

基于网络药理学和Box-Behnken响应面法优化祛湿减肥膏的提取工艺



刘姗姗^{1,2}, 王婉茹^{1,2}, 程曼茹¹, 肖予瞳¹, 程江雪^{1,2}, 郭东艳^{1,2}, 翟秉涛^{1,2}

1. 陕西中医药大学药学院 (西安 712046)
2. 陕西省中药基础与新药研究重点实验室 (西安 712046)

【摘要】目的 优化祛湿减肥膏的提取工艺。方法 通过网络药理学预测祛湿减肥膏活性成分,并借助分子对接技术验证活性成分与核心靶点的结合能力,结合方剂内各药味的配伍规则和药理作用,以确定祛湿减肥膏的工艺评价指标。采用层次分析法和熵权法相结合的方式确定各指标的权重系数,以综合评分作为最终评价指标。通过单因素试验与 Box-Behnken 响应面法优化祛湿减肥膏提取工艺。**结果** 筛选得到的祛湿减肥膏主要活性成分为柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素,分子对接结果表明这些活性成分与核心靶点结合能均较强 (<-5.0 kcal/mol)。柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素的权重系数分别为 0.191 8、0.281 2、0.113 0、0.323 8、0.090 2。最佳提取工艺为:以 10 倍量水煎煮 2 次,每次 1.5 h。验证试验结果显示,5 种指标成分含量与预测值一致,3 次平行试验的 RSD 均小于 5%。**结论** 该祛湿减肥膏的提取工艺稳定可行,为后续的深入研究奠定了基础。

【关键词】祛湿减肥膏;网络药理学;层次分析法;熵权法;Box-Behnken 响应面法;提取工艺;单因素试验

【中图分类号】 R283

【文献标识码】 A

Optimization of the extraction process of damp-removing weight loss paste based on network pharmacology and Box-Behnken response surface methodology

LIU Shanshan^{1,2}, WANG Wanru^{1,2}, CHENG Manru¹, XIAO Yutong¹, CHENG Jiangxue^{1,2}, GUO Dongyan^{1,2}, ZHAI Bingtao^{1,2}

1. School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

2. Shaanxi Key Laboratory of Chinese Medicine Fundamentals and New Drugs Research, Xi'an 712046, China

Corresponding authors: GUO Dongyan, Email: winter180@163.com; ZHAI Bingtao, Email: zbt17792075288@163.com

【Abstract】Objective To optimize the extraction process of damp-removing weight loss paste. Methods The active ingredients of damp-removing weight loss paste were predicted using network pharmacology, and the binding ability between active ingredients and core targets was verified by molecular docking technology. Based on the compatibility rules and pharmacological effects of various herbs in the prescription, the process evaluation indicators of damp-removing weight loss paste were determined. The weight coefficients of each indicator were determined by the

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202512056

基金项目: 2024 年国家级大学生创新训练计划项目 (202410716003); 陕西中医药大学学科创新团队项目 (2019-YL11)

通信作者: 郭东艳, 博士, 教授, 博士研究生导师, Email: winter180@163.com

翟秉涛, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, Email: zbt17792075288@163.com

combination of analytic hierarchy process and the entropy weight method, and the comprehensive score was used as the final evaluation indicator. The extraction process was optimized through single-factor experiments and Box-Behnken response surface methodology. **Results** The main active components of damp-removing weight loss paste were naringin, hesperidin, neohesperidin, nuciferine, and naringenin, and the molecular docking results indicated that these active ingredients had strong binding affinities with the core target (< -5.0 kcal/mol). The weight coefficients of naringin, hesperidin, neohesperidin, nuciferine, and naringenin were 0.191 8, 0.281 2, 0.113 0, 0.323 8, and 0.090 2, respectively. The optimal extraction process was as follows: decocting with 10-fold water for 2 times, each lasting 1.5 h. The verification experiments showed that the quantified contents of the 5 target components were in good agreement with the predicted values. The *RSD* calculated from 3 parallel experiments were all below 5%. **Conclusion** The extraction process of damp-removing weight loss paste is stable and feasible, and can lay the foundation for further in-depth research.

【Keywords】 Damp-removing weight loss paste; Network pharmacology; Analytic hierarchy process; Entropy weight method; Box-Behnken response surface methodology; Extraction process; Single-factor experiments

肥胖是一种与饮食、运动、遗传及内分泌等多种因素相关的复杂慢性代谢疾病^[1-2]，其发病率随着社会发展和生活水平的提高呈逐年上升趋势，健康减肥因此备受关注^[3-4]。目前研究表明，西医在肥胖治疗中虽具有一定疗效，但长期用药常伴随不良反应和耐药性问题。因此，中医药成为肥胖治疗领域的重要研究方向^[5]。

祛湿减肥膏为陕西中医药大学老中医储秀珍教授的临床经验方，该方由茯苓、陈皮、山楂、荷叶、枳实、炒薏苡仁、大枣 7 味药组成，具有健脾祛湿、行气消积之功效。该方以陈皮、枳实为君，理气化痰、破积消痞；臣以荷叶清热化湿；佐以茯苓、炒薏苡仁健脾渗湿，山楂消食化积；使以大枣调和诸药。全方以通为主，通中寓补，共奏理气化痰、祛湿减肥之功。在多年临床应用中，该方针对内热痰结、脾虚气滞型肥胖患者疗效显著，尤其在改善患者体重、降低体脂率、缓解脘腹胀满、肢体困重等中医证候方面效果确切，积累了良好的临床口碑。

尽管该方临床疗效显著，但目前医院代煎过程中多采用统一煎煮参数，未进行系统的工艺条件优化，难以满足方剂的个性化提取需求，这可能导致关键活性成分（如陈皮中的柚皮苷、橙皮苷、荷叶中的荷叶碱等）溶出不完全或不稳定，从而影响有效成分的提取率。目前，已有部分研究采用单一方法优化中药提取工艺，但多局限于少数指标成分，未从整体功效角度系统筛选关键成分并确定其权重，导致工艺优化缺乏药效学依据^[6]。

网络药理学可从系统层面解析复方多成分与疾病靶点的作用网络，为提取工艺优化明确关键成分与研究方向^[7-8]。然而，如何将成分分析与工艺参数有效结合，仍需建立更科学的评价体系。层次分析法（analytic hierarchy process, AHP）属于主观赋权方法，能够结合研究目标与专家经验反映各指标的相对重要性，但可能存在一定主观偏差^[9]；熵权法（entropy weight method, EWM）属于客观赋权方法，可依据指标数据离散程度确定权重，减少人为因素影响，但可能忽略指标的实际药效意义^[10]。为克服单一方法的局限性，本研究引入 AHP 与 EWM 相结合的主客观综合赋权法，兼顾专家经验对复方“君臣佐使”理论的主观判断与试验数据本身的客观规律。该方法既能反映成分在处方中的相对重要性，又能有效响应工艺参数的变化，构建一个合理的评价模型^[11]。进一步联合 Box-Behnken 响应面法，可在合理实验量基础上实现对多因素复杂系统的优化分析^[12]。

