

# 响应面法结合信息熵理论优化桃核承气汤水提取工艺<sup>Δ</sup>

顿佳颖<sup>1\*</sup>, 郑鹏<sup>1</sup>, 李李佳<sup>2</sup>, 马遥<sup>1</sup>, 李春花<sup>1,3#</sup>(1.河北中医学院药学院药剂学教研室, 石家庄 050090; 2.石家庄市第四医院药剂科, 石家庄 050011; 3.河北省高校中药组制剂应用技术研发中心, 石家庄 050090)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)16-2210-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.16.10

**摘要** 目的:优化经典名方桃核承气汤的水提取工艺。方法:在单因素考察的基础上,结合响应面法与信息熵理论,对浸泡时间、料液比、提取总时间进行考察,以桃核承气汤中苦杏仁苷、大黄酸、桂皮醛、甘草酸的含量为评价指标,采用信息熵理论对各评价指标赋予权重系数,并计算综合评分。通过Design-Expert 10软件分析各因素间的交互作用,得出优化的水提取工艺,并对该优化工艺进行验证试验。结果:根据信息熵理论将大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛的权重系数确定为0.097 6、0.363 2、0.173 5、0.365 7;交互作用分析结果显示,料液比对综合评分影响较大。桃核承气汤水提取工艺最佳工艺条件为浸泡时间60 min、料液比1:10(g/mL)、提取总时间130 min(提取3次,每次分别提取65、33、32 min);验证试验结果显示,各指标成分含量及综合评分RSD均小于3%。结论:优化所得的水提取工艺稳定、可行,可为桃核承气汤的进一步开发利用提供基础。

**关键词** 桃核承气汤;响应面法;信息熵理论;综合评分;水提取工艺;工艺优化

## Optimization of Water Extraction Technology of Taohe Chengqi Decoction by Response Surface Methodology Combined with Information Entropy Theory

DUN Jiaying<sup>1</sup>, ZHENG Peng<sup>1</sup>, LI Jijia<sup>2</sup>, MA Yao<sup>1</sup>, LI Chunhua<sup>1,3</sup>(1. Teaching and Research Section of Pharmacy, College of Pharmacy, Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050090, China; 2. Dept. of Pharmacy, Shijiazhuang Forth Hospital, Shijiazhuang 050011, China; 3. Hebei Higher Education Institute Applied Technology Research Center on TCM Formula Preparation, Shijiazhuang 050090, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize the water extraction technology of classic formula Taohe chengqi decoction. METHODS: Based on single factor test, combined with response surface methodology and information entropy theory, the soaking time, solid-liquid ratio and extraction time were investigated. Using the contents of rhein, amygdalin, cinnamaldehyde and glycyrrhizic acid in Taohe chengqi decoction as indexes, information entropy theory was used to assign weight coefficients to each evaluation index and calculate the comprehensive score. Through Design-Expert 10 software, the interactions of each factor were analyzed. Water extraction technology was optimized, and validation test was also performed. RESULTS: According to information entropy theory, the weight coefficients of rhein, amygdalin, glycyrrhizic acid and cinnamaldehyde were located at 0.097 6, 0.363 2, 0.173 5 and 0.365 7. The results of interaction analysis showed that the material-liquid ratio had a greater impact on the comprehensive score. The optimal water extraction technology of Taohe chengqi decoction were determined as that soaking time was 60 min; the ratio of material to liquid was 1:10 (g/mL); total extraction time was 130 min (extracting for 3 times, lasting for 65, 33, 32 min each time). The results of verification test showed that RSD of content of each index component and the comprehensive score was less than 3%. CONCLUSIONS: The optimal water extraction technology is proved to be stable and feasible, which can provide the basis for the further development and utilization of Taohe chengqi decoction.

**KEYWORDS** Taohe chengqi decoction; Response surface methodology; Information entropy theory; Comprehensive score; Water extraction technology; Technology optimization

桃核承气汤原方出自张仲景《伤寒论》辨太阳病脉证并治太阳病证篇,其由桃仁、大黄、桂枝、芒硝、炙甘草5味药材组成,主要功用为泻热逐瘀,主治下焦蓄血证<sup>[1]</sup>。方中桃仁与大黄合用,瘀热并治共为君药;桂枝温通经

脉,芒硝泻热软坚,共为臣药;炙甘草护胃安中为佐,并缓诸药之峻烈<sup>[2]</sup>。桃核承气汤组方精简,临床上应用广泛,在国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录(第一批)》中位于100首经典方剂之首<sup>[3]</sup>。现代医学研究表明,该方多用于治疗急性脑出血、急性脑卒中、脑梗死急性期、多发性脑梗塞、脑出血术后并发症、糖尿病并发脑梗死、肝性脑病、高脂血症、高半胱氨酸血症等;其原方或加减方亦可用于治疗慢性肺源性心脏病、老年痴呆、精神分裂症、焦虑症、阿尔茨海默病等由瘀热互结所

