

化学计量学结合信息熵赋权优选半夏白术天麻汤提取工艺

徐 男¹, 孙 蓉², 崔焕月¹, 黄 欣³, 李晓宇¹, 王 亮¹, 时海燕^{3*}

1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014

2. 山东大学高等医学研究院, 山东 济南 250012

3. 山东第一医科大学第一附属医院, 山东 济南 250014

摘要: **目的** 建立化学计量学与信息熵赋权相结合的提取工艺优化方法, 并将其应用于半夏白术天麻汤水提工艺优化, 以充分保证经典名方的有效性和质量一致性。 **方法** 以半夏白术天麻汤为模型药物, 采用 HPLC 法建立指纹图谱, 对共有峰峰面积进行主成分分析 (PCA), 以 PCA 总因子得分、指纹图谱相似度及干膏收率为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计法考察加水量、浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数对提取效果的影响, 信息熵赋权法确定各指标的客观权重, 优化水提工艺参数。 **结果** 通过中药色谱指纹图谱相似度评价系统匹配 26 个共有峰, 并确定其中 7 个化合物。根据综合评分结果, 确定最佳提取工艺为 12 倍加水量, 煎煮 2 次, 每次 1 h。3 批验证综合评分均值为 0.418 0, RSD 为 3.32%。 **结论** 优选后的工艺提取率高、稳定性和重复性好, 适用于半夏白术天麻汤经典名方制剂的工业化生产。

关键词: 半夏白术天麻汤; 信息熵; 正交设计; 指纹图谱; 化学计量学; 提取工艺; 经典名方; 有效性; 质量一致性; HPLC; 主成分分析; 相似度

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)04-0995-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.04.025

Optimization of extraction technology of Banxia Baizhu Tianma Decoction by chemometrics combined with information entropy weighting

XU Nan¹, SUN Rong², CUI Huan-yue¹, HUANG Xin³, LI Xiao-yu¹, WANG Liang¹, SHI Hai-yan³

1. Shandong Research Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

2. Institute of Advanced Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

3. The First Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan 250014, China

Abstract: Objective The extraction process optimization method of chemometrics combined with information entropy weight was established and applied to the water extraction process optimization of Banxia Baizhu Tianma Decoction (BBTD), in order to fully ensure the effectiveness and quality consistency of classical prescription. **Methods** Taking BBTD as the model drug, the fingerprint was established by HPLC method. The common peak area was analyzed by principal component analysis (PCA), the total factor score of PCA, the similarity of fingerprint and the yield of dry paste were used as evaluation indexes. $L_9(3^4)$ orthogonal design was used to investigate the effects of adding water, soaking time and boiling time on the extraction effect, and the objective weight of each index was determined by information entropy weighting method. The technological parameters of water extraction were optimized. **Results** Twenty-six common peaks and seven compounds were identified by the similarity evaluation system of chromatographic fingerprints of traditional Chinese medicine. According to the results of comprehensive score, the optimum extraction process of the preparation was determined to be 12 times the amount of water, decoction twice, 1 hour each time. The average comprehensive score of the three batches of verification was 0.418 0 with RSD of 3.32%. **Conclusion** The optimized process has high extraction rate, good stability and repeatability, and is suitable for the industrial production of BBTD.

Key words: Banxia Baizhu Tianma Decoction; information entropy; orthogonal design; fingerprint; chemometrics; extraction technology; classical prescriptions; effectiveness; quality consistency; HPLC; principal component analysis; similarity

收稿日期: 2019-09-24

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0368); 山东省中医药科技发展计划项目 (2017-136); 山东省重点研发计划项目 (2017CXGC1308); 山东省泰山学者工程专项 (ts201511107)

作者简介: 徐 男 (1982—), 男, 中药学博士, 主要从事中药新药开发与药效物质研究。E-mail: 93679706@qq.com

*通信作者 时海燕, 生药学博士, 主要从事中药药效物质基础研究。E-mail: shihaiyan123@163.com

半夏白术天麻汤 (Banxia Baizhu Tianma Decoction, BBTD) 源于《医学心悟》(清·程国彭撰), 由半夏、天麻、茯苓、橘红、白术、甘草 6 味中药组成, 主要化学成分包括酚类酚酸、黄酮、皂苷、生物碱以及多糖、蛋白质等大分子^[1-7], 具有燥湿化痰、平肝息风的功效, 主治风痰上扰所致眩晕头痛、胸闷呕恶、舌苔白腻、脉弦滑等证, 是中医临床治疗痰湿壅盛型高血压的代表方剂^[8-9]。BBTD 被收录于 2018 年国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录 (第一批)》, 是首批发布的 100 首经典名方之一^[10], 目前未发现现代中成药品种上市。

