中图分类号：R932；R275；R289　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2023)23－0072－04
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2023.23.015

基于信息熵赋权法的 $L_9(3^4)$ 正交试验优选治痤方水提工艺*

过其玲，韩晓珂△

（安徽省芜湖市中医医院，安徽 芜湖　241000）

摘要：目的　优选治痤方的水提工艺。**方法**　以提取次数、加水量、提取时间为考察因素，通过信息熵赋权法计算黄芩苷、丹酚酸B的含量和浸膏得率的权重系数，采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选治痤方的水提工艺。**结果**　黄芩苷、丹酚酸B的含量和浸膏得率的信息熵分别为0.975 1，0.980 2，0.981 0，权重系数分别为0.390 9，0.310 8，0.298 3。最佳提取工艺为饮片加10倍量水，提取3次，每次1.5 h。验证试验结果显示，黄芩苷和丹酚酸B的平均含量分别为3.32，3.24 mg/mL，平均浸膏得率为28.42%，平均综合评分为0.994 5。**结论**　所优选的治痤方水提工艺稳定、可靠，可为治痤方的提取工艺和质量研究提供参考。

关键词：治痤方；信息熵赋权法；$L_9(3^4)$ 正交试验；黄芩苷；丹酚酸B；水提工艺

Optimization of Water Extraction Process of Zhicuo Formula by the $L_9(3^4)$ Orthogonal Test Based on Information Entropy Weighting Method

GUO Qiling, HAN Xiaoke

(Wuhu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhu, Anhui, China　241000)

Abstract: Objective　To optimize the water extraction process of Zhicuo Formula. **Methods**　The extraction times, amount of water addition, and extraction time were taken as investigation factors, the weight coefficients of baicalin, salvianolic acid B contents, and extract yield rate were determined by the information entropy weighting method, and the water extraction technology of Zhicuo Formula was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test. **Results**　The information entropies of the content and extract yield of baicalin and salvianolic acid B were 0.975 1, 0.980 2, and 0.981 0 with the weight coefficients of 0.390 9, 0.310 8, and 0.298 3, respectively. The optimal extraction process was as follows: the decoction pieces were added 10 times the amount of water and extracted 3 times for 1.5 h each time. The validation test results showed that the average contents of baicalin and salvianolic acid B were 3.32 mg/mL and 3.24 mg/mL, respectively, the average extract yield was 28.42%, and the average comprehensive score was 0.994 5. **Conclusion**　The optimal water extraction technology of Zhicuo Formula is stable and reliable, which can provide a reference for the extraction process and quality research of Zhicuo Formula.

Key words: Zhicuo Formula; information entropy weighting method; $L_9(3^4)$ orthogonal test; baicalin; salvianolic acid B; extraction technology

治痤方由酒黄芩、丹参、夏枯草等12味中药材组方，具有清泻肺热、化湿通腑功效，临床用于治疗热毒性湿疹、痤疮等症，疗效确切，安全性高[1]。该制剂为传统院内制剂，申报之初由于条件和技术的限制，并未对其提取工艺进行深入研究。正交试验广泛用于制剂生产工艺的优化[2－4]，但其评价指标的权重分配多为主观判断，具有较大局限性。信息熵是系统有序化程度的度量；系统有序化程度越高，信息熵越小，评价作用越大，权重系数越大[5－6]。拟对该制剂的提取工艺进行进一步研究，减少主观因素对试验结果的影响，本研究中以黄芩苷、丹酚酸B的含量及浸膏得率为评价指标，采用信息熵赋权法结合 $L_9(3^4)$ 正交试验考察提取次数、加水量及提取时间对治痤方有效成分的影响，优选最佳水提工艺，为治痤方标准化生产和质量研究提供参考。现报道如下。

