

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.13.013

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*

陈明, 庄星星, 苗仁华, 倪受东

(安徽医科大学附属巢湖医院, 安徽 合肥 238000)

摘要:目的 优选细辛-干姜药对的水提取工艺。方法 以浸泡时间、加水量、提取时间、提取次数为考察因素,以6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚的含量和干浸膏得率为评价指标,以信息熵赋权法确定评价指标的权重系数,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选细辛-干姜药对的最佳水提取工艺。结果 确定6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚的含量和干浸膏得率的权重系数分别为0.153 7, 0.156 2, 0.166 2, 0.254 4, 0.269 5;优选的最佳水提取工艺为加6倍量水,浸泡1.0 h,提取3次,每次2.0 h。按此工艺制备的样品中,6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚的含量分别为0.190 1, 0.091 6, 0.177 4, 0.111 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$,干浸膏得率为30.91% ($n=3$)。结论 优选的提取工艺稳定、可行,可为细辛-干姜药对的后续研究提供参考。

关键词: 细辛-干姜药对;信息熵赋权法; $L_9(3^4)$ 正交试验;水提取工艺

中图分类号:R932;R284.2

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)13-0058-05

Optimization of Water Extraction Process of Asari Radix et Rhizoma - Zingiberis Rhizoma Drug Pair by the Orthogonal Test Based on Information Entropy Weight

CHEN Ming, ZHUANG Xingxing, MIAO Renhua, NI Shoudong

(Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui, China 238000)

Abstract: Objective To optimize the water extraction process of Asari Radix et Rhizoma - Zingiberis Rhizoma drug pair. **Methods** The water extraction process of Asari Radix et Rhizoma - Zingiberis Rhizoma drug pair was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test with the soaking time, amount of water addition, extraction time and extraction times as investigation factors and the contents of 6-gingerol, sesamin, asarinin, 6-shogaol and yield of dry extract as evaluation indexes. The weight coefficients of evaluation indexes were determined by information entropy weight (IEW). **Results** The weight coefficients of the contents of 6-gingerol, sesamin, asarinin, 6-shogaol and yield of dry extract were 0.153 7, 0.156 2, 0.166 2, 0.254 4 and 0.269 5, respectively. The optimal water extraction process was as follows: adding six times the amount of water, soaking for 1 h, extracting three times with 2.0 h every time. The contents of 6-gingerol, sesamin, asarinin and 6-shogaol in the samples prepared by this process were 0.190 1, 0.091 6, 0.177 4 and 0.111 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the yield of dry extract was 30.91% ($n=3$). **Conclusion** The optimal extraction process is stable and feasible, which can provide a reference for the follow-up study of Asari Radix et Rhizoma - Zingiberis Rhizoma drug pair.

Key words: Asari Radix et Rhizoma - Zingiberis Rhizoma drug pair; information entropy weight; $L_9(3^4)$ orthogonal test; water extraction process

细辛为马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *Mandshuricum* (Maxim.) Kitag., 汉城细辛 *Asarum sieboldii* Miq. var. *seoulense* 或华细辛 *Asarum Sieboldii* Miq. 的干燥根和根茎,首见于《神农本草经》,具有解表散寒止痛、通鼻窍、温肺化饮功效^[1]。细辛中化学成分丰富,其中木脂素类、黄酮类、甾体类、多糖类、挥发油(萜类、芳香族类、脂肪族类)等为其主要活性成分。现代药理学研究表明,细辛除了镇痛、抗炎、止咳、平喘等药理学活性外,还有抗病原微生物、镇静、抗氧化等作用^[2]。干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎,性热、味辛,具有温中散寒、回阳通脉、温肺化饮功效。干姜中化学成分主要包括挥发油和姜酚类成分(姜酚和姜酮)两大类^[3],具有解热、镇痛、抗炎、

改善心血管功能等药理学作用^[4]。细辛和干姜均具有温肺化饮功效,两药配伍多用于治疗肺寒之诸喘证。细辛-干姜药对临床主治病症多,其中以咳喘、痰饮、风寒感冒等呼吸系统疾病最多见^[5-6]。现代药理学研究发现,细辛、干姜两药配伍可显著降低寒饮蕴肺证模型鼠血清中炎性因子(肿瘤坏死因子- α 和白细胞介素8)水平,减轻气道炎症,改善肺功能,延缓慢性阻塞性肺疾病发展,其药效优于单味中药^[7]。网络药理学研究表明,细辛、干姜两药配伍具有协同作用及发挥作用的潜在靶点^[8]。本课题组参考文献^[9-10],根据传统方剂最常见的细辛、干姜的1:1(m/m)配伍比例^[11],利用信息熵赋权法结合正交试验,以干姜中的重要活性成分6-姜酚和6-姜烯酚,细辛中的重要活性成分芝麻脂素和

