doi:10.3969 / j.issn.1006 - 4931.2022.06.015

基于信息熵的正交试验优选苦柏洗剂提取工艺*

卢 兴[1],王艳宁[1],黄 玲[1],朱海燕[1],张 迪[1],张韶湘[2],黎为能[3△]

(1. 广西壮族自治区南宁市第一人民医院,广西 南宁 530022; 2. 云南省昆明市中医院,云南 昆明 650504; 3. 右江民族医学院,广西 百色 533099)

摘要:目的 优选苦柏洗剂水提取工艺。**方法** 应用信息熵赋权正交试验,以加水量、煎煮时间、煎煮次数为考察因素,以盐酸小檗碱含量及得膏率为综合评价指标,计算各指标的信息熵及权重系数,并进行综合评分,对苦柏洗剂水提取工艺进行优选和验证。**结果** 3种因素对综合评分均无显著影响($P > 0.05$),其中煎煮次数对综合评分的影响最大。苦柏洗剂最优提取工艺为,加10倍量水煎煮3次,每次1.5 h;验证试验中盐酸小檗碱的平均含量为0.67 mg / g,平均得膏率为28.06%,平均综合评分为1.000 0分,各指标的*RSD*均小于2.35%($n = 3$)。**结论** 基于信息熵赋权法优选的苦柏洗剂水提工艺稳定、可行。

关键词:苦柏洗剂;提取工艺;正交试验;信息熵赋权法;盐酸小檗碱

中图分类号:R932;TQ460.0 **文献标志码:**A **文章编号:**1006 - 4931(2022)06 - 0061 - 04

Optimization of Extraction Process of Kubai Lotion by Orthogonal Test Based on Information Entropy Weighting Method

LU Xing[1], *WANG Yanning*[1], *HUANG Ling*[1], *ZHU Haiyan*[1], *ZHANG Di*[1], *ZHANG Shaoxiang*[2], *LI Weineng*[3]

(1. Nanning First People's Hospital, Nanning, Guangxi, China 530022; 2. Kunming Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming, Yunnan, China 650504; 3. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi, China 530099)

Abstract: Objective To optimize the water - extraction process of Kubai Lotion. **Methods** Based on the information entropy weighting method, the orthogonal test was used to optimize and verify the water extraction technology of Kubai Lotion with the water addition amount, decocting time and decocting times as the investigation factors and the content of berberine hydrochloride and the extract yield rate as the comprehensive evaluation indexes. **Results** The three factors had no significant effect on the comprehensive score ($P > 0.05$), while the decocting times had the greatest effect on the comprehensive score. The optimal extraction process of Kubai Lotion was as follows: adding 10 times the amount of water to decoct for 3 times, 1.5 h each time. The average content of berberine hydrochloride in the validation test is 0.67 mg / g, and the average extract yield rate was 28.06%, the average comprehensive score was 1.000 0 point, and the *RSD* of each index was less than 2.35% ($n = 3$). **Conclusion** The water-extraction process of Kubai Lotion optimized based on information entropy weighting method is stable and feasible.

Key words: Kubai Lotion; extraction process; orthogonal test; information entropy weighting method; berberine hydrochloride

苦柏洗剂是南宁市第一人民医院协定处方,由黄柏、苦参、紫草、泽兰、地肤子等8味中药材组方,具有清热燥湿、杀虫止痒等功效。其水煎液外洗,可治疗湿疹、手脚癣、皮肤瘙痒等皮肤疾病,但其煎煮工艺尚无系统性研究报道。正交试验广泛应用于制剂生产工艺的优化,方法简单、重复性好[1-2],但其评价指标多为人工赋权,有欠客观,信息熵赋权法中的多评价指标较好地弥补了该缺点[3-4]。信息熵赋权是根据系统某个属性的变异程度大小赋权,其属性变异程度与该属性的信息熵呈反比,其提供的信息量与权重呈正比[5]。本研究中以加水量、煎煮时间、煎煮次数为考察因素,以盐酸小檗碱含量及得膏率为综合评价指标,计算各指标的信息熵及权重系数,并进行综合评分,对苦柏洗剂水提取工艺进行优选。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC - 20AT型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);FA2004N型电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司);101 - 3型电热鼓风干燥箱(上海浦东荣丰科学仪器有限公司);LD4 - 2A型低速离心机(北京医用离心机厂)。