中药复方“多靶点”的机制内涵决定其生物效用的发挥是“多成分”作用于机体的综合效应^[11-12]。为满足经方物质基础的整体性, 其提取工艺评价指标应由传统的单个或多个化学成分逐步转向全成分控制, 不一味追求个别成分含量最大, 而是全面综合权衡^[13-14]。指纹图谱建立在中药化学成分系统研究的基础上, 是一种综合的、整体的、可量化的定性定量分析手段, 具有“整体性”特点, 能够较好地体现复方中各类成分与疗效的相关性^[15-18], 主要用于评价中药材以及中药制剂质量的真实性、优良性和稳定性。但指纹图谱包含的信息量大, 特别分析含有几十种甚至上百种化学成分的中药复方复杂体系有困难。化学计量学应用数学、统计学和其他方法和手段 (包括计算机) 选择最优试验设计和测量方法, 并通过对测量数据的处理和解析, 最大限度地获取有关物质系统的成分、结构及其他相关信息^[19]。目前, 化学计量学已经成功用于优化中药复方制剂的生产过程^[20-21], 对从复杂的 HPLC 指纹图谱检测数据中提取有效的化学信息, 从而进行有效的工艺优化及质量评价具有重要意义。

多指标提取工艺优选本质上是多属性决策问题, 按照评价指标的重要性赋予相应的权重。主观赋权法主要由经验进行判定, 受研究者的主观影响大; 客观赋权法经过对实验数据的整理、计算和分析, 从而得到权重系数, 数据可靠性更高。信息熵理论作为一种客观赋权法, 已经在诸多中药及复方提取工艺中应用^[22-24], 可用于多指标综合评价, 计算指标的信息熵, 给出各个指标的不同权重。

BBTD 的制法《医学心悟》中仅记载“水煎服”, 无具体的工艺指标, 未对加水量、浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数提出明确要求。为最大程度保留经

方特色, 本实验在遵循传统水煎煮的基础上, 优选 BBTD 提取工艺, 采用 HPLC 法建立指纹图谱, 对共有峰峰面积进行主成分分析 (PCA), 以 PCA 总因子得分、指纹图谱相似度及干膏收率为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计法考察加水量、浸泡时间、煎煮时间、煎煮次数对提取效果的影响, 采用信息熵赋权法确定各指标的客观权重, 优化水提工艺参数, 制定体现经方制药特点的提取工艺, 充分保证 BBTD 的有效性和质量一致性。以期突破经典名方制剂研发的难点与重点提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

KQ-250E 型医用超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; FA1100 型电子分析天平, 上海精密科学仪器有限公司; METTLER AE 240 型电子分析天平, 瑞士梅特勒公司; PHS2-3C 型精密 pH 计, 上海雷磁仪器厂; LXJ-II 型离心沉淀机, 上海医疗器械三厂; 箱式电阻炉, 上海申光仪器仪表有限公司; 高效液相色谱仪、工作站及紫外检测器, 美国赛默飞 U-3000 液相色谱仪。

1.2 试药

对照品天麻素 (批号 wkq18011604)、甘草苷 (批号 wkq16071504)、柚皮苷 (批号 wkq17052406)、橙皮苷 (批号 wkq15123105)、异甘草苷 (批号 wkq18042008)、白术内酯 III (批号 wkq18041206)、甘草次酸 (批号 wkq16070701), 购于四川省维克奇生物科技有限公司, 所有对照品经 HPLC 峰面积归一化法检测质量分数均在 98% 以上; 甲醇色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司, 水为广州屈臣氏纯净水。

半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎; 天麻为兰科天麻属植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥块茎; 白术为菊科苍术属植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎; 橘红为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥外层果皮; 茯苓为多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核; 甘草为豆科甘草属多年生草本植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎。以上药材饮片均购自安徽亳州药材市场, 经山东大学孙蓉教授鉴定, 符合《中国药典》2015 年版标准。半夏 (清) 饮片、天麻饮片、白术 (麸炒) 饮片、橘红饮片、茯苓饮片、甘

草（炒）饮片均为实验室自制。

2 方法与结果

2.1 BBTD 的制备

称取半夏 9 g，白术 15 g，天麻 6 g，茯苓 6 g，橘红 6 g，甘草 4 g，置于圆底烧瓶中，加水，浸泡，煎煮，合并煎液，抽滤，减压浓缩（70 ℃），加水定容至 50 mL。

