

益元康丸提取工艺优化

牛晓静^{1,2}, 耿阳丽³, 苏 畅³, 吴延尧^{1,2}, 段晓颖^{1,2}

(1. 河南中医药大学第一附属医院药学部, 河南 郑州 450000; 2. 河南省中药临床药学中医药重点实验室, 河南 郑州 450000; 3. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 优化益元康丸提取工艺。**方法** 基于质量源于设计 (QbD) 理念, 以朝藿定 A1、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、多糖含量及出膏率的综合评分为关键质量属性 (CQAs), Plackett-Burman 设计筛选关键工艺参数 (CPPs), Box-Behnken 设计结合 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法优化提取工艺, 建立其设计空间。**结果** 提取时间、加水量和提取次数为 CPPs。最优设计空间为加水量 14~16 倍, 提取时间 70~100 min, 提取次数 3 次。**结论** 基于 QbD 理念所优化的益元康丸提取工艺稳定可靠, 可为其进一步成型工艺、质量控制研究提供实验基础。

关键词: 益元康丸; 提取工艺; 质量源于设计 (QbD); Plackett-Burman 设计; Box-Behnken 设计; AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)10-3439-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.043

质量源于设计 (QbD) 是一种用于药品研发生产的科学理念, 旨在从设计层次保证药品质量, 重点在源头、过程对质量进行把控^[1-3], 从而被广泛应用于中药制剂的研发。在中药复方提取工艺研究中引入 QbD 理念^[4-7], 可改变固定工艺参数的提取方法, 提高生产效率, 使制剂质量更稳定可靠, 从而更好地为临床服务。

益元康丸由淫羊藿、灵芝等药材组成, 具有健脾益脾的作用, 主要用于治疗艾滋病免疫功能低下, 可显著改善神疲、乏力、肢冷、倦怠、易感冒等症状^[8-10]。本实验基于 QbD 理念, 以朝藿定 A1、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷、多糖含量及出膏率为关键质量属性 (CQAs), 首先采用 Plackett-Burman 设计筛选益元康丸水提工艺关键工艺参数 (CPPs), 然后在 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法综合评价基础上采用 Box-Behnken 设计优化水提参数, 构建提取工艺设计空间, 以期为后续该制剂成型工艺、质量控制研究奠定基础。

1 材料

1.1 仪器 Thermo UltiMate 3000 型高效液相色谱仪 (配置 DAD-3000RS 型检测器和 LPG-3400SD 型四元泵)、Thermo Evolution 201 型紫外分光光度计 (美国赛默飞世尔科技公司); BSA224S-CW 型、CP225D 型分析天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; MH-3000 型调温型电热套 (北京科伟永兴仪器有限公司); WGL-125B 型电热鼓风干燥箱 (天津泰斯特仪器有限公司); FW-100 型高速万能粉碎机 (北京科伟永兴仪器有限公司)。

1.2 试剂与药物 淫羊藿 (批号 2204242, 产地甘肃)、

灵芝 (批号 2203061, 产地山东) 均购于安徽普仁中药饮片有限公司, 经河南中医药大学第一附属医院药学部施钧瀚副主任药师鉴定为正品。淫羊藿苷对照品 (批号 110737-201516, 中国食品药品检定研究院); 朝藿定 A1 (批号 PO2J9S64790, 纯度 $\geq 98\%$)、朝藿定 A (批号 J12HB184811, 纯度 $\geq 98\%$)、朝藿定 B (批号 J12HB184812, 纯度 $\geq 98\%$)、朝藿定 C (批号 N18GB166250, 纯度 $\geq 98\%$)、无水葡萄糖 (批号 Y19F11J108781, 纯度 $\geq 98\%$) 对照品均购于上海源叶生物科技有限公司。乙腈为色谱纯 (美国 Merck 公司); 其他试剂均为分析纯; 水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 朝藿定 A1、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷含量测定 采用 HPLC 法。

2.1.1 色谱条件 Agilent ZORBAX Eclipse SB-Aq 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相乙腈-水 (24 : 76); 体积流量 1 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}$ C; 检测波长 270 nm; 对照品、供试品溶液进样量分别为 10、20 μ L。理论塔板数按淫羊藿苷色谱峰计, 均不低于 5 000。