1　仪器与试药

1.1　仪器

e2695－2489型高效液相色谱仪（美国Waters公司）；AL－204型电子天平（精度为万分之一），XP－205型电子天平（精度为十万分之一），均购自瑞士Mettler Toledo公司；GZX－9140 MBE型干燥箱（上海博迅实业有限公司）；KQ－500DB型数控超声仪（昆山市超声仪器有限公司，功率为500 W，频率为40 kHz）；UPS－11－10T型纯水机（成都优普净化科技有限公司）。

1.2　试药

黄芩苷对照品（批号为110715－201821，含量为

*基金项目：安徽省芜湖市卫生健康委员会2021年华佗计划高层次人才分层培养项目［芜卫组〔2021〕134号］。

第一作者：过其玲，女，大学本科，主管中药师，研究方向为中药学，（电子信箱）793521242@qq.com。

△通信作者：韩晓珂，女，硕士，副主任中药师，研究方向为中药制剂工艺与质量标准，（电子信箱）hanxiaoke18@126.com。

95.4%），丹酚酸 B 对照品（批号为 111562 - 201716，含量为 94.1%），均购自中国食品药品检定研究院；甲醇、乙腈（色谱纯，美国 Tedia 公司）；水为超纯水，其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定[7-11]

2.1.1 色谱条件

色谱柱：Agilent Zorbax SB - C_{18}柱（150 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相：乙腈 - 0.1% 磷酸溶液（20∶80，*V* / *V*）；流速：1.0 mL / min；检测波长：280 nm（0 ~ 19 min 时黄芩苷），286 nm（19 ~ 30 min 时丹酚酸 B）[7-11]；柱温：30 ℃；进样量：10 μL。

2.1.2 溶液制备

取黄芩苷、丹酚酸 B 对照品各适量，精密称定，分别加甲醇制得质量浓度为 0.392 2，0.337 0 mg / mL 的对照品贮备液；精密量取各对照品贮备液 2 mL，置 10 mL 容量瓶中，加甲醇定容，得质量浓度为 78.44，67.40 μg / mL 的混合对照品溶液。精密量取正交试验 5 样品贮备液 1 mL，置 25 mL 容量瓶中，加甲醇定容，摇匀，即得供试品溶液。按治痤方工艺制备缺酒黄芩、丹参的阴性样品，按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.1.3 方法学考察

专属性试验：取 2.1.2 项下 3 种溶液各 10 μL，按 2.1.1 项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液和混合对照品溶液色谱图中各成分分离良好，且阴性对照无干扰，表明方法专属性强。色谱图见图 1。

线性关系考察：精密量取 2.1.2 项下各对照品贮备液 0.4，0.8，1.6，2.4，3.2，4.0 mL，分别置 10 mL 容量瓶中，加甲醇定容，即得黄芩苷质量浓度为 15.688，31.376，62.752，94.128，125.504，156.880 μg / mL，丹酚酸 B 质量浓度为 13.480，26.690，53.920，80.880，107.840，134.800 μg / mL 的混合对照品溶液。按 2.1.1 项下色谱条件进样测定，以待测成分的质量浓度（*X*，μg / mL）为横坐标、峰面积（*Y*）为纵坐标进行线性回归，得回归方程 $Y_{黄}$ = 39 565 $X_{黄}$ - 80 256（R^2 = 1.000 0，*n* = 6），$Y_{丹}$ = 9 001.4 $X_{丹}$ - 34 708（R^2 = 0.999 6，*n* = 6）。结果表明，黄芩苷和丹酚酸 B 质量浓度分别在 15.688 ~ 156.880 μg / mL、13.480 ~ 134.800 μg / mL 范围内与峰面积线性关系良好。