2.2 色谱条件

Inert Sustain C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-水；线性梯度洗脱时间程序：0~48 min，3%~45%乙腈；48~60 min，45%~100%乙腈；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 254 nm；柱温 30 ℃；进样量 10 μL；理论塔板数 3 000。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取对照品天麻素 5.67 mg、甘草苷 4.68 mg、柚皮苷 3.60 mg、橙皮苷 2.97 mg、异甘草苷 3.22 mg、白术内酯 III 3.08 mg、甘草次酸 2.22 mg，置 10 mL 量瓶中，加甲醇使溶解并稀释至刻度，摇匀，即得对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

精密量取 BBTD 2 mL，加甲醇定容至 25 mL，密闭，称定质量后超声（250 W，40 kHz）溶解 30 min，静置，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，经 0.45 μm 滤膜滤过，取续滤液即得供试品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取正交试验 S1 号实验提取条

件下的供试品溶液，连续进样 6 次，记录指纹图谱，选择出峰稳定、峰面积较大、响应值最高的柚皮苷为参照峰，各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.80%，相对峰面积 RSD 均小于 2.90%，表明本方法精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 取正交试验 S1 号实验提取条件下的供试品溶液，分别于 0、4、8、12、16、24 h 进行检测，记录指纹图谱，以柚皮苷为参照峰，各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.98%，相对峰面积的 RSD 均小于 2.60%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.3 重复性考察 分别取 BBTD（S1）6 份，按照“2.4”项方法制备供试品溶液及“2.2”项色谱条件进行检测，记录指纹图谱，以柚皮苷为参照峰，各共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.88%，相对峰面积 RSD 均小于 2.80%，表明方法重复性良好。

2.6 提取工艺优选

根据《伤寒论》中汤剂加水量与剂量的比值范围^[25]，设计 L₉(3⁴)正交试验，以加水量（A）、浸泡时间（B）、煎煮时间（C）、煎煮次数（D）为考察因素，每个因素 3 个水平，见表 1。其中，煎煮时间为每次煎煮的时间，加水量是指总的溶剂量，结合生产中常用溶剂量设计各提取次数溶剂分配比为 12（8：4）、（6：3：3），16（10：6）、（8：4：4），20（12：8）、（10：5：5）。

2.6.1 提取液的制备 称取半夏 9 g，白术 15 g，天麻 6 g，茯苓 6 g，橘红 6 g，甘草 4 g 共 9 份，置于

表 1 L₉(3⁴) 正交试验因素水平、实验设计与结果

Table 1 Factors level, experimental design and results of L₉(3⁴) orthogonal experiment

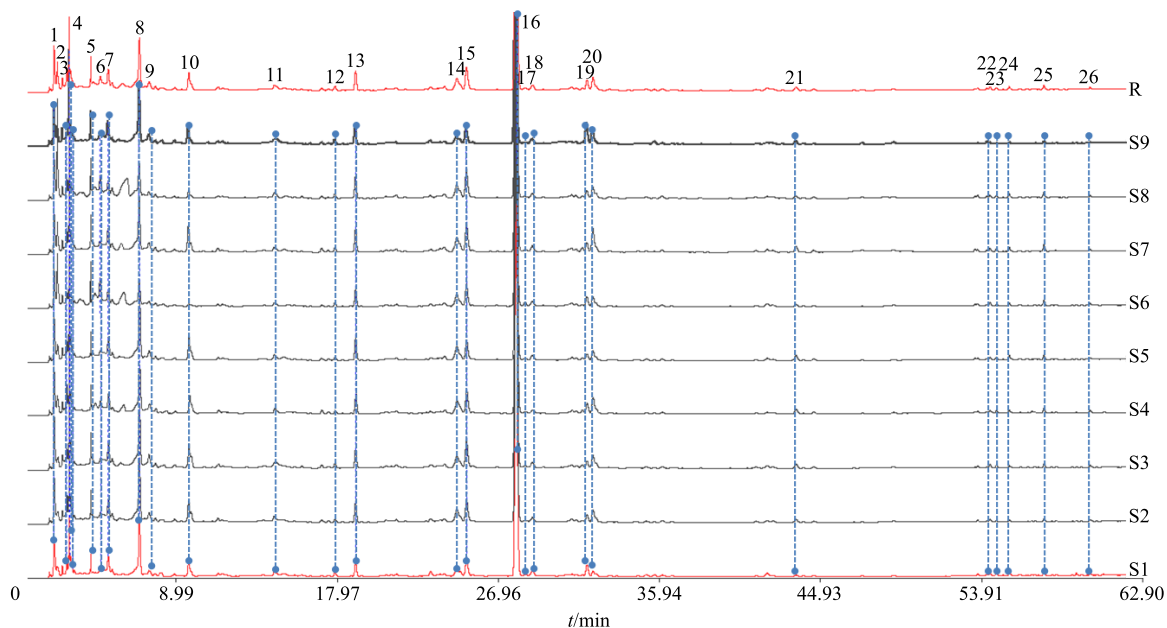
试验号	A/倍	B/min	C/h	D/次	总因子得分	相似度	出膏率	综合评分
S1	12 (1)	0 (1)	1 (1)	1 (1)	-2.175 2	0.588	0.275 4	-0.121 7
S2	12 (1)	30 (2)	2 (2)	2 (2)	0.287 5	0.592	0.386 3	0.096 3
S3	12 (1)	60 (3)	3 (3)	3 (3)	0.873 8	0.811	0.422 4	0.254 8
S4	16 (2)	0 (1)	2 (2)	3 (3)	0.271 0	0.586	0.455 5	0.164 5
S5	16 (2)	30 (2)	3 (3)	1 (1)	-0.085 7	0.592	0.374 3	0.116 5
S6	16 (2)	60 (3)	1 (1)	2 (2)	-0.741 9	0.800	0.393 0	0.075 6
S7	20 (3)	0 (1)	3 (3)	2 (2)	2.183 5	0.803	0.450 3	0.398 4
S8	20 (3)	30 (2)	1 (1)	3 (3)	0.409 0	0.801	0.401 3	0.200 7
S9	20 (3)	60 (3)	2 (2)	1 (1)	-0.447 1	0.810	0.353 7	0.103 7
K ₁	0.229 4	0.441 2	0.154 6	0.098 5				
K ₂	0.356 6	0.413 5	0.364 5	0.570 3				
K ₃	0.702 8	0.434 1	0.769 7	0.620 0				
R	0.473 4	0.027 7	0.615 1	0.521 5				