2.1.2 溶液制备

2.1.2.1 对照品溶液 精密称取各对照品适量, 甲醇制成分别含朝藿定 A1 2.26 mg/mL、朝藿定 A 1.392 mg/mL、朝藿定 B 1.560 mg/mL、朝藿定 C 1.376 mg/mL、淫羊藿苷 2.012 mg/mL 的贮备液, 甲醇分别稀释至 90.72、69.60、93.60、344、563.36 μ g/mL, 即得。

2.1.2.2 供试品溶液 精密吸取提取液 2 mL, 置于 10 mL

收稿日期: 2023-12-12

基金项目: 河南省卫生健康委国家中医临床研究基地科研专项 (2022JDZX043)

作者简介: 牛晓静 (1983—), 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为中药制剂及其质量控制。E-mail: niuxiaojing314@163.com

* 通信作者: 段晓颖 (1966—), 女, 硕士, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为中药新剂型和新技术。E-mail: dxy1378@163.com

量瓶中，甲醇稀释至刻度，摇匀，过滤，取续滤液，即得。

2.1.2.3 阴性样品溶液 按处方和工艺，制成缺淫羊藿的阴性样品，按“2.1.2.2”项下方法制备，即得。

2.1.3 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液适量，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。

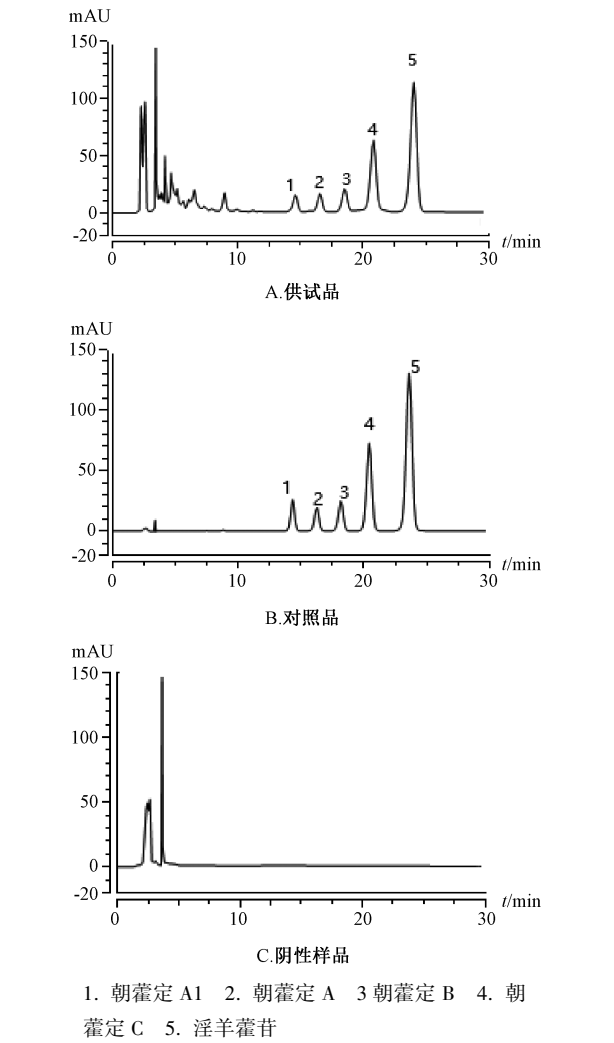


图 1 各成分 HPLC 色谱图

2.1.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 0.5、1、2、3、4、5 mL，甲醇稀释至 5 mL，制成系列质量浓度，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
朝藿定 A1	$Y=0.265\ 5X-0.090\ 8$	0.999 7	9.072~90.720
朝藿定 A	$Y=0.316\ 7X-0.257\ 4$	0.999 5	6.960~69.600
朝藿定 B	$Y=2.716\ 7X-0.040\ 6$	0.999 7	9.360~93.600
朝藿定 C	$Y=0.269\ 2X-0.769\ 0$	0.999 8	34.400~344.000
淫羊藿苷	$Y=0.356\ 9X-5.611\ 2$	0.999 0	56.336~563.360

2.1.5 方法学考察 取 Plackett-Burman 设计中的 4 号供试

3440

品溶液适量，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定 7 次，测得朝藿定 A1、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷峰面积 RSD 分别为 0.26%、0.83%、0.20%、0.30%、0.09%，表明仪器精密度高。取上述供试品溶液适量，室温下于 0、2、6、8、12、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得朝藿定 A1、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷峰面积 RSD 分别为 0.37%、0.77%、0.24%、0.27%、0.44%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。取 Plackett-Burman 设计中的 4 号提取液适量，按“2.1.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得朝藿定 A1、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷含量 RSD 分别为 1.24%、1.32%、1.38%、0.98%、1.30%，表明该方法重复性良好。吸取 Plackett-Burman 设计中的 4 号提取液 6 份，每份 1.0 mL，精密加入对照品溶液适量，按“2.1.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得朝藿定 A1、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷平均加样回收率分别为 101.94%、96.13%、99.97%、97.16%、100.69%，RSD 分别为 3.21%、2.25%、2.38%、3.01%、3.39%。

