

基于信息熵赋权法优化哮喘方醇提工艺

王星星¹, 李 森¹, 康小东¹, 王仁杰¹, 周恩丽¹, 王振中¹, 晁恩祥², 萧 伟^{1*}

(1. 江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 中药提取精制新技术重点研究室, 江苏连云港 222001; 2. 中日友好医院, 北京 100029)

摘要: 目的 基于信息熵赋权法优化哮喘方醇提工艺。方法 在单因素试验基础上, 以乙醇用量、提取时间、提取次数为影响因素, 五味子醇甲、马钱苷转移率及浸膏得率为评价指标, 信息熵赋权法确定各指标权重系数, 正交试验优化提取工艺。结果 最佳条件为 14 倍量 60% 乙醇提取 3 次, 每次 3 h, 五味子醇甲、马钱苷转移率分别为 88.25%、94.37%, 浸膏得率 32.25%。结论 该方法稳定可行, 可用于醇提哮喘方。

关键词: 哮喘方; 醇提; 信息熵赋权法; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)07-1391-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.07.013

Optimization of ethanol extraction for Xiaochuan Decoction based on information entropy weighting method

WANG Xing-xing¹, LI Miao¹, KANG Xiao-dong¹, WANG Ren-jie¹, ZHOU En-li¹,
WANG Zhen-zhong¹, CHAO En-xiang², XIAO Wei^{1*}

(1. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Key Laboratory for New Technique Research of TCM Extraction and Purification, Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China; 2. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

KEY WORDS: Xiaochuan Decoction; ethanol extraction; information entropy weighting method; orthogonal test

熵的概念源自于热物理学, 所谓信息熵, 是一个数学上颇为抽象的概念, 可以理解成某种特定信息的出现的概率。本实验尝试将信息熵理论应用于中药多项评价指标的赋权, 从而形成单一的度量指标, 用于客观评价提取工艺。

哮喘方为国医大师晁恩祥教授临床经验方, 由防风、紫苏叶、山萸肉、五味子等组成, 方中五味子、山萸肉为佐药, 具有敛肺止咳平喘和免疫调节的作用^[1-2], 五味子醇甲和马钱苷分别是两者的主要活性成分^[3-4], 而且均易溶于醇。为优化该方醇提工艺^[5], 保证临床疗效, 本实验以五味子醇甲、马钱苷转移率及浸膏得率为评价指标, 采用信息熵理论^[6-8]结合正交试验进行优化, 以期哮喘方中试放大及产业化生产提供依据。

1 仪器与材料

Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司), 配置 DAD 检测器; BP211D 电子分析天平 (德国 Sartorius 公司, 0.01 mg); 纯净水发生器。五味子醇甲 (批号 110857-201513, 含有量 99.9%)、马钱子苷 (批号 111640-201005, 含有量 98.3%) 对照品均购自中国食品药品检定研究院。甲醇为色谱纯 (上海星可生化有限公司); 水为超纯水。五味子 (批号 Y141015, 产地吉林)、白果 (批号 Y141131, 产地江苏)、紫菀 (批号 Y141134, 产地安徽)、山萸肉 (批号 Y1412039, 产地河南) 均由连云港康济大药房连锁有限公司吴舟执业药师鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 提取方法 将五味子、白果、紫菀和山萸肉

收稿日期: 2016-09-30

基金项目: 科技部重大新药创制 (2013ZX09402203)

作者简介: 王星星, 女, 硕士, 工程师, 从事中药新药研究与开发。Tel: 13912169406, E-mail: happy_xing_xing@126.com

* 通信作者: 萧 伟, 男, 博士, 高级工程师, 从事中药新药研究与开发。Tel: (0518) 81152337, 13905136437, E-mail: kanionlunwen@163.com

合并,乙醇提取,检测提取液中五味子醇甲和马钱苷含有量,并计算成分转移率。

2.2 含有量测定方法建立

2.2.1 色谱条件^[9] Waters symmetry C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-水 (65:35); 检测波长 240 nm; 柱温 30 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取五味子醇甲、马钱苷对照品 5.622、5.620 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成质量浓度分别为 56.22、56.20 μg/mL 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 按照各实验参数设计对各药材进行提取, 提取液以 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.2.4 系统适应性试验 取混合对照品、供试品溶液进样分析, 结果显示, 五味子醇甲、马钱苷与其相邻色谱峰的分度均大于 1.5, 拖尾因子 0.95 ~ 1.05, 理论塔板数以各色谱峰计, 均在 10 000 以上。