基于以上分析，本研究以中医理论为指导，运用现代制剂技术，对祛湿减肥膏的提取工艺进行优化，采用网络药理学预测主要活性成分，通过 AHP 与 EWM 相结合确定评价指标的权重系数，并通过单因素及响应面试验优选祛湿减肥膏的最佳提取工艺条件，以期祛湿减肥膏的后续开发与研究提供试验依据。

1 仪器与材料

1.1 主要仪器

Newclassic 型电子天平（梅特勒-托利多仪器

上海有限公司)；Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)；DZF-6050 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)；KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

饮片：茯苓(批号：230903)、山楂(批号：230901)、荷叶(批号：230801)、陈皮(批号：231101)、枳实(批号：231001)、大枣(批号：230701)、薏苡仁(批号：231201)均购自陕西康超康健药业有限公司，并经陕西中医药大学中药鉴定与资源教研室胡本祥教授鉴定符合《中国药典(2025 年版)》一部中相关药材的有关规定；对照品：柚皮苷(批号：HR16816B1，纯度 $\geq 98\%$)、橙皮苷(批号：HR16315S1，纯度 $\geq 98\%$)、新橙皮苷(批号：HR20321S1，纯度 $\geq 98\%$)、荷叶碱(批号：HS8331N1，纯度 $\geq 98\%$)、柚皮素(批号：HR2239W6，纯度 $\geq 98\%$)均购自宝鸡辰光生物科技有限公司；甲醇和乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 祛湿减肥膏网络药理学研究

2.1.1 祛湿减肥膏药物活性成分及其作用靶点信息

在中药系统药理学数据库与分析平台中(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology, TCSP, <https://tcmsp.com/tcmsp.php>)，根据类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 和口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 的标准^[13]，筛选出用于祛湿减肥膏的活性成分及相关靶点。由于TCSP数据库尚未收录山楂，故通过HERB(A High-throughput Experiment-and Reference-guided Database of Traditional Chinese Medicine, <http://herb.ac.cn/>)数据库检索山楂的化学成分及对应靶点，并结合相关文献进行补充完善。利用UniProt知识库(<https://www.uniprot.org/>)对获取的蛋白名称进行规范化处理，导入Excel软件对所有靶点进行合并与去重，最终获得祛湿减肥膏活性成分的作用靶点信息集。

2.1.2 疾病靶点和基因获取

在人类基因(GeneCards)数据库([https://](https://www.genecards.org/)

www.genecards.org/)和在线人类孟德尔遗传(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)数据库(<https://www.omim.org/>)中以“obesity caused by spleen deficiency and dampness obstruction”及“Spleen Deficiency Dampness Obesity”为检索词进行搜索，将获得的靶点合并去重后，共得到493个疾病相关靶点。在OMIM数据库中以“obesity due to phlegm-dampness”及“Spleen Deficiency Dampness Obesity”为检索词进行搜索，合并去重后获得316个靶点。将以上两个数据库来源的靶点进行整合并去除重复，最终获得与脾虚湿盛型肥胖相关的疾病靶点共计797个。

2.1.3 药物-疾病交集靶点筛选

将数据库中整理的祛湿减肥方中的所有靶点进行合并去重，共得到495个药物靶点。将与疾病相关的797个靶点一并导入Venny 2.1.0，最终得到102个交集靶点。结果见图1。

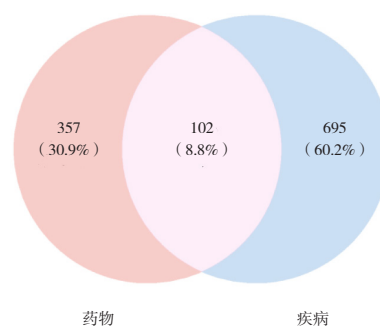


图1 祛湿减肥膏成分基因与脾虚湿阻肥胖病基因交集靶点韦恩图

Figure 1. Venn diagram of overlapping targets between genes of damp-removing weight loss paste ingredients and genes of spleen deficiency and dampness obstruction obesity

2.1.4 通过“祛湿减肥膏-活性成分-交集靶点”网络图筛选活性成分

运用Cytoscape 3.9.1软件构建“祛湿减肥膏-活性成分-交集靶点”网络图，并对其进行可视化分析，结果见图2。该网络共包含203个节点和418条边。其中绿色倒三角代表药物，周围连接的圆圈代表药物的活性成分；蓝色方块代表药物与疾病的交集靶点，节点大小均根据度值排列，度值越大，节点形状越大；六边形代表药物与疾病的共有成分，其颜色深度随度值增大而加深。通过软件对度值进行排名，并结合权重系数进行综合分析，筛选得到排名前13的活性成分，结果见表1。

明活性成分与靶点蛋白结合力较强，具体结果见表3。进一步通过 PyMol 软件对结合能较强的对接结果进行可视化处理，结果见图4。

从处方药味来源及配伍地位分析，柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷和柚皮素主要来源于君药枳实与陈皮；荷叶碱来源于臣药荷叶，且具有明确的降脂活性。上述成分在“复方-成分-靶点”网络中均具有较高值，与核心靶点具有良好的结合活性。此外，橙皮苷、荷叶碱分别为《中国药典（2025年版）》一部^[14]中陈皮、荷叶项下的含量测定指标成分，柚皮苷、新橙皮苷和柚皮素虽未单独列为质控指标，但其与橙皮苷同属黄酮类成分，在相同色谱条件下可实现同步检测。因此，综合分子对接结合强度、方剂配伍地位及药典可测性，最终选定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素作为祛湿减肥膏提取工艺的关键评价成分。

表3 活性成分与主要靶点的分子对接结合能

Table 3. Molecular docking binding energy between active ingredients and main targets