2.2 多糖含量测定 采用蒽酮-硫酸法。

2.2.1 溶液制备

2.2.1.1 对照品溶液 取 D-无水葡萄糖适量，加水溶解，制成质量浓度为 0.357 3 mg/mL 的贮备液，吸取 10 mL，加水稀释至 25 mL，即得（质量浓度为 142.92 $\mu\text{g/mL}$ ）。

2.2.1.2 供试品溶液 精密量取提取液 5 mL，加入 20 mL 无水乙醇，在 4℃ 冰箱中放置 12 h，离心，沉淀加水溶解，少量多次转移至 25 mL 量瓶中，摇匀，即得。

2.2.2 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL，加水至 2 mL，参照文献 [11] 报道，以 0.1% 硫酸-蒽酮溶液为显色剂，采用紫外-可见分光光度法在 (625±1) nm 波长处测定吸光度。以对照品质量浓度为横坐标（X），吸光度为纵坐标（A）进行回归，得方程为 $A=0.009\ 1X-0.023\ 3$ ($r=0.999\ 1$)，在 14.292~100.044 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。

2.2.3 方法学考察 取 Plackett-Burman 设计中的 12 号供试品溶液 2 mL，显色后测定吸光度 6 次，测得其 RSD 为 0.10%，表明仪器精密度高。吸取 Plackett-Burman 设计中的 12 号供试品溶液 2 mL，显色后在 30 min 内每隔 5 min 测定 1 次吸光度，测得其 RSD 为 0.23%，表明溶液显色后在 30 min 内稳定性良好。取 Plackett-Burman 设计中的 12 号提取液适量，按“2.2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，显色后测定吸光度，测得多糖含量 RSD 为 2.42%，表明该方法重复性良好。吸取 Plackett-Burman 设计中的 12 号提取液 6 份，每份 2.5 mL，精密加入 2 mL 0.357 3 mg/mL 贮备液，按“2.2.1.2”项下方法制备供试品溶液，显色后测定吸光度，测得多糖平均加样回收率为 98.93%，RSD 为 1.93%。

2.3 出膏率测定 精密吸取不同提取工艺下的提取液各 25 mL，参照文献 [12] 报道计算出膏率。

2.4 关键质量属性（CQAs）、关键工艺参数（CPPs）确定 采用 Plackett-Burman 设计。

2.4.1 CQAs 根据方解理论结合课题组前期体外免疫评价结果^[13]，将朝藿定 A1（Y₁）、朝藿定 A（Y₂）、朝藿定 B（Y₃）、朝藿定 C（Y₄）、淫羊藿苷（Y₅）、多糖（Y₆）含

量及出膏率（Y₇）作为 CQAs。

2.4.2 CPPs 根据前期研究结果结合文献 [14-15] 报道发现，环境、设备、饮片、提取参数均可影响中药复方制剂提取效果。本实验所处的环境、所用的设备和饮片均在相同条件下，故将浸泡时间（X₁）、加水量（X₂）、提取时间（X₃）、提取次数（X₄）作为关键因素，CQAs 作为评价指标，采用 Design Expert 13.0 软件设计，结果见表 2。

