

· 中药工业 ·

响应曲面法优化金水六君煎回流提取工艺[△]

于亚云¹, 冯育林¹, 吴欢¹, 夏梦棋², 喻文韬¹, 姚闽^{1,3*}, 张武岗^{2*}

1. 江西中医药大学 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006;

2. 创新药物与高效节能降耗制药设备国家重点实验室, 江西 南昌 330006;

3. 江西省药品检验检测研究院, 江西 南昌 330029

[摘要] 目的: 优选金水六君煎中阿魏酸和橙皮苷回流提取工艺。方法: 在单因素试验基础上, 以提取时间、液料比、提取次数为影响因素, 以阿魏酸和橙皮苷提取率为考察指标, 采用响应曲面法优化金水六君煎回流提取工艺。结果: 金水六君煎的最佳回流提取工艺为提取 1.5 h、液料比 12:1, 提取 2 次。在此工艺条件下, 重复 3 次试验, 阿魏酸提取率为 60.59%, RSD 为 0.34%; 橙皮苷提取率为 59.67%, RSD 为 2.18%。结论: 响应曲面法优化得到的金水六君煎最佳回流提取工艺参数稳定可靠, 具有可行性和实用性。

[关键词] 经典名方; 金水六君煎; 响应曲面法; 橙皮苷; 阿魏酸

[中图分类号] R286 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)03-0582-08

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20220811003

Optimization of Reflux Extraction Process of Jinshui Liujun Decoction by Response Surface Methodology

YU Ya-yun¹, FENG Yu-lin¹, WU Huan¹, XIA Meng-qi², YU Wen-tao¹, YAO Min^{1,3*}, ZHANG Wu-gang^{2*}

1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herb Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China;

2. State Key Laboratory of Innovative Drug and Efficient Energy-Saving Pharmaceutical Equipment, Nanchang 330006, China;

3. Jiangxi Institute for Drug Control, Nanchang 330029, China

[Abstract] **Objective:** To optimize the reflux extraction process of ferulic acid and hesperidin from Jinshui Liujun Decoction. **Methods:** On the basis of single factor experiment, the response surface methodology was used to optimize the reflux extraction process of Jinshui Liujun Decoction with reflux time, liquid-to-material ratio, and reflux times as influencing factors, and extraction rate of ferulic acid and hesperidin as the investigation indicator. **Results:** The optimal conditions of the reflux extraction process of Jinshui Liujun Decoction were as follows: reflux time of 1.5 hours, the liquid-to-material ratio of 12:1, and twice reflux. Experiments were repeated three times under the process conditions, and the extraction rates of ferulic acid and hesperidin were 60.59% and 59.67%, with RSDs of 0.34% and 2.18%, respectively. **Conclusion:** The optimized reflux extraction process of Jinshui Liujun Decoction by response surface methodology is accurate and reliable, and it is feasible and practical.

[Keywords] classic prescription; Jinshui Liujun Decoction; response surface methodology; hesperidin; ferulic acid

金水六君煎是国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录(第一批)》^[1]的经典名方之一, 出自明代张景岳著《景岳全书》, 为“新方八阵·和阵”首剂, 由当归、熟地黄、陈皮、半夏、茯苓、炙甘草6味中药

组成, 主治肺肾虚寒证。现代临床将其运用于治疗哮喘、咳嗽、支气管炎、慢性阻塞性肺疾病、高血脂、脂肪肝等^[2-13]。当归和陈皮为金水六君煎的主要组成部分, 《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药

[△] **[基金项目]** 江西省中医药中青年骨干人才培养计划项目(S21-09); 江西中医药大学校级科技创新团队发展计划项目

* **[通信作者]** 姚闽, 高级工程师, 研究方向: 中药资源与质量控制; Tel: 0791-86217386, E-mail: 2337263942@qq.com
张武岗, 教授, 研究方向: 中药药效物质基础及质量标准; Tel: 0791-87119650, E-mail: 171518034@qq.com

典》) 2020年版分别将阿魏酸和橙皮苷作为其指标性成分。

中药有效物质的提取过程往往受多种因素的影响^[4],各因素间相互影响,且各独立因素的变化又与提取率无法建立线性关系。因此,探讨各因素与提取率之间的关系对中药及复方提取工艺优化至关重要。响应曲面法是一种结合数学应用、统计分析与试验设计的技术,探索影响因素与响应值之间的数学关系模型,通过系统试验,可以得出在一定条件下响应值与各影响因素间的关系^[5]。响应曲面法考虑了随机误差对试验的影响,将复杂的未知函数关系在一定条件内以简单的多项式模型来拟合,计算简便,是一种优化试验条件的有效方法,适用于解决非线性数据处理问题^[6]。本研究在单因素试验基础上,以提取时间、液料比、提取次数为影响因素,以阿魏酸和橙皮苷提取率为考察指标,采用响应曲面法优化金水六君煎回流提取工艺。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪[岛津仪器(苏州)有限公司];CLXXXDIM2型超纯水机[埃尔格(无锡)电子科技有限公司];MS205DU型十万分之一分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];KDM型可控温电热套(山东荣创仪器有限公司)。