1.2 试药

盐酸小檗碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号为110713 - 201814,含量86.7%);甲醇、乙腈、无水乙醇均为色谱纯,磷酸二氢钾为分析纯,水为超纯水;苦参药材(批号为2002022)、黄柏药材(批号为

*基金项目:国家中医药管理局全国中药特色技术传承人才培训项目[国中医药人教函〔2018〕204号];广西壮族自治区卫生和计划生育委员会自筹经费科研课题[Z20171010;Z20180678];广西中医药适宜技术开发与推广项目[GZSY20 - 66]。

第一作者:卢兴,男,大学本科,副主任药师,研究方向为中药学,(电子信箱)2827881889@qq.com。

△**通信作者:**黎为能,男,在读博士研究生,讲师,研究方向为中药药效物质基础,(电子信箱)laoli2299@163.com

1903114)、紫花地丁药材(批号为1904011)、白鲜皮药材(批号为1908060)、土茯苓药材(批号为1904046)、泽兰药材(批号为1905030)、紫草药材(批号为1908005),均购自广西张益堂中药饮片有限公司。

2 方法与结果

2.1 得膏率测定[6]

取样品贮备液80 mL,4 000 r/min离心15 min,精密量取上清液50 mL,置干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,105 ℃下烘干至恒重,取出,置干燥器中30 min,迅速称定干膏质量,计算得膏率。得膏率(%)=浸膏质量×(浓缩液总体积/量取液体积)/药材质量×100%。

2.2 盐酸小檗碱含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:GL Science Inertsil ODS-3柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.033 mol/L磷酸二氢钾溶液(40∶60,*V*/*V*;pH 6.33);流速:1.0 mL/min;检测波长:345 nm;柱温:30 ℃;进样量:20 μL。

2.2.2 溶液制备

取干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,置10 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,制得质量浓度为0.25 mg/mL的盐酸小檗碱对照品溶液。取浸膏[7-8],加水溶解并定容至10 mL,摇匀,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按苦柏洗剂处方工艺制备缺黄柏的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性与专属性试验:取2.2.2项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果分离度>1.5,理论板数以盐酸小檗碱计不低于3 500,阴性对照品溶液色谱中,在与盐酸小檗碱对照品溶液色谱相同保留时间处无干扰峰,表明专属性良好。详见图1。

线性关系考察:分别精密量取2.2.2项下对照品溶液0.3,0.6,0.8,1.0,1.2,1.5 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得系列对照品溶液。精密量取20 μL,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以盐酸小檗碱质量浓度(*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*=101 136*X*+57 101(*r*=0.999 9,*n*=6)。结果表明,盐酸小檗碱质量浓度在7.5~37.5 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

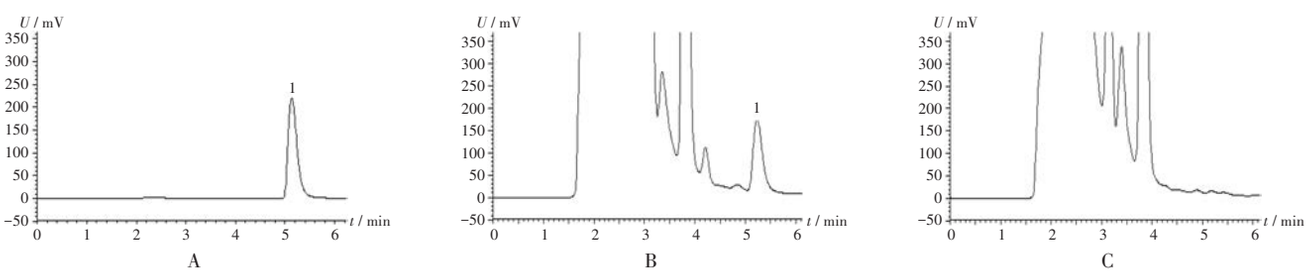
定量限与检测限考察:分别精密量取2.2.2项下对照品溶液适量,倍比稀释,并按2.2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比为10∶1和3∶1时的质量浓度分别记作定量限和检测限。结果盐酸小檗碱的定量限和检测限分别为1.86 μg/mL和0.56 μg/mL。