表 2 Plackett-Burman 设计结果

试验号	X ₁ 浸泡 时间/min	X ₂ 加水 量/倍	X ₃ 提取时 间/min	X ₄ 提取次 数/次	含量/(mg·g ⁻¹)						Y ₇ 出膏 率/%
					Y ₁ 朝藿定 A1	Y ₂ 朝藿定 A	Y ₃ 朝藿定 B	Y ₄ 朝藿定 C	Y ₅ 淫羊藿苷	Y ₆ 多糖	
1	60	16	60	3	0.293 5	0.363 5	0.375 8	0.389 5	22.130 0	7.256 9	16.71
2	30	16	120	1	0.195 6	0.239 6	0.268 1	0.275 3	14.082 2	4.235 6	9.94
3	60	12	120	3	0.262 9	0.329 2	0.349 2	0.369 4	21.452 5	9.307 8	15.59
4	30	16	60	3	0.353 8	0.396 0	0.423 3	0.442 0	24.752 3	7.545 1	17.03
5	30	12	120	1	0.154 6	0.194 1	0.210 2	0.214 1	10.989 9	4.422 9	8.08
6	30	12	60	3	0.310 5	0.374 8	0.413 7	0.425 2	23.339 8	8.179 9	15.08
7	60	12	60	1	0.155 7	0.177 1	0.191 3	0.199 4	9.470 7	2.991 8	8.05
8	60	16	60	1	0.188 6	0.220 1	0.246 8	0.253 2	12.008 2	3.648 9	10.58
9	60	16	120	1	0.213 4	0.235 6	0.249 2	0.255 6	12.990 0	4.915 9	10.17
10	30	16	120	3	0.305 8	0.367 6	0.406 8	0.415 7	25.255 1	10.987 4	17.79
11	60	12	120	3	0.291 3	0.332 4	0.367 6	0.375 3	21.781 2	9.942 8	15.41
12	30	12	60	1	0.157 5	0.176 6	0.194 5	0.197 7	9.284 9	4.797 6	7.93

2.4.3 方差分析 对表 2 数据进行线性回归，得方程分别为 Y₁=0.240 3-0.006X₁+0.018 2X₂-0.003X₃+0.062 7X₄、Y₂=0.283 9-0.007 6X₁+0.019 8X₂-0.000 8X₃+0.076 7X₄、Y₃=0.308 1-0.011 4X₁+0.020 3X₂+0.000 5X₃+0.081 4X₄、Y₄=0.317 7-0.010 6X₁+0.020 9X₂-0.000 1X₃+0.085 1X₄、Y₅=17.21-0.568 5X₁+1.15X₂+0.467 8X₃+5.74X₄、Y₆=6.52-0.175 4X₁-0.087 7X₂+0.782 7X₃+2.35X₄、Y₇=12.70+

0.055 8X₁+1.01X₂+0.134 2X₃+3.57X₄，方差分析见表 3。由此可知，模型 P<0.01，具有高度显著性；Y₁~Y₇ 对 X₂ 和 X₄ 均有显著影响（P<0.05，P<0.01），但对 X₁ 均无显著影响（P>0.05），而 Y₆ 对 X₃ 有显著影响（P<0.05）；影响较大的工艺参数为 X₂、X₃、X₄。最终，选择加水量（X₂）、提取时间（X₃）、提取次数（X₄）作为 CPPs。

表 3 Plackett-Burman 设计方差分析结果

来源	自由度	Y ₁				Y ₂			
		离均差平方和	均方	F 值	P 值	离均差平方和	均方	F 值	P 值
模型	4	0.051 7	0.012 9	29.13	0.000 2	0.076 0	0.019 0	69.66	<0.000 1
X ₁	1	0.000 4	0.000 4	0.988 0	0.353 4	0.000 7	0.000 7	2.52	0.156 5
X ₂	1	0.004 0	0.004 0	8.96	0.020 2	0.004 7	0.004 7	17.33	0.004 2
X ₃	1	0.000 1	0.000 1	0.242 0	0.637 8	7.989×10 ⁻⁶	7.989×10 ⁻⁶	0.029 3	0.869 0
X ₄	1	0.047 2	0.047 2	106.35	<0.000 1	0.070 6	0.070 6	258.78	<0.000 1
残差	7	0.003 1	0.000 4	—	—	0.001 9	0.000 3	—	—
失拟项	6	0.002 7	0.000 5	1.11	0.619 9	0.001 9	0.000 3	62.52	0.096 5
总和	11	0.054 8	—	—	—	0.077 9	—	—	—

来源	自由度	Y ₃				Y ₄			
		离均差平方和	均方	F 值	P 值	离均差平方和	均方	F 值	P 值
模型	4	0.085 9	0.021 5	50.00	<0.000 1	0.093 6	0.023 4	52.50	<0.000 1
X ₁	1	0.001 6	0.001 6	3.63	0.098 6	0.001 4	0.001 4	3.03	0.125 0
X ₂	1	0.004 9	0.004 9	11.51	0.011 6	0.005 2	0.005 2	11.71	0.011 1
X ₃	1	2.771×10 ⁻⁶	2.771×10 ⁻⁶	0.006 4	0.938 2	2.178×10 ⁻⁷	2.178×10 ⁻⁷	0.000 5	0.983 0
X ₄	1	0.079 4	0.079 4	184.88	<0.000 1	0.087 0	0.087 0	195.25	<0.000 1
残差	7	0.003 0	0.000 4	—	—	0.003 1	0.000 4	—	—
失拟项	6	0.002 8	0.000 5	2.78	0.429 1	0.003 1	0.000 5	29.59	0.139 8
总和	11	0.088 9	—	—	—	0.096 7	—	—	—