活性成分	结合能 (kcal/mol)				
	IL-6	TNF	IL-1 β	TP53	EGFR
α -香树脂醇	-7.648	-9.974	-7.292	-7.591	-7.293
绿原素	-7.773	-10.100	-7.882	-8.625	-9.461
橙皮苷	-7.912	-8.664	-8.084	-8.313	-10.31
异鼠李素	-6.160	-7.859	-6.799	-7.457	-8.609
山柰酚	-6.238	-7.245	-6.745	-6.966	-8.678
木犀草素	-6.574	-8.807	-7.524	-7.59	-8.518
柚皮素	-6.400	-7.398	-6.702	-7.498	-7.229
柚皮苷	-7.301	-8.837	-7.455	-8.003	-10.000
新橙皮苷	-6.545	-7.557	-6.994	-7.002	-7.759
川陈皮素	-5.766	-7.455	-6.579	-6.049	-7.541
荷叶碱	-6.255	-8.340	-6.767	-6.092	-7.545
槲皮素	-6.327	-7.287	-6.945	-6.812	-8.635
莲碱	-7.012	-8.973	-7.236	-7.229	-8.667

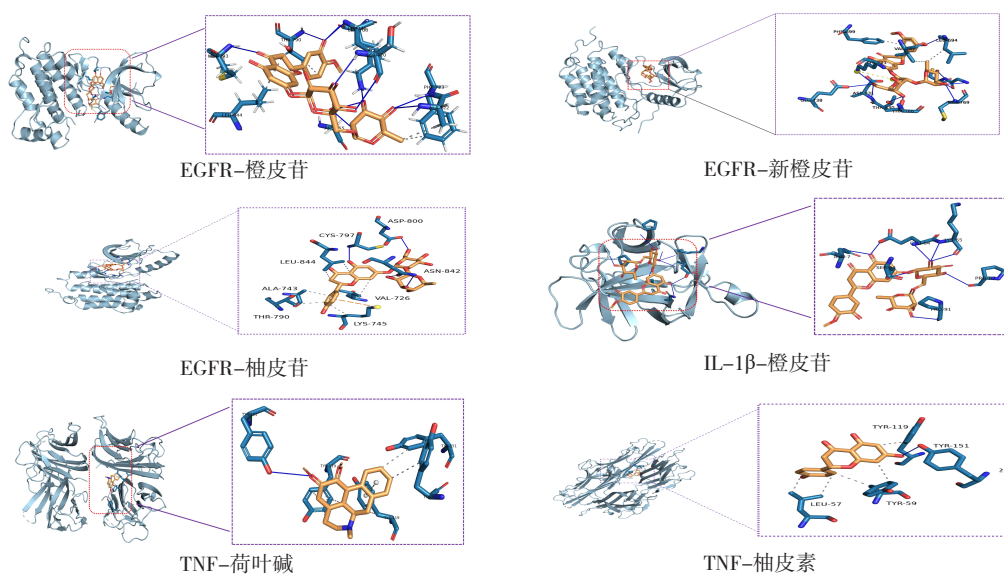


图4 部分分子对接可视化图

Figure 4. Partial molecular docking visualization diagrams

2.2 活性成分的含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱：Thermo Hypersil GOLDTM (250 mm × 4.6 mm, 5 μ m)；流动相：乙腈 (A) -0.1% 磷酸水溶液 (B)，梯度洗脱 (0~10 min, 20%~40% A；10~15 min, 40%~60% A；15~20 min, 60%~20% A；20~25 min, 20% A)；检测波长：280 nm；流速：1.0 mL/min；柱温：30 $^{\circ}$ C；进样量：10 μ L^[15]。

2.2.2 混合对照品溶液的制备

精密称取柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素对照品 1.40、23.00、1.40、2.90、

0.12 mg，分别置于 5 mL 量瓶中，加入甲醇定容，制备对照品母液。按比例分别量取上述母液适量，加入甲醇制得到每 1 mL 中含柚皮苷 84.00 μ g、橙皮苷 920.00 μ g、新橙皮苷 84.00 μ g、荷叶碱 116.00 μ g、柚皮素 4.60 μ g 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备

精密量取祛湿减肥膏水提浓缩液 1.6 mL，加入甲醇溶液定容至 5 mL，密塞，超声 (功率：300 W，频率：50 kHz) 处理 30 min，用甲醇定容至刻度，摇匀，用 0.22 μ m 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备

按祛湿减肥膏的制备方法，制备不含山楂、枳实、荷叶、陈皮的阴性样品，然后按“2.2.3”项下方法制备阴性样品溶液。

2.2.5 系统适用性试验

分别取柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素各对照品母液、供试品溶液及阴性样品溶液适量，按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图（图5）。结果显示，对照品溶液与供试品溶液各成分峰的保留时间一致，阴性样品无干扰，表明该方法专属性良好。

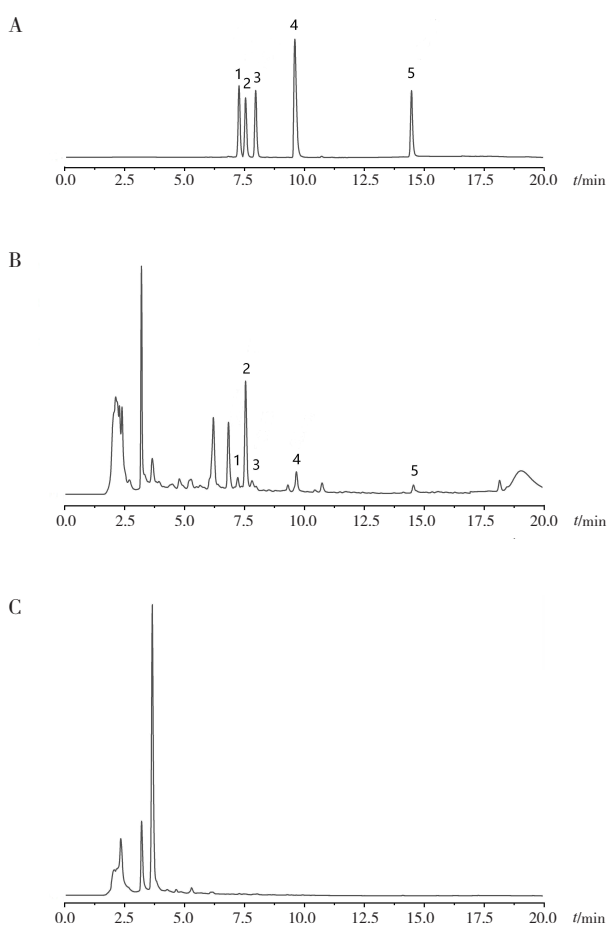


图5 HPLC色谱图

Figure 5. HPLC chromatograms

注：A. 对照品溶液；B. 供试品溶液；C. 阴性样品溶液；1. 柚皮苷；2. 橙皮苷；3. 新橙皮苷；4. 荷叶碱；5. 柚皮素。

2.2.6 线性考察

将“2.2.2”项下混合对照品溶液用甲醇逐级稀释2、4、6、8、10、12倍，得到6个不同浓度的系列溶液。按“2.2.1”项下色谱条件进样测定，以峰面积积分值（ Y ）对质量浓度（ X ， $\mu\text{g/mL}$ ）绘制标准曲线，并进行线性回归。得到