*基金项目:安徽医科大学附属巢湖医院2018年度院科研基金项目[2018ykj008]。

第一作者:陈明,男,大学本科,主管中药师,研究方向为中药物质基础,(电子信箱)aydchcm@163.com。

细辛脂素的含量,以及干浸膏得率为指标^[12-13],优选该药对的最佳水提取工艺。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260 II型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),配有四元泵、二极管阵列检测器、OpenLAB工作站;BT25S型电子天平(德国赛多利斯公司,精度为十万分之一);KMD-500型调温电热套(金坛市鸿科仪器厂);RE-52型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);FA1204B型电子天平(上海佑科仪器仪表有限公司,精度为万分之一);TGL16E型高速离心机(长沙英泰仪器有限公司);JK100B型超声波清洗器(合肥金尼克机械制造有限公司,功率为100 W,频率为40 kHz);DZF6020型真空干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

1.2 试剂

细辛脂素对照品(批号为DC-19080704,纯度99.70%),芝麻脂素对照品(批号为DC-19111607,纯度99.75%),6-姜酚对照品(批号为DC-19040810,纯度99.69%),6-姜烯酚对照品(批号为DC-19061204,纯度99.70%),均购自南京滴纯生物科技有限公司,规格均为每支20 mg;甲醇(批号为20180302),乙腈(批号为20171210),均为色谱纯,购自天津基准化学试剂有限公司;超纯水(安徽医科大学附属巢湖医院药剂科);细辛中药饮片(产地辽宁,批号为17840301),干姜中药饮片(产地贵州,批号为1802038),购自亳州市华鑫中药饮片科技有限公司,经安徽医科大学附属巢湖医院倪受东主任中药师鉴定均为正品。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Agilent EC-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm,4 μm);流动相:甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(0~15 min时25%A,15~30 min时25%A~50%A,30~55 min时50%A,55~56 min时50%A~25%A,56~60 min时25%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:205 nm;柱温:30℃;进样量:40 μL。

2.1.2 溶液制备

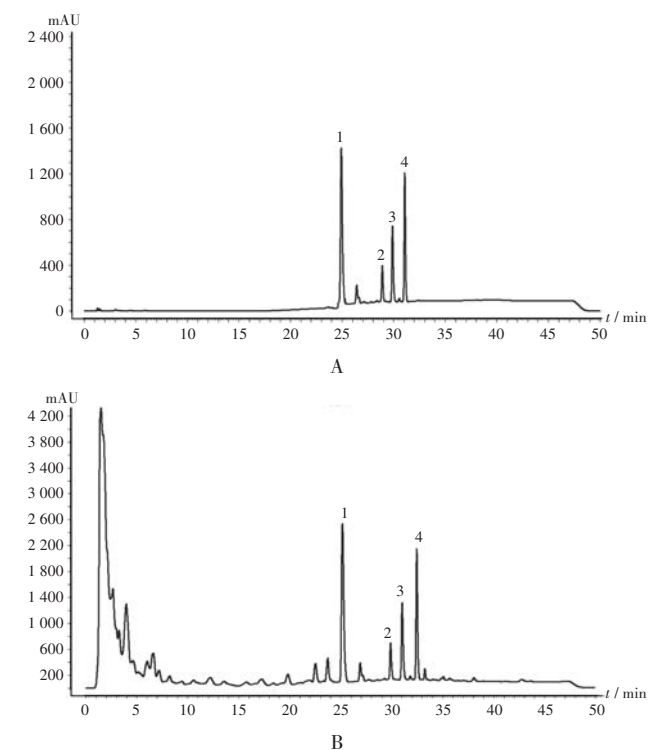
称取细辛、干姜药材各12.0 g,参考文献[14-15]方法提取药材,所得提取液减压浓缩,定容至50.0 mL容量瓶中;精密吸取浓缩液10.0 mL,置蒸发皿中,水浴蒸干,残渣加75%甲醇溶解,0.22 μm微孔滤膜滤过,转移至10.0 mL容量瓶中,超声(功率为100 W,频率为40 kHz)30 min,冷却后定容,即得供试品溶液(编号为1-9号)。取6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素和6-姜烯