<sup>Δ</sup> 基金项目:河北省重点研发计划项目(No.19272502D);河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZD2017245)

\* 硕士研究生。研究方向:中药制剂新剂型研发。电话:0311-89926753。E-mail:15231997020@163.com

# 通信作者:教授,硕士生导师,硕士。研究方向:中药制剂新剂型研发。电话:0311-89926753。E-mail:13803369966@163.com

致疾病<sup>[4]</sup>。

目前,《古代经典名方目录(第一批)》中详细记载了桃核承气汤的方名、出处、处方、制法及用法<sup>[3]</sup>,但由于古今制剂方式的更迭变化和现代市场应用的需要,对其现代提取工艺的优化已成为该方剂进一步开发应用亟待解决的关键问题。现代药理研究表明,桃仁、大黄、桂枝、甘草的主要活性成分分别为苦杏仁苷、大黄酸、桂皮醛、甘草酸<sup>[5-8]</sup>。基于此,本课题组以上述4种成分含量为指标,在单因素试验的基础上,采用响应面试验设计<sup>[9]</sup>进一步优化工艺,根据信息熵理论<sup>[10-12]</sup>对该方中4种主要指标性成分的含量赋予权重系数并计算综合评分,同时对各因素的交互作用进行分析,最终确定该方的最佳水提取工艺,为桃核承气汤以及相关经典名方的现代工艺研究提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

e2695型高效液相色谱(HPLC)仪,包括2489型紫外-可见光检测器(美国Waters公司);TG328B型电子分析天平(上海精科仪器厂);KQ-100E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);RE-52型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SAS 67120型超纯水系统(法国Millipore公司)。

### 1.2 药品与试剂

大黄酸对照品(批号: MUST-11032801, 纯度: 98%)、甘草酸对照品(批号: MUST-17032205, 纯度: 99.55%)均购自成都曼斯特生物科技有限公司;苦杏仁苷对照品(成都草源康生物科技有限公司, 批号: Z1709131, 纯度: 98%);桂皮醛对照品(上海源叶生物科技有限公司, 批号: H02M6Q1, 纯度: 98%);乙腈、甲醇为色谱纯,磷酸为分析纯,水为自制超纯水。

### 1.3 药材

各药材饮片均购于河北省石家庄市乐仁堂药店。经河北中医学院药学院侯芳洁副教授鉴定,桃仁为蔷薇科植物桃[*Prunus persica* (L.) Batsch]的干燥成熟种子,大黄为蓼科植物掌叶大黄(*Rheum palmatum* L.)的干燥根及根茎,桂枝为樟科植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥嫩枝,甘草为豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)的干燥根及根茎,芒硝为硫酸盐类矿物芒硝族芒硝经加工精制而成的结晶体。

## 2 方法与结果

### 2.1 桃核承气汤水提液制备

按原方处方比例<sup>[1]</sup>称取桃仁1.5 g、大黄6 g、桂枝3 g、炙甘草3 g、芒硝3 g;前4味药混合后,按一定料液比加入水浸泡,在首次煎煮前补足饮片吸水量,煎煮3次,滤过;合并滤液,加入芒硝后继续煎煮约1 min使其充分溶解;采用旋转蒸发器在70℃减压浓缩上述滤液至50

mL,即得桃核承气汤水提液,备用。

### 2.2 HPLC法测定4种指标性成分的含量

2.2.1 大黄酸、甘草酸含量测定色谱条件 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~20 min, 10% A→40% A; 20~30 min, 40% A→50% A; 30~70 min, 50% A→10% A);流速: 1.0 mL/min;进样量: 10 μL;柱温: 30℃;检测波长: 250 nm。

2.2.2 苦杏仁苷、桂皮醛含量测定色谱条件 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相: 乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~10 min, 10% A; 10~20 min, 10% A→20% A; 20~30 min, 20% A; 30~60 min, 20% A→45% A; 60~70 min, 45% A→10% A);流速: 1.0 mL/min;进样量: 10 μL;柱温: 30℃;检测波长: 210 nm(苦杏仁苷)、290 nm(桂皮醛)。

2.2.3 混合对照品溶液制备 称取大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛对照品各适量,精密称定,分别置于5 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,制成上述成分质量浓度分别为1 340、160、880、290 μg/mL的单一对照品贮备液。精密吸取上述各贮备液适量,置于同一10 mL量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,制成上述成分质量浓度分别为340、120、220、70 μg/mL的混合对照品溶液。