圆底烧瓶中,按已经设计好的 $L_9(3^4)$ 正交表进行加水,浸泡,煎煮,合并煎液,抽滤,减压浓缩(70 °C),加水定容至 50 mL。

2.6.2 指纹图谱的建立及相似度评价 按“2.1”“2.4”项下方法制备不同水平供试品溶液,在“2.2”项条件下分别进样测定,记录色谱图。将 9 批样品的指纹图谱以 CDF 格式依次导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012),以 S1 样品图谱为参照图谱,采用中位数法,时间窗宽度为 0.05 min,对

色谱峰进行多点校正后,自动匹配,生成对照指纹图谱,结果见图 1。

匹配 26 个共有色谱峰,通过与对照品保留时间比较,确定其中 7 个化合物,分别为天麻素(9 号峰)、甘草苷(15 号峰)、柚皮苷(16 号峰)、橙皮苷(17 号峰)、异甘草苷(20 号峰)、白术内酯 III(22 号峰)、甘草次酸(26 号峰),色谱图见图 2。9 批所测供试品色谱图与对照指纹图谱相似度结果见表 1。



9-天麻素 15-甘草苷 16-柚皮苷 17-橙皮苷 20-异甘草苷 22-白术内酯 III 26-甘草次酸,下同

9-gastrodin 15-glycyrrhizin 16-naringin 17-hesperidin 20-isoliquiritoside 22-atractylenolide III 26-glycyrrhetic acid, same as below

图 1 不同提取条件下 9 组样品 (S1~S9) HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of nine groups (S1—S9) of samples and reference fingerprint (R) under different extraction conditions

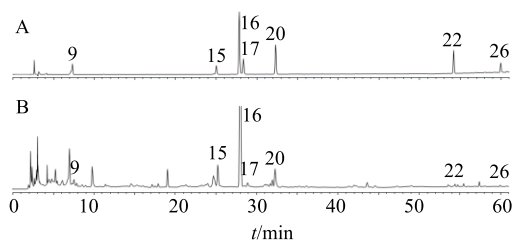


图 2 混合对照品 (A) 和 BBTD 供试品 (S1, B) HPLC 图

Fig. 2 HPLC diagram of mixed reference substance (A) and BBTD sample (S1, B)

2.6.3 PCA 采用 SPSS 18.0 软件对 26 个共有峰峰面积进行因子分析,结果见表 2、3。26 个共有峰中前 4 个主成分对应特征根分别为 8.117、6.749、3.425、2.680,累积方差贡献率达到 80.656%,即涵盖了大部分信息。这表明前 4 个主成分能够反映