回归方程分别为：柚皮苷 $Y=12\ 625X+2.162\ 5$ ($r=0.999\ 2$)；橙皮苷 $Y=14\ 077X+114.15$ ($r=0.999\ 6$)；新橙皮苷 $Y=15\ 949X+3.487\ 5$ ($r=0.994\ 5$)；荷叶碱 $Y=24\ 898X+1.754\ 2$ ($r=0.999\ 4$)；柚皮素 $Y=20\ 925X-0.158\ 3$ ($r=0.999\ 3$)。结果表明，柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素分别在5.25~84.00、57.50~920.00、5.25~84.00、7.25~116.00、0.29~4.60 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

2.2.7 精密度试验

精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液10 μL ，按“2.2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录各成分峰面积。结果得到柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素峰面积的RSD分别为0.31%、0.24%、1.25%、0.24%、0.89% ($n=6$)，表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验

将供试品溶液分别于室温 [$(25 \pm 2)^\circ\text{C}$]条件下放置0、2、4、6、8、12、24 h后按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果得到柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素峰面积的RSD分别为3.08%、1.96%、2.84%、1.67%、2.09% ($n=7$)，表明供试品溶液在室温条件下放置24 h稳定性良好。

2.2.9 重复性试验

取同一祛湿减肥膏样品，按“2.2.3”项下方法平行制备6份供试品溶液，并按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果得到柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素平均含量分别为163.54、3 678.12、177.26、625.78、14.23 $\mu\text{g/g}$ ，RSD分别为3.06%、1.85%、2.79%、1.86%、2.06% ($n=6$)，表明该方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验

精密称取已知含量的祛湿减肥膏样品6份，分别精密加入与样品中待测成分含量相当的柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素对照品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，并按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。计算得到柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素的平均加样回收率分别为98.50%、99.01%、102.14%、101.21%、99.46%，RSD分别为1.04%、1.98%、1.24%、1.69%、2.34% ($n=6$)。表明该方法的准确度良好。

2.3 综合评分的建立

2.3.1 AHP法确定各成分权重系数

本试验遵循祛湿减肥膏君臣佐使的配伍原则，结合《中国药典（2025年版）》一部^[14]及相关文献^[16-18]中各组分的药理作用与网络药理学研究结果，综合确定了5种关键指标成分。根据其在处方中的重要程度，将其划分为3个层次，其重要性排序为：荷叶碱=橙皮苷>柚皮苷>新橙皮苷=柚皮素。以各成分的提取量为综合考量指标，借助SPSSPRO平台（Scientific Platform Serving for Statistics Professional，<https://www.spsspro.com/>），构建指标成分间两两比较的判断矩阵，并对各指标赋予相应的相对评分，结果见表4。采用AHP法计算得柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱和柚皮素的权重系数分别为0.1765、0.3130、0.0988、0.3130、0.0988。经一致性检验，一致性比率为0.003（<0.10），表明判断矩阵具有满意的一致性，所计算的权重系数有效可靠。

2.3.2 EWM确定各成分权重系数

参考文献^[19]方法，按照EWM权重分配流程，通过数据规范化处理、原始数值向概率形态的转换以及指标熵值的明确等多个运算环节，最终确定各项指标的权重系数，结果见表5。

表4 各指标成对比较的优先判断矩阵

Table 4. Priority judgment matrix for pairwise comparison of each index

指标指数	柚皮素	新橙皮苷	柚皮苷	荷叶碱	橙皮苷
柚皮素	1	1	0.5	0.333	0.333
新橙皮苷	1	1	0.5	0.333	0.333
柚皮苷	2	2	1.0	0.500	0.500
荷叶碱	3	3	2.0	1.000	1.000
橙皮苷	3	3	2.0	1.000	1.000

表5 指标成分AHP、EWM权重系数与综合权重系数（%）

Table 5. Index component AHP, EWM weight coefficients and comprehensive weight coefficients (%)

评价方式	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	荷叶碱	柚皮素
AHP	17.65	31.30	9.88	31.30	9.88
EWM	21.41	17.70	22.53	20.38	17.99
F _{综合}	19.18	28.12	11.30	32.38	9.02

2.3.3 AHP-EWM综合权重系数的确定

根据公式（1）计算AHP法与EWM法所得权重系数的综合权重（F_{综合}）^[20]，结果见表5。

$$F_{综合} = \frac{F_{iAHP} \times F_{iEWM}}{\sum_{i=1}^n F_{iAHP} \times F_{iEWM}} \quad (i=1,2,3,\dots,n) \quad (1)$$

结合EWM最终计算得到5种指标成分柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱、柚皮素的权重系数分别为0.1918、0.2812、0.1130、0.3238、0.0902。

2.3.4 综合评分计算

综合评分（W）按公式（2）^[21]进行计算，式中c_i为第i个指标成分的含量。

$$W = \sum_{i=1}^n F_{综合i} \times \frac{c_i}{\max c_i} \quad (i=1,2,3,\dots,n) \quad (2)$$

2.4 单因素试验

按处方比例称取药材61.33g，分别在不同提取条件下煎煮、过滤，滤液浓缩至1.23g/mL，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液。以综合评分为指标，考察不同加水倍数、提取时间和提取次数对提取效果的影响。

2.4.1 药材浸泡时间对吸水率的影响

按处方比例称取3份药材，分别置于烧杯内，以10倍量水浸泡并密封。分别于30、60、90、120、150、180min时取出，滤干药材表面水分，称定湿重，烘干至恒重后计算吸水率，考察浸泡时间对吸水率的影响，结果见图6。结果表明，浸泡150min时药材吸水率达102.92%，之后趋于平衡。综合考虑实际生产需求，确定药材浸泡时间为150min。

2.4.2 加水量对综合评分的影响

按祛湿减肥膏处方比例称取药材5份，分别加入6、8、10、12、14倍量水，提取1次，提取时间1h，考察加水量对提取效果的影响。以综合评分为指标，图7结果显示，随着加水量的增加，综合评分呈先升后降趋势；当加水量为10倍量时综合评分达到峰值，之后逐渐降低。因此，确定最佳加水量为10倍。