1.2 试药

对照品阿魏酸(批号:110731-202021,纯度:96.2%)、橙皮苷(批号:110721-202019,纯度:95.3%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、磷酸均为色谱纯。

炙甘草(产地:内蒙古鄂尔多斯杭锦旗,批号:20191202)、茯苓(产地:安徽岳西,批号:20201112)、当归(产地:甘肃岷县,批号:20191101)、熟地黄(产地:河南焦作,批号:20191203)、半夏(产地:四川涪城,批号:20201017)、陈皮(产地:江西南丰,批号:20201102)经江西省药品检验检测研究院高级工程师姚闽鉴定,均符合《中国药典》2020年版相关项下要求。

2 方法

2.1 供试品溶液制备

按处方称取当归、熟地黄、陈皮、半夏、茯苓、炙甘草及生姜5片于1L煎药罐内,加水400mL,浸泡30min,参照《医疗机构中药煎药室管理规范》^[7]进行煎煮,得金水六君煎提取液。精密移取提取液2mL于10mL棕色量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得。

2.2 对照品溶液制备

精密称取橙皮苷和阿魏酸对照品置于不同棕色量瓶中,加甲醇定容至刻度,即得到橙皮苷和阿魏酸对照品溶液。再分别精密移取2种对照品溶液一定量于同一棕色量瓶中,加甲醇定容至刻度,得到橙皮苷和阿魏酸质量浓度分别为0.070600、0.006208mg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.3 色谱条件

采用Cosmosil C₁₈色谱柱(250mm×4.6mm,5μm),0.1%磷酸水溶液(A)-乙腈(B)为流动相梯度洗脱(0~20min,81%A;20~30min,81%~58%A;30~45min,58%A,45~50min,58%~15%A;50~55min,15%A;55~56min,15%~81%A;56~60min,81%A);流速为1mL·min⁻¹;橙皮苷检测波长为283nm,阿魏酸检测波长为316nm;柱温为35℃;进样量为20μL。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 依次按2.2项下方法制备空白溶液、橙皮苷对照品溶液、阿魏酸对照品溶液、金水六君煎液、陈皮阴性样品溶液、当归阴性样品溶液,按2.3项下色谱条件进样测定,结果见图1。橙皮苷与阿魏酸分离度良好,且当归阴性样品溶液中未检出阿魏酸,陈皮阴性样品溶液中未检出橙皮苷,该方法专属性较好,阴性无干扰。

2.4.2 线性考察 取阿魏酸、橙皮苷质量浓度分别为15.5200、0.1412mg·mL⁻¹的混合对照品溶液,分别精密吸取混合对照品溶液1、2、4、8、14、20μL,按2.3项下色谱条件进样测定,以进样量为横坐标(X),以峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得阿魏酸回归方程: $Y=5\,000\,000X-14\,533$ ($r=1.0000$),进样量为0.01552~0.31040μg时与峰面积线性关系良

好；橙皮苷回归方程： $Y=2\,000\,000X-123\,295$ ($r=0.9999$)，进样量为 $0.1412\sim 2.8240\ \mu\text{g}$ 时与峰面积线性关系良好。

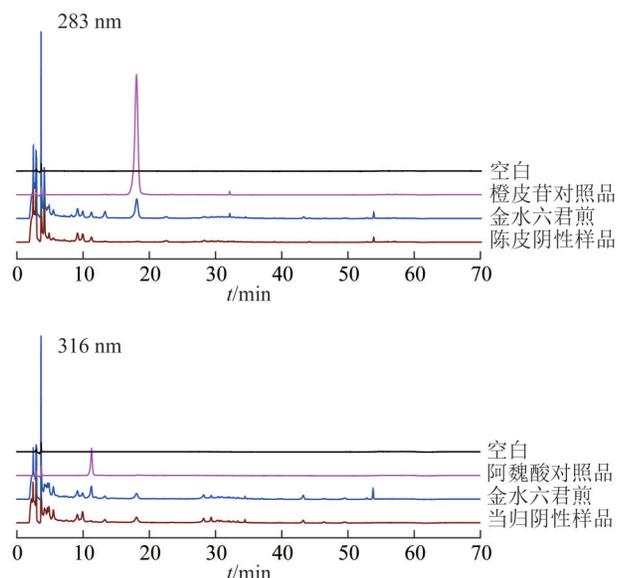


图1 金水六君煎中橙皮苷及阿魏酸含量测定
专属性考察

2.4.3 稳定性试验 取2.1项下供试品溶液适量，分别于0、4、8、12、16、20、24 h按2.3项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算峰面积的RSD。结果橙皮苷和阿魏酸峰面积的RSD分别为0.48%、0.87%，表明溶液在24 h内基本稳定。