BBTD 的大部分信息。在第 1 主成分中,峰 3、4、12~14、15 (甘草苷)、16 (柚皮苷)、19、22 (白术内酯 III)、25 及 26 (甘草次酸) 的系数较大,说明第 1 主成分主要反映上述色谱峰的信息;峰 1、2、6~8、9 (天麻素)、10、11、15 (甘草苷) 和 19 等在第 2 主成分上有较高载荷,说明第 2 主成分主要反映它们的信息;第 3 主成分主要反映峰 5、8、10 和 17 的信息;第 4 主成分主要反映峰 20 (异甘草苷)、23 的信息。而峰 15 (甘草苷)、19 信息由主成分 1 和主成分 2 共同解释。

旋转后主成分空间图(图 3)和主成分因子载荷矩阵结果相同,距离 Y 轴较近的是主成分 1 中权重较大的成分,距离 X 及 Z 轴较近的分别在主成分 2 和 3 上有较大载荷。

表 2 特征值和方差贡献率

Table 2 Characteristic value and variance contribution rate

主成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%	合计	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	8.117	31.218	31.218	8.117	31.218	31.218
2	6.749	25.958	57.177	6.749	25.958	57.177
3	3.425	13.171	70.348	3.425	13.171	70.348
4	2.680	10.307	80.656	2.680	10.307	80.656
5	2.047	7.874	88.530			
6	1.325	5.097	93.627			
7	1.040	3.998	97.626			
8	0.617	2.374	100.000			

表 3 初始因子荷载矩阵

Table 3 Component load matrix

色谱峰	载荷							色谱峰	载荷						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
1	0.180	0.806	0.241	-0.408	-0.246	-0.138	-0.118	14	0.852	0.225	0.006	0.347	0.251	-0.146	0.057
2	-0.196	0.757	-0.080	0.164	0.588	0.067	-0.019	15	0.608	0.533	-0.273	0.083	0.082	-0.355	0.351
3	0.943	0.119	0.007	0.181	-0.155	0.008	0.045	16	0.547	-0.508	0.001	0.010	-0.627	0.057	-0.138
4	0.659	-0.500	-0.050	0.444	0.166	0.282	-0.084	17	-0.142	-0.328	0.835	-0.010	0.207	0.142	0.112
5	0.536	-0.483	0.654	0.171	0.129	-0.047	0.054	18	-0.651	0.061	0.165	0.454	-0.413	0.246	0.120
6	-0.262	0.886	0.311	-0.075	0.155	-0.003	0.086	19	0.620	0.598	0.200	0.294	-0.191	-0.019	0.009
7	-0.075	0.947	0.154	-0.086	-0.005	-0.071	0.154	20	-0.585	0.286	0.377	0.579	0.179	0.134	0.006
8	0.089	0.601	0.622	-0.459	-0.098	0.132	-0.073	21	0.498	-0.117	0.221	0.352	0.527	-0.249	-0.460
9	0.229	0.666	-0.588	0.356	-0.047	0.028	0.140	22	0.828	-0.343	0.327	0.053	0.167	0.055	0.207
10	0.321	0.679	0.589	-0.137	-0.240	-0.094	-0.062	23	-0.365	0.324	0.334	0.682	-0.280	0.309	-0.011
11	-0.313	0.564	-0.519	0.045	0.182	0.526	-0.057	24	0.292	-0.298	-0.053	-0.609	0.402	0.403	0.356
12	0.747	0.406	-0.036	-0.165	0.239	0.307	-0.313	25	0.835	-0.024	0.174	-0.100	-0.140	0.421	0.239
13	0.666	0.315	-0.286	-0.211	-0.208	0.250	-0.434	26	0.827	0.170	-0.305	0.237	-0.192	-0.066	0.230

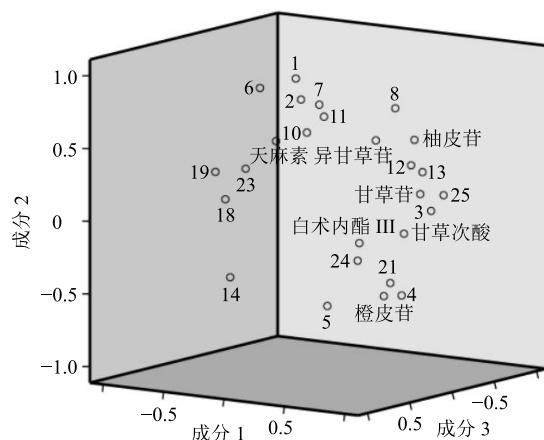


图 3 样本在 7 个主成分的平面分布图

Fig. 3 Samples in planar distribution of seven main components

将原始指标进行标准化处理, 结果见表 4, 以提取的 4 个主成分的因子得分乘以相应的方差算数平方根, 得到 4 个主成分的得分, 即主成分 1 得分 (F_1)=主成分 1 因子得分 $\times$ 初始特征值的算数平方根, 以此类推得到主成分 2~4 得分 ($F_2\sim F_4$)。按照公式 $F=0.319\ 776\ F_1+0.265\ 897\ F_2+0.134\ 917\ F_3+0.105\ 580\ F_4$ 分别计算正交设计 9 个样品的综合得分, 结果见表 1。