2.4.3 提取时间对综合评分的影响

按祛湿减肥膏处方比例称取药材5份，加10倍量水，提取1次，提取时间分别设定为0.5、1、1.5、2、2.5h，考察加提取时间对提取效果的影响。以综合评分为指标，图8结果显示，随着提取时间的增加，综合评分呈先升后降趋势；提取1.5h时综合评分达到峰值，之后逐渐降低。因此，确定最佳提取时间为1.5h。

2.4.4 提取次数对综合评分的影响

按祛湿减肥膏处方比例称取药材5份，加10倍量水，提取1.5h，分别考察提取1、2、3、

4次的效果。以综合评分为指标,图9结果显示,随着提取次数的增加,综合评分呈先升后降趋

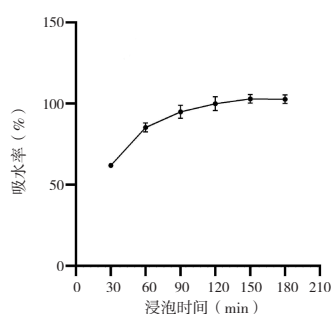


图6 药材浸泡时间对吸水率的影响 ($n=3$)

Figure 6. Effect of medicinal material soaking time on water absorption rate ($n=3$)

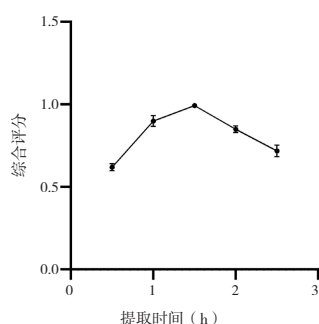


图8 提取时间对综合评分的影响 ($n=3$)

Figure 8. Effect of extraction time on comprehensive score ($n=3$)

2.5 Box-Behnken响应面试验

2.5.1 试验设计

在单因素试验基础上,选择加水量(A)、提取时间(B)和提取次数(C)为考察因素,以柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱、柚皮素含量的综合评分为响应值,采用Box-Behnken响应面法对提取工艺进行优化。因提取次数为离散变量,且考察范围较窄(仅设3个水平),其在区间内对响应值的影响可近似视为连续变化^[22]。采用Design-Expert 13.0.14软件进行试验设计,得到优化后的提取次数经模型预测后,需通过试验验证其合理性,并取整数作为实际工艺参数。因素水平设置见表6,Box-Behnken响应面试验设计与结果见表7。

2.5.2 模型建立及显著性检验

采用Design Expert 13.0.14软件对综合评分进行多元二次回归拟合,得到回归方程: $Y=0.9646+0.0281A+0.0014B+0.0095C-0.0817AB-0.0463AC-0.1259BC-0.2299A^2-0.0923B^2-$

势;提取2次时综合评分达到峰值,之后逐渐降低。因此,确定最佳提取次数2次。

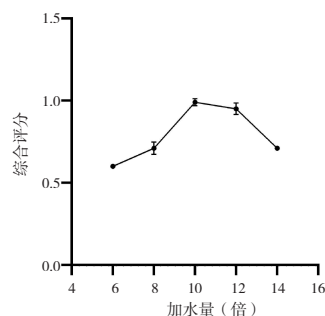


图7 加水量对综合评分的影响 ($n=3$)

Figure 7. Effect of water addition on comprehensive score ($n=3$)

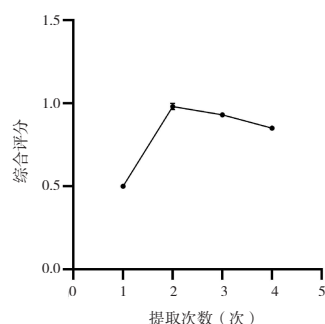


图9 提取次数对综合评分的影响 ($n=3$)

Figure 9. Effect of extraction times on comprehensive score ($n=3$)

$0.3063C^2$ 。响应面方差分析结果见表8。由表可知,模型极显著($P<0.0001$),表明模型可靠;回归系数为0.9827,变异系数为6.79%,说明模型具有较好的拟合性;失拟项不显著($P>0.05$),表明未知因素干扰小,模型稳定性好。各因素对综合评分的影响程度依次为A(加水量) $>$ C(提取次数) $>$ B(提取时间)。其中,二次项 A^2 和 C^2 对响应值有极显著影响($P<0.01$)。

2.5.3 响应面分析

根据Box-Behnken试验设计结果,绘制各因素交互作用对综合评分影响的3D响应面图及等高线图,见图10。各因素交互作用强度顺序为:BC $>$ AB $>$ AC。采用Design-Expert 13.0.14软件对提取工艺进行优化,预测最佳工艺参数为:加水量10.132倍、煎煮时长1.483h、提取次数2.018次。综合考虑生产实际,将工艺参数调整为加10倍量水,提取2次,每次1.5h。

2.5.4 验证试验

按优化后的工艺参数进行3次平行验证试

验。按处方比例称取药材，并按调整后工艺条件进行提取、浓缩，测定柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、荷叶碱、柚皮素的含量，并计算综合评分，结果见表9。综合评分均值为0.941，与软件预测值0.966接近，RSD均小于5%，表明该提取工艺稳定可行。

表6 因素水平表
Table 6. Factor level table

水平	因素		
	A 加水量 (倍)	B 提取时间 (h)	C 提取次数 (次)
-1	8	1.0	1
0	10	1.5	2
1	12	2.0	3

表7 Box-Behnken试验设计及结果

Table 7. Design and results of the Box-Behnken experimental design

试验号	A	B	C	柚皮苷 (μg/g)	橙皮苷 (μg/g)	新橙皮苷 (μg/g)	荷叶碱 (μg/g)	柚皮素 (μg/g)	综合评分
1	8	1	2	149.43	2 144.56	137.52	534.62	8.81	0.50
2	12	1.5	1	121.65	1 896.54	110.63	515.50	11.77	0.46
3	8	1.5	3	134.12	2 135.31	134.12	455.40	13.04	0.49
4	10	2	3	124.29	2 049.64	125.49	417.39	14.62	0.47
5	10	1	1	113.24	1 755.61	105.39	469.29	7.96	0.41
6	12	2	2	153.91	2 982.66	169.36	656.54	11.07	0.62
7	8	2	2	155.36	2 948.11	119.72	731.93	18.54	0.65
8	8	1.5	1	102.08	1 620.00	98.59	438.76	8.24	0.39
9	12	1	2	161.74	3 933.01	202.34	906.69	15.59	0.79
10	10	1.5	2	272.89	4 455.22	241.57	1 063.41	18.86	0.99
11	10	1.5	2	258.03	4 297.90	230.47	957.75	17.61	0.92
12	10	1.5	2	268.16	4 510.03	243.34	1 015.62	18.50	0.97
13	10	1	3	211.62	2 062.75	193.38	837.96	17.29	0.70
14	10	1.5	2	274.54	4 630.78	245.20	1032.69	19.06	0.99
15	12	1.5	3	98.77	1 731.41	99.96	391.17	7.88	0.38
16	10	2	1	185.27	3 066.53	187.00	699.40	14.75	0.68
17	10	1.5	2	264.37	4 349.15	228.89	1 030.80	18.26	0.95