2.4.4 精密度试验 取2.2项下对照品溶液适量，按2.3项下色谱条件进样测定，平行进样6次，记录峰面积，计算峰面积的RSD。结果橙皮苷和阿魏酸峰面积的RSD分别为0.29%、0.38%，表明仪器精密度良好。

2.4.5 重复性试验 取2.1项下的供试品溶液，平行准备6份，按2.3项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算样品中橙皮苷和阿魏酸的含量及其RSD，结果橙皮苷和阿魏酸含量的RSD分别为3.63%、3.99%，表明此方法重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验 按照2.1项下金水六君煎提取液，精密移取提取液1 mL于10 mL棕色量瓶内，分别加入80%、100%、120%的混合对照品，平行3份，按2.3项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算加样回收率。结果橙皮苷和阿魏酸加样回收率为85%~110%，表明此方法准确度良好。

2.5 提取工艺优化

2.5.1 橙皮苷和阿魏酸提取率计算 按公式(1)计算橙皮苷和阿魏酸提取率。

$$W = (C_s \times A_s) / A_x \times V \times n / (m \times P) \times 100\% \quad (1)$$

式中 W 为金水六君煎中橙皮苷(阿魏酸)的提取率， C_s 为橙皮苷(阿魏酸)对照品质量浓度， A_s 为橙皮苷(阿魏酸)对照品峰面积， A_x 为金水六君煎中橙皮苷(阿魏酸)峰面积， V 为金水六君煎体积， n 为稀释倍数， m 为陈皮(当归)进样量， P 为陈皮(当归)中橙皮苷(阿魏酸)含量。

2.5.2 单因素考察 金水六君煎作为传统煎液制剂，自《景岳全书》^[18]记载以来，《成方切用》^[19]、《虚损启微》^[20]、《成方便读》^[21]等中均记载为水煎煮，由此可得出该方为水煎，故无须对其煎煮溶液进行考察。

2.5.2.1 不同提取时间对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响 按照金水六君煎处方称取各味中药，添加8倍量水，分别提取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h，按2.1项下方法制备各供试品溶液，按2.3项下色谱条件进行测定，按公式(1)计算橙皮苷及阿魏酸提取率。考察在其他条件不变的情况下，不同提取时间对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响。

2.5.2.2 不同液料比对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响 按照金水六君煎处方称取各味中药，分别添加6、8、10、12、14倍水，提取0.5 h，按照2.1项下方法制备各供试品溶液，按2.3项下色谱条件进行测定，按公式(1)计算橙皮苷及阿魏酸提取率。考察在其他条件不变的情况下，不同液料比对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响。

2.5.2.3 不同提取次数对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响 按金水六君煎处方称取各味中药，按8:1的液料比添加水，提取0.5 h，分别提取6次，每次回流提取液分别按2.1项下方法制备各供试品溶液，按2.3项下色谱条件进行测定，按公式(1)计算橙皮苷及阿魏酸提取率。考察在其他条件不变的情况下，不同提取次数对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响。

2.5.3 响应曲面试验设计优化提取工艺 根据单因素试验的结果，以提取时间(A)、液料比(B)、提取次数(C)为变量，以橙皮苷和阿魏酸提取率为响应面值，利用Design-Expert 10.0软件，以-1、0、1代表变量水平，进行三因素三水平的Box-Behnken试

验设计,见表1。

表1 金水六君煎回流提取响应曲面三因素三水平试验设计

水平	A/h	B	C/次
-1	1.0	10:1	1
0	1.5	12:1	2
1	2.0	14:1	3

3 结果与分析

3.1 单因素考察

3.1.1 不同提取时间对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响结果 由图2可知,在液料比及提取次数固定时,在同一实验室条件下,阿魏酸的提取率随着时间的增加先下降后增加,1.5 h达到最大值后提取率无明显变化。橙皮苷的提取率随着时间的增加逐渐增加,1.5 h达到最大值后提取率无明显变化。因此选用1.5 h进行后续研究。

