

响应面优化法在中药研究中的应用和发展

彭晓霞, 路莎莎

(甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 以介绍响应面优化法的原理、设计方法及其在中药研究中的应用和发展为目的, 查阅 cnki 数据库相关文献 18 篇, 介绍响应曲面法概念原理、设计方法、操作步骤, 其中涉及一阶响应曲面的正交设计、二阶响应面的组合设计、二阶响应面的正交设计、二阶响应面的旋转设计等设计, 通过实例说明相应面优化法在中药提取、中药制剂工艺、中药处方筛选中的应用现状, 总结出响应面优化法具预测性好、实验简单、高效等特点, 可以很好的应用在中药学研究领域。

[关键词] 响应曲面法; 设计方法; 操作步骤; 中药试验设计

[中图分类号] R283 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0296-03

Application of Response Surface Methodology in Chinese Medicine Development

PENG Xiao-xia, LU Sha-sha

(Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] To introduce the principles of response surface optimization method, design method and its application in Chinese traditional medicine research and development, based on the extensive literature, describing the concept of response surface methodology to the principle, design method, the steps in the extraction of traditional Chinese medicine, and prescription of traditional Chinese medicine preparation process of screening applications and research in the future development of Chinese medicine. so response surface optimization method with a good prediction, experimental simplicity, high efficiency and other characteristics, can be a good application in pharmaceutical research.

[收稿日期] 20110224(004)

[第一作者] 彭晓霞, 硕士, 教授, Tel: 13099182196, E-mail: pengxiaoxia@gszy.edu.cn

- [30] 茅彩萍, 顾振纶. 葛根素对糖尿病血管并发症大鼠血浆 ET-NO, ET-ANF 动态平衡的影响[J]. 中成药, 2004, 26(6): 487.
- [31] 茅彩萍. 葛根素对糖尿病血管并发症的作用及其机制的实验研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2003.
- [32] 姚定国, 罗苏生, 倪海祥, 等. 葛根素对 2 型糖尿病血管并发症患者血浆内皮素和血清肿瘤坏死因子的影响[J]. 中国自然医学杂志, 2002, 4(2): 71.
- [33] Wang G F, Wu S Y, Xu W, et al. Geniposide inhibits high glucose-induced cell adhesion through the NF- κ B signaling pathway in human umbilical vein endothelial cells[J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31: 953.
- [34] 熊莺, 王广发, 张俊艳, 等. 柚皮苷抑制高糖诱导的脐静脉内皮细胞与单核细胞的黏附作用[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(2): 321.
- [35] 袁巍. 黄芪甲苷对糖尿病血管重构的保护作用及其相关机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- [36] Cavalier E, Delanaye P, Souborbielle J C, et al. Vitamin D and type 2 diabetes mellitus: Where do we stand? [J]. Diabetes Metab, 2011, doi: 10.1016/j.diabet.2011.01.001.
- [37] 陈敏, 葛金文. 滋阴益气活血方药与 2 型糖尿病血管并发症的研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(5): 79.

[责任编辑 邹晓翠]

[Key words] response surface method; method of designing; steps; design of Chinese traditional medicine experimental

在中药有效成分的提取及中药处方筛选的过程中常常涉及到多个因素的考察,这些因素的变化对结果至关重要,响应曲面法(response surface methodology)就是研究实验结果与实验因素关系的方法。建立研究结果 Y 与实验因素 X_1, X_2, \dots, X_m 之间的定量关系的函数模型,通常称之为响应函数,响应函数可以用图形的方式描述为因素取值区域上的一个曲面,所以这种关系的研究就称之为响应曲面的研究。响应曲面法(response surface methodology)是由英国统计学家G. Box和Wilso与1981年提出的,它包括实验、建模、数据分析和最优化。目前在中药研究实验中结合响应面的设计主要有正交试验设计^[1]、均匀实验设计^[2]、回归实验设计、星点设计、Box-Behnken实验设计等,其中星点设计效应面优化法最为常用。在国外药物研究领域结合响应面的设计还有Doehlert优化设计和投影设计(projection design)^[3]。在响应面的一阶设计中通常用正交实验设计和均匀实验设计,而在响应面的二阶设计中,为使实验区在接近响应曲面的最优区域后,能更精确逼近最优值并且识别出最优工艺条件,通常用星点设计、Box-Behnken实验设计及回归实验设计^[4]。