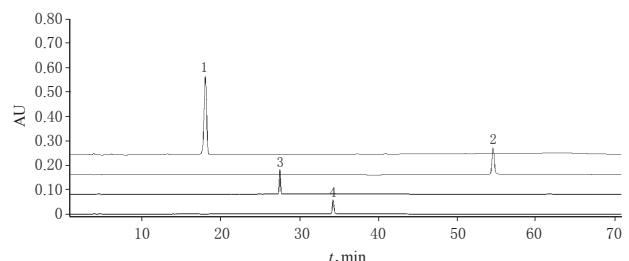
2.2.4 供试品溶液制备 精密吸取“2.1”项下桃核承气汤水提液样品1 mL,置于5 mL量瓶中,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,静置,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.5 专属性试验 取“2.2.3”项下单一对照品贮备液、“2.2.4”项下供试品溶液,分别按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样测定,色谱见图1。结果显示,在上述色谱条件下,理论板数以苦杏仁苷峰计不低于3 000,4种待测成分之间及其与杂质峰之间的分离度均大于1.5,能实现基线分离,且互不干扰,表明本方法专属性均良好。

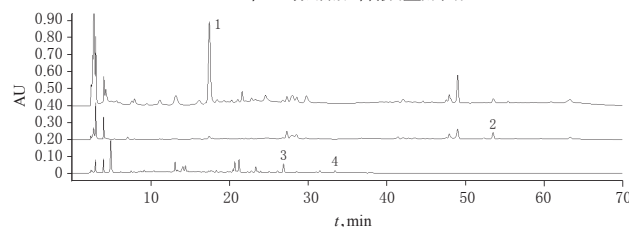
2.2.6 线性关系考察 分别称取大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛对照品适量,以甲醇配制成系列线性梯度溶液,按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样不同体积进行测定。以待测成分进样量( $x$ , μg)为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,结果表明上述成分在相应进样量范围内线性关系良好。回归方程与线性范围详见表1。

2.2.7 精密度试验 精密吸取“2.2.3”项下混合对照品溶液适量,按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛峰面积的RSD分别为0.79%、0.77%、0.92%、0.87%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液(水提液制备日期: 20180615)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8、12 h



A. 单一对照品贮备液(叠加图)



B. 供试品溶液(叠加图,水提液制备日期:20180615)

注:1.苦杏仁苷(210 nm);2.桂皮醛(290 nm);3.大黄酸(250 nm);4.甘草酸(250 nm)

Note:1. rhein (210 nm); 2. amygdalin (290 nm); 3. cinnamaldehyde (250 nm); 4. glycyrrhizic acid (250 nm)

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equation and linear range

待测成分	回归方程	线性范围, $\mu\text{g}$	$r$
大黄酸	$y=30.501x+2.773.4$	1.34~26.80	0.999 1
苦杏仁苷	$y=599.930x+4.036.8$	2.30~23.00	0.999 1
甘草酸	$y=43.736x-4.598.5$	0.88~26.40	0.999 9
桂皮醛	$y=51.039x-8.907$	0.87~14.50	0.999 6

时,按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛峰面积的RSD分别为1.32%、2.12%、1.66%、2.84%( $n=6$ ),表明供试品溶液在室温下放置12 h内稳定。

2.2.9 重复性试验 取同一批水提液样品(制备日期:20180615)适量,平行6份,按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算4种成分的含量。结果,大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛含量的RSD分别为2.23%、1.44%、0.85%、1.59%( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密量取已知含量的水提液样品1 mL,平行6份,分别均加入“2.2.3”项下大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛单一对照品贮备液适量,按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按标准曲线法计算含量并计算加样回收率,结果表明方法准确度良好,详见表2。

### 2.3 桃核承气汤水提取工艺的单因素考察

2.3.1 浸泡时间 按“2.1”项下处方比例称取各药材,平行5份,固定料液比1:10(g/mL)、提取总时间90 min,设置浸泡时间分别为0、20、40、60、80 min,按“2.1”项下方

表2 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 2 Results of recovery tests( $n=6$ )

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
大黄酸	0.441 2	0.442 2	0.882 1	99.71	100.02	0.41
	0.441 2	0.442 2	0.883 7	100.07		
	0.441 2	0.442 2	0.886 3	100.66		
	0.441 2	0.442 2	0.882 8	99.86		
	0.441 2	0.442 2	0.881 3	99.53		
	0.441 2	0.442 2	0.884 6	100.27		
苦杏仁苷	0.140 4	0.140 3	0.278 4	98.36	100.27	1.31
	0.140 4	0.140 3	0.282 4	101.21		
	0.140 4	0.140 3	0.283 1	101.71		
	0.140 4	0.140 3	0.281 5	100.57		
	0.140 4	0.140 3	0.279 3	99.00		
	0.140 4	0.140 3	0.281 8	100.78		
甘草酸	0.222 6	0.220 0	0.438 7	98.23	99.15	1.89
	0.222 6	0.220 0	0.439 5	98.59		
	0.222 6	0.220 0	0.442 3	99.86		
	0.222 6	0.220 0	0.439 3	98.50		
	0.222 6	0.220 0	0.448 2	102.55		
	0.222 6	0.220 0	0.436 4	97.18		
桂皮醛	0.143 8	0.143 6	0.284 7	98.12	99.92	1.98
	0.143 8	0.143 6	0.284 1	97.70		
	0.143 8	0.143 6	0.289 8	101.67		
	0.143 8	0.143 6	0.291 3	102.72		
	0.143 8	0.143 6	0.287 5	100.07		
	0.143 8	0.143 6	0.286 3	99.23		

