

基于信息熵理论权重分析的正交设计法优选参黛愈疡灌肠液水提工艺

胡兆流¹, 陈秋谷¹, 王佛长¹, 黄诗莹¹, 郑平¹, 赵元¹, 张尚斌¹, 冯春霞², 黄明河², 陈剑平^{1*}

1. 深圳市中医院 深圳市医院中药制剂研究重点实验室, 广东 深圳 518110

2. 深圳市中医院 脾胃病科, 广东 深圳 518110

摘要: 目的 优选参黛愈疡灌肠液的水提工艺。方法 以苦参碱、氧化苦参碱的提取率和干膏率为评价指标, 采用信息熵理论确定各指标权重系数并计算综合评分。以煎煮时间、加水倍数、煎煮次数为考察因素, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选参黛愈疡灌肠液的最优提取工艺并进行验证。结果 最优的提取工艺为饮片煎煮3次, 每次加8倍量水、每次煎煮1 h, 苦参碱、氧化苦参碱的平均提取率分别为0.117 1%、0.010 8%, 平均干膏率为36.53%。结论 优选的水提工艺重复性好、稳定可行, 可为参黛愈疡灌肠液的后续开发和工业化生产提供科学依据。

关键词: 参黛愈疡灌肠液; 苦参碱; 氧化苦参碱; 水提工艺; 正交设计; 信息熵理论; 权重分析

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2020)03-0442-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.03.010

Optimization of extraction process for Shendai Yuyang Enema based on orthogonal design in information entropy theory

HU Zhao-liu¹, CHEN Qiu-gu¹, WANG Fo-chang¹, HUANG Shi-ying¹, ZHENG Ping¹, ZHAO Yuan¹, ZHANG Shang-bin¹, FENG Chun-xia², HUANG Ming-he², CHEN Jian-ping¹

1. Shenzhen Key Laboratory of Hospital Chinese Medicine Preparation, Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518110, China

2. Department of Spleen and Stomach Diseases, Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen 518110, China

Abstract: Objective To optimize the water extraction process of Shendai Yuyang Enema. **Methods** The extraction rates of matrine and oxymatrine and dry extractum were used as evaluation indexes. Information entropy theory was used to determine the weight of each indicator to calculate comprehensive score. $L_9(3^4)$ orthogonal design was used to screen the optimal extraction technology of Shendai Yuyang Enema with decoction times, water volume and decoction times as factor. Validation test was also performed. **Results** The optimal extraction process was extracting third times, adding 8 folds of water, and 1 h each time. The results of validation test showed that the average extraction rate of matrine and oxymatrine were 0.117 1% and 0.010 8%, respectively. The average dry extractum yield was 36.53%. **Conclusion** The optimized water extraction process is reproducible, stable and feasible. It can provide a scientific basis for the industrial extraction and preparation of Shendai Yuyang enema.

Key words: Shendai Yuyang Enema; matrine; oxymatrine; water extraction technology; orthogonal design; information entropy theory; weight analysis

参黛愈疡灌肠液(原名溃疡灵灌肠液)是广东省名老中医黄明河教授治疗溃疡性结肠炎的有效方剂^[1-3], 由苦参、青黛、儿茶、五倍子、蒲黄、槐花、三七、白及、马齿苋9味中药组成, 具有清热燥湿、活血解毒、生肌敛疮之功效, 主要用于具有腹痛腹泻、黏液脓血便等症状的慢性非特异性直肠、结肠

炎症性疾病。参黛愈疡灌肠液临床使用前需先煎煮, 取煎液滤过后灌肠, 具有使用不便、用药剂量不准确影响疗效的缺点。根据方中各饮片的化学成分、药理作用等相关资料表明^[4-5], 君药苦参中苦参碱、氧化苦参碱具有较强的抗溃疡、抗菌、抗炎、抗病毒、镇痛的功效, 与参黛愈疡灌肠液的疗效相

收稿日期: 2020-01-03

基金项目: 国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目; 深圳市科技计划项目(ZDSYS201606081515458)