续表 3

来源	自由度	Y ₅				Y ₆			
		离均差平方和	均方	F 值	P 值	离均差平方和	均方	F 值	P 值
模型	4	417.34	104.34	140.50	<0.000 1	74.12	18.53	23.47	0.000 4
X ₁	1	3.88	3.88	5.22	0.056 2	0.369 0	0.369 0	0.467 5	0.516 1
X ₂	1	15.98	15.98	21.52	0.002 4	0.092 4	0.092 4	0.117 1	0.742 3
X ₃	1	2.63	2.63	3.54	0.102 1	7.35	7.35	9.31	0.018 5
X ₄	1	394.86	394.86	531.72	<0.000 1	66.30	66.30	84.00	<0.000 1
残差	7	5.20	0.742 6	—	—	5.53	0.789 3	—	—
失拟项	6	5.14	0.857 4	15.87	0.189 8	5.32	0.887 3	4.40	0.349 5
总和	11	422.54	—	—	—	79.64	—	—	—

来源	自由度	Y ₇			
		离均差平方和	均方	F 值	P 值
模型	4	165.42	41.36	344.16	<0.000 1
X ₁	1	0.037 3	0.037 3	0.310 8	0.594 6
X ₂	1	12.18	12.18	101.35	<0.000 1
X ₃	1	0.216 1	0.216 1	1.80	0.221 8
X ₄	1	152.99	152.99	1 273.20	<0.000 1
残差	7	0.841 1	0.120 2	—	—
失拟项	6	0.826 1	0.137 7	9.14	0.248 0
总和	11	166.26	—	—	—

2.5 提取工艺优化 采用 Box-Behnken 设计。

2.5.1 试验设计 在 Plackett-Burman 设计基础上，以加水量 (X₂)、提取时间 (X₃)、提取次数 (X₄) 为自变量，CQAs 为评价指标，综合评分^[16-19] (Y) 为响应值，采用 Design-Expert 13 软件设计，因素水平见表 4，结果见表 5。

表 4 Box-Behnken 设计因素水平

水平	因素		
	X ₂ 加水量/倍	X ₃ 提取时间/min	X ₄ 提取次数/次
−1	12	60	1
0	14	90	2
1	16	120	3

表 5 Box-Behnken 设计结果

试验号	X ₂ 加水量/倍	X ₃ 提取时间/min	X ₄ 提取次数/次	含量/(mg·g ^{−1})						Y ₇ 出膏率/%	Y 综合评分/分
				Y ₁ 朝藿定 A1	Y ₂ 朝藿定 A	Y ₃ 朝藿定 B	Y ₄ 朝藿定 C	Y ₅ 淫羊藿苷	Y ₆ 多糖		
1	12	60	2	3.893 9	0.288 4	0.286 5	0.387 4	0.375 6	19.648 5	11.90	71.27
2	16	60	2	4.531 9	0.272 4	0.271 5	0.359 4	0.355 7	19.578 7	13.09	72.89
3	12	120	2	5.695 4	0.242 5	0.282 2	0.326 4	0.333 5	18.339 5	13.30	73.79
4	16	120	2	6.517 1	0.222 6	0.286 4	0.308 7	0.321 1	18.412 1	13.46	75.60
5	12	90	1	3.721 0	0.189 0	0.216 2	0.246 6	0.245 4	11.810 4	8.97	50.71
6	16	90	1	2.688 5	0.179 1	0.206 9	0.236 8	0.237 3	11.604 1	9.14	46.70
7	12	90	3	7.198 6	0.265 7	0.294 4	0.353 0	0.362 8	21.093 4	13.77	83.76
8	16	90	3	9.077 0	0.294 9	0.343 9	0.520 8	0.422 3	23.936 5	14.87	99.15
9	14	60	1	2.896 3	0.174 6	0.240 3	0.240 8	0.238 5	11.096 9	9.12	47.27
10	14	120	1	3.269 5	0.194 4	0.239 7	0.260 0	0.262 9	13.370 2	9.72	52.82
11	14	60	3	7.767 3	0.265 0	0.297 2	0.346 1	0.353 8	20.170 1	15.71	86.24
12	14	120	3	8.025 0	0.244 9	0.285 0	0.324 5	0.336 8	19.613 7	14.94	84.25
13	14	90	2	5.942 9	0.286 1	0.314 9	0.362 9	0.391 2	19.662 2	12.20	78.30
14	14	90	2	4.801 7	0.268 4	0.301 6	0.232 6	0.367 0	19.648 7	12.95	72.31
15	14	90	2	5.464 3	0.259 9	0.292 3	0.225 0	0.362 1	19.266 9	13.20	73.63
16	14	90	2	5.133 0	0.248 9	0.278 2	0.322 6	0.342 4	17.825 0	14.99	73.43
17	14	90	2	6.602 8	0.251 0	0.281 1	0.323 9	0.350 3	17.962 4	14.93	78.39