法进行提取。取所得水提液样品,按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以直接提取(即浸泡时间为0 min)条件下所测得各成分的峰面积为基准,计算不同浸泡时间条件下测得的各成分峰面积比值(以表示含量高低,下同)<sup>[10]</sup>,绘制折线图,见图2A。由图2A可知,大黄酸含量在浸泡时间为0~60 min的条件下呈上升趋势,在60~80 min的条件下呈下降趋势;苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛含量在浸泡时间为0~40 min的条件下呈上升趋势,在40~80 min的条件下呈下降趋势。因此,本研究选择浸泡时间为20、40、60 min进行后续工艺优化。

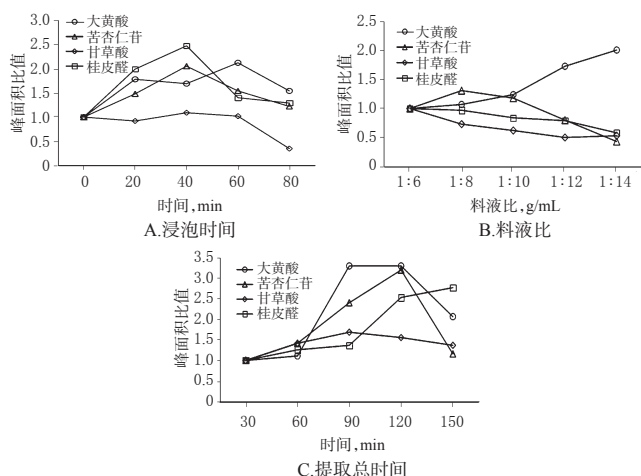


图2 不同因素对提取效果的影响

Fig 2 Effects of different factors on extraction effect

2.3.2 料液比 按“2.1”项下处方比例称取各药材,平行5份,固定浸泡40 min、提取总时间90 min,设置料液比分别为1:6、1:8、1:10、1:12、1:14(g/mL),按“2.1”项下方法进行提取。取所得水提液样品,按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以料液比1:6(g/mL)的条件下所测得各成分的峰面积为基准,计算不同料液比条件下测得的各成分峰面积比值<sup>[10]</sup>,绘制折线图,见图2B。由图2B可知,在料液比为1:6~1:14(g/mL)的条件下,大黄酸含量均呈上升趋势,甘草酸、桂皮醛含量呈下降趋势;苦杏仁苷含量在料液比为1:6~1:8(g/mL)的条件下呈上升趋势,在1:8~1:14(g/mL)的条件下呈下降趋势。因此,本研究选择料液比为1:6、1:8、1:10(g/mL)进行后续工艺优化。

2.3.3 提取总时间 按“2.1”项下处方比例称取各药材,平行5份,固定浸泡40 min、料液比1:10(g/mL),设置提取总时间分别为30、60、90、120、150 min,按“2.1”项下方法进行提取。取所得水提液样品,按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”“2.2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以提取总时间30 min条件下所测得各成分的峰面积为基准,计算不同条件下各成分峰面积比值<sup>[10]</sup>,绘制折线图,见图2C。由图2C可知,大黄酸、苦杏仁苷含量在总提取时间为30~120 min的条件下,随提取时间的增加而相应升高,在120 min以上时则随提取时间的增加而呈下降趋势;甘草酸含量在总提取时间为30~90 min的条件下随提取时间的增加而呈上升趋势,在90~150 min的条件下则随提取时间的增加而呈下降趋势;桂皮醛含量在总提取时间为30~150 min的条件下均呈上升趋势。因此,本研究选择提取时间为90、120、150 min进行后续工艺优化。

2.3.4 提取次数 本研究在前期预试验中固定浸泡时间60 min、料液比1:10(g/mL)、提取总时间120 min,对提取次数进行考察。结果显示,提取3次时,各目标成分整体含量较高,故将提取次数确定为3次,并按常规提取工艺惯例,以2:1:1的比例分配各次提取时间。

## 2.4 桃核承气汤水提取工艺优化

在单因素考察的基础上,结合响应面法与信息熵理论对该方水提取工艺进一步优化。

2.4.1 响应面设计 根据响应面设计组合设计原理<sup>[13]</sup>,以浸泡时间(A)、料液比(B)、提取总时间(C)为考察因素,以4种成分含量计算所得综合评分(M)为评价指标,采用3因素3水平响应面设计进行设计。因素和水平见表3,响应面设计与结果见表4。