2.2.5 线性关系考察 精密量取对照品溶液 0.1、0.2、0.4、1.0、2.0、4.0、10.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 50% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 在“2.2.1”项色谱条件下进样。以峰面积为纵坐标 (Y), 溶液质量浓度为横坐标 (X) 进行回归, 得回归方程分别为五味子醇甲 $Y = 19.627X + 7.604$ ($r = 0.9998$), 线性范围 0.3373 ~ 337.32 μg; 马钱苷 $Y = 14.258X + 14.457$ ($r = 0.9998$), 线性范围 0.3372 ~ 337.2 μg。

2.2.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进样 6 次, 测得五味子醇甲、马钱苷峰面积 RSD 分别为 0.23%、0.27%, 表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 于 0、2、4、6、8、12、24 h 注入液相色谱仪, 测得五味子醇甲、马钱苷峰面积 RSD 分别为 1.0%、1.6%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性试验 取待测提取液, 按“2.2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液, 测得五味子醇甲、马钱苷含有量 RSD 分别为 0.94%、0.87%, 表明该方法重复性良好。

$$X = \begin{bmatrix} 7.58 & 61.57 & 84.32 & 41.06 & 80.07 & 40.19 & 62.61 & 30.00 & 81.17 \\ 68.95 & 83.08 & 89.46 & 85.75 & 86.25 & 77.51 & 82.80 & 78.89 & 87.52 \\ 20.71 & 28.41 & 32.59 & 28.30 & 33.97 & 24.63 & 30.13 & 25.03 & 31.17 \end{bmatrix}$$

2.2.9 加样回收率试验 取待测提取液 6 份, 精密加入五味子醇甲、马钱苷对照品溶液适量, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 测得其平均加样回收率分别为 98.25%、98.67%, RSD 分别为 0.79%、0.98%。

2.3 浸膏得率测定 精密称取供试品适量, 置于质量恒定的蒸发皿中, 水浴锅上蒸至近干, 转移至烘箱内, 105 ℃ 干燥至恒重, 取出, 干燥器中冷却至室温, 迅速精密称定质量, 计算固含物转移率。

2.4 单因素试验^[10-11]

2.4.1 乙醇体积分数 取五味子、白果、山萸肉、紫菀各 56 g, 共 5 份, 加入 12 倍量 50%、60%、70%、80%、90% 乙醇提取 2 次, 每次 2 h, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 发现五味子醇甲、马钱苷转移率在 50%、60% 乙醇时均较高, 但浸膏得率在 60% 乙醇下低于在 50% 乙醇下, 故确定乙醇体积分数为 60%。

2.4.2 乙醇用量 取五味子、白果、山萸肉、紫菀各 56 g, 共 3 份, 加入 12、10、8 倍量 60% 乙醇提取 2 次, 每次 2 h, 发现五味子醇甲转移率无差异, 而马钱苷转移率在 12 倍量时较高, 同时浸膏得率变化不大, 故确定加醇量为 8、10、14 倍。

2.4.3 提取时间 取五味子、白果、山萸肉、紫菀各 56 g, 共 6 份, 加入 12 倍量 60% 乙醇提取 2 次, 提取时间 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h, 发现五味子醇甲转移率随着时间延长而上升, 而马钱苷转移率和浸膏得率无明显差异, 故确定提取时间为 1.0、2.0、3.0 h。

2.5 信息熵理论

2.5.1 正交试验 选择乙醇用量 (A)、提取时间 (B)、提取次数 (C) 作为影响因素。取五味子、白果、山萸肉、紫菀各 56 g, 共 9 份, 置于 5 000 mL 圆底烧瓶中, 以五味子醇甲、马钱苷转移率 [(提取液中该成分含有量/药材中该成分总含有量) × 100%] 和浸膏得率为评价指标, 采用熵权法进行权重系数分配, 按照 L₉ (3⁴) 进行提取, 结果见表 1。

2.5.2 数据处理 根据文献 [6-8], 建立原始评价指标矩阵 (X), 再将其转换为“概率”矩阵 (P)。具体如下。

$$P = \begin{bmatrix} 0.015\ 51 & 0.126\ 02 & 0.175\ 59 & 0.084\ 04 & 0.163\ 89 & 0.082\ 26 & 0.128\ 15 & 0.061\ 40 & 0.166\ 14 \\ 0.093\ 15 & 0.112\ 24 & 0.120\ 86 & 0.115\ 85 & 0.116\ 52 & 0.104\ 71 & 0.111\ 86 & 0.106\ 58 & 0.118\ 24 \\ 0.081\ 23 & 0.111\ 44 & 0.127\ 83 & 0.111\ 00 & 0.133\ 25 & 0.096\ 61 & 0.118\ 18 & 0.098\ 18 & 0.122\ 26 \end{bmatrix}$$