作者简介: 胡兆流, 男, 药师, 从事中药新药研究与开发。E-mail: 1277609973@qq.com

*通信作者 陈剑平, 男, 副主任中药师, 从事中药制剂研究。E-mail: lycjp@126.com

关;此外干膏率可反映其他成分的溶出程度。因此,本实验选择苦参碱、氧化苦参碱的提取率和干膏率作为评价指标,采用信息熵理论计算各指标成分权重系数,得出各正交试验的综合评分,通过正交试验设计法优选出该方灌肠液的最佳水提工艺,希望为其后续药物开发研究提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-2030 型高效液相色谱仪、AUW220D 型十万分之一电子分析天平,日本岛津公司;HHS 型电热恒温水浴锅、GZX-9140MBE 型电热鼓风干燥箱,上海博迅实业公司;CQ-250-DST 型超声波清洗机,上海跃进医用光学器械厂。

1.2 试药

苦参碱(批号 110805-201709,质量分数 98.7%)、氧化苦参碱批号 110780-201508,质量分数 92.5%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;水为纯化水,甲醇、乙腈、无水乙醇、磷酸均为色谱纯(默克公司)。

苦参饮片(批号 18050356)、青黛饮片(批号 18070034)均购自四川千方中药股份有限公司;三七饮片(批号 171220)、儿茶饮片(批号 170501)均购自国药控股深圳药材有限公司;马齿苋饮片(批号 1803001)购自亳州市中药饮片厂;蒲黄饮片(批号 180601)、槐花饮片(批号 180701)、五倍子饮片(批号 180901)、白及饮片(批号 190201)均购自广州至信饮片有限公司。饮片均经深圳市中医院中药实验室陈剑平主任鉴定,苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根、青黛为爵床科植物马蓝 *Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek. 干燥粉末、三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎、儿茶为豆科植物儿茶 *Acacia catechu* (L. f.) Willd. 的去皮枝干的干燥煎膏、马齿苋为马齿苋科植物马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 的干燥地上部分、蒲黄为香蒲科植物水烛香蒲 *Typha angustifolia* L. 的干燥花粉、槐花为豆科植物槐 *Sophora japonica* L. 的干燥花及花蕾、五倍子为漆树科植物盐肤木 *Rhus chinensis* Mill. 叶上的虫瘿、白及为兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. 的干燥块茎。

2 方法与结果

2.1 水提液的制备

按处方比例称取苦参等 9 味中药饮片,共 9 份,

每份 140 g,按 $L_9(3^4)$ 正交试验设计表进行提取,趁热滤过,浓缩,放冷至室温,加水定容至 2 000 mL,备用。

2.2 苦参碱和氧化苦参碱的 HPLC 法测定

2.2.1 色谱条件 Cosmosil 5NH₂-MS 色谱柱(250 mm×4.6 mm 5 μm);Phenomenex-KJ0-4282 色谱柱保护柱;流动相:乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(81:10:9);检测波长 220 nm 柱温:40 ℃;体积流量 0.8 mL/min;进样量 10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 取苦参碱、氧化苦参碱对照品适量,精密称定,加无水乙醇配制成质量浓度分别为 1.048 2、1.008 2 mg/mL 的混合对照品溶液,备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密吸取“2.1”项下水提液 100 mL,置于分液漏斗中,加浓氨试液调节 pH 值至 9~10,摇匀,用三氯甲烷萃取 2 次,每次 100 mL,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加无水乙醇使溶解,定容至 10 mL,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 称取除苦参饮片外的处方量饮片,煎煮 1 次,每次加 8 倍水,每次 1 h,浓缩并定容至 2 000 mL,按“2.2.3”项下方法制备阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,按“2.2.1”项下方法进样测定,结果表明:阴性溶液在苦参碱和氧化苦参碱相应位置上无对应色谱峰,表明处方中其他药味对本测定无干扰,结果见图 1。

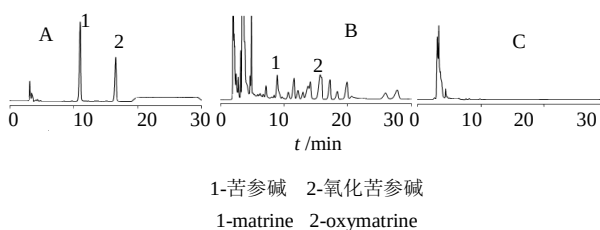


图 1 对照品溶液(A)、供试品溶液(B)和阴性对照溶液(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A), sample (B), and negative sample (C)