2.6.4 出膏率的测定 吸取提取液 10 mL, 置已干燥至恒定质量的蒸发皿中, 蒸干, 于 105 ℃ 烘 3 h, 取出, 冷却至室温后称定质量, 计算出膏率。结果见表 1。

2.6.5 信息熵方法对数据的分析 依据信息熵赋权

表 4 9 批样品 (S1~S9) 共有峰标准化峰面积

Table 4 Common peak relative peak area of nine batches of samples (S1—S9)

色谱峰	t_R/min	标准化峰面积								
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
1	1.920	-0.885 4	0.393 5	0.826 2	0.361 5	0.684 1	-0.784 8	1.330 7	-1.840 2	-0.085 5
2	3.017	-0.481 7	0.434 4	0.778 4	-0.051 4	0.276 5	-2.417 7	0.131 9	0.393 0	0.936 6
3	4.238	-1.649 1	-0.190 8	-0.084 0	0.837 9	-0.549 7	0.446 9	1.553 0	0.699 6	-1.063 9
4	4.777	-1.127 3	-0.371 6	-0.548 7	-0.365 6	-0.418 7	1.106 5	0.230 0	2.086 7	-0.591 3
5	5.215	0.008 2	-0.628 2	-0.398 9	-1.365 9	-0.654 5	1.110 1	1.629 7	0.930 5	-0.631 0
6	6.917	-0.220 0	0.080 2	0.708 9	0.008 5	0.278 0	-1.934 1	0.995 1	-1.105 3	1.188 6
7	7.517	-0.704 0	-0.216 7	1.510 7	0.305 5	0.343 5	-1.501 5	0.757 4	-1.250 7	0.755 9
8	9.735	-0.494 8	-0.161 9	0.185 2	-0.546 5	1.084 4	-0.622 1	1.765 4	-1.601 0	0.391 4
9	17.107	-1.566 5	-0.010 9	1.225 4	1.594 4	-0.341 6	-1.000 2	-0.469 3	0.326 9	0.241 8
10	11.365	-1.019 4	0.027 5	0.626 1	-0.199 0	0.051 2	-0.379 6	2.065 6	-1.431 1	0.258 7
11	14.482	-0.925 0	0.091 3	0.085 1	0.899 3	1.114 5	-1.478 8	-1.181 3	0.186 2	1.208 8
12	19.033	-1.987 7	0.372 1	0.017 3	0.056 3	1.146 9	-0.555 4	1.141 9	0.597 5	-0.788 9
13	24.655	-2.212 9	0.580 7	0.254 7	0.551 2	1.146 0	0.441 2	0.264 7	-0.130 0	-0.895 7
14	25.185	-1.537 9	-0.169 6	0.997 8	0.048 9	-0.652 2	-0.206 6	1.223 0	1.288 5	-0.992 0
15	27.940	-0.950 0	-0.353 1	1.563 4	1.193 8	-0.530 7	-0.897 4	0.817 3	0.283 0	-1.126 3
16	28.423	-0.863 6	-0.266 3	-0.425 3	0.249 2	-0.237 0	2.437 6	0.161 2	-0.104 3	-0.951 6
17	28.862	0.817 8	-1.048 0	-0.016 9	-2.152 9	0.205 8	0.618 9	0.875 6	0.066 4	0.633 3
18	31.895	0.391 4	-0.250 1	-0.853 1	0.419 4	-1.010 6	0.134 8	-0.438 6	-0.672 8	2.279 5
19	32.233	-1.708 4	0.119 5	0.184 4	0.823 3	-0.804 4	-0.464 2	1.862 1	-0.118 1	0.105 8
20	35.213	0.064 2	-0.215 8	0.658 4	-1.158 4	-0.703 5	-0.662 5	-0.289 6	0.036 9	2.270 4
21	36.113	-0.700 3	1.231 4	-0.019 7	-1.266 8	-0.765 2	-0.234 1	0.979 6	1.502 8	-0.727 8
22	53.690	-0.482 6	-0.859 9	-0.470 1	-0.329 7	-0.283 3	0.684 4	1.699 7	1.297 3	-1.256 0
23	54.380	-0.802 5	-0.380 2	0.227 8	-0.351 2	-0.928 7	0.133 5	-0.034 8	-0.323 6	2.459 7
24	55.443	0.548 5	-1.270 1	-0.781 5	0.032 8	1.760 9	-0.298 4	0.347 6	0.856 1	-1.195 9
25	57.372	-1.320 0	-1.239 0	-0.577 7	0.530 4	0.538 7	0.669 8	1.559 8	0.598 3	-0.760 0
26	59.960	-1.638 6	-0.654 5	1.018 0	1.139 2	-0.499 3	0.518 7	0.528 4	0.707 8	-1.119 8