计算各项指标的信息熵 (H_i), 得到评价指标 $[0.942\ 87\ 0.998\ 77\ 0.995\ 34]$, 再计算第 i 项指标的系数 $W_i [0.906\ 56\ 0.019\ 46\ 0.073\ 98]$ 。综合评分 $M_m = P_{1m} \times W_1 + P_{2m} \times W_2 + P_{3m} \times W_3 + \dots + P_{mm} \times W_n$, 即五味子醇甲、马钱苷转移率及浸膏得

率的权重系数分别为 0.906 56、0.019 46、0.073 98。

将概率矩阵的所有数据进行加权处理后, 得到综合评价指标 M , 再进行方差分析, 结果见表 1~2。

表 1 正交试验设计与结果

Tab. 1 Design and results of orthogonal tests

试验号	A 乙醇用量/倍	B 提取时间/h	C 提取次数/次	D (误差)	转移率/%		浸膏得率/%	综合评分
					五味子醇甲	马钱苷		
1	8 (1)	1.0 (1)	1 (1)	1	7.58	68.95	20.71	0.021 89
2	8 (1)	2.0 (2)	2 (2)	2	61.57	83.08	28.41	0.124 67
3	8 (1)	3.0 (3)	3 (3)	3	84.32	89.46	32.59	0.168 27
4	10 (2)	1.0 (1)	2 (2)	3	41.06	85.75	28.30	0.086 66
5	10 (2)	2.0 (2)	3 (3)	1	80.07	86.25	33.97	0.160 70
6	10 (2)	3.0 (3)	1 (1)	2	40.19	77.51	24.63	0.083 76
7	14 (3)	1.0 (1)	3 (3)	2	62.61	82.80	30.13	0.127 10
8	14 (3)	2.0 (2)	1 (1)	3	30.00	78.89	25.03	0.065 00
9	14 (3)	3.0 (3)	2 (2)	1	81.17	87.52	31.17	0.161 96
K_1	0.314 83	0.235 64	0.170 65	0.344 55				
K_2	0.331 11	0.350 38	0.373 29	0.335 53				
K_3	0.354 06	0.413 99	0.456 06	0.319 93				
R	0.013 08	0.059 45	0.095 14	0.008 21				

表 2 方差分析

Tab. 2 Analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	F 值	P 值
A	0.000 26	2	2.503 89	0.05
B	0.005 45	2	52.663 43	0.05
C	0.014 37	2	138.990 04	0.01
D(误差)	0.000 10	2	1	—

注: $F_{0.05}(1, 2) = 19.00$, $F_{0.01}(1, 2) = 99.00$

由表 1 可知, 各因素影响提取工艺的程度依次为 $C > B > A$, 即提取次数 $>$ 提取时间 $>$ 乙醇倍量, 其中提取次数为极显著影响因素 ($P < 0.01$), 提取时间为显著影响因素 ($P < 0.05$); 由表 2 可知, A 因素对实验结果无显著影响 ($P > 0.05$)。因此, 选择 $A_3B_3C_3$ 作为最佳条件, 即加入 14 倍量 60% 乙醇提取 3 次, 每次 3 h。

2.5.3 验证试验 根据最优工艺条件进行 3 批验证试验, 结果见表 3, 表明该方法稳定可行。

表 3 验证试验结果

Tab. 3 Results of verification tests

试验号	转移率/%		浸膏得率/%	综合评分
	五味子醇甲	马钱苷		
1	88.34	94.37	32.38	0.175 80
2	86.44	93.47	32.06	0.172 15
3	89.96	95.27	32.31	0.178 51
平均值	88.25	94.37	32.25	0.175 49

3 讨论

为确定哮喘方最佳醇提条件, 本实验先通过单因素试验确定参数范围, 再利用正交试验确定各因素在交互作用时的作用。由于马钱苷转移率随提取溶剂用量增大而上升, 故正交试验中扩大了其范围。结果显示, 溶剂量与有效成分转移率呈正相关, 14 倍量溶剂提取时成分转移率已很高, 而 4 味药材均属于种子类, 体积和膨胀系数小, 过多溶剂不仅增加成本, 而且回收费时, 故最终选择了 14 倍量溶剂提取。

近年来, 信息熵赋权法被广泛应用于医药卫生行业^[12-16], 在数据处理过程中利用其进行客观赋权时, 不但能保证结果准确, 还能避免人为主观因素的影响, 可控制中药成分的质量。本实验优化工艺经验证稳定可行, 可为哮喘方进一步开发提供依据。

参考文献:

[1] 袁菊丽, 姜红波. 山茱萸的主要化学成分及药理作用[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(5): 7-9.
[2] 宋梅. 山茱萸含量测定和药理作用研究进展[J]. 江苏中医药, 2010, 49(9): 80-81.
[3] 窦志华, 罗琳, 丁安伟, 等. 复方五仁醇胶囊含药血清

指纹图谱与保肝作用的谱效关系[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(2): 116-118.