2.2.6 线性关系考察 精密量取混合对照品溶液 0.15、0.25、1、2.5、4、5 mL,分别置于 5 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,制得质量浓度分别为 1.048 2、0.838 6、0.524 1、0.209 6、0.052 4、0.031 45 mg/mL 苦参碱,1.008 2、0.806 6、0.504 1、

0.201 6、0.050 40、0.030 25 mg/mL 氧化苦参碱混合对照品溶液。取不同质量浓度的混合对照品溶液，进样 10 μ L，测定其峰面积。以峰面积对质量浓度

进行回归，绘制标准曲线，结果见表 1。

2.2.7 精密度试验 精密量取同一质量浓度的混合对照品溶液，连续进样 6 次，计算峰面积，结果显

表 1 回归方程、相关系数和线性范围

Table 1 Results of regression equations, r values, and linear range

名称	回归方程	r	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
苦参碱	$Y=5.489\ 47\times 10^6X+18\ 731.8$	0.999 8	0.031 45~1.048 2
氧化苦参碱	$Y=4.804\ 24\times 10^6X+15\ 390.0$	0.999 8	0.030 25~1.008 2

示苦参碱、氧化苦参碱的质量浓度分别为 0.423 0、0.404 0 mg/mL，RSD 值分别为 0.08%、0.09%。

2.2.8 稳定性试验 精密量取同一水提液 100 mL（按正交试验 1 号制备），制备供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样分析。记录峰面积并计算。结果显示苦参碱、氧化苦参碱峰面积的 RSD 值分别为 0.31%、1.98%，表明苦参碱、氧化苦参碱在 24 h 内稳定。

2.2.9 重复性试验 精密量取水提液 100 mL（按正交试验 1 号制备），平行量取 6 份，制备供试品溶液，进样分析，记录峰面积并计算，结果显示苦参碱、氧化苦参碱峰面积的 RSD 值分别为 0.18%、0.62%。

2.2.10 回收率试验 精密量取制备后苦参碱、氧化苦参碱质量浓度分别为 0.339 4、0.063 0 mg/mL 的水提液 100 mL（按正交试验 1 号制备），平行量取 6 份，分别精密加入苦参碱、氧化苦参碱对照品 3.394、0.768 mg，制备供试品溶液，进样分析，记录峰面积并计算。结果苦参碱、氧化苦参碱的平均加样回收率分别为 91.53%、104.05%，RSD 值分别为 0.65%、0.70%。

2.3 干膏率的测定

精密量取 50.00 mL 水提液，置已干燥至恒定质量的蒸发皿中，水浴蒸干，按照干燥失重测定法（《中国药典》2015 年版四部通则 0831）处理并测定，计算干膏率。

$$\text{干膏率} = (W \times 2\ 000 / 50.00 / 140) \times 100$$

W 为 50.00 mL 水提液中干膏质量，2 000 为水提液定容的体积，140 为处方总质量

2.4 正交试验设计

根据预试验结果，以加水倍数（A）、煎煮时间（B）、煎煮次数（C）为考察因素。以苦参碱、氧化苦参碱和干膏率为指标进行正交试验。因素、水平见表 2、正交试验设计和结果见表 3。

表 2 因素水平

Table 2 Factors and levels

水平	因素		
	A/倍数	B/h	C/次数
1	8	1.0	1
2	10	1.5	2
3	12	2.0	3

2.5 指标权重的确立

信息熵理论是描述一个系统中某个评价指标的客观变化规律的方法^[6-8]，常用信息熵（ Hi ）来描述某个评价指标 i 的“无序”和“有序”状态， Hi 越小，表明该评价指标处于“无序”状态，在整个评价系统中具有的作用越大。假设一个评价指标系统中有 m 个评价对象， n 个评价指标，在所形成的原始指标数据矩阵为 $X=(X_{ij})_{mn}$ 中，概率（ Pi ）越大， Hi 越小，其权重系数（ w_i ）就越大。因此可利用信息熵计算各指标的权重，为正交试验结果计算各评价指标的权重方法。

本研究采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表，即有 9 个评价对象，采用苦参碱、氧化苦参碱提取率和干膏率为 3 个评价指标，将正交试验所得各评价指标结果数据建立成原始数据矩阵（ X_{ij} ）_{mn}。