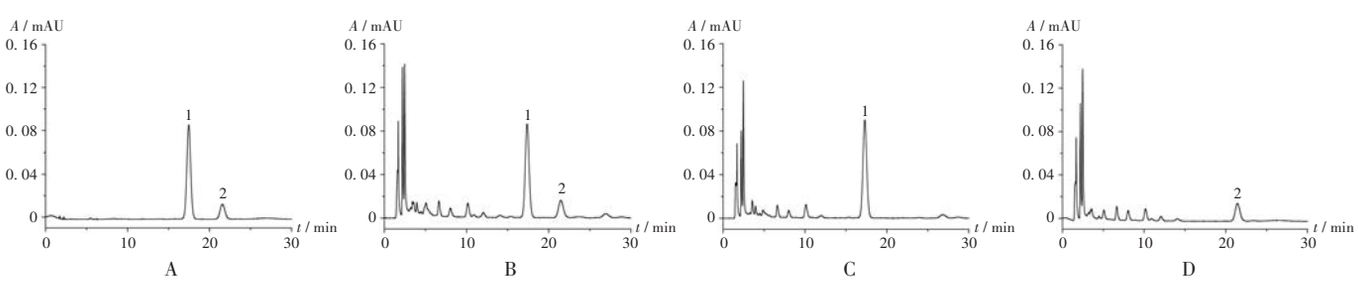
检测限与定量限确定：精密量取 2.1.2 项下混合对照品溶液适量，加甲醇逐级稀释，按 2.1.1 项下色谱条件进样测定，分别以信噪比（*S* / *N*）为 3 倍和 10 倍时的质量浓度为检测限和定量限。结果黄芩苷和丹酚酸 B 的检测限分别为 7.844，0.121 μg / mL，定量限分别为 25.101，0.404 μg / mL。

精密度试验：精密量取 2.1.2 项下混合对照品溶液适量，按 2.1.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果黄芩苷和丹酚酸 B 峰面积的 *RSD* 分别为 0.44% 和 0.72%（*n* = 6），表明仪器精密度良好。

稳定性试验：精密量取 2.1.2 项下供试品溶液适量，分别于 0，2，4，8，12，24 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果黄芩苷和丹酚酸 B 峰面积的 *RSD* 分别为 0.87% 和 1.22%（*n* = 6），表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验：精密量取正交试验 5 样品贮备液 1 mL，依法制备供试品溶液 6 份，按 2.1.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算含量。结果黄芩苷和丹酚酸 B 含量的 *RSD* 分别为 0.76% 和 0.73%（*n* = 6），表明方法重复性良好。

加样回收试验：精密量取正交试验 5 样品贮备液 0.5 mL，共 6 份，分别置 25 mL 容量瓶中，依次加入黄芩苷对照品溶液（质量浓度为 0.392 2 mg / mL）2.5 mL 和丹酚酸 B 对照品溶液（质量浓度为 0.337 0 mg / mL）3.1 mL，按 2.1.1 项下色谱条件进样测定。结果黄芩苷



1. 黄芩苷 2. 丹酚酸 B

A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C - D. 阴性对照品溶液（分别缺丹参、酒黄芩）

图 1 高效液相色谱图

1. Baicalin 2. Salvianolic acid B

A. Mixed reference solution B. Test solution C - D. Negative reference solution (lacking Salviae miltiorrhizae Radix et Rhizoma and wine - processed Scutellariae Radix, respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

和丹酚酸B的平均加样回收率分别为99.38%和101.57%，*RSD*分别为1.40%和1.33%（$n=6$）。

2.2 浸膏得率测定

精密量取各样品贮备液25 mL，置已干燥至恒定质量的蒸发皿中，水浴蒸干，105 ℃烘箱内干燥3 h，干燥器中冷却0.5 h，立即精密称定其质量。浸膏得率（%）=浸膏量×（贮备液总量/取样量）/生药投入量×100%[12-13]。

2.3 $L_9(3^4)$正交试验优选水提工艺

试验设计与结果：按$L_9(3^4)$正交试验表试验，以提取次数（A）、加水量（B）、提取时间（C）为考察因素[14]，结合信息熵理论对黄芩苷、丹酚酸B含量及浸膏得率进行矩阵处理，得各个指标的权重指数，并计算综合评分[15-16]。因素与水平见表1，试验设计与结果见表2。

表1 $L_9(3^4)$正交试验因素与水平

Tab. 1 Factors and levels of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