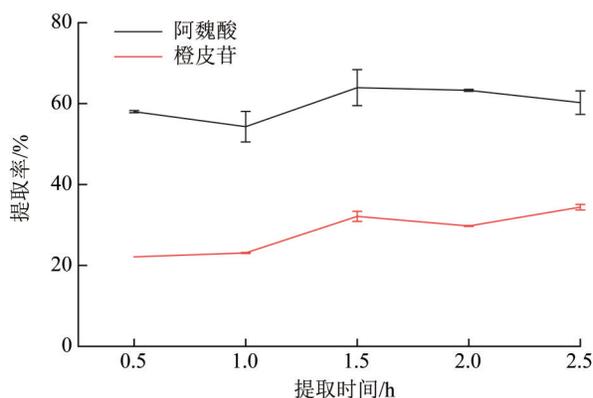


图2 提取时间对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.1.2 不同液料比对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响结果 由图3可知,在提取时间及提取次数固定时,在同一实验室条件下,随着液料比的增加,橙皮苷和阿魏酸的总提取率增加,加12倍水时达到最大值,继续增加加水量提取率无明显变化。因此液料比选用12:1进行后续研究。

3.1.3 不同提取次数对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响结果 由图4可知,在提取时间及液料比固定时,在同一实验室条件下,随着提取次数的增加,每次提取液中橙皮苷和阿魏酸的总提取率依次降低,从第3次开始阿魏酸提取率过低,且橙皮苷提取率也不高,因此提取次数选用2次进行后续研究。

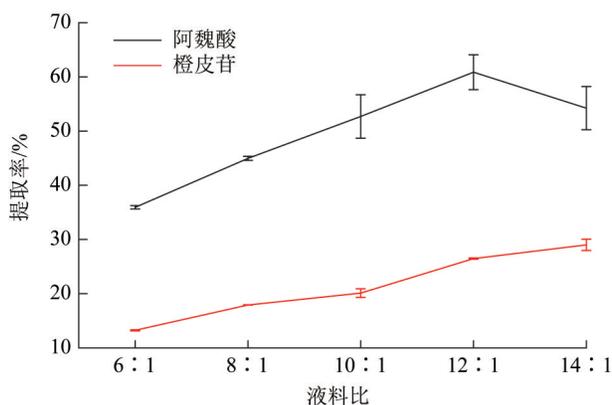


图3 液料比对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

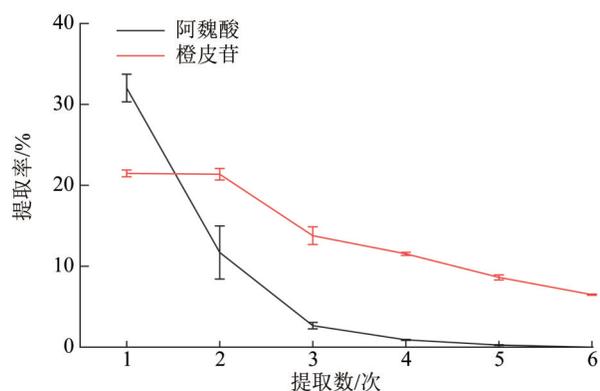


图4 提取次数对金水六君煎中阿魏酸及橙皮苷提取率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.2 响应面设计结果及分析

根据 Box-Behnken 设计原理,以提取时间、液料比、提取次数作为变量,以-1、0、1代表变量水平,进行17组试验,并进行响应面分析,以橙皮苷和阿魏酸总提取率为响应值,见表2。

3.2.1 模型方程的建立与显著性分析 采用 Box-Behnken 中心组合设计,分别拟合阿魏酸、橙皮苷提取率与考察因素变量的回归方程。阿魏酸提取率= $60.97 - 3.60A - 0.36B + 2.24C + 0.75AB - 3.26AC - 4.34BC - 0.55A^2 + 1.68B^2 - 6.04C^2$ (表3)。方差分析可知,该回归方程模型 $P=0.0488 < 0.05$ ($r=0.8268$),校正决定系数 (R^2_{adj})= 0.6042 ,模型显著。各因素对阿魏酸提取率的影响顺序为 $A > C > B$,其中失拟项不显著 ($P=0.5875 > 0.05$),说明无失拟项存在,该模型可用于分析各考察因素与阿魏酸提取率的作用规律。橙皮苷提取率= $64.76 + 3.76A + 3.18B + 22.13C + 6.36AB + 2AC + 0.25BC - 1.23A^2 + 0.0096B^2 - 6.01C^2$ (表3),方差分析可知该回归方程模型 $P=0.0004 < 0.05$