1 响应面优化法的基本原理

1.1 响应曲面法分析法的基本概念 在一项试验中,凡是欲考察的因素的变量成为因素,若因素的取值可以在某一区间内连续变化,称之为定量因素,在中药提取实验中如提取温度、提取时间等;若因素只能取有限个类别,称为定性因素,如药材的产地、药材的品种等。通常用 X_1, X_2, \dots, X_m 或者 A, B, C, \dots 表示因素,因素所处的不同状态称为因素的水平。实验的结果称为响应(response)或者输出(output),用 y 表示。实验设计的目的是研究因素及因素间的交互作用对响应值的影响和他们之间的关系,响应面优化法的目的就是用最少的实验获取响应和因素之间关系的更多信息^[5]。

1.2 响应面优化法的基本原理 建立研究结果 Y 与实验因素 X_1, X_2, \dots, X_m 之间的定量关系的函数模型: $Y=f(X_1, X_2, \dots, X_m)+\varepsilon$ 其中 $f(X_1, X_2, \dots, X_m)$ 是 X_1, X_2, \dots, X_m 的响应函数, ε 是随机误差,函数 Y 不可能用数学模型表示,但可以用一数学模型 f' 近似的模拟函数 f ,依据该模型可以描绘效应面,从效应面上可以找出效应值对应的自变量取值,从而求出较佳的实验条件。效应与因素的关系可能是先行也可能是非线性,在效应面是线性是平面,而非线性是曲面,在整个考察范围,在离较佳区的较远的范围更接近线性,离较佳区越近面的弯曲程度就越大^[6-7]。在中药提取及处方筛选中,多用到多元线性回归及二阶式拟合建立指标与因素之间的数学关系^[8]。

2 响应面优化法的设计方法与操作步骤

2.1 一阶响应面设计方法及步骤 当经过筛选已确定实验

的因素后,将实验分为两阶段。第一阶段的主要目标是确定当前的实验条件或者输入变量的水平是否接近响应面的最优位置,当实验条件部分远离曲面的最优位置时,我们使用一节模型去逼近。一阶响应面的设计方法有:一阶响应曲面的正交设计、零水平处的拟合检验、最速上升搜索法。

2.1.1 一阶响应曲面的正交设计 正交设计分两部分,第一部分为实验设计,第二部分为数据的分析。实验设计部分包括:确定每一因素的变化范围并对其进行编码变化,选择合适的正交表安排实验。在数据分析部分设计求回归系数、响应曲面方程的显著性检验和回归系数的显著性检验。正交设计是在特定的方差分析模型下达到最优,具有“整齐”和“均匀”的特点,应用较为广泛。

2.1.2 零水平处的拟合检验 为验证各因素的零水平上指标值是否符合一次响应曲面方程,通常在各因素均取零水平时进行若干次实验。具体内容包括求出误差的一个估计量;检验交互作用是否显著;检验二次效用是否显著。

2.1.3 最速上升搜索法 根据微积分原理,任意多元函数在局部区域内总可以用一个多维平面去逼近,最速上升搜索法就是沿着最速的上升路径,即响应有最大增量的方向逐步移动的方法,如果求最小响应值,则称最速下降搜索法。其具体步骤为:第一,假定点 $x_1 = x_2 = \dots = x_m = 0$ 是基点或者原点。选取一个可控变量的步长,如 Δx_1 ,一般选最了解变量,或回归系数绝对值。第二,计算剩余变量的步长。第三,将变量的 Δx_1 转换成原始变量 Δz_j 。第四,在点 $(k\Delta x_1, k\Delta x_2, \dots, k\Delta x_m)$ 处安排实验,观察响应值,直至响应值减少,其中 k 为搜索的次数 $k=1, 2, \dots$ 。第五,在点 $(k-1)\Delta x_1, \dots, (k-1)\Delta x_m$ 处拟合响应方程,重复以上过程,直至达到最优响应值为止^[9-10]。

2.2 二阶响应面的设计方法及步骤 当试验点接近最点时,由于真正响应曲面曲面率的变化,需要二阶或者更高的模型去逼近响应,在大多数情况下二阶模型是合适的^[11-12]。二阶响应面的设计方法有:二阶响应面的组合设计、二阶响应面的正交设计、二阶响应面的旋转设计。