法计算原理, 计算得到 BBTD 提取工艺各指标 PCA 总因子得分、指纹图谱相似度、出膏率的客观权重系数依次为 0.107 7、0.131 8、0.127 4。将实验结果的全部数据按照综合评分计算, 加权处理, 得到 BBTD 提取工艺的综合评价指标, 再进行方差分析, 结果见表 1、5。

2.6.6 正交结果分析 将综合评分输入 SPSS 18.0 软件进行正交分析, 结果见表 1、5。由正交实验直观分析可知, 各因素影响程度依次为 $C>D>A>B$, 各因素不同水平的影响程度依次为 $A_3>A_2>A_1$ 、 $B_1>B_3>B_2$ 、 $C_3>C_2>C_1$ 、 $D_3>D_2>D_1$ 。以影响程度最小的因素作误差, 由方差分析结果可知, 加水量 (A)、浸泡时间 (B)、煎煮时间 (C)、煎煮次

表 5 方差分析

Table 5 Variance analysis

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	0.040	2	0.727	$P>0.05$
B	0.000	2	0.000	$P>0.05$
C	0.065	2	1.182	$P>0.05$
D	0.055	2	1.000	$P>0.05$
误差	0.060	2		

$F_{0.05}(2) = 19.00, F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

数 (D) 对提取工艺无显著性影响 ($P>0.05$)。但煎煮次数表现为 $K_2-K_1>>K_3-K_2$, 水平 2 与水平 3 之间相差较小, 因此煎煮次数选用水平 2。综合考虑生产周期、成本等方面, 最终选择提取工艺为

A₁B₁C₁D₂, 即 12 倍量水, 浸泡 0 min, 煎煮时间为 1 h, 煎煮 2 次。

2.7 验证实验

按照最佳提取工艺提取 3 批 BBTD 进行验证, 将测得的数据代入数据组中进行分析, PCA 总因子得分分别为 2.253 6、2.412 5、2.186 6, 相似度分别为 0.857、0.866、0.861, 出膏得率分别为 44.58%、46.96%、46.06%, 综合评分均值为 0.418 0, RSD 为 3.32%。验证结果表明, 该提取工艺稳定可行。

3 讨论

本实验采用化学计量学方法与信息熵赋权相结合的方法用于优化 BBTD 的提取工艺。首先, 从复杂的 HPLC 指纹图谱检测数据中提取信息, 采用 PCA 方法对中药色谱指纹图谱相似度评价系统自动匹配的 26 个特征峰的峰面积进行降维处理, 结果显示, 4 个主成分综合代表 80.656% 共有峰的信息, 涵盖了指纹图谱的大部分信息。然后通过各组 PCA 总因子得分结果、出膏率 (衡量经济效益指标) 以及指纹图谱相似度 (色谱峰一致性评价指标) 作为考察指标, 综合评价优化提取方法, 经验证工艺稳定可行, 能全面、综合地反映提取的效果, 为该方的进一步开发及工艺研究提供数据支持。

为明确指纹图谱组成, 选择处方中所属中药共 7 个指标性成分 (天麻素、甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、异甘草苷、白术内酯 III、甘草次酸), 通过与对照品保留时间比对, 确认其在特征峰中归属, 从而保证所匹配特征峰的有效性。通过对成分矩阵进行分析发现, 所定性成分集中在第 1 主成分上, 且占有较高的载荷, 表明指标性成分可代表所匹配大部分色谱峰, 从有效物质群角度表明提取效率高且药效好。

权重系数在综合评分中的分配直接关系工艺提取的科学性和合理性。本实验在正交试验数据处理过程中利用信息熵理论进行客观赋权, 结果显示 PCA 总因子得分、指纹图谱相似度、出膏率的客观权重系数依次为 0.107 7、0.131 8、0.127 4, 表明相似度为本试验信息熵变化影响的关键指标, 其次是浸膏得率、PCA 总因子得分。通过信息熵赋权清晰地反映了各评价指标在不同提取条件下变化的客观规律^[26], 减少了主观因素对实验结果的干扰, 提升了本实验研究的科学性与严谨性。与传统采用主观方法为各评价指标的权重系数相比, 更具科学性、客观性与可行性。