$X = \begin{matrix} 0.039\ 8 & 0.069\ 8 & 0.124\ 5 & 0.052\ 0 & 0.097\ 0 & 0.055\ 4 & 0.082\ 5 & 0.052\ 7 & 0.098\ 3 \\ 0.011\ 4 & 0.008\ 1 & 0.009\ 3 & 0.009\ 4 & 0.012\ 2 & 0.006\ 5 & 0.014\ 6 & 0.008\ 4 & 0.007\ 7 \\ 21.26 & 32.45 & 37.74 & 31.24 & 37.13 & 24.36 & 35.46 & 26.34 & 35.71 \end{matrix}$

将原始评价矩阵转为“概率”矩阵。 $P_{ij} = X_{ij} / \sum_{j=1}^n X_{ij}$ ， P_{ij} 表示第 j 次实验在第 i 个评价指标下的“概率”，计算 P_{ij} ， $0 \leq P_i \leq 1$ 。

$P = \begin{matrix} 0.059\ 2 & 0.103\ 8 & 0.185\ 3 & 0.077\ 3 & 0.144\ 4 & 0.082\ 4 & 0.122\ 8 & 0.078\ 4 & 0.146\ 3 \\ 0.130\ 0 & 0.092\ 8 & 0.105\ 9 & 0.107\ 4 & 0.139\ 5 & 0.073\ 8 & 0.166\ 7 & 0.096\ 1 & 0.088\ 0 \\ 0.075\ 4 & 0.115\ 1 & 0.133\ 9 & 0.110\ 8 & 0.131\ 7 & 0.086\ 4 & 0.125\ 8 & 0.093\ 4 & 0.126\ 7 \end{matrix}$

计算每项评价指标的 H_i , 结果 $H_i = (0.972\ 2、0.986\ 7、0.991\ 8)$

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

计算每项评价指标的 w_i , 结果 $w_i = (0.564\ 0、0.270\ 1、0.165\ 9)$

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

上述结果可知, 3 个评价指标中苦参碱提取率

的 w_i 最大, 则其 H_i 最小, 说明在不同试验条件下, 苦参碱提取率变化最大, 是需要重点考察的指标。其次是氧化苦参碱。干膏率的 w_i 最小, 说明在不同的试验条件下, 干膏率的数值变化不明显。

对正交试验所得的数据进行加权处理, 综合评分结果见表 3。

$$\text{综合评分} = [(\text{苦参碱提取率}/\text{苦参碱最大提取率}) \times 0.564\ 0 + (\text{氧化苦参碱提取率}/\text{氧化苦参碱最大提取率}) \times 0.270\ 1 + (\text{干膏率}/\text{干膏率最大值}) \times 0.165\ 9] \times 100$$

表 3 正交试验试验结果

Table 3 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	A	B	C	D (空白)	苦参碱提取率/%	氧化苦参碱提取率/%	干膏率/%	综合评分
1	1	1	1	1	0.039 8	0.011 4	21.26	48.47
2	1	2	2	2	0.069 8	0.008 1	32.45	60.93
3	1	3	3	3	0.124 5	0.009 3	37.74	90.17
4	2	1	2	3	0.052 0	0.009 4	31.24	54.71
5	2	2	3	1	0.097 0	0.012 2	37.13	82.92
6	2	3	1	2	0.055 4	0.006 5	24.36	47.79
7	3	1	3	2	0.082 5	0.014 6	35.46	80.02
8	3	2	1	3	0.052 7	0.008 4	26.34	51.05
9	3	3	2	1	0.098 3	0.007 7	35.71	74.51
k_1	199.57	183.20	147.31	205.90				
k_2	185.42	194.90	190.15	188.74				
k_3	205.58	212.47	253.11	195.93				
R	20.16	29.27	105.80	17.16				

2.6 正交试验结果分析

由直观分析可知, 影响提取效果的因素顺序为: 煎煮次数 > 煎煮时间 > 加水倍数。方差分析表明,

煎煮次数对试验结果有显著的影响 ($P < 0.05$), 见表 4。因此提取工艺条件定为 $A_1B_1C_3$, 即提取 3 次, 每次加 8 倍量水, 每次 1 h。

