)	(2)	3.18	2.81	13.04	6.10	10.58	0.76	0.949	15.17	52.81
3	1∶10 (3)	20 (1)	60 (3)	(3)	3.23	2.94	13.36	6.38	11.20	0.73	0.931	17.52	48.56
4	1∶8 (2)	40 (2)	30 (1)	(3)	3.00	2.66	12.04	5.13	9.27	0.63	0.986	13.61	64.35
5	1∶10 (3)	40 (2)	45 (2)	(1)	3.03	2.70	12.27	5.78	10.57	0.75	0.964	16.49	58.92
6	1∶6 (1)	40 (2)	60 (3)	(2)	2.39	2.22	9.87	5.06	7.99	0.64	0.987	15.06	85.84
7	1∶10 (3)	60 (3)	30 (1)	(2)	3.50	3.06	14.02	5.27	9.97	0.75	0.946	16.11	43.77
8	1∶6 (1)	60 (3)	45 (2)	(3)	2.23	2.06	9.19	4.47	7.92	0.62	0.979	14.15	93.29
9	1∶8 (2)	60 (3)	60 (3)	(1)	2.96	2.67	12.06	5.39	9.25	0.62	0.973	16.50	64.04
物质基准					2.16	1.99	8.90	4.15	6.57	0.45	1.000	11.43	100.00

2.8　基准关联度的原理方法

2.8.1　评价对象的确定　基准关联度是评价某样品与基准样品的相似度的关键参数，应首先确定样品评价的指标数目 n 和样品数目 m，本方法的基本路线如图 3 所示。本研究将正交试验设计生成的 9 个样品与基准样品相比，以提取物中黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸含量，指纹图谱相似度以及干膏率为评价指标，以 $X_{i,j}$、S_j 为评价对象，$X_{i,j}$ 表示正交试验的第 i（i＝1，2，…，m）个样本的第 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。

2.8.2　相对偏差（relative deviation，RD_{ij}）值的计算　RD_{ij} 表示第 i（i＝1，2，…，m）个样本的第 j（j＝1，2，…，n）个指标下的 RD_{ij}，RD_{ij} 越小则表明代表 X_{ij} 相对于 S_j 的偏差越小，即该条件下制得样品质量与基准样品相似度更高。根据公式（1）计算 RD_{ij}。

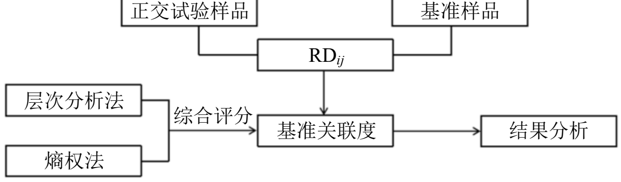


图 3　方法流程图

Fig. 3　Flow chart of algorithm

$$RD_{ij}=|X_i-S_j|/S_j \quad (1)$$

2.8.3　基准关联度（standard relation，SR_{ij}）的计算　以基准样品质量为标准值（S），以正交试验设计下的各样品质量为测得值（X），以不同的指标为评价指标，按公式（2）计算所得结果，称为基准关联度，结果见表 5。SR_{ij} 表示第 i（i＝1，2，…，m）个样本的第 j（j＝1，2，…，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。

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

计算公式如公式（2）所示，计算结果表明，当以黄连碱、巴马汀、小檗碱、甘草苷、甘草酸为评价指标时，与基准样品最为接近的是试验 8；当以 6-姜辣素为评价指标时，与物质基准最为接近的是试验 9；当以指纹图谱相似度为评价指标时，与物质基准最为接近的是试验 6；当以干膏率为评价指标时，与物质基准最为接近的是试验 1。由此可得，当以单一因素为评价指标时，试验所得最优结果会根据评价指标的变化而变化，因此需进行综合评分后才能确定提取工艺参数。

2.9　AHP-熵权法组合权重的计算

2.9.1　AHP 主观赋权

（1）构建判断矩阵：根据君臣佐使原则[12]，黄

表 5 正交试验的 SR_{ij}

Table 5 SR_{ij} of orthogonal test

试验号	SR_{ij}							
	黄连碱	巴马汀	小檗碱	甘草苷	甘草酸	6-姜辣素	指纹图谱相似度	干膏率/%
1	57.87	63.32	60.22	90.60	79.00	57.78	97.9	82.68
2	52.78	58.79	53.48	53.01	38.96	31.11	94.9	67.28
3	50.46	52.26	49.89	46.27	29.53	37.78	93.1	46.72
4	61.11	66.33	64.72	76.39	58.90	60.00	98.6	80.93
5	59.72	64.32	62.13	60.72	39.12	33.33	96.4	55.73
6	89.35	88.44	89.10	78.07	78.39	57.78	98.7	68.24
7	37.96	46.23	42.47	73.01	48.25	33.33	94.6	59.06
8	96.76	96.48	96.74	92.29	79.45	62.24	97.9	76.20
9	62.96	65.83	64.49	70.12	59.21	62.42	97.3	55.64