2.4.2 综合评分的计算 以响应面设计测得的大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛含量为指标,采用信息熵法对各指标进行赋值并计算M,根据文献<sup>[14-15]</sup>建立原始评价指标的矩阵(X)如下:

表3 因素和水平

Tab 3 Factors and levels

水平	因素		
	A, min	B, g/mL	C, min
1	20	1:6	90
2	40	1:8	120
3	60	1:10	150

表4 响应面设计与结果

Tab 4 Design and results of response surface methodology

试验号	A, min	B, g/mL	C, min	大黄酸含量, mg/g	苦杏仁苷含量, mg/g	甘草酸含量, mg/g	桂皮醛含量, mg/g	M
1	60	1:10	120	2.67	29.05	14.28	10.60	0.095 8
2	40	1:6	90	3.68	4.68	3.71	2.40	0.024 2
3	40	1:6	150	3.26	10.04	9.26	2.39	0.034 7
4	60	1:8	150	4.70	11.45	12.19	4.91	0.051 4
5	40	1:8	120	3.86	16.72	16.21	6.04	0.064 6
6	60	1:8	90	4.01	12.63	8.96	3.83	0.044 7
7	40	1:8	120	5.67	18.47	16.72	5.44	0.065 9
8	20	1:6	120	3.39	18.63	14.88	4.62	0.059 4
9	20	1:10	120	4.25	25.04	18.56	6.64	0.080 0
10	20	1:8	150	5.21	15.00	12.14	5.92	0.060 7
11	40	1:10	150	3.65	19.36	12.58	6.30	0.065 9
12	40	1:8	120	3.79	21.13	13.74	4.38	0.061 2
13	40	1:10	90	3.77	24.26	11.41	5.81	0.069 1
14	40	1:8	120	4.96	10.44	12.48	5.64	0.053 8
15	20	1:8	90	3.39	29.46	13.36	7.57	0.084 0
16	60	1:6	120	4.73	13.77	13.20	2.03	0.043 1
17	40	1:8	120	2.58	11.59	11.27	2.99	0.039 7

$$X = \begin{bmatrix} 2.67 & 3.68 & 3.26 & 4.70 & 3.86 & 4.01 & 5.67 & 3.39 & 4.25 & 5.21 \\ 3.65 & 3.79 & 3.77 & 4.96 & 3.39 & 4.73 & 2.58 & & & \\ 29.05 & 4.68 & 10.04 & 11.45 & 16.72 & 12.63 & 18.47 & 18.63 & 25.04 & 15.00 \\ 19.36 & 21.13 & 24.26 & 10.44 & 29.46 & 13.77 & 11.59 & & & \\ 14.28 & 3.71 & 9.26 & 12.19 & 16.21 & 8.96 & 16.72 & 14.88 & 18.56 & 12.14 \\ 12.58 & 13.74 & 11.41 & 12.48 & 13.36 & 13.20 & 11.27 & & & \\ 10.60 & 2.40 & 2.39 & 4.91 & 6.04 & 3.83 & 5.44 & 4.62 & 6.64 & 5.92 \\ 6.30 & 4.38 & 5.81 & 5.64 & 7.57 & 2.03 & 2.99 & & & \end{bmatrix}$$

根据公式  $P_{ij} = X_{ij} / \sum X_{ij}$  计算  $P_{ij}$  ( $i, j$  分别表示矩阵的行、列), 将原始评价指标矩阵(X)转化为概率矩阵(P)如下:

$$P = \begin{bmatrix} 0.039 5 & 0.054 5 & 0.048 2 & 0.069 6 & 0.057 1 & 0.059 3 & 0.083 9 & 0.050 2 & 0.062 9 & 0.077 1 \\ 0.054 0 & 0.056 1 & 0.055 8 & 0.073 4 & 0.050 2 & 0.070 0 & 0.038 2 & & & \\ 0.099 6 & 0.016 0 & 0.034 4 & 0.039 2 & 0.057 3 & 0.043 3 & 0.063 3 & 0.063 9 & 0.085 8 & 0.051 4 \\ 0.066 4 & 0.072 4 & 0.083 2 & 0.035 8 & 0.101 0 & 0.047 2 & 0.039 7 & & & \\ 0.064 4 & 0.017 3 & 0.043 1 & 0.056 7 & 0.075 4 & 0.041 7 & 0.077 8 & 0.069 2 & 0.086 3 & 0.056 5 \\ 0.058 5 & 0.063 9 & 0.053 1 & 0.058 1 & 0.062 2 & 0.061 4 & 0.052 4 & & & \\ 0.121 1 & 0.027 4 & 0.027 3 & 0.056 1 & 0.069 0 & 0.043 8 & 0.062 2 & 0.052 8 & 0.075 9 & 0.067 6 \\ 0.072 0 & 0.050 1 & 0.066 4 & 0.064 4 & 0.086 5 & 0.023 2 & 0.034 2 & & & \end{bmatrix}$$