表 4 方差分析结果

Table 4 Result of variance analysis

变异来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
A	71.42	2	35.71	1.44	>0.05
B	144.70	2	72.35	2.92	>0.05
C	1 888.10	2	944.05	38.14	<0.05
D (空白)	49.51	2	24.75		

$$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$$

2.7 最佳提取工艺条件验证

按处方比例称取饮片 3 份, 每份 140 g, 按照 $A_1B_1C_3$ 即提取 3 次, 每次加 8 倍量水, 每次 1 h 的工艺进行验证, 并按上述方法计算苦参碱和氧化苦

参碱提取率、干膏率, 计算综合评分值, 结果见表 5。结果表明: 3 次验证试验平均综合评分值为 89.04, 与正交试验综合评分值最大值接近, 表明其工艺参数稳定。

表5 验证试验结果

Table 5 Results of verification testing

序号	苦参碱提取率/%	氧化苦参碱提取率/%	干膏率/%	综合评分值
1	0.120 1	0.010 8	35.93	90.18
2	0.115 8	0.010 8	36.01	88.27
3	0.115 5	0.010 7	37.65	88.67
均值	0.117 1	0.010 8	36.53	89.04

3 讨论

3.1 色谱条件的确立

预实验中,对不同类型的色谱柱(十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱、氨基键合硅胶色谱柱)、不同的流动相[甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸、乙腈-无水乙醇-3%磷酸(80:10:10)、乙腈-无水乙醇-3%磷酸(81:10:9)]进行了比较。结果表明,采用乙腈-无水乙醇-3%磷酸(81:10:9)、氨基键合硅胶色谱柱进行分析时,苦参碱、氧化苦参碱的色谱峰分离度良好,保留时间适宜。

3.2 评价指标与权重方法的确立

苦参中氧化苦参碱易受还原性成分(黄酮类、还原糖等)的影响受热可转化为苦参碱,故常采用苦参碱和氧化苦参碱总提取率、苦参碱与氧化苦参碱的比值作为水提工艺评价指标^[9]。预实验结果表明,水煎液中苦参碱提取率远大于氧化苦参碱提取率,采用两者提取率比值并不适用于本实验的综合评分,故分别将苦参碱、氧化苦参碱提取率作为评价指标。

因中药复方“君臣佐使”的配伍特性,其提取工艺研究中采用多活性成分作为评价指标,同时使用专家咨询法、层次分析法、主成分分析法等主观赋权法对各指标进行赋权后计算综合评分,上述的

赋权方法具有一定的主观性,而信息熵理论是一种客观赋权法,是基于实验原始数据的分析,可明确反映各指标在不同提取条件下的客观变化规律,能体现提取工艺的实际情况,故采用信息熵理论作为计算各指标的权重方法。因实验中苦参碱、氧化苦参碱源于君药苦参,无需采用主观赋权法进行互补。

综上基于信息熵理论确定的权重系数客观、真实;优选的水提工艺稳定且重复性好,可为参黛愈疡灌肠液的中试工艺提供依据。

参考文献

- [1] 陈晓蓉,黄明河.肛滴溃疡灵治溃疡性结肠炎观察[J].中医药临床杂志,2014,26(3):271-272.
- [2] 黄明河,刘心亮,邵牧民.理肠汤灌胃结合溃疡灵灌肠治疗大鼠溃疡性结肠炎实验研究[J].中国中西医结合消化杂志,2010,18(1):21-26.
- [3] 黄明河,徐成山,吴亚宾.理肠汤口服与溃疡灵灌肠治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎临床观察[J].中国中医药信息杂志,2008,15(1):61-62.
- [4] 张钟媛.苦参的化学成分和药理作用研究进展[J].云南中医中药杂志,2015,36(6):104-106.
- [5] 张庆,茹庆国,刘艳,等.苦参碱与氧化苦参碱对炎症相关结直肠癌的化学预防作用研究[J].中草药,2016,47(9):1548-1553.
- [6] 罗进.利用信息熵计算评价指标权重原理及实例[J].武汉纺织大学学报,2014,27(6):86-89.
- [7] 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蟾参方提取工艺研究[J].中国药房,2019,30(3):376-380.
- [8] 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.
- [9] 梅明,伍振峰,韩丽,等.苦参中生物碱类成分的稳定性及减压提取工艺研究[J].现代中药研究与实践,2015,29(1):48-51.