参考文献

- [1] 徐 男, 孙 蓉, 朱晓明, 等. 基于多元统计方法和成分差异分析辨识半夏白术天麻汤的质量标志物 (Q-marker) [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4595-4602.
- [2] 徐 男, 时海燕, 王淑玲, 等. 基于正交试验配合多药效指标综合评价半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压的有效组分配伍 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 7-13.
- [3] 王淑玲, 徐 男, 孙云廷, 等. 截留相对分子质量 ≤ 1 000 半夏白术天麻汤 4 种提取液对原发性高血压大鼠血清中单胺类递质的影响 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(5): 772-777.
- [4] Hu P Y, Yue P F, Zheng Q, *et al.* Pharmacokinetic comparative study of gastrodin after oral administration of *Gastrodia elata* Bl. extract and its compatibility with the different indigents of *Ligusticum chuanxiong* Hort. to rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 191: 82-86.
- [5] Yang Y, Wang X, Zhao C, *et al.* Chemical mapping of essential oils, flavonoids and carotenoids in citrus peels by Raman microscopy [J]. *J Food Sci*, 2017, 82(12): 2840-2846.
- [6] Luo M, Luo H, Hu P, *et al.* Evaluation of chemical components in *Citri Reticulatae Pericarpium* of different cultivars collected from different regions by GC-MS and HPLC [J]. *Food Sci Nutr*, 2018, 6(2): 400-416.
- [7] 王淑玲, 孙秀梅, 张兆旺, 等. 半夏白术天麻汤提取液的血清指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1274-1279.
- [8] 徐 男, 王 亮, 时海燕, 等. 基于整合药理学平台探究半夏白术天麻汤治疗高血压的分子机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(2): 109-117.
- [9] Tan C S, Loh Y C, Ch'ng Y S, *et al.* Decomposition and reformulation of Banxia Baizhu Tianma Decoction: A vasodilatory approach [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9(2): 134-146.
- [10] 王奕博, 黄平情, 杜媛媛, 等. 基于第一批经典名方的分析与思考 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(11): 2191-2196.
- [11] 贾晓斌, 陈 彦, 李 霞, 等. 中药复方物质基础研究新思路和方法 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 420-425.
- [12] 梁爱华, 韩佳寅, 陈士林, 等. 中药经典名方的质量与安全性考量 [J]. 中国食品药品监管, 2018(6): 4-10.
- [13] 杨 明, 伍振峰, 郑 琴, 等. 中药经典名方开发与制剂研究的关键问题 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1590-1592.
- [14] 杨立伟, 王海南, 耿 莲, 等. 基于标准汤剂的中药整

- 体质量控制模式探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8): 1-6.
- [15] 张 慧, 陈 燕, 汪佳楠, 等. 指纹图谱技术在中药配方颗粒质量评价及过程控制中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(19): 3822-3827.
- [16] Yan B, Yang L, Ma D. Comprehensively evaluating the quality consistency of Liuwei Dihuang Pill by five-wavelength overall fused HPLC fingerprints combined with simultaneous determination and antioxidant activity [J]. *J Chromatogr Sci*, 2017, 55(10): 1026-1036.
- [17] Zheng Q, Zhao Y, Wang J, *et al.* Spectrum-effect relationships between UPLC fingerprints and bioactivities of crude secondary roots of *Aconitum carmichaelii* Debeaux (Fuzi) and its three processed products on mitochondrial growth coupled with canonical correlation analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 615-623.
- [18] 刘德文, 邓 哲, 陈 莎, 等. 泽泻饮片标准汤剂的制备及质量评价 [J]. 中草药, 2019, 50(4): 860-867.
- [19] 张 慧, 汪佳楠, 陈 燕, 等. 化学计量学在中药配方颗粒制备工艺与质量评价中的应用 [J]. 中药材, 2019, 42(2): 474-478.
- [20] 李壮壮, 张 静, 赵绍哲, 等. 指纹图谱与化学计量学结合优选柴胡桂枝颗粒水提工艺 [J]. 中成药, 2018, 40(8): 1861-1865.
- [21] 汪露露, 何丹丹, 王 满, 等. 基于指纹图谱与主成分分析相结合的复方虎杖方提取工艺研究 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 278-282.
- [22] 王星星, 李 淼, 康小东, 等. 基于信息熵赋权法优化哮喘方醇提工艺 [J]. 中成药, 2017, 39(7): 1391-1394.
- [23] 王仁杰, 李 淼, 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.
- [24] 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.
- [25] 王竹兰, 肖相如. 《伤寒论》汤剂加水量与剂量的关系 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(3): 433-435.
- [26] 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.