表8 二次回归方程方差分析及系数显著性检验

Table 8. Analysis of variance and coefficient significance test for quadratic regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	0.819 5	9	0.091 1	44.10	<0.000 1
A	0.006 3	1	0.006 3	3.07	0.123 2
B	0.000 0	1	0.000 0	0.007 2	0.934 8
C	0.000 7	1	0.000 7	0.348 8	0.573 4
AB	0.026 7	1	0.026 7	12.92	0.008 8
AC	0.008 6	1	0.008 6	4.15	0.081 1
BC	0.063 4	1	0.063 4	30.71	0.000 9
A ²	0.222 5	1	0.222 5	107.78	<0.0001
B ²	0.035 9	1	0.035 9	17.38	0.004 2
C ²	0.395 1	1	0.395 1	191.35	<0.000 1
残差	0.014 5	7	0.002 1		
失拟度	0.011 4	3	0.003 8	5.03	0.076 4
纯误差	0.003 0	4	0.000 8		
总离差	0.834 0	16			

表9 验证试验结果 (n=3)

Table 9. Verification testing results (n=3)

试验号	含量 (μg/g)					综合评分
	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	荷叶碱	柚皮素	
1	251.25	4 106.35	216.34	971.83	17.01	0.945 2
2	232.89	4 281.43	221.10	966.62	16.08	0.931 7
3	247.62	4 234.49	222.15	936.27	17.09	0.947 1
平均值	243.92	4 207.42	219.86	958.24	16.73	0.941 3
RSD (%)	3.99	2.15	1.41	2.00	3.35	0.89

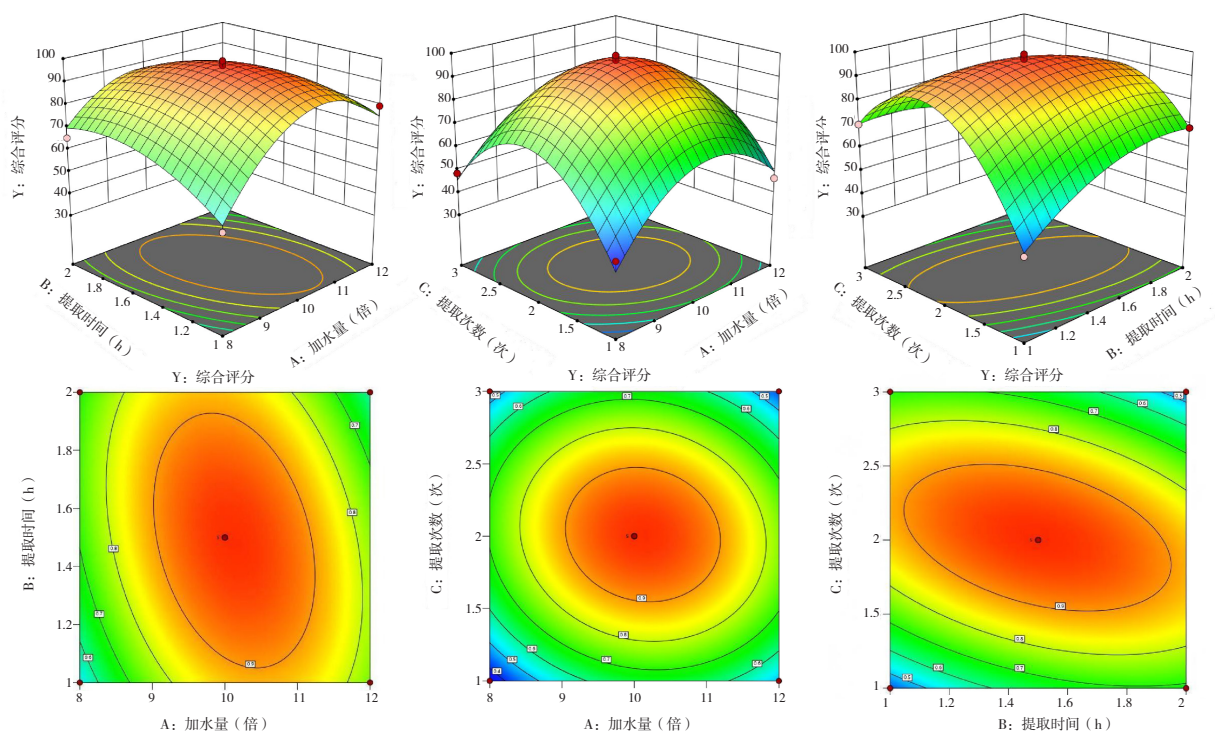


图10 交互作用的三维响应面图及等高线图

Figure 10. Three-dimensional response surface plots and contour plots of the interaction

注: A. 加水量; B. 提取时间; C. 提取次数。

3 讨论

中药复方成分复杂, 往往是通过多种成分协同发挥作用, 充分体现了中医“整体观”的治疗理念^[23]。网络药理学是一种基于“多成分-多靶点-多通路”整体作用理念的研究方法, 可通过数据库挖掘与网络分析系统预测中药复方的潜在活性成分。将其引入提取工艺优化中, 能够以核心活性成分作为指标确定关键质量指标, 使工艺参数优化更直接服务于疗效提升^[24]。

本研究通过网络药理学方法筛选出祛湿减肥膏治疗脾虚湿阻型肥胖的活性成分及潜在作用靶点, 通过构建PPI网络确定了IL-6、TNF、IL-1 β 、TP53、EGFR 5个核心靶点。分子对接结果进一步验证了活性成分与核心靶点之间较强的结合活性, 其中来源于枳实、陈皮的橙皮苷、柚皮苷与核心靶点EGFR的结合能分别低至-10.31 kcal/mol和-10.00 kcal/mol, 结合力最强; 荷叶碱、新橙皮苷和柚皮素与多个靶点的结合能也均稳定低于-6.0 kcal/mol。