表2 金水六君煎中橙皮苷和阿魏酸提取率的响应曲面设计方案及结果

试验号	A	B	C	%	
				阿魏酸提取率	橙皮苷提取率
1	1	0	1	50.61	84.63
2	1	1	0	59.61	78.96
3	-1	1	0	63.26	62.10
4	0	-1	1	65.35	82.76
5	0	0	0	62.40	70.76
6	-1	0	-1	51.39	33.68
7	0	0	0	56.51	65.68
8	0	-1	-1	51.84	34.70
9	-1	-1	1	69.64	73.99
10	1	-1	0	55.81	54.28
11	0	0	0	55.93	65.45
12	1	0	-1	52.52	39.27
13	0	0	0	64.67	58.89
14	0	1	-1	57.27	36.37
15	0	1	1	52.45	82.61
16	0	0	0	64.88	61.61
17	-1	1	0	67.96	53.86

($r=0.9597$, $R^2_{adj}=0.9078$), 模型显著。各因素对橙皮苷提取率的影响顺序为 $C>A>B$, 其中失拟项不显著 ($P=0.2813>0.05$), 说明无失拟项存在, 该模型成立, 可用于分析各考察因素与橙皮苷提取率的作用规律。

3.2.2 考察因素间的相互作用 通过 Design-Expert 10.0 软件对各因素之间的交互作用进行响应面分析, 绘制响应面曲线图, 响应曲面陡峭程度越

大则对提取率影响也越大。由图5可知, 交互项BC、AC响应曲线较陡, 对阿魏酸提取率作用显著; 交互项AB响应曲线较平缓, 对阿魏酸提取率作用不显著。由图6可知, 交互项AB响应曲线较陡, 对橙皮苷提取率作用显著; 交互项AC、BC响应曲线较平缓, 对橙皮苷提取率作用不显著。

3.2.3 最佳工艺的预测与检验 本研究利用 Design-Expert 10.0 中的 Optimization 功能得到最佳优化方案: 提取时间为1.421 h、液料比为12.337:1、提取次数为2.112次, 结合实际对此工艺进行调整, 选用提取时间为1.5 h, 液料比为12:1, 提取次数为2次, 金水六君煎中阿魏酸提取率预测值为60.97%, 橙皮苷提取率预测值为64.76%。在此工艺下进行3次平行试验(表4), 测得阿魏酸提取率为60.59%, RSD为0.34%; 橙皮苷提取率为59.67%, RSD为2.18%, 与预测值相差较小, 基本符合预测值。结果验证了回归模型合理性, 说明响应曲面分析适合金水六君煎阿魏酸和橙皮苷的回流提取工艺。

4 讨论

金水六君煎是出自《景岳全书》的经典名方, 主治肺肾虚寒、水泛为痰或年迈阴虚、血气不足、外受风寒、咳嗽呕恶、喘逆多痰。该处方由当归、熟地黄、陈皮、半夏、茯苓、炙甘草6味中药组成。当归作为君药具有补血活血、抗炎和增强免疫力等功效, 其主要活性成分阿魏酸具有抗炎止痛、调血

表3 金水六君煎中橙皮苷及阿魏酸提取率响应曲面二次回归模型的方差分析结果

方差来源	自由度	阿魏酸			橙皮苷		
		均方	F值	P值	均方	F值	P值
模型	9	57.31	3.710	0.048 8	506.04	18.50	0.000 4
A	1	92.91	6.020	0.043 9	101.44	3.71	0.095 5
B	1	0.97	0.063	0.809 7	75.41	2.76	0.140 8
C	1	35.22	2.280	0.174 6	3 445.09	125.98	<0.000 1
AB	1	1.97	0.130	0.731 1	141.24	5.16	0.057 3
AC	1	33.31	2.160	0.185 2	12.52	0.46	0.520 4
BC	1	77.71	5.040	0.059 7	0.26	0.009 620	0.924 6
A ²	1	1.20	0.078	0.788 4	5.96	0.22	0.654 8
B ²	1	8.88	0.580	0.472 8	0.000 292	0.000 011	0.997 5
C ²	1	115.95	7.510	0.028 9	114.88	4.20	0.079 6
残差	7	15.43			27.35		
失拟项	2	10.35	0.590	0.587 5	38.09	1.65	0.281 3
纯误差	5	17.46			23.05		
总离差	16						