精密度试验:取2.2.2项下对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续3 d测定及1 d内连续进样测定6次,记录峰面积。结果日间和日内精密度试验中盐酸小檗碱峰面积的*RSD*分别为1.78%(*n*=3)和1.31%(*n*=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品溶液适量,分别于室温下放置0,1,8,24,48,72 h,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果盐酸小檗碱峰面积的*RSD*为2.40%(*n*=6),表明供试品溶液在室温下放置72 h内基本稳定。

重复性试验:精密量取样品适量,共6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果盐酸小檗碱峰面积的*RSD*为2.49%(*n*=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品适量,共6份,分别加入一定质量浓度的盐酸小檗碱对照品溶液,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。



1. 盐酸小檗碱

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Berberine hydrochloride

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

表 1 加样回收试验结果（$n=6$）

Tab. 1 Results of the recovery test（$n=6$）

取样量(mL)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$(%)	RSD(%)
1.0	0.142 6	0.150 0	0.288 6	97.33	98.69	2.72
1.0	0.142 6	0.150 0	0.291 2	99.07		
1.0	0.142 6	0.150 0	0.290 9	98.87		
1.0	0.142 6	0.150 0	0.290 8	98.80		
1.0	0.142 6	0.150 0	0.285 0	94.93		
1.0	0.142 6	0.150 0	0.297 3	103.16		

2.3 正交试验

2.3.1 试验设计

采用$L_9(3^4)$正交表进行试验设计，以加水量（因素 A）、煎煮时间（因素 B）、煎煮次数（因素 C）为考察因素[9]，应用信息熵理论对盐酸小檗碱含量、得膏率进行矩阵处理，计算得两者的客观权重系数[10-11]，再以这 2 个系数的综合评分为评价指标。因素与水平见表 2，正交试验设计与结果见表 3。

表 2 因素与水平

Tab. 2 The factors and levels

水平	加水量（倍）	煎煮时间（h）	煎煮次数（次）
1	8	0.5	1
2	10	1.0	2
3	12	1.5	3

表 3 正交试验设计与结果（$n=9$）

Tab. 3 Design and results of the orthogonal test（$n=9$）

序号	因素 A	因素 B	因素 C	因素 D	小檗碱含量 (mg/g)	得膏率 (%)	综合评分 (M_i)
1	1	1	1	1	0.65	15.53	0.119 3
2	1	2	2	2	0.44	24.90	0.096 6
3	1	3	3	3	0.67	25.70	0.131 2
4	2	1	3	2	0.67	27.57	0.133 6
5	2	2	1	3	0.45	18.70	0.090 0
6	2	3	2	1	0.67	25.56	0.131 0
7	3	1	2	3	0.21	24.61	0.062 8
8	3	2	3	1	0.60	27.35	0.123 1
9	3	3	1	2	0.63	19.25	0.116 9
K_1	0.115 7	0.105 2	0.108 7	0.124 4			
K_2	0.118 2	0.103 2	0.096 8	0.097 7			
K_3	0.100 9	0.126 3	0.129 3	0.094 6			
R	0.017 3	0.023 1	0.032 5	0.029 8			

2.3.2 数据处理[12-13]

1）建立原始评价矩阵（X）

以“小檗碱含量、得膏率”的结果建立原始评价指标矩阵（X）。

$$X=\begin{vmatrix} 0.65 & 0.44 & 0.67 & 0.67 & 0.45 & 0.67 & 0.21 & 0.60 & 0.63 \\ 15.53 & 24.9 & 25.7 & 27.57 & 18.70 & 25.56 & 24.61 & 27.35 & 19.25 \end{vmatrix}$$