2.5.2 综合权重计算

2.5.2.1 层次分析 (AHP) 根据益元康方解、各成分药理作用及课题组前期体外免疫学研究结果，将各评价指标重要程度划分 3 个层次，优先顺序为多糖含量=淫羊藿苷含量>浸膏得率>朝藿定 A1 含量=朝藿定 A 含量=朝藿定 B 含

量=朝藿定 C 含量，构建成对比较的优先判断矩阵，见表 6。再采用 SPSSAU 软件测得各评价指标权重系数 ω_{AHP} 分别为 0.082 7、0.082 7、0.082 7、0.082 7、0.258 5、0.258 5、0.152 3，一致性比例 CR=0.001 7<0.10，表明判断矩阵评分具有良好的一致性，权重系数有效。

表 6 各评价指标成对比较的优先判断矩阵

目标	多糖含量	淫羊藿苷含量	浸膏得率	朝藿定 A1 含量	朝藿定 A 含量	朝藿定 B 含量	朝藿定 C 含量
多糖含量	1	1	2	3	3	3	3
淫羊藿苷含量	1	1	2	3	3	3	3
浸膏得率	1/2	1/2	1	2	2	2	2
朝藿定 A1 含量	1/3	1/3	1/2	1	1	1	1
朝藿定 A 含量	1/3	1/3	1/2	1	1	1	1
朝藿定 B 含量	1/3	1/3	1/2	1	1	1	1
朝藿定 C 含量	1/3	1/3	1/2	1	1	1	1

2.5.2.2 熵权 TOPSIS 法 采用 SPSSAU 软件，首先对数据进行归一化处理，再进行熵权 TOPSIS 分析，测得各评价指标权重系数 $\omega_{\text{熵权TOPSIS}}$ 分别为 0.144 8、0.096 1、0.143 3、0.150 4、0.148 3、0.162 2、0.154 8。

2.5.2.3 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法 计算各评价指标综合权重系数 ω ，公式为 $\omega = (\omega_{\text{AHP}} \times \omega_{\text{熵权TOPSIS}}) / \sum (\omega_{\text{AHP}} \times \omega_{\text{熵权TOPSIS}})$ ，结果分别为 0.080 9、0.053 7、0.080 0、0.084 0、0.258 9、0.283 2、0.159 3。

2.5.2.4 结果比较 计算综合评分，公式为综合评分 = (朝藿定 A1 含量/朝藿定 A1 含量最大值 $\times \omega_{\text{朝藿定A1}}$ + 朝藿定 A

含量/朝藿定 A 含量最大值 $\times \omega_{\text{朝藿定A}}$ + 朝藿定 B 含量/朝藿定 B 含量最大值 $\times \omega_{\text{朝藿定B}}$ + 朝藿定 C 含量/朝藿定 C 含量最大值 $\times \omega_{\text{朝藿定C}}$ + 淫羊藿苷含量/淫羊藿苷含量最大值 $\times \omega_{\text{淫羊藿苷}}$ + 多糖含量/多糖含量最大值 $\times \omega_{\text{多糖}}$ + 出膏率/出膏率最大值 $\times \omega_{\text{出膏率}}$) $\times 100$ ，再进行相关性分析，结果见表 7。由此可知，3 种权重方法综合评分具有一致性，前者 AHP 法与熵权 TOPSIS 法权重系数的相关性不显著 ($P > 0.05$)，表明两者所反映的信息无叠加性，故选择 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法。

表 7 3 种权重方法相关性分析结果

权重方法	综合评分		权重系数	
	相关系数	P 值	相关系数	P 值
AHP 法与熵权 TOPSIS 法	0.995	<0.01	0.484	0.272
AHP 法与 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法	1.000	<0.01	0.990	<0.01
熵权 TOPSIS 法与 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法	0.993	<0.01	0.592	0.161