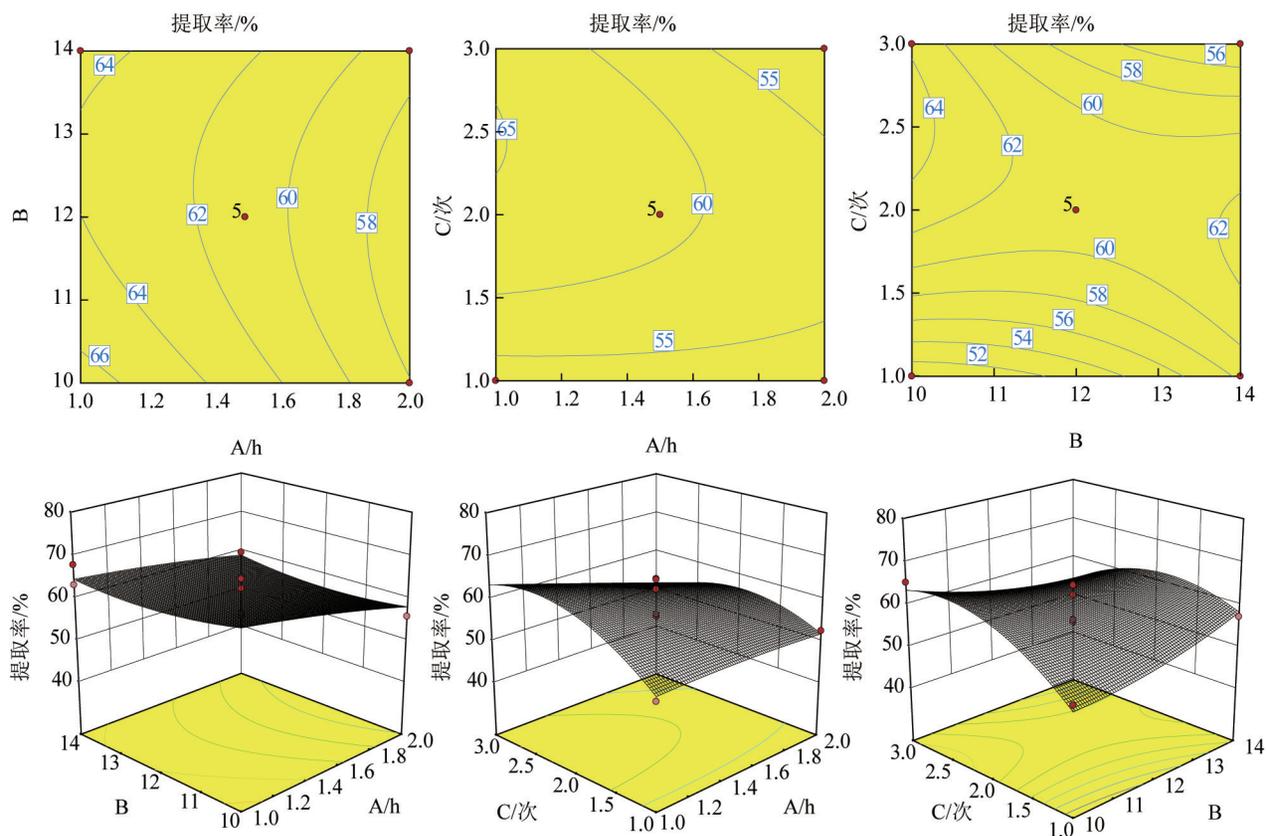


图5 不同因素对金水六君煎中阿魏酸提取率的影响

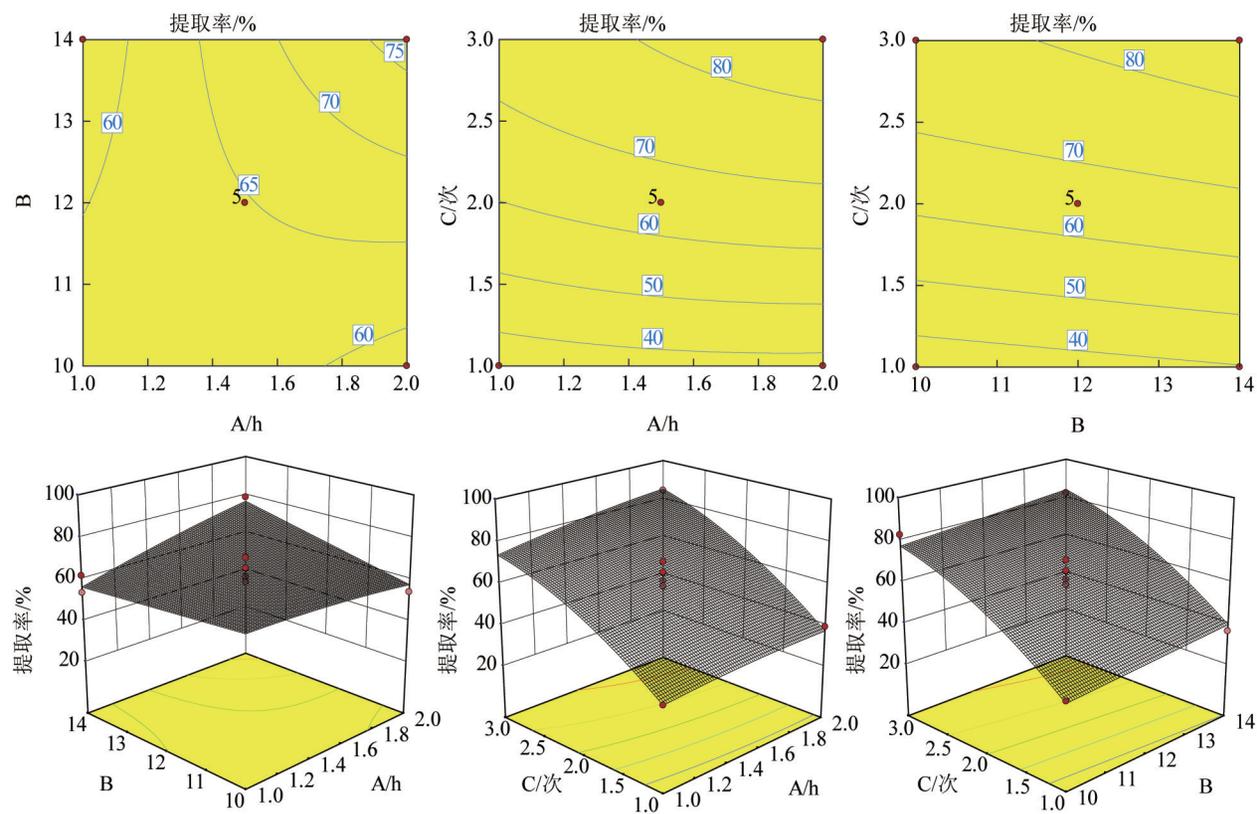


图6 不同因素对金水六君煎中橙皮苷提取率的影响

表4 金水六君煎回流提取工艺验证结果

编号	阿魏酸提取率	橙皮苷提取率	%
1	60.64	59.41	
2	60.37	58.51	
3	60.77	61.08	
平均值	60.59	59.67	

脂和调节免疫等药理活性,且易从尿液中排出,是药理活性强、不良反应小的天然活性分子^[22]。陈皮作为使药具有理气健脾、燥湿化痰的功效,其主要活性成分橙皮苷具有抗炎、保护心脑血管、改善肾脏损伤等药理活性^[23-25]。为充分提取处方中有效成分,本研究选用阿魏酸和橙皮苷提取率为考察指标对金水六君煎提取工艺进行评价。

近年来,响应曲面试验设计广泛应用于中药有效成分提取工艺优化^[26-29],响应曲面法中各单因素的取值范围对拟合结果影响较大,为使拟合结果可靠,本研究先通过单因素考察,确定各因素中心点和取值范围。提取时间中心点为1.5 h,液料比中心点为12:1,提取次数中心点为2次。在此基础上,利用Design-Expert 10.0软件,设计Box-Behnken中心组合试验对金水六君煎的回流提取工艺进行优化,得到了最佳回流提取工艺为提取1.5 h、液料比为12:1,提取2次。对该工艺参数进行工艺验证,得到的阿魏酸的提取率为60.59%,橙皮苷提取率为59.67%,与预测值接近,且多次试验结果稳定,表明了响应曲面法优化金水六君煎回流提取工艺可行。

根据文献报道,采用现代煎煮方法较古法煎煮能更好地提取经典名方中的有效成分,降低成本,且更贴合工业生产实际情况^[30]。本研究发现,采用现代回流提取方法较前期按照古法提取得到阿魏酸和橙皮苷的提取率均有明显提高,与文献^[31]结果一致。不同的有效成分含量会对临床疗效造成一定的影响^[27],金水六君煎回流提取与古法煎煮有效成分的差异对药理活性的影响仍需进一步确定。

参考文献

[1] 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)[2022-08-11]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengce wenjian/2018-04-16/7107.html>.

[2] 周少玲,刘军清,张永军,等. 加味金水六君煎治疗气虚痰浊型非小细胞肺癌康复期的临床观察[J]. 湖北中医杂志,2016,38(1):4-7.

[3] 冯秀婷,崔应珉,罗长江. 崔应珉教授应用金水六君煎治疗肺部感染验案举隅[J]. 光明中医,2017,32(14):2035-2036.

[4] 张妍,张磊,李艳,等. 金水六君煎合补中益气汤加减治疗咳嗽变异性哮喘的临床观察[J]. 世界中西医结合杂志,2018,13(3):374-376.