2）建立“概率”矩阵

根据公式计算P_{ij}，将原始评价矩阵转为“概率”矩阵（P）。

$$P_{ij}=X_{ij}/\sum_{j=1}^{n}X_{ij}$$

$$P=\begin{vmatrix} 0.136\,2 & 0.088\,2 & 0.134\,3 & 0.134\,3 & 0.090\,2 & 0.134\,3 & 0.042\,1 & 0.120\,2 & 0.126\,3 \\ 0.074\,2 & 0.119\,0 & 0.122\,9 & 0.131\,8 & 0.089\,4 & 0.122\,2 & 0.117\,7 & 0.130\,8 & 0.092\,0 \end{vmatrix}$$

3）各指标的信息熵值及权重系数

由“概率”矩阵计算各项指标的信息熵值（H_i）及权重系数（W_i）。

$$H_i=-k/\sum_{j=1}^{n}P_{ij}\ln P_{ij},k=1/\ln n$$

$$W_i=(1-H_i)/\sum_{j=1}^{n}(1-H_i)$$

$$H_i=\begin{vmatrix} 0.980\,6 & 0.992\,7 \end{vmatrix}$$

$$W_i=\begin{vmatrix} 0.726\,5 & 0.273\,5 \end{vmatrix}$$

4）综合评价

对“概率”矩阵（P）的数值进行加权处理，计算综合评分（M_i），$M_i=P_{1i}W_1+P_{2i}W_2$，其中，P_{1i}为“概率”矩阵（P）中第 1 行第 i 列数值，W_1为小檗碱含量的权重系数即（0.726 5）；P_{2i}为“概率”矩阵（P）中第 2 行第 i 列数值，W_2为得膏率的权重系数（即 0.273 5）。结果见表 3。

5）方差分析

依据综合评分（M_i）对正交试验结果进行极差分析和方差分析可知，3 个因素对盐酸小檗碱含量和得膏率综合评分值影响大小排序为煎煮次数 > 煎煮时间 > 加水量，但对综合评分均无显著影响（$P>0.05$），故选择 $A_2B_3C_3$为苦柏洗剂的最佳提取工艺，即加 10 倍量水，煎煮 3 次，每次 1.5 h。详见表 4。

表 4 方差分析结果

Tab. 4 ANOVA results

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
A	0.001	2	0.000	0.371	0.729
B	0.001	2	0.000	0.700	0.588
C	0.002	2	0.001	1.152	0.465
D（误差）	0.001	2	0.001		

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

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

2.4 验证试验

按优化后的提取工艺，以处方 1/10 量准确称取药材 3 份，平行试验 3 次，结果得膏率、盐酸小檗碱含量、综合评分的RSD均小于 2.35%。详见表 5。

表5 验证试验结果（$n=3$）

Tab. 5 Results of the validation test ($n=3$)

序号	小檗碱含量(mg/g)	得膏率(%)	综合评分(分)
1	0.67	28.66	1.009 5
2	0.65	27.42	0.975 6
3	0.68	28.10	1.014 9
$\overline{X}$	0.67	28.06	1.000 0
RSD(%)	2.29	2.21	2.31

3 讨论

3.1 流动相及检测波长选择

预试验中以2020年版《中国药典》(一部)“黄柏”含量测定项下方法测定盐酸小檗碱含量，但分离效果欠佳，可能由于中药复方制剂水提取液的成分复杂且易相互干扰。因而在选择流动相时，参考文献[14]中的方法，用乙腈-0.033 moL/L磷酸二氢钾(40∶60，*V*/*V*)为流动相，并调pH为6.33，结果目标成分峰峰形对称，且与其他成分峰之间分离良好。在选择测定波长时，进行200~700 nm全波长扫描，结果265 nm和345 nm波长处均有明显吸收，但345 nm波长处的其他成分峰产生的干扰较小，故选择345 nm为检测波长。

3.2 评价指标选择

本研究中选择盐酸小檗碱为提取工艺的含量测定指标，因黄柏是苦柏洗剂的君药之一。现代药理学研究表明，黄柏所含盐酸小檗碱对溶血性链球菌、葡萄球菌等细菌及部分常见致病性真菌和流感病毒等病原体均有一定抑制作用[15]。但中药成分复杂，以单一指标评价提取工艺有一定局限，而结合得膏率，以多指标评价中药提取工艺，更具合理性[16]。