根据公式  $H_i = -(\sum_{j=1}^n P_{ij} \ln P_{ij}) / \ln n$ , 计算各指标的信息熵( $H_i$ ), 结果  $H_i = [0.992 4 \quad 0.971 5 \quad 0.986 4 \quad 0.901 4]$ , 再根据公式  $W_i = (1 - H_i) / [\sum_{i=1}^m (1 - H_i)]$  计算第  $i$  项指标的权重系数( $W_i$ ), 结果  $W_i = [0.097 6 \quad 0.363 2 \quad 0.173 5 \quad 0.365 7]$ ,

分别对应大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛。

对于  $m$  行  $n$  列的概率矩阵,其综合评分计算公式为:  
 $M_m = P_{1m}W_1 + P_{2m}W_2 + P_{3m}W_3 + \dots + P_{nm}W_n$ 。因大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛的权重系数分别为 0.097 6、0.363 2、0.173 5、0.365 7,因此对概率矩阵中数据进行加权处理,得  $M = \text{大黄酸含量} \times 0.097 6 + \text{苦杏仁苷含量} \times 0.363 2 + \text{甘草酸含量} \times 0.173 5 + \text{桂皮醛含量} \times 0.365 7$ ,结果见表 4。

2.4.3 模型拟合与方差分析 通过 Design-Expert10 软件分析试验结果,以综合评分( $M$ )为响应值,得到其对浸泡时间(A)、料液比(B)、提取总时间(C)的二次多项式回归拟合方程: $M = 0.053 - 5.238 \times 10^{-3}A + 0.020B - 6.750 \times 10^{-4}C + 0.012AB + 7.100 \times 10^{-3}AC - 1.350 \times 10^{-3}BC + 0.012A^2 - 4.275 \times 10^{-4}B^2 - 7.453 \times 10^{-3}C^2$ ,方差分析结果见表 5。由表 5 可知,建立的回归方程模型  $P = 0.032 2 < 0.05$ ,表明此方程模型具有统计学显著性;失拟项  $P = 0.420 6 > 0.05$ ,表明失拟项无统计学显著性。由此表明,本回归方程模拟度较好、试验误差较小,所建方程模型具有参考性,可用于桃核承气汤水提取工艺的理论预测。各因素对该水提取工艺的影响程度大小排序依次为  $B > A > C$ ,即料液比  $>$  浸泡时间  $>$  提取总时间,其中仅料液比的影响具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 5 方差分析结果

Tab 5 Results of variance analysis

差异来源	平方和	自由度	均方	F	P	统计学显著性
模型	$4.999 \times 10^{-3}$	9	$5.555 \times 10^{-4}$	4.38	0.032 2	显著
A	$2.195 \times 10^{-4}$	1	$2.195 \times 10^{-4}$	1.73	0.229 9	不显著
B	$3.236 \times 10^{-3}$	1	$3.236 \times 10^{-3}$	25.50	0.001 5	显著
C	$3.645 \times 10^{-6}$	1	$3.645 \times 10^{-6}$	0.029	0.870 2	不显著
AB	$5.406 \times 10^{-4}$	1	$5.406 \times 10^{-4}$	4.26	0.077 9	不显著
AC	$2.016 \times 10^{-4}$	1	$2.016 \times 10^{-4}$	1.59	0.247 9	不显著
BC	$7.290 \times 10^{-6}$	1	$7.290 \times 10^{-6}$	0.057	0.817 4	不显著
A <sup>2</sup>	$5.935 \times 10^{-4}$	1	$5.935 \times 10^{-4}$	4.68	0.067 3	不显著
B <sup>2</sup>	$7.695 \times 10^{-4}$	1	$7.695 \times 10^{-4}$	$6.064 \times 10^{-3}$	0.940 1	不显著
C <sup>2</sup>	$2.339 \times 10^{-4}$	1	$2.339 \times 10^{-4}$	1.84	0.216 8	不显著
残差	$8.883 \times 10^{-4}$	7	$1.269 \times 10^{-4}$			
失拟度	$4.155 \times 10^{-4}$	3	$1.385 \times 10^{-4}$	1.17	0.420 6	不显著
纯误差	$4.727 \times 10^{-4}$	4	$1.182 \times 10^{-4}$			
总差异	$5.887 \times 10^{-3}$	16				

2.4.4 各因素间交互影响分析 对表 4 中试验结果进行响应面分析,固定其中某个因素水平,就另外 2 个因素间两两交互作用对综合评分的影响进行分析,同时采用 Design-Expert 10 软件作图,可得任意 2 个因素间交互作用的三维曲面图,曲面坡度越大,则表明该因素对综合评分影响越大,详见图 3。由图 3 可知,料液比与提取时间交互作用较显著,且料液比对综合评分的影响较大,随着料液比的增大,综合评分随之增加。