[5] 曹邦卿,吴支喜,刘大明,等. 金水六君煎加减治疗支气管哮喘缓解期(肺肾两虚证)的疗效及对患者免疫功能的影响[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(60):213-215.

[6] 里自然,丘梅清,刘红宇. 金水六君煎加减治疗慢性咳嗽肺脾肾虚证60例[J]. 实用中医药杂志,2017,33(5):511-512.

[7] 曾勇. 麻杏二陈汤、金水六君煎治疗特禀质咳嗽的效果成本分析及预后评价[J]. 中国社区医师,2018,34(24):89-90.

[8] 林斌. 金水六君煎联合西药治疗肺阴亏虚型慢性支气管炎的疗效观察[J]. 当代医学,2015,21(26):153-154.

[9] 唐万云,曾玉英,汪秀玲. 金水六君煎与三拗方合用辅助西药治疗慢性支气管炎急性加重期临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(17):145-149.

[10] 周忠明,陈馨华. 金水六君煎联合穴位敷贴治疗慢性支气管炎的机制研究[J]. 海南医学院学报,2017,23(3):331-334.

[11] 戴蓓,蔡值,董莹,等. 金水六君煎治疗慢性阻塞性肺疾病的疗效观察[J]. 中医药导报,2015,21(11):67-68.

[12] 卜四江. 加味金水六君煎治疗高血脂症75例临床观察[J]. 中国民族民间医药,2015,24(12):100-101.

[13] 徐成振,郝新洁,王庆溪,等. 金水六君煎加减治疗非酒精性脂肪肝临床观察[J]. 中医临床研究,2019,11(26):69-71.

[14] 彭晓霞,路莎莎. 响应面优化法在中药研究中的应用和发展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):296-299.

[15] 胡雅琴. 响应曲面二阶设计方法比较研究[D]. 天津:天津大学,2005.

[16] 王涛,颜明,郭海波. 一种新的回归分析方法:响应曲面法在数值模拟研究中的应用[J]. 岩性油气藏,2011,23(2):100-104.

[17] 中华人民共和国卫生部,国家中医药管理局. 医疗机构中药煎药室管理规范[EB/OL]. (2009-03-16)[2022-08-11]. <http://www.natcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html>

[18] 张景岳. 景岳全书[M]. 上海:上海科学技术出版社,1984:986.

[19] 吴仪洛. 成方切用[M]. 上海:上海科学技术出版社,

- 1958:343.
- [20] 洪绎庵. 虚损启微[M]. 北京:人民卫生出版社, 1988:127.
- [21] 张秉成. 成方便读[M]. 北京:中国中医药出版社, 2002:116.
- [22] 董开心,许军,刘燕华,等. 新型双酯类阿魏酸衍生物的合成及降血脂活性研究[J]. 中国药物化学杂志, 2022,32(2):83-89.
- [23] 钟佳,卞艺斐,刘萍,等. 橙皮苷抑制LPS诱导的肠上皮细胞炎性损伤及其机制研究[J]. 中国兽医杂志, 2022, 58(1):66-69.
- [24] 徐祖清,于晴,王泉,等. 橙皮苷对庆大霉素致小鼠急性肾损伤的保护作用及对氧化应激的影响[J]. 中药材, 2021,44(12):2943-2946.
- [25] 马振旺,姜德友,胡丙成,等. 橙皮苷通过SIRT1/Nrf2/HO-1信号通路改善2型糖尿病大鼠心肌缺血/再灌注损伤的机制研究[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(8): 566-571.
- [26] 陈泽麒,谢欣媛,陈思铭,等. 基于数据驱动和机制模型的丹参提取动力学研究[J]. 中草药, 2022, 53(1): 51-59.
- [27] 徐坤勇,郭建忠,颜娟,等. 响应曲面法优化败毒散提取工艺[J]. 中国现代中药, 2021, 23(11):1975-1981.
- [28] 张婷,孙红梅,李振,等. 响应面法优化水提醇沉玄参多糖工艺及其含量分析[J]. 中国现代中药, 2021, 23(4):679-684.
- [29] 缪晓冬,汤书婉,宿树兰,等. 基于响应曲面法的乳香有效部位提取纯化工艺优化研究[J]. 中草药, 2020, 51(5):1214-1225.
- [30] 何瑶,江华娟,成颜芬,等. 基于Box-Behnken设计-响应面法与质量综合评价优化经典名方桃红四物汤煎煮工艺[J]. 中草药, 2021, 52(22):6845-6855.
- [31] 王欢欢,唐璇,许静,等. 半夏厚朴汤古法煎煮与现代煎煮的差异研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(10): 2386-2389.

(收稿日期: 2022-08-11 编辑: 王笑辉)