水平	因素A（次）	因素B（倍）	因素C（h）
1	1	6	1.0
2	2	8	1.5
3	3	10	2.0

表2 $L_9(3^4)$正交试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	因素				含量（mg/mL）		浸膏得率（%）	综合评分
	A	B	C	D（空白）	黄芩苷	丹酚酸B		
1	1	1	1	1	1.37	1.43	12.14	0.423 2
2	1	2	2	2	1.42	1.50	13.28	0.447 7
3	1	3	3	3	1.49	1.57	14.22	0.472 3
4	2	1	2	3	1.71	1.84	20.18	0.586 0
5	2	2	3	1	1.95	2.08	22.95	0.665 8
6	2	3	1	2	2.01	1.99	21.54	0.649 5
7	3	1	3	2	2.92	2.83	25.38	0.876 2
8	3	2	1	3	3.11	3.04	27.52	0.940 7
9	3	3	2	1	3.34	3.26	28.61	1.000 0
K_1	0.448	0.628	0.671	0.696				
K_2	0.634	0.685	0.678	0.658				
K_3	0.939	0.707	0.671	0.666				
R	0.491	0.079	0.007	0.038				

信息熵赋值与方差分析：参考文献[17]，将黄芩苷、丹酚酸B含量及浸膏得率建立原始矩阵（X）；根据公式$P_{ij}=X_{ij}/\sum X_{ij}$（式中，$i$为评价指标，$j$为第$j$次试验），将原始矩阵（$X$）转化为概率矩阵（$P$）；根据公式$H_i=-(\sum_{i=1}^{n}P_{ij}\ln P_{ij})/\ln n$（式中，$n$为试验次数）计算各指标的信息熵（$H_i$），结果分别为0.975 1，0.980 2，0.981 0；再根据公式$W_i=(1-H_i)/\sum_{i=1}^{m}(1-H_i)$（式中，$m$为指标个数）计算各指标的权重系数（$W_i$），结果分别为0.390 9，0.310 8，0.298 3。由公式综合评分$=X_{i黄}/X_{max黄}\times 0.390\ 9+X_{i丹}/X_{max丹}\times 0.310\ 8+X_{i得率}/X_{max得率}\times 0.298\ 3$计算综合评分。采用SPSS 20.0统计学软件进行方差分析，结果见表3。

表3 方差分析结果

Tab. 3 Results of the ANOVA

方差来源	离差平方和	自由度	F值	P
A	0.369	2	184.500	<0.05
B	0.010	2	5.000	>0.05
C	0.000	2	0.000	>0.05
D	0.000	2		

注：$F_{0.05}(2,2)=19.00$。

Note: $F_{0.05}(2,2)=19.00$.

结果分析：信息熵赋权法确定各指标的权重由大至小为黄芩苷含量>丹酚酸B含量>浸膏得率；各因素对综合指标的影响由大至小为A>B>C，即提取次数>加水量>提取时间；因素A对综合评分的影响显著（$P<0.05$），表明提取次数对治痤方的提取效果有显著影响，因素B和因素C的影响不显著。综合分析各因素的3个水平，得到最佳提取条件为$A_3B_3C_2$，即加10倍量水，提取3次，每次1.5 h。

验证试验：按处方称取3份药材，按优选工艺平行试验3次，分别计算黄芩苷和丹酚酸B的含量、浸膏得率及综合评分。结果见表4，表明该提取工艺稳定、可靠。

表4 验证试验结果

Tab. 4 Results of the verification test

序号	含量（mg/mL）		浸膏得率（%）	综合评分
	黄芩苷	丹酚酸B		
1	3.32	3.25	28.74	0.998 6
2	3.30	3.21	28.18	0.986 6
3	3.34	3.26	28.35	0.997 9
$\overline{X}$	3.32	3.24	28.42	0.994 5