酚对照品各适量,精密称定,加甲醇溶解,分别制成质量浓度为1.0 mg/mL的6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素和6-姜烯酚对照品溶液。精密吸取细辛脂素对照品溶液200 μL、芝麻脂素对照品溶液100 μL、6-姜酚对照品溶液200 μL和6-姜烯酚对照品溶液200 μL,置同一100 mL容量瓶中,加甲醇定容,制成细辛脂素、芝麻脂素、6-姜酚和6-姜烯酚质量浓度分别为2.00,1.00,2.00,2.00 μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取2.1.2项下供试品溶液和混合对照品溶液各适量,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中6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚分别在保留时间25.10,29.89,31.03,32.45 min附近有色谱峰出现。供试品溶液色谱中有与混合对照品溶液色谱对应的色谱峰出现。色谱图见图1。

线性关系考察:取2.1.2项下混合对照品溶液适量,加甲醇稀释0,2,4,8,16,32倍,制成系列混合对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,以质量浓度(X, μg/mL)为横坐标、色谱峰峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表1。



1. 6-姜酚 2. 芝麻脂素 3. 细辛脂素 4. 6-姜烯酚
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. 6-Gingerol 2. Sesamin 3. Asarinin 4. 6-Shogaol
A. Mixed reference solution B. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

表1 线性关系考察结果($n = 6$)

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

化学成分	回归方程	r	线性范围($\mu\text{g}/\text{mL}$)
6-姜酚	$Y = 199\,979.14X + 401.67$	0.996 1	0.061 6~2.000 0
芝麻脂素	$Y = 414\,882.80X + 704.14$	0.996 6	0.031 3~1.000 0
细辛脂素	$Y = 82\,968.65X + 114.86$	0.994 9	0.061 6~2.000 0
6-姜烯酚	$Y = 111\,987.87X + 2\,404.04$	0.996 5	0.061 6~2.000 0

精密度试验:取8号供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积,并按外标法计算含量。结果6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素和6-姜烯酚含量的RSD分别为0.18%,0.39%,0.09%,0.27% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取细辛、干姜药材各12.0 g,按2.1.2项下方法平行制备供试品溶液6份,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算含量。结果6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素和6-姜烯酚含量的RSD分别为1.54%,1.86%,1.37%,1.93% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取8号供试品溶液,分别于0,1,2,4,8,16,24 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并按外标法计算含量。结果6-姜酚、芝麻脂素、

细辛脂素和6-姜烯酚含量的RSD分别为1.54%,1.64%,1.37%,1.75% ($n = 7$),表明供试品溶液放置24 h内稳定性良好。

2.2 干浸膏得率测定

取正交试验后的浓缩液(编号为1-9号),分别精密量取1-9号浓缩液各25 mL,置对应干燥至恒定质量的蒸发皿中,水浴蒸干,于105 °C烘箱中干燥3 h,至干燥器中冷却,迅速精密称定质量,计算干浸膏得率。

2.3 水提取工艺优选

采用信息熵赋权法结合正交试验优选水提取工艺。以浸泡时间(因素A)、加水量(因素B)、提取时间(因素C)、提取次数(因素D)为考察因素,以6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚含量及干浸膏得率为评价指标^[14-15]。正交试验因素与水平见表2, $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果见表3,方差分析结果见表4。