网络药理学分析不仅为活性成分的筛选提供了依据, 同时还可用于指导提取工艺中关键质量指标的确定, 使后续的提取工艺优化不再局限于

传统的外观指标(如浸出物得率)。但网络药理学分析在成分覆盖性和靶点预测方面仍存在一定局限性, 结合相关文献报道^[25]可进一步提高研究结果的科学性与完整性。如王松雪^[16]的研究证实, 柚皮苷与柚皮素在体外环境中能有效抑制胰脂肪酶的活性, 并揭示了其抑制作用机制。新橙皮苷、橙皮苷和柚皮苷等黄酮类提取物可显著抑制肥胖, 也具有抑制胰脂肪酶的作用, 有助于控制肥胖^[17]。荷叶中所含的生物碱成分对于脂肪细胞的分化进程及胰脂肪酶的活性具有明显的抑制作用, 是降低高血脂大鼠血脂水平和体重的关键活性物质^[18]。

在复方提取工艺优化中, AHP与EWM联用可弥补单一方法的不足。AHP融入“君臣佐使”配伍理论等专家经验, 体现成分在处方中的相对重要性, 保留专业认知对工艺优化的指导意义; EWM则减少人为偏差, 使权重确定更贴合工艺的复杂性与系统性, 二者结合可更科学地筛选最优提取条件^[26]。

传统正交试验等方法对提取工艺的整体性、动态性评估不足, 难以实现全局优化^[27]。Box-Behnken响应面法通过合理设计试验方案, 可同时考察加水倍量、提取时间、提取次数及其交互

作用对提取工艺的影响,从而更准确地确定最优工艺条件^[28]。综合考虑生产实际,最终选定最佳工艺为:加 10 倍量水,提取 2 次,每次 1.5 h。验证试验结果显示,5 种成分的实际含量与预测值接近,*RSD* 均小于 5%,表明工艺重现性良好,各成分含量稳定。综上所述,本研究优化后的工艺稳定可行、重复性好,可为祛湿减肥膏的后续开发研究提供试验依据。

参考文献

- 1 吴金宇,张彬彬,张林,等. 中医治疗肥胖的临床和现代药理学研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2025, 39(5): 85–88. [Wu JY, Zhang BB, Zhang L, et al. Advances in clinical research and modern pharmacological discoveries on obesity treated by traditional Chinese medicine in recent years[J]. Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine, 2025, 39(5): 85–88.] DOI: 10.13729/j.issn.1671-7813.Z20241268.
- 2 Zhu HX, Yi XH, He MY, et al. Exploring the interplay of genetic variants and environmental factors in childhood obesity: a systematic review and meta-analysis[J]. Metabolism, 2025, 170: 156303. DOI: 10.1016/J.METABOL.2025.156303.
- 3 国家卫生健康委办公厅. 体重管理指导原则(2024年版)[EB/OL]. (2024-12-05) [2025-06-04]. <https://www.nhc.gov.cn/fylyjs/zcwj/202412/75cb79c171c94def9e768193e65484f7.shtml>.
- 4 国家卫生健康委. 中国居民营养与慢性病状况报告(2020年)[EB/OL]. (2020-12-22) [2025-06-04]. http://www.scio.gov.cn/xwfb/fbhyg_13737/wqfbhyg/202307/t20230725_742732.html.
- 5 鲁鑫. 浅谈科学减肥与运动健康[J]. 当代体育科技, 2015, 5(31): 13–14. [Lu X. A brief discussion on scientific weight loss and exercise health[J]. Contemporary Sports Technology, 2015, 5(31): 13–14.] DOI: 10.16655/j.cnki.2095-2813.2015.31.013.
- 6 曹冬梅,张伟,杜国辉,等. 响应面分析法优化复方益母草口服液提取工艺研究[J]. 河北中医药学报, 2015, 30(3): 44–46, 64. [Cao DM, Zhang W, Du GH, et al. Response surface analysis for optimizing extraction process of compound motherwort oral liquid [J]. Journal of Hebei Traditional Chinese Medicine and Pharmacology, 2015, 30(3): 44–46, 64.] DOI: 10.16370/j.cnki.13-1214/r.2015.03.022.
- 7 Ruan XF, Du P, Zhao K, et al. Mechanism of Dayuanyin in the treatment of coronavirus disease 2019 based on network pharmacology and molecular docking[J]. Chin Med, 2020, 15: 62. DOI: 10.1186/s13020-020-00346-6.
- 8 许文雅. 基于网络药理学和 LC-MS/MS 定量方法优化三子养亲汤提取工艺及其脂质体的制备[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2025. DOI: 10.26921/d.cnki.ganyu.2025.001522.
- 9 黄钰芳,陈亚明,曹瑞,等. 层次分析-指标相关性赋权系数法赋权的响应面法优化黄芩提取工艺及其抗炎活性研究[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(13): 1377–1384. [Huang YF, Chen YM, Cao R, et al. Optimization of extraction process of Scutellaria
- baicalensis Georgi by response surface methodology based on AHP-CRITIC weight assignment method and research on its anti-inflammatory activity[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2023, 32(13): 1377–1384.] DOI: 10.3969/j.issn.1003-3734.2023.13.013.
- 10 彭金清,魏江存,吴彬欣,等. AHP-熵值法结合正交设计优化清毒止带合剂的提取工艺[J]. 中南药学, 2025, 23(9): 2514–2520. [Peng JQ, Wei JC, Wu CX, et al. Extraction optimization of Qingdu Zhidai mixture by AHP-entropy method combined with orthogonal design [J]. Central South Pharmacy, 2025, 23(9): 2514–2520.] DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.09.007.
- 11 邓庆庆,王小平,王亚丽. 层次分析-熵权复合权重法结合 Box-Behnken 响应面优化疏筋解毒方的提取工艺[J]. 华西药理学杂志, 2026, 41(1): 55–61. [Deng QQ, Wang XP, Wang YL, et al. Optimization of extraction process of Shujin Jiedu prescription using AHP-EWM integrated weighting combined with Box-Behnken response surface methodology[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2026, 41(1): 55–61.] DOI: 10.13375/j.cnki.wjps.2026.01.010.
- 12 Lu XY, Wang XM, Li XF, et al. Optimization of preparation process of flavonoid phospholipid complex of guava leaves by Box-Behnken response surface methodology[J]. Journal of Life Sciences and Agriculture, 2024, 1(4): 11–19. DOI: 10.62517/JLSA.202407402.
- 13 王嘉雯,王洁,樊强强,等. 基于网络药理学和 Box-Behnken 响应面法优化养心颗粒提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(15): 2064–2075. [Wang JW, Wang J, Fan QQ, et al. Optimization of the extraction process of heart-nourishing granule based on network pharmacology and Box-Behnken response surface method[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2023, 40(15): 2064–2075.] DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20222473.
- 14 中国药典 2025 年版. 一部[S]. 2025: 206, 266, 296.
- 15 李诗琪,彭云,高原,等. 枳术颗粒多指标成分含量测定及化学计量学分析[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(2): 224–232. [Li SQ, Peng Y, Gao Y, et al. Content determination and chemometric analysis of multi-index components in Zhizhu granules[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2024, 44(2): 224–232.] DOI: 10.16155/j.0254-1793.2024.02.04.
- 16 王松雪. 柚皮苷和柚皮素对脂肪酶的抑制作用及对大鼠的减肥作用[D]. 天津: 天津科技大学, 2022. DOI: 10.27359/d.cnki.gtqgu.2022.001012.
- 17 Huang R, Zhang Y, Shen SY, et al. Antioxidant and pancreatic lipase inhibitory effects of flavonoids from different citrus peel extracts: an in vitro study[J]. Food Chem, 2020, 326: 126785. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126785.
- 18 程婷婷,原新博,惠小涵,等. 荷叶生物碱成分及其调脂机制研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(8): 1998–2003. [Cheng TT, Yuan XB, Hui XH, et al. Research progress on chemical constituents and lipid-lowering mechanism of alkaloids in Nelumbinis Folium[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(8): 1998–2003.] DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.034.