2.5.3 方差分析 采用 Design Expert 13 软件对综合评分 (Y) 进行二次多元回归拟合，得方程为 $Y = 75.21 + 1.85X_2 + 1.10X_3 + 19.49X_4 + 0.0461X_2X_3 + 4.85X_2X_4 - 1.89X_3X_4 - 0.305X_2^2 - 2.13X_3^2 - 5.44X_4^2$ ，方差分析见表 8。由此可知，模型 $P < 0.0001$ ，具有高度显著性；失拟项 $P > 0.05$ ，表明无明显失拟因素存在；相关系数 r 为 0.979 3，调整后 r 为 0.953 7，变异系数 CV 为 4.42%，表明方程拟合度良好，可用于评价 CPPs 与 CQAs 的关系；各因素影响程度依次为 $X_4 > X_2 > X_3$ ；因素 X_4 、 X_2X_4 、 X_4^2 有显著或极显著影响 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，其他因素无显著影响 ($P > 0.05$)。

表 8 Box-Behnken 设计方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	3 332.78	9	370.31	36.78	<0.0001
X_2	27.46	1	27.46	2.73	0.1426
X_3	9.66	1	9.66	0.9598	0.3599
X_4	3 038.13	1	3 038.13	301.77	<0.0001
X_2X_3	0.0085	1	0.0085	0.0008	0.9777
X_2X_4	94.03	1	94.03	9.34	0.0184
X_3X_4	14.24	1	14.24	1.41	0.2731
X_2^2	0.3929	1	0.3929	0.0390	0.8490
X_3^2	19.07	1	19.07	1.89	0.2111
X_4^2	124.58	1	124.58	12.37	0.0098
残差	70.47	7	10.07	—	—
失拟项	36.72	3	12.24	1.45	0.3537
纯误差	33.75	4	8.44	—	—
总离差	3 332.78	16	—	—	—

2.6 设计空间建立 为了满足制剂生产实际需要，根据 Box-Behnken 设计结果，采用 Design Expert 13 软件设定综合评分 ≥ 85 分作为优化目标，建立提取工艺设计空间，以 Overlay Plot 展示，见图 2A，同时为了克服其边界的不确定性，又加入 $\alpha = 0.05$ 的置信区间进行优化，见图 2B（所得设计空间并不规则，考虑到实际生产中提取次数只能是整数，为了方便操作，取红色框线内部分）。最终确定，最优设计空间为加水量 14~16 倍，提取时间 70~100 min，提取次数 3 次。

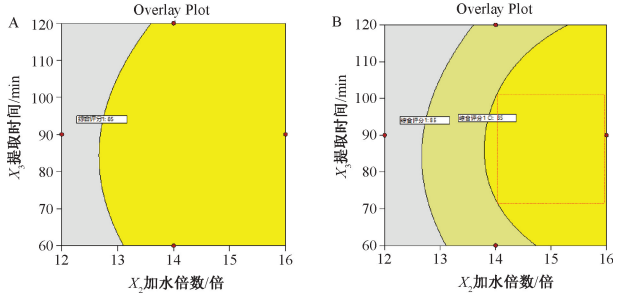


图 2 益元康丸提取工艺设计空间

再随机选取上述优化设计空间中的 4 个点进行验证试验，其中 1、2 号在空间内，3、4 号在空间外，结果见表 9。由此可知，1、2 号实验点综合评分均达到目标要求，而 3、4 号实验点均未达到，即在设计空间内操作可保证提取工艺合格。

表 9 验证试验结果 (n=4)

试验号	加水量/ 倍	提取时间/ min	提取次 数/次	含量/(mg·g ⁻¹)					出膏率/%	综合评分/分
				朝藿定 A1	朝藿定 A	朝藿定 B	朝藿定 C	淫羊藿苷		
1	15	100	3	0.282 1	0.341 9	0.380 9	0.385 9	22.400 6	7.545 3	96.62
2	14	90	3	0.309 8	0.375 2	0.432 6	0.423 6	24.315 1	7.443 0	98.85
3	12	60	1	0.144 5	0.166 4	0.190 6	0.193 9	8.916 9	2.545 0	37.49
4	13	60	2	0.256 2	0.284 5	0.337 8	0.325 6	16.975 7	4.420 6	69.92