表2 因素与水平

Tab. 2 Factors and levels

水平	因素A(h)	因素B(倍)	因素C(h)	因素D(次)
1	0	6	1.0	1
2	0.5	8	1.5	2
3	1.0	10	2.0	3

表3 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

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

序号	因素				含量($\mu\text{g}/\text{mL}$)				干浸膏得率(%)	综合评分(分)
	A	B	C	D	6-姜酚	芝麻脂素	细辛脂素	6-姜烯酚		
1	1	1	1	1	0.127 2	0.060 6	0.116 3	0.065 7	13.76	0.588 6
2	1	2	2	2	0.150 4	0.071 8	0.139 3	0.082 8	24.18	0.780 2
3	1	3	3	3	0.187 9	0.089 8	0.171 0	0.106 3	28.02	0.959 1
4	2	1	2	3	0.176 8	0.084 5	0.162 7	0.100 1	30.17	0.938 3
5	2	2	3	1	0.127 0	0.060 5	0.114 7	0.064 5	21.53	0.653 4
6	2	3	1	2	0.161 9	0.077 3	0.147 5	0.088 8	25.47	0.831 9
7	3	1	3	2	0.165 1	0.078 9	0.154 3	0.093 8	28.62	0.883 1
8	3	2	1	3	0.190 5	0.091 1	0.177 6	0.111 2	28.97	0.989 3
9	3	3	2	1	0.119 6	0.056 9	0.108 2	0.059 7	19.27	0.604 0
K_1	0.776 0	0.803 3	0.803 3	0.615 3						
K_2	0.807 9	0.807 6	0.774 2	0.831 7						
K_3	0.825 5	0.798 3	0.831 9	0.962 2						
R	0.049 5	0.009 3	0.057 7	0.346 9						

表4 方差分析结果

Tab. 4 Results of ANOVA

方差来源	离差平方和	自由度	F值	P
A	0.004	2	0.083 1	< 0.05
B	0.000	2	0.000 4	> 0.05
C	0.005	2	0.103 9	< 0.05
D	0.184	2	3.813 2	< 0.01
误差	0.190	8		

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

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

采用信息熵赋权法对6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚含量及干浸膏得率进行处理与分析,计算各指标的权重系数,得到综合评分计算公式。

根据文献[16-17]方法建立原始评价指标矩阵

$(X_{ij})_{mn}$ 。通过公式 $P_{ij} = X_{ij} / (\sum_{j=1}^n X_{ij})$ 计算得到概率矩阵

$(P_{ij})_{mn}$ 。将概率矩阵(P)代入公式 $H_i = -1 / \ln n \times \sum_{j=1}^n (P_{ij} \times \ln P_{ij})$, 计算各指标信息熵,得到各评价指标的

$$X = \begin{bmatrix} 0.1272 & 0.1504 & 0.1879 & 0.1768 & 0.1270 & 0.1619 & 0.1651 & 0.1905 & 0.1196 \\ 0.0606 & 0.0718 & 0.0898 & 0.0845 & 0.0605 & 0.0773 & 0.0789 & 0.0911 & 0.0569 \\ 0.1163 & 0.1393 & 0.1710 & 0.1627 & 0.1147 & 0.1475 & 0.1543 & 0.1776 & 0.1082 \\ 0.0657 & 0.0828 & 0.1063 & 0.1001 & 0.0645 & 0.0888 & 0.0938 & 0.1112 & 0.0597 \\ 13.76 & 24.18 & 28.02 & 30.17 & 21.53 & 25.47 & 28.62 & 28.97 & 19.27 \end{bmatrix}$$

$$P = \begin{bmatrix} 0.0904 & 0.1069 & 0.1336 & 0.1257 & 0.0903 & 0.1151 & 0.1174 & 0.1355 & 0.0850 \\ 0.0902 & 0.1069 & 0.1338 & 0.1258 & 0.0901 & 0.1151 & 0.1175 & 0.1357 & 0.0848 \\ 0.0900 & 0.1079 & 0.1324 & 0.1260 & 0.0888 & 0.1142 & 0.1194 & 0.1375 & 0.0838 \\ 0.0850 & 0.1071 & 0.1375 & 0.1295 & 0.0835 & 0.1149 & 0.1214 & 0.1438 & 0.0773 \\ 0.0625 & 0.1099 & 0.1274 & 0.1371 & 0.0979 & 0.1158 & 0.1301 & 0.1317 & 0.0876 \end{bmatrix}$$

信息熵(H_i)。 $H_i = [0.9939 \ 0.9938 \ 0.9934 \ 0.9899 \ 0.9893]$ 。

通过公式 $W_i = (1 - H_i) \div \sum_{i=1}^m (1 - H_i)$ 计算各指标的权重系数,得到各评价指标权重系数(W_i)。 $W_i = [0.1537 \ 0.1562 \ 0.1662 \ 0.2544 \ 0.2695]$ 。