[4] 张程荣, 曹 岗, 张 云, 等. 山茱萸的化学、药理与炮制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(9): 2002-2005.

[5] 呼 梅, 宋 英, 袁强华. 五味子煮散颗粒煎煮工艺优化及其煎煮质量评价[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(4): 1448-1450.

[6] 齐敏芳, 付忠广, 景 源, 等. 基于信息熵与主成分分析的火电机组综合评价方法[J]. 中国电机工程学报, 2013, 33(2): 58-64.

[7] 张 东, 张 宁. 物理学中的熵理论及其应用研究[J]. 北京联合大学学报, 2007, 21(1): 4-8.

[8] 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.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 28, 67.

[10] 刘少静, 杨黎彬, 王小宁, 等. 五味子中总木脂素的提取工艺优化研究[J]. 应用化工, 2014, 43(6): 1071-1073.

[11] 励建荣, 夏道宗. 山茱萸中马钱素的提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(10): 45-47.

[12] 关志宇, 罗晓健, 黄 潇, 等. 胆胃通颗粒剂制备工艺研究[J]. 中成药, 2014, 36(1): 185-188.

[13] 靳瑞婷, 陶永华, 李雪峰, 等. 芪白平肺颗粒中人参和黄芪提取工艺的优化[J]. 中成药, 2016, 38(2): 795-800.

[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] 贺福元, 邓凯文, 黄 胜, 等. 中药群体指纹图谱信息量和一次投料量数学模型的建立及对大黄和鱼腥草实验研究[J]. 中成药, 2011, 33(8): 1292-1298.

[16] 黄 瑛, 严云良, 余陈欢, 等. 基于信息熵原理的祛瘀清热颗粒指纹图谱最适进样量的研究[J]. 中成药, 2012, 34(2): 185-188.

黄连-厚朴药对 9 个配伍比例对抑制神经氨酸酶活性的影响

陈 高, 吴巧凤, 张小霞, 严云良*
(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: 目的 探索黄连-厚朴药对 9 个配伍比例 (0:1、1:5、2:5、2:3、1:1、3:2、5:2、5:1、1:0) 对抑制神经氨酸酶活性的影响。**方法** 底物荧光检测法测定不同配伍比例药对对神经氨酸酶的抑制活性, 非线性回归法确定量效曲线参数, 建立三维响应曲面模型, 响应面法分析配伍比例与抑制作用的关系。**结果** 各配伍比例药对对神经氨酸酶均有抑制活性, 在 1:1 时作用最强。配伍比例在 0.55:1~1.11:1 时, 药对表现出明显的协同作用 (作用强度 -0.800), 而其他配伍比例下协同作用较弱, 或产生相加甚至拮抗作用。**结论** 该方法可为黄连-厚朴药对治疗流感时配伍比例的选择提供依据。

关键词: 黄连-厚朴药对; 配伍比例; 神经氨酸酶; 抑制作用; 响应面法

中图分类号: R289

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)07-1394-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.07.014

Effects of nine compatibility proportions of *Coptidis Rhizoma-Magnoliae officinalis Cortex* drug pair on the inhibition of neuraminidase activity

CHEN Gao, WU Qiao-feng, ZHANG Xiao-xia, YAN Yun-liang*
(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

KEY WORDS: *Coptidis Rhizoma-Magnoliae officinalis Cortex* drug pair; compatibility proportion; neuraminidase; inhibitory activity; response surface method

收稿日期: 2016-10-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81274030/H2803, 81473335/H2803); 浙江省自然科学基金项目 (LY15H290003); 浙江省重中之重一级学科 (中药学) 建设-浙江中医药大学开放基金 (Yao2016015)

作者简介: 陈 高 (1991—), 男, 硕士生, 从事中药活性成分及新药开发研究。Tel: 13758128942, E-mail: 635864699@qq.com

* 通信作者: 严云良 (1965—), 男, 副教授, 从事医药数理统计分析研究。Tel: (0571) 86633110, E-mail: yyllhz123456@sina.com