2.2.1 二阶响应面的组合设计 组合设计就是在编码空间中选择几类具有不同特点的实验点,适当组合起来形成实验方案,一般有3类不同实验点组成:

$$N = m_c + m_r + m_0$$

式中 $m_c = 2^m$,为各因素取二水平(+1, -1)的全面试验点; $m_r = 2m$ 为分布在 m 个坐标轴上的星号点, r 为星号臂长, r 为特定参数,调节 r 可达到所希望的优良性,如正交性,旋转型; m_0 为中心点,一般 $m_0 \geq 3$ 。利用组合设计求得二阶响应面方程简单易行,既方便实验,也符合节约的原则。

2.2.2 二阶响应面的正交设计 二阶响应面的正交设计对

响应曲面方程及模型参数的检验都同一阶响应曲面模型的正交类似,可以列表进行,表格的形式也同于一阶响应曲面的正交表,只是设计前需使二次响应面设计具有正交性。

2.2.3 二阶响应面的旋转设计 旋转设计包括一次、二次、三次旋转设计,试验中较为常用的是二次回归旋转设计。旋转设计一般还和组合设计联系在一起,目前在中药研究领域旋转组合设计的应用越来越受到重视。其中,在此基础上所衍生的星点设计成为中药研究领域的一个亮点,星点设计是在二水平析因设计的基础上加上星点(star point)及中心点(central point)而成的实验次数较少,适宜进行非线性拟合的实验设计法,具有实验设计简单,试验次数少,精密度高的特点^[13]。二阶响应面旋转设计的具体步骤一次为:挑选因素;确定因素水平的上线和下限;求中心点(0 水平)的取值;对每个因素水平编码;确定 0 水平的重复次数;列出实验方案;实验处理的随机化;实验方案的实施。

3 响应曲面优化法在中药研究中的应用

3.1 响应曲面优化法在中药有效成分提取中的应用 中药成分复杂且有效成分的含量相对较低,中药有效成分的分离和提取是中药研究中必不可少的环节。中药在提取过程中常常会受到诸多因素的影响,提取方法不同,影响因素也不同,所以在实验中会涉及到实验方案设计的方法,响应曲面优化法在中药有效成分的提取中的应用越来越受到重视,其试验次数少、精确度高的特点使工作量大量减少,节省了人力资源、物质资源,且在一定程度上缩短了实验周期。针对具体的实验环境通常采取不同的实验设计方法与响应面相结合。蒋荣珍等^[14]以乙醇浓度、回流时间以及溶剂量为考察因素,以黄芩苷提取率为指标,采用星点设计-效应面优化法优选黄芩的提取工艺,得出最优提取工艺条件为乙醇浓度 45%、提取时间 120 min、溶剂用量 4 倍为最佳提取工艺。郭伟良等^[15]在单因素实验基础上,以提取溶剂甲醇的浓度、超声提取时间、超声功率和液料比为考察因素,采用 Box-Behnken 中心组合设计与效应面优化法结合优化连翘苷超声提取工艺,以连翘苷得率为响应值进行多元二次响应回归分析,得到连翘苷的最佳提取工艺条件为甲醇浓度 100%,超声提取时间 27 min,超声功率 416 W,液料比 12:1。

3.2 响应曲面优化法在中药处方筛选及制剂工艺中的应用

中药处方是中医药理论的具体体现,是中药制剂研究的基础和依据,中处方的筛选和优化作为中药制剂中的一关键环节,越来越受到更多研究人员的重视,而在中药制剂工艺中,由于制剂工艺条件的复杂性和多样性,工艺条件的优选已成为制备工艺研究中最重要也最复杂的工作,为实现实验的可操作性与简单节约性,通过实验设计又和制备工艺已成必然趋势。在中药处方筛选和中有制剂工艺效应面优化法可准确反映较佳处方处方配比与较佳的工艺参数。孟冬梅等^[16]以泊洛沙姆 407、泊洛沙姆 188 为考察因素,以胶凝温度、黏度、渗透压为考察指标,采用星点设计-效应面优化法优化磷酸川芎嗪温敏凝胶处方,得到了基于二次多项式线性模型的

磷酸川芎嗪处方优化模型,实现了该原位凝胶的处方优化。刘泽峰等^[17]以包衣液浓度、素片含水量、素片硬度为考察因素,以合格率作为指标,应用 Box-Behnken 中心组合设计与效应面优化法结合优化中药片剂薄膜包衣的工艺条件,得出对于多孔眼高效包衣机来说,在包衣液浓度为 16.3%,中药素片含水量为 4.5%~5%,硬度为 5.5~6 kg·mm⁻²条件下,包衣合格率为 98.3%。