3 讨论与结论

建立设计空间是 QbD 理念的关键点，关键工艺参数 (CPPs) 的筛选作为其重要一环，常用的方法有结合实际生产经验的分析法、鱼骨图法、试验设计方法、故障模式与效应分析法等^[20-22]。研究表明，影响中药提取的因素主要包括药材饮片、设备、环境因素、提取条件，其中前三者为客观因素，本实验所处的环境及所用的设备、饮片、提取溶剂均一致；后者属于主观因素，是影响提取工艺的关键。通过查阅文献 [6-7] 和前期实验，将提取次数、提取时间、加水量和浸泡时间确定为影响益元康丸提取过程的 CPPs。根据 Plackett-Burman 设计结果，采用 Box-Behnken 设计结合 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法优化益元康丸提取工艺，建立 CQAs 和 CPPs 之间的数学模型，构建的最优提取工艺设计空间为加水量 14~16 倍，提取时间 70~100 min，提取次数 3 次，经验证可知该工艺稳定可行，为后续该制剂成型工艺研究提供了可靠的方法。

参考文献：

[1] Food and Drug Administration. Guidance for industry: Q8 pharmaceutical development[S]. 2009.

[2] 连传运, 徐 冰, 王秋平, 等. 中药质量源于设计应用: 工艺控制策略[J]. 世界中医药, 2018, 13(3): 561-565; 573.

[3] 刘玉娟, 王永洁, 邓莉莉, 等. 基于质量源于设计理念的中药制剂工艺研究进展[J]. 中国现代中药, 2022, 24(3): 523-528.

[4] 李燕燕, 周玮玲, 侯寓森, 等. 基于质量源于设计理念优化都梁方渗漉提取工艺[J]. 中草药, 2023, 54(11): 3489-3500.

[5] 屠万倩, 刘一菲, 卢 新, 等. 基于质量源于设计理念多指标综合优选护肝解酒合剂提取工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(6): 651-656.

[6] 赵玥瑛, 王昌海, 张泽康, 等. 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[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6472-6480.

[7] 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.

[8] 徐立然, 陈关征, 李 欢. 艾滋病中医“脾为枢机”认识[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(9): 1675-1676.

[9] 徐立然, 马秀霞, 孟鹏飞. 脾在艾滋病中作用[J]. 环球中医药, 2012, 5(1): 35-37.

[10] 许前磊, 许二平, 谢世平, 等. 艾滋病中药治疗现状分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 196-202.

[11] 梅佳华, 崔利利, 郝佳旭, 等. 基于质量源于设计理念的复方蜘蛛香醇提工艺研究[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(8): 774-780.

[12] 张 梅, 况 刚, 张有金, 等. 基于设计空间法优化北刘寄奴-骨碎补的提取工艺研究[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2341-2347.

[13] 范苏玉. 灵芝多糖和三萜提取物体外免疫学评价[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.

[14] 丁瑞雪, 何 雁, 田 香, 等. 基于质量源于设计理念的地格达-4 味汤提取工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(13): 2799-2805.

[15] 周洁菁. 基于 QbD 理念的脑脉利颗粒中益母草提取工艺设计空间的建立与验证[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2016.

[16] 王晓丽, 沈哲苑, 李丽萍, 等. 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[J]. 中草药, 2023, 54(15): 4804-4811.

[17] 虬 蕾, 何红杰, 冯晓莉, 等. 基于响应面法结合 AHP-熵权法及指纹图谱的黄芪纳滤浓缩浸膏真空干燥工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(6): 1375-1379.

[18] 于 吉, 苏 娟, 黄浩洲, 等. 大建中方挥发油活性成分预测及提取工艺优化[J]. 中药材, 2022, 45(12): 2951-2957.

[19] 鲁 静, 牛晓静, 王梦珂, 等. 基于 AHP-熵权 TOPSIS 混合加权法和均匀设计法优化何首乌九蒸九制炮制工艺[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(7): 70-74.

[20] 熊皓舒, 田 埂, 刘 朋, 等. 中药生产过程质量控制关键技术研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(16): 4331-4337.

[21] 黄樱华, 李丹涛. Plackett-Burman 试验设计结合 Box-Behnken 响应面法优化泽兰总酚酸及总黄酮的分离纯化工艺[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(5): 2983-2987.

[22] 李 洁, 石晓峰, 叶倩女, 等. Plackett-Burman 设计结合 Box-Behnken 响应面法优化紫斑牡丹籽壳中低聚芪类和单萜苷类化合物的超声提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(1): 68-74.