连汤方中黄连和干姜为君药，黄连苦寒，清胸中之热、兼和胃气，干姜辛温，以温胃中之寒；臣药为桂枝和半夏，桂枝辛散温通、祛寒止痛，半夏和胃降逆止呕，宽胸散结消痞；佐药为人参和大枣，兼得益气健脾、缓和药性之效；使药为甘草，甘草甘平，缓腹中之痛[13]。诸药合用，可平调寒热、和胃降逆。

本研究参考《中药新药质量标准研究技术指导原则（试行）》要求[14]，根据黄连汤的处方组成，结合各味药中指标性成分的实际测得性和稳定性，选择君药黄连中的黄连碱、巴马汀、小檗碱，君药干姜中的 6-姜辣素，以及使药甘草中的甘草苷、甘草酸为 6 个指标性成分，同时兼顾干膏率和指纹图谱。通过干膏率反映提取工艺的稳定性，指纹图谱体现制剂过程中小分子成分的轮廓及定性特征。

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[15]，故将其重要程度视为与干膏率同等重要。故按黄连碱＝巴马汀=小檗碱＞6-姜辣素＞甘草苷＝甘草酸＞指纹图谱相似度≈干膏率的顺序，再根据 AHP 理论判断矩阵 1～9 标度，对同一层次内 n 个指标的相对重要程度进行打分，结果见表 6。黄连碱、巴马汀、小檗碱为君药黄连的主要药效成分，相对于 6-姜辣素较明显重要，故标为 4，相对于甘草苷、甘草酸明显重要，故标为 5，相对于指纹图谱相似度和干膏率明显更为重要，标为 6，以此类推，根据公式（3）构建判断矩阵 A，数据见表 7，用 a_{ef} 表示因素 e 相对于因素 f 的比较结果。

表 6 AHP 构建判断矩阵的标准

Table 6 Criterion of constructing judgment matrix of AHP

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}，则因素 f 与因素 e 重要性之比为 $a_{ef}=1/a_{ef}$

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

（2）计算主观权重系数（W_j^S）：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）个指标因素对第 n（$n=1$，2，…，j）个指标因素的比较结果，然后按照公式（5）计算归一化 W_j^S，得到 5 个指标的 W_j^S，结果见表 8。

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

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

（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 0.03，一致性比例（consistency ratio，CR）（CR＝CI/RI，RI 为自由度指标）为 0.02，均小于 0.1，表明该矩阵具有一致性[10]。

表 7 指标成对比较的判断优先矩阵

Table 7 Decision matrix of paired comparison on indexes

评价指标	黄连碱	巴马汀	小檗碱	6-姜辣素	甘草苷	甘草酸	指纹图谱相似度	干膏率
黄连碱	1	1	1	4	5	5	6	6
巴马汀	1	1	1	4	5	5	6	6
小檗碱	1	1	1	4	5	5	6	6
6-姜辣素	1/4	1/4	1/4	1	3	3	4	4
甘草苷	1/5	1/5	1/5	1/3	1	1	2	2
甘草酸	1/5	1/5	1/5	1/3	1	1	2	2
指纹图谱相似度	1/6	1/6	1/6	1/4	1/2	1/2	1	1
干膏率	1/6	1/6	1/6	1/4	1/2	1/2	1	1

$$\lambda_{max}=[\sum_{j=1}^{n}(\sum_{j=1}^{n}a_{jn}W_j'/W_j')]/n \qquad (6)$$

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

2.9.2 信息熵客观赋权

（1）建立正交试验原始数据矩阵：现有 m 个样本，n 个评价指标，原始数据矩阵 $R=(X_{i,j})_{m\times n}$，以黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸含量，指纹图谱相似度及干膏率 8 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。

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

（3）计算各指标的信息熵（H_j）和客观权重系数（W_j^O）：H_j 越小，代表 j 指标下的数据离散程度越高，则其所提供的信息量就越大[10]。根据公式（9）计算出各指标的 H_j 依次为 0.996 1、0.996 9、0.996 4、0.998 3、0.997 0、0.996 4、0.999 9、0.998 2，按照公式（10）计算各指标的 W_j^O。

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

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

2.9.3 综合权重系数（W_j）的确定 采用 AHP 得到 W_j^S，熵权法得到 W_j^O，根据公式（11）计算各指标的 W_j，结果见表 8。

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

2.10 综合评分

通过 AHP-熵权法得到的 W_j，可知黄连碱占比 30%，巴马汀占比 24%，小檗碱占比 28%，6-姜辣素占比 5%，甘草苷占比 5%，甘草酸占比 6%，干膏率占比 2%。根据公式（12）计算综合评分，结果见表 4。由表 4 中结果可知，试验 8 综合评分最高，结果表示与古法最相似的现代工艺参数为 $A_3B_1C_2$，即以 6 倍量的水浸泡 1 h 煎煮 45 min 得到的样品与基准样品的质量最为一致。