4 响应面优化法在中药研究中未来的发展

由于我国中医药发展起步晚,目前对中药的研究还不尽完善,正处于一个关键阶段,当然中药的现代研究许多也已经取得瞩目进展。随着中药有效成分提取方法的不断创新改进,制剂工艺的步步完善,效应面优化法在中药领域的应用将会越来越广泛,微波提取、超临界提取、酶提取等技术与响应面的结合在中药生产研究中会有更多的应用^[18]。此外,在国外药物研究领域结合响应面的设计 Doehlert 优化设计和投影设计(projection design),希望在今后我国中药研究中能有借鉴和有效利用。

[参考文献]

- [1] Wang Y M, Sato H, Adachi I, et al. Optimization of the formulation design of chitosan microspheres containing cisp latin[J]. Pharm Sci, 1996, 85(11):1204.
- [2] 王鹏,王玉珠,沈建民. 均匀设计及其在药学中的应用[J]. 沈阳药学院学报, 1989, 6(4):297.
- [3] Ferreira S L C, Bezerra M A, Santosw N L, et al. Application of doehlert designs for optimisation of an on-line preconcentration system for copper determination by flame atomic absorption spectrometry[J]. Talanta, 2003, 61(3):295.
- [4] 赵选民. 试验设计方法[M]. 北京:科技出版社, 2006:191.
- [5] 慕运动. 响应面方法及其在食品工业中的应用[J]. 郑州工程学院学报, 2001, 22(3):91.
- [6] 吴伟,崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学·药学分册, 2000, 27(5):292.
- [7] 吴伟,崔光华,陆彬. 实验设计中多指标的优化星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8):530.
- [8] 彭晓霞,张振巍. 二次正交旋转组合设计法优化赤芍醇提工艺[J]. 中药材, 2010, 33(6):991.
- [9] 方开泰,马长兴. 正交与均匀实验设计[M]. 北京:科技出版社, 2001:191.
- [10] 李云雁,胡传荣. 试验设计与数据处理[M]. 北京:化学工业出版社, 2005:131.
- [11] 张丕德,郜艳辉,李丽霞,等. 对数优势二次响应面回归及其应用[J]. 数理医药学杂志, 2006, 19(3):312.
- [12] Friedman J H. Multivariate adaptive regression splines

- (with discussion)[J]. Anal Stat,1991,19(1):1.
- [13] Kleijnen J P C, Hertog D, Angun E, et al. Response surface method-ology's steepest ascent and stepsize revisited Correction[J]. Eur J Operational Res,2006,17(1):664.
- [14] 蒋荣珍,欧阳小光,黄斌,等. 星点设计-效应面法优选黄芩提取工艺的研究[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(增刊):33.
- [15] 郭伟良,由鹏飞,房晶,等. 响应面法优化连翘苷超声提取工艺[J]. 中国医药工业杂志,2009,40(12):919.
- [16] 刘泽峰,何屹. 响应面法优化中药片剂薄膜包衣工艺研究[J]. 中医药导报,2009,15(12):67.
- [17] 孟冬梅,徐月红,丁平田,等. 星点设计-效应面法优化磷酸川芎嗪温敏凝胶的处方[J]. 中药材,2008,31(2):286.
- [18] 胡道德,顾磊,姚慧娟,等. 中药提取及优化的研究进展[J]. 医药导报,2009,28(1):80.
- [责任编辑 邹晓翠]

· 医学人物介绍 ·

陶汉华:积极探索仲景内科杂病的辩证论治规律

——记山东中医药大学金匱教研室主任 陶汉华教授

专家介绍

陶汉华,男,1951年7月生,汉族,山东莱芜人。现任山东中医药大学金匱教研室主任,教授,博士生导师。中华中医药学会仲景学说专业委员会委员、山东省医学会医疗事故技术鉴定专家库成员。

主要研究仲景内科杂病的辩证论治规律。曾发表学术论文“眩晕证治概要”、“鳖甲煎丸方义新解与临床应用”、“百合病与散发性脑炎”、“补肾方的临床应用体会”等70余篇。出版学术著作8部,主要有《金匱要略研读心悟》、《中医病因病机学》、《刘献琳学术经验辑要》、《金匱要略选释》、《中医内科临证诊疗技巧》等。主持研究科研课题“酸甘焦苦合化法防治病毒性肝炎临床与实验研究”1999年获山东省医学科学技术进步二等奖。参与和主持完成国家自然科学基金委课题“肾虚动物模型及其基因表达研究”、“肾气丸与右归丸不同补肾机理及特点研究”。



陶汉华教授与学生讨论课题



陶汉华教授