3.3 评价指标处理

本研究中的评价指标为盐酸小檗碱含量和得膏率。预试验中按60%和40%给上述2个指标赋权，但通过应用信息熵赋权法，将原始评价指标转换成“概率”矩阵计算信息熵值及权重系数，得到2个指标的权重系数分别为72.65%和27.35%，说明主观赋权与应用信息熵赋权间有一定差异。信息熵赋权法是基于试验数据，客观地反映试验条件对结果的影响，能较真实地反映试验数据的变化，与主观赋权相比更精确、客观和科学[17]。

从方差分析结果来看，3个因素均对结果无显著影响，结合极差分析结果及综合评分得分，从节约能耗的角度来看，$A_2B_3C_3$为最佳提取工艺，$A_2B_1C_3$也不失为较优方案。今后将结合临床疗效对2个工艺进行考察。另外，因中药有效成分的物质基础较复杂，应进行多成分测定及评价才可能在提取过程中尽可能多地保留有效成分[18-19]。本研究中以盐酸小檗碱含量与得膏率为考察指标，结果较局限，还应增加苦参碱、氧化苦参碱等有效成分的考察，以完善苦柏洗剂的提取工艺。

综上所述，基于信息熵赋权法优选的苦柏洗剂水提工艺稳定、可行。

参考文献

[1] 周雅亮，罗伟良，梁丽谊. 正交试验优选解热祛风汤中石膏和荆芥穗煎煮工艺[J]. 中国药业，2021，30(8)：21-23.
[2] 陈 路，吴无畏，唐炳兰，等. 板山岗颗粒药材提取工艺优化研究[J]. 中国药业，2020，29(1)：20-22.
[3] 张韶湘，邹昱蕾，余晓玲，等. 基于信息熵理论的三生调脂舒丸泛制工艺优选[J]. 重庆医学，2018，47(33)：4263-4265.
[4] 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.
[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] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：232.
[7] 吴学辉，肖 钦，肖 淋，等. 正交试验优选肾康灵胶囊中小檗碱的提取工艺[J]. 海峡药学，2016，28(11)：29-32.
[8] 曲龙妹，赵春杰，李 丹，等. 正交试验优选白头翁汤提取工艺[J]. 中国药房，2009，20(12)：904-906.
[9] 甄小龙，侯守谦，窦 霞. 正交试验优选养血接骨胶囊的水提工艺[J]. 中国药房，2017，28(16)：2249-2251.
[10] 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.
[11] 刘华文. 基于信息熵的特征选择算法研究[D]. 长春：吉林大学，2010.
[12] 李 燕，潘炎帆，张 涛，等. 正交试验结合信息熵赋权法优化千里光药材的提取工艺[J]. 中国药房，2020，31(12)：1470-1474.
[13] 涂正伟，刘洪斌，韩忠耀，等. 基于信息熵赋权法的正交试验优化番石榴叶总黄酮提取工艺[J]. 中草药，2019，50(21)：5260-5265.
[14] 孙 煌，卢全德. 高效液相色谱法测定外用洗剂中盐酸小檗碱的含量[J]. 中国药师，2008，11(8)：1002-1003.
[15] 方明余. 高效液相色谱法测定复方苦黄洗剂中盐酸小檗碱含量[J]. 河北中医，2011，33(12)：1857-1859.
[16] 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.
[17] 邢增智，李 帅，张爱军. 基于信息熵赋权法的正交试验优化七味蝉参方提取工艺研究[J]. 中国药房，2019，30(3)：376-380.
[18] 陈丽津，汤 浩，石 磊，等. 基于信息熵理论的正交设计优化消乳增胶囊的提取工艺[J]. 中草药，2019，50(14)：3345-3350.
[19] 付 鹏，余晓玲，袁小淋，等. 复方臭灵丹提取工艺的优化及质量评价[J]. 中成药，2021，43(6)：1393-1399.

（收稿日期：2021-03-31；修回日期：2021-08-02）