表 8 组合权重

Table 8 Weight value of indices

评价指标	W_j^S	W_j^O	W_j	评价指标	W_j^S	W_j^O	W_j
黄连碱	0.25	0.19	0.30	甘草苷	0.05	0.14	0.05
巴马汀	0.25	0.15	0.24	甘草酸	0.05	0.18	0.06
小檗碱	0.25	0.17	0.28	指纹图谱相似度	0.03	0.00	0.00
6-姜辣素	0.1	0.08	0.05	干膏率	0.03	0.08	0.02

$$综合评分=SR_{i,黄连碱}\times 30\%+SR_{i,巴马汀}\times 24\%+SR_{i,小檗碱}\times 28\%+SR_{i,6-姜辣素}\times 5\%+SR_{i,甘草苷}\times 5\%+SR_{i,甘草酸}\times 6\%+SR_{i,干膏率}\times 2\% \qquad (12)$$

2.11 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，测定黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸含量，指纹图谱相似度及干膏率，计算综合评分，结果见表 9。验证试验的综合评分均值为 90.11，与基准样品质量接近，且符合《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）》[6]中对制剂生产研究的要求。综合评分的 RSD 值为 1.09%，说明该方法确定的提取工艺稳定可靠且重复性良好。

3 讨论

黄连汤作为平调寒热、和胃降逆治法的代表方，自古至今一直被众多医家广泛使用，对其进行经典名方制剂的开发研究意义重大。课题组前期已根据古籍记载制备了黄连汤标准汤液，并建立了其质量

表 9 验证试验结果

Table 9 Results of verification experiments

试验号	质量分数/(mg·g^{-1})						指纹图谱相似度	干膏率/%	综合评分	RSD/%
	黄连碱	巴马汀	小檗碱	甘草苷	甘草酸	6-姜辣素				
1	2.24	2.09	9.10	3.82	6.59	0.48	0.970	12.25	89.65	
2	2.20	2.09	9.03	3.71	6.43	0.50	0.959	12.55	89.45	1.09
3	2.15	2.05	8.86	3.87	6.50	0.49	0.975	12.54	91.24	

标准[16-17]。本研究基于 QbD 理念，选用正交试验设计，建立以黄连碱、巴马汀、小檗碱、6-姜辣素、甘草苷、甘草酸、指纹图谱相似度和干膏率为主的质量控制体系，确定以加水倍量、浸泡时间、提取时间作为关键工艺参数，采用单因素实验确定各因素水平，应用正交设计优化经典名方黄连汤的提取工艺。AHP 作为主观赋权法，由人为确定各个评价指标的权重系数，受人为影响较大；熵权法作为客观赋权法，根据数据变化规律得出最终权重系数，但不能体现中药复方的君臣佐使关系。

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 8 个指标在质量控制体系中的权重系数，以此优化黄连汤现代提取工艺为加 6 倍量水、浸泡 60 min、提取 45 min。所得工艺可保证工业生产的可行性及产品质量的稳定性，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，实现了传统工艺向现代工业生产的关键一步。

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). [2022-12-18]. http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html.

[2] 汉·张仲景著. 厉畅, 梁丽娟点校. 伤寒论 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1997: 42.

[3] 于雷, 刘纳文, 陈重, 等. 黄连汤治疗幽门螺杆菌阳性脾虚湿热型慢性非萎缩性胃炎的疗效分析 [J]. 中国慢性病预防与控制, 2020, 28(12): 921-923.

[4] 谢跃丽. 阿奇霉素联合黄连汤治疗急性宫颈炎效果观察 [J]. 实用中医药杂志, 2019, 35(4): 446-447.

[5] 国家药品监督管理局. 国家药品监督管理局综合和规划财务司关于公开征求《古代经典名方关键信息表 (25 首方剂) (征求意见稿)》意见的通知 [EB/OL]. (2022-08-01). [2022-12-18]. https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/zhqyj/zhqyiyp/20220801171436142.html.

[6] 国家药品监督管理局药品审评中心.《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)》[EB/OL]. (2021-08-31). [2022-12-18]. https://www.cde.org.cn/main/news/viewlnfoCommon/1c18dd163e7c9221786e5469889367d0.html.

[7] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.

[8] 王逸飞, 朱振宇, 吴志生, 等. QbD 理念的中药缓控释制剂的设计与研发研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(20): 4317-4321.

[9] 徐男, 王平, 王淑玲, 等. 基于 UPLC 特征图谱和 Q-Marker 量值传递评价经典名方半夏白术天麻汤颗粒剂的关键生产工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7455-7463.

[10] 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.

[11] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 8, 15, 23, 89, 123, 288, 316.

[12] 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.

[13] 陈梅, 王盼盼, 贾六金, 等. 黄连汤方义探析及临床应用 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(5): 162-165.

[14] 国家药品监督管理局. 国家药监局药审中心关于发布《中药新药质量研究技术指导原则(试行)》的通告(2021 年第 3 号) [EB/OL]. (2021-01-14). [2022-12-18]. https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzldCODE=b30261779e4848579b15cf34608a06e7.html.

[15] 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.

[16] 彭梅梅, 郭爽, 陈琪, 等. 基于特征图谱和网络药理学的经典名方黄连汤质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(18): 5514-5523.

[17] 彭梅梅, 郭爽, 王璐, 等. 经典名方黄连汤的物质基准量值传递分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(2): 313-323.

[责任编辑 郑礼胜]