通过 Design-Expert10 软件分析,得桃核承气汤最佳水提取工艺条件为:浸泡时间 59.58 min,料液比 1:10.11 (g/mL),提取总时间 130.25 min;综合评分为 0.095 2。

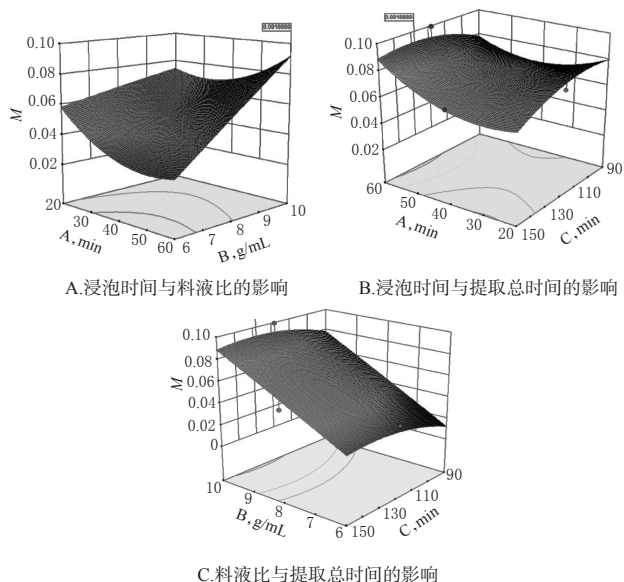


图 3 各因素交互作用对综合评分影响的响应面图

Fig 3 Response surface figure of the effects of each factor interaction on comprehensive score

考虑到可操作性,并结合单因素试验结果,最终将优化工艺确定为浸泡时间 60 min、料液比 1:10 (g/mL)、提取总时间 130 min (提取 3 次,每次分别提取 65、33、32 min)。

2.4.5 验证试验 按“2.4.4”项下所得优化工艺进行 3 次水提取验证试验。结果显示,各指标成分含量及综合评分的 RSD 均小于 3%,表明优化的水提取工艺稳定可行,详见表 6。

表 6 提取工艺验证试验结果

Tab 6 Results of extraction technology validation test

试验号	大黄酸,mg/g	苦杏仁苷,mg/g	甘草酸,mg/g	桂皮醛,mg/g	M
1	4.13	27.45	25.51	8.37	0.095 7
2	4.12	27.81	24.43	8.34	0.095 1
3	4.11	28.17	25.54	8.38	0.096 6
RSD, %	0.24	1.29	2.51	0.25	0.79

### 3 讨论

#### 3.1 对佐药“炙甘草”的考证

桃核承气汤原方出自东汉时期张仲景的论著《伤寒论》,但书中对桃核承气汤组成药物“炙甘草”的具体制法并未明确描述,所以其具体炮制方法一直备受争议。唐宋以前并无蜜炙甘草的明确记载,直至宋代《太平惠民和剂局方》中才出现了蜜炙甘草的记载。经考证,《伤寒论》中的“炙甘草”应为炒甘草,即“炙”寓意为直火加热<sup>[16]</sup>。因此,本课题组对甘草的不同炮制品进行了预试验,测定桃核承气汤中甘草酸含量,结果显示炙甘草中的甘草酸含量明显高于生甘草与蜜炙甘草中的甘草酸含量,进一步验证了《伤寒论》中炙甘草应为炒甘草而非蜜炙甘草。

#### 3.2 芒硝加入方式的选择

芒硝属于无机盐类,主要成分为硫酸钠,另含硫酸

镁、氯化钠等物质,临床在调配含芒硝的处方时,通常会有冲服、后下、溶化等脚注<sup>[17]</sup>。据《伤寒论》记载,桃核承气汤的原方用法为“上药四味,以水七升,煮取二升半,去滓,内芒硝,更上火,微沸,下火,先食,温服五合,每天三服,当微利”<sup>[1]</sup>。因此,本研究在水提取工艺中选择的芒硝加入方式与古代医籍记载一致,即在过滤后的药液中加入芒硝并上火微沸。后期本课题组还拟将桃核承气汤开发成颗粒剂、口服液等制剂,并将进一步考察芒硝的加入方式及其对复方的影响。