可见,6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚、干浸膏得率指标的权重系数分别为0.1537,0.1562,0.1662,0.2544,0.2695。将概率矩阵数据进行加权处理,计算综合评分(M)。 $M = X_{i6-姜酚含量} / X_{max 6-姜酚含量} \times 0.1537 + X_{i芝麻脂素含量} / X_{max 芝麻脂素含量} \times 0.1562 + X_{i细辛脂素含量} / X_{max 细辛脂素含量} \times 0.1662 + X_{i6-姜烯酚含量} / X_{max 6-姜烯酚含量} \times 0.2544 + X_{i干浸膏得率} / X_{max 干浸膏得率} \times 0.2695$ 。以此进行方差分析,以确定最优试验方案。结果见表3。

由极差分析结果可知,各因素对综合指标的影响主次顺序为D>C>A>B,即提取次数>提取时间>浸泡时间>加水量。由方差分析结果可知,因素A、因素C、因素D对提取结果有显著影响,因素B影响不显著。综合考虑,确定最优提取工艺为A₃B₁C₃D₃,即加6倍量水,浸泡1.0h,提取3次,每次2.0h。

2.4 验证试验

称取细辛、干姜各12.0g,按2.3项下优选的最佳水提取工艺进行验证试验。测定各指标,并计算综合评分。由表5可知,该水提取工艺稳定、可行。

表5 验证试验结果

Tab. 5 Results of the validation test

序号	含量(μg/mL)				干浸膏得率(%)	综合评分(分)
	6-姜酚	芝麻脂素	细辛脂素	6-姜烯酚		
1	0.1913	0.0926	0.1768	0.1109	31.23	1.0113
2	0.1897	0.0907	0.1783	0.1118	30.97	1.0078
3	0.1892	0.0914	0.1771	0.1121	30.54	1.0044
\bar{X}	0.1901	0.0916	0.1774	0.1116	30.91	1.0078

3 讨论

多指标评价权重系数的确定是中药提取工艺优化过程中的关键,直接影响试验结果。目前,研究者根据

实际经验主观确定权重系数的主观赋权法仍是主流,但缺乏科学依据。利用信息熵原理对评价指标进行客观赋权,权重数据完全来自对试验数据的数理分析,可清晰地反映指标成分在不同提取条件下变化的客观规律,避免确定权重系数的主观和局限。本研究中采用信息熵赋权法计算各评价指标的权重系数,所有数据均根据统计学、数学原理通过统一公式计算得到,减少了研究者主观因素对结果的影响^[18-19],提高了试验结果的科学性。确定6-姜酚、芝麻脂素、细辛脂素、6-姜烯酚含量及干浸膏得率指标的权重系数分别为0.1537,0.1562,0.1662,0.2544,0.2695,权重系数根据各考察指标在9组正交试验中的变化差异而定,综合考虑各指标对9组数据的贡献率,试验结果更加科学、可信。

分别参考2020年版《中国药典(一部)》中细辛和干姜2味中药材含量测定中的色谱条件,但该色谱条件中的流动相和检测波长在试验条件下无法最大限度地将药对中的成分进行分离,通过全波段扫描确定了于205nm波长下有最大紫外吸收;在对比不同流动相比例下目标成分的分度后,最终确定了2.1.1项下的流动相梯度洗脱程序^[20]。

综上所述,信息熵赋权法结合正交试验优选出细辛-干姜药对的最佳水提取工艺为加6倍量水,浸泡1.0h,提取3次,每次2.0h,该工艺稳定、可行,可为该药对的后续研究提供试验基础。

参考文献

- [1] 陈骁勇. 高效液相色谱法测定丁细牙痛胶囊中丁香酚和细辛脂素含量[J]. 中国药业, 2020, 29(11): 68-70.
- [2] 王一迪, 唐尊昊, 曲爽. 经方中细辛配伍应用规律研究[J]. 西部中医药, 2021, 34(10): 94-98.
- [3] 苏敏, 江瑜, 范兰兰, 等. 炮制与配伍对干姜-五味子药对11种成分含量和指纹图谱的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2021, 40(4): 517-523.
- [4] 李胜莹, 彭少林, 陈博勉, 等. 从《神农本草经》论述干姜在经方中的应用[J]. 中国民间疗法, 2021, 29(8): 1-3.
- [5] 曲中原, 吴双, 邹翔, 等. 基于网络药理学的干姜-细