$$X=\begin{vmatrix}1.37 & 1.42 & 1.49 & 1.71 & 1.95 & 2.01 & 2.92 & 3.11 & 3.34\\ 1.43 & 1.50 & 1.57 & 1.84 & 2.08 & 1.99 & 2.83 & 3.04 & 3.26\\ 12.14 & 13.28 & 14.22 & 20.18 & 22.95 & 21.54 & 25.38 & 27.52 & 28.61\end{vmatrix}$$

$$P=\begin{vmatrix}0.070\,3 & 0.072\,9 & 0.076\,4 & 0.087\,7 & 0.100\,1 & 0.111\,9 & 0.149\,8 & 0.159\,6 & 0.171\,4\\ 0.072\,0 & 0.075\,5 & 0.079\,1 & 0.092\,6 & 0.104\,7 & 0.116\,3 & 0.142\,5 & 0.153\,1 & 0.164\,1\\ 0.065\,3 & 0.071\,5 & 0.076\,5 & 0.108\,6 & 0.123\,5 & 0.115\,9 & 0.136\,6 & 0.148\,1 & 0.154\,0\end{vmatrix}$$

3 讨论

中医认为，痤疮虽发病于体表，但病因病机与五脏六腑关系密切，多为肺经风热及脾胃湿热[18]。方中，枇杷叶、酒黄芩宣肺气、清肺热，共为君药。臣药丹参清热凉血、消痈排脓，助君药清血热之毒；金银花疏散上焦热毒，栀子清三焦湿热之邪，两者共清郁热；桑白皮利肺气，合枇杷叶一宣一降。佐药丹皮、赤芍凉血，夏枯草清热散结，薏苡仁、大黄健脾清湿热，杜绝肺脾湿热之本。甘草清热解毒，调和诸药。全方合用，共奏清泄热毒、化湿通腑之功。一项痤疮中医药用药规律统计研究表明，清热药和活血化瘀药频数最多，以黄芩和丹参为首[19]，与本方用药特点一致。

黄芩具有抗菌、抗炎、影响皮脂腺的作用，治疗痤疮优势明显[20]。黄芩苷为其含量最高的指标性成分[21]，具有很强的抗炎活性[22]，能显著降低兔耳痤疮的炎性因子水平[23]。丹参具有祛瘀止痛、凉血消痈功效[24]，其主要活性成分为水溶性成分丹酚酸类及脂溶性成分丹参酮类，抗氧化、抗菌消炎作用显著[25]。治痤方成分复杂多样，评价其质量不能仅限于单一成分的研究，故本研究中通过多指标综合评分筛选最佳提取工艺。根据本方主要药味的活性成分及其药理作用，结合制剂生产工艺，选择黄芩苷和丹酚酸B为质量控制的指标性成分。

参考2020年版《中国药典(一部)》中关于黄芩苷和丹酚酸B含量测定的色谱条件进行试验，发现在丹酚酸B色谱条件下，通过调整流动相的比例可较好地分离上述2种成分，出峰时间合适，且峰形较好。为尽可能地减小积分误差，本研究中选择可变紫外波长检测器，以便设定目标成分的最大吸收波长，最终确定文中色谱条件。

近年来，信息熵赋权法在医药卫生行业得到了广泛应用，利用其对数据进行客观赋权，有效避免了人为因素对结果的影响。但该方法对各指标的赋权结果灵活性较差，无法反映指标的重要程度，可能会造成主要成分权重系数较低或非主要成分权重系数较高，在实际使用过程中应根据情况确定是否联用其他赋权法。

综上所述，采用信息熵赋权法结合$L_9(3^4)$正交试验优选的治痤方水提工艺为加10倍量水，提取3次，每次1.5 h。该水提工艺稳定可行、重复性好，可为治痤方的提取工艺和质量研究提供参考。