### 3.3 工艺优化中指标成分的选择

中药复方制剂通常由多味药物组成,成分复杂,其治疗效果是由多种活性成分协同发挥作用的结果,因此要对其提取工艺进行综合评价,就要全面选取其主要有效成分进行综合评分研究。经现代药理研究表明,桃仁具有抗凝血、抗炎、抗氧化、抗肿瘤及增强免疫力等作用,主要活性成分为苦杏仁苷<sup>[6]</sup>;大黄具有抗病毒、抗肿瘤、止血及增强免疫力等作用,主要活性成分为大黄酸<sup>[6]</sup>;桂枝具有解热镇痛、镇静、抗惊厥、扩血管等作用,主要活性成分为桂皮醛<sup>[7]</sup>;甘草具有抗心律失常、抗炎、镇痛、增强免疫力等作用,主要活性成分为甘草酸<sup>[8]</sup>。因此,本研究选取桃核承气汤中大黄酸、苦杏仁苷、甘草酸、桂皮醛为指标对提取工艺进行综合评分,既可兼顾指标间的协同作用,又符合中医用药的整体观念。

### 3.4 信息熵理论的应用

信息熵源于C.E.香农热力学,其中热熵用来呈现分子状态的混乱水平,香农以信息熵来描述信源的不确定度,不确定度越高,则所包含的信息就越多<sup>[18]</sup>。桃核承气汤组方精简,有效成分明确,可对多个指标性成分进行含量测定。以往研究对多个检测指标通常按方剂“君、臣、佐、使”原则赋予权重系数,然后采用加权法计算综合评分<sup>[9,19-20]</sup>。该赋权法虽计算方法简单,但主观性较大、严谨性不足。因此,本课题组在处理响应面试验数据的过程中,运用信息熵理论对指标性成分赋予权重系数,能更客观、清楚地反映出各成分在不同提取条件下的变化规律<sup>[12]</sup>,同时也可避免指标数据间的相互影响,还在一定程度上减少了主观因素对试验结果的干扰,提高试验结果的严谨性与科学性<sup>[11-12]</sup>。

综上所述,本研究优化所得的水提取工艺稳定、可行,可为桃核承气汤的进一步开发利用提供基础。

### 参考文献

- [1] 汉·张仲景.伤寒论[M].钱超尘,郝万山,校.北京:人民卫生出版社,2005:48.
- [2] 李冀.方剂学[M].北京:中国中医药出版社,2013:193-

195.

- [3] 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)[2018-09-18].http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html.
- [4] 张保国,刘庆芳.桃核承气汤在心血管系统的实验研究与应用[J].中成药,2011,33(12):2141-2144.
- [5] 许筱凰,李婷,王一涛,等.桃仁的研究进展[J].中草药,2015,46(17):2649-2655.
- [6] 陈秋荷,皮荣标,陈景考.大黄酸及其衍生物:合成与药理作用研究进展[J].药学研究,2016,35(3):161-167.
- [7] 刘萍,张丽萍.桂枝化学成分及心血管药理作用研究[J].辽宁中医杂志,2012,39(10):1926-1927.
- [8] 张玉龙,王梦月,杨静玉,等.炙甘草化学成分及药理作用研究进展[J].上海中医药大学学报,2015,29(3):99-102.
- [9] 单丽芳,曹蕾,杨红梅,等.Box-Behnken响应面法优选参芪复方颗粒的水提工艺[J].天然产物研究与开发,2016,28(4):568-574.
- [10] 谢凡,施崇精,杨秀清,等.基于信息熵理论的正交设计结合指纹图谱优选加味四妙颗粒的提取工艺[J].中草药,2018,49(6):1331-1337.
- [11] 李森,王星星,康小东,等.基于信息熵理论的哮喘方水提取工艺优选研究[J].中草药,2016,47(12):2113-2117.
- [12] 王仁杰,李森,闫明,等.信息熵理论在热毒宁口服制剂中金银花与栀子提取工艺优选中的应用[J].中草药,2015,46(5):683-687.
- [13] 金林,赵万顺,郭巧生,等.响应面法优化白芍提取工艺的研究[J].中国中药杂志,2015,40(15):2988-2993.
- [14] 吴璐,杨华生.基于信息熵理论的中药提取工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(9):29-31.
- [15] 李佳佳,郑鹏,顿佳颖,等.荆芥与连翘混合挥发油提取工艺优化[J].中国药房,2019,30(6):813-817.
- [16] 王奇.《伤寒论》方中炙甘草炮制方法探析[J].河北中医,2013,35(11):1654-1655.
- [17] 岳北阳.对芒硝入汤剂煎服法的认识[J].吉林中医药,2004,24(11):59.
- [18] 田帅,汪海涛,姜瑛,等.结合聚类分析与信息熵赋权的构件选择方法[J].计算机与数字工程,2017,45(12):2437-2441,2551.
- [19] 姜旭,王宇卿,耿榕徽.多指标正交优化复方粉背雷公藤凝胶剂的提取工艺[J].中国中医药科技,2018,25(6):823-825.
- [20] 聂阳,焦豪妍,何盛江,等.基于多指标综合评分优选乐脉颗粒提取工艺[J].中药新药与临床药理,2016,27(2):273-277.

(收稿日期:2019-03-12 修回日期:2019-07-04)

(编辑:段思怡)