- 19 曾海蓉, 李婷娜, 冉倩, 等. 基于熵权法结合 Box-Behnken 响应面法优化桂枝芍药知母颗粒复方提取工艺 [J]. 中草药, 2020, 51(1): 84–90. [Zeng HR, Li TN, Ran Q, et al. Optimization of extraction process of compound Guizhi Shaoyao Zhimu granules by combination of response surface methodology with entropy weight method[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2020, 51(1): 84–90.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.013](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2020.01.013).
- 20 韩云凤, 唐茜, 石懿, 等. 基于熵权法-层次分析法结合响应面法优化养阴润目颗粒的提取工艺 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(7): 896–903. [Han YF, Tang Q, Shi Y, et al. Optimization of extraction process for Yangyin Runmu granules by Box-Behnken design based on entropy weight method-analytic hierarchy process method[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2022, 39(7): 896–903.] DOI: [10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.07.006](https://doi.org/10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.07.006).
- 21 邓雪, 李家铭, 曾浩健, 等. 层次分析法权重计算方法分析及其应用研究 [J]. 数学的实践与认识, 2012, 42(7): 93–100. [Deng X, Li JM, Zeng HJ, et al. Research on computation methods of AHP wight vector and its applications[J]. Mathematics in Practice and Theory, 2012, 42(7): 93–100.] DOI: [10.3969/j.issn.1000-0984.2012.07.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-0984.2012.07.012).
- 22 陆礼和, 黄乐观, 董文洁, 等. Box-Behnken 响应面法优化紫苏子配方颗粒提取工艺研究 [J]. 药学前沿, 2025, 29(3): 398–405. [Lu LH, Huang LG, Dong WJ, et al. Study on optimization of the extraction process of Perillae fructus formula granules by Box-Behnken response surface methodology[J]. Frontiers in Pharmaceutical Sciences, 2025, 29(3): 398–405.] DOI: [10.12173/j.issn.2097-4922.202409102](https://doi.org/10.12173/j.issn.2097-4922.202409102).
- 23 姚新生. 中国传统医药产业的现状及其发展愿景 [J]. 中草药, 2021, 52(17): 5115–5119. [Yao XS. Present situation and development prospect of traditional Chinese medicine industry [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(17): 5115–5119.] DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2021.17.001](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2021.17.001).
- 24 曹蕾, 邹明慧, 秦雪莹, 等. 基于网络药理学结合正交设计优化复方降脂口服液的提取工艺 [J]. 科学技术与工程, 2023, 23(25): 10737–10745. [Cao L, Zou MH, Qin XY, et al. Optimization of extraction process of compound lipid-lowering oral liquid based on network pharmacology and orthogonal design method[J]. Science Technology and Engineering, 2023, 23(25): 10737–10745.] DOI: [10.3969/j.issn.1671-1815.2023.25.015](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-1815.2023.25.015).
- 25 陶丽, 柯志鹏, 王团结, 等. 网络药理学前沿技术与发展态势: 专利文献计量学分析 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(11): 3070–3078. [Tao L, Ke ZP, Wang TJ, et al. Frontier technologies and development trends of network pharmacology: a patent bibliometric analysis[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2025, 50(11): 3070–3078.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20250410.701](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20250410.701).
- 26 夏提古丽·塔西买买提, 赵媛, 刘艺, 等. 熵权法-层次分析法结合 Box-Behnken 响应面法优化雪莲益肾方的提取工艺 [J]. 中国药房, 2023, 34(15): 1858–1862. [Taximaimaiti X, Zhao Y, Liu Y, et al. Optimization of the extraction process for Xuelian Yishen formula by the combination of entropy weight method-analytic hierarchy process with Box-Behnken response surface methodology[J]. China Pharmacy, 2023, 34(15): 1858–1862.] DOI: [10.6039/j.issn.1001-0408.2023.15.13](https://doi.org/10.6039/j.issn.1001-0408.2023.15.13).
- 27 李倩, 吴冰, 裴京楠, 等. 正交试验法优化参芪通脉口服液制备工艺 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(10): 1773–1781. [Li Q, Wu B, Pei JN, et al. Optimization of preparation process of Shenqi Tongmai oral liquid by orthogonal test[J]. Modern Chinese Medicine, 2024, 26(10): 1773–1781.] DOI: [10.13313/j.issn.1673-4890.20231114002](https://doi.org/10.13313/j.issn.1673-4890.20231114002).
- 28 张慧月, 孙磊, 吴记勇. 基于 Box-Behnken 设计-响应面法结合 G1-熵权法优化普济消毒口服液的提取工艺 [J]. 药学前沿, 2023, 26(12): 382–392. [Zhang HY, Sun L, Wu JY, et al. Optimization of extraction technology for Puji disinfection oral liquid based on combination of G1-entropy weight method and Box-Behnken design-response surface methodology[J]. Frontiers in Pharmaceutical Sciences, 2023, 26(12): 382–392.] DOI: [10.12173/j.issn.1008-049X.202209299](https://doi.org/10.12173/j.issn.1008-049X.202209299).

收稿日期: 2025 年 12 月 17 日 修回日期: 2026 年 03 月 01 日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