参考文献

[1] 凌 骢，徐 斌，刘亮镜，等. 治痤胶囊高效液相色谱指纹图谱建立及多成分含量测定[J]. 中国药业，2022，31(9)：78－82.
[2] 李 景，黄德福. 复方金线莲口服液水提工艺优化及薄层色谱鉴别[J]. 中国药业，2022，31(20)：57－60.
[3] 应力健，陈宁姿，樊 丽，等. 养血清脑颗粒成型工艺研究[J]. 中药材，2022，45(10)：2457－2459.
[4] 罗朝亮，韦开听，龙立活，等. $L_9(3^4)$正交试验法优选黄芩解毒颗粒水提取工艺[J]. 中国药业，2022，31(21)：44－48.
[5] 原福永，张晓彩，罗思标. 基于信息熵的精确属性赋权K－means聚类算法[J]. 计算机应用，2011，31(6)：1675－1677.
[6] 郭 昱. 权重确定方法综述[J]. 农村经济与科技，2018，29(8)：252－253.
[7] 姬于婷，贾丽华，张国跃. 止血祛瘀明目片治疗标准提升研究[J]. 中国药业，2021，30(11)：59－62.
[8] 赵晓玲，商晓慧，詹常森. 健腰密骨片中丹酚酸B的质量控制方法建立[J]. 上海医药，2021，42(13)：73－76.
[9] 马葆睿，倪 健，庞琳诺，等. 青紫颗粒制备工艺及质量控制方法研究[J]. 广东药科大学学报，2021，37(2)：18－23.
[10] 杨仁耐，吴红燕，李慧媛，等. 柴葶宁肺颗粒质量标准研究[J]. 中国药业，2022，31(4)：70－74.
[11] 甘灿云，陈海红，杨海燕. 高效液相色谱法测定肤康凝胶中苦参碱和黄芩苷的含量研究[J]. 浙江中医杂志，2021，56(9)：696－698.
[12] 郑粤文，陈秋谷，张尚斌，等. 正交试验优选头痛方水提工艺[J]. 中国药业，2022，31(16)：53－56.
[13] 邹苏兰，李 雅，柳 兰，等. 正交设计结合G1－熵权法的理气活血方水提工艺研究[J]. 中国现代应用药学，2021，38(7)：769－774.
[14] 杨晓日，姜慧祯，张 力，等. 正交试验法优选金贝化痰颗粒中黄芩苷的提取工艺[J]. 中国当代医药，2022，29(15)：5－8.
[15] 杨丽娜，陈根光，周承芳，等. 基于信息熵赋权法的正交试验优化止血化痔合剂提取工艺[J]. 中国药师，2022，25(4)：631－635.
[16] 韩忠耀，余跃生，袁开伦，等. 基于信息熵赋权法优化苗药水冬瓜根皮提取工艺[J]. 中药材，2019，42(2)：390－392.
[17] 陈 明，庄星星，苗仁华，等. 基于信息熵赋权法的正交试验优选细辛－干姜药对水提取工艺[J]. 中国药业，2022，31(13)：58－62.
[18] 王宇欣，吴景东. 不同时期痤疮患者中西医研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报，2022，24(12)：209－213.
[19] 蔺 莉，闫小宁，李文彬，等. 寻常痤疮中医外治用药规律的统计学研究[J]. 中国美容医学，2021，30(7)：111－115.
[20] 刘昌云，李书雅，燕陶然，等. 黄芩在痤疮中的应用概述[J]. 中国民间疗法，2020，28(1)：104－105.
[21] 李 伟，徐 伟. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. 中西医结合研究，2022，14(3)：193－196.
[22] 苏 青，吴婷婷，黄雅兰，等. 黄芩提取物制备过程中化学成分及药效的变化规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2018，24(14)：1－6.
[23] 王佳辉，陈 麟，孙 平，等. 黄芩苷脂质体凝胶制备、质量评价及其对痤疮的药效学评价[J]. 中草药，2021，52(16)：4860－4872.
[24] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：78.
[25] 叶 茂，李 娟，李芳琼，等. 丹参在皮肤护理中的作用机理研究进展[J]. 现代临床医学，2020，46(3)：211－212.

(收稿日期：2022－12－08；修回日期：2023－09－07)