

正交试验结合信息熵赋权法优化千里光药材的提取工艺^Δ

李 燕*,潘炎帆,张 涛,韩忠耀*(黔南民族医学高等专科学校药理学系,贵州 都匀 558000)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)12-1470-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.12.12

摘要 目的:优化千里光药材的提取工艺,为其进一步开发利用提供方法参考。方法:采用80℃水浴回流提取的方法提取千里光药材。采用高效液相色谱法测定绿原酸和金丝桃苷的含量,色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为0.2%冰醋酸水溶液-甲醇(82:18, V/V),柱温为35℃,流速为1.0 mL/min,检测波长分别为327 nm,进样量为5 μL;采用紫外-可见分光光度法测定总黄酮(以芦丁计)和总生物碱(以苦参碱计)的含量,检测波长分别为509、208 nm。在单因素试验的基础上,以乙醇体积分数(A,%)、溶剂用量(B, mL/g)、提取时间(C, h)、提取次数(D, 次)为考察因素,以绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量为评价指标,通过信息熵赋权法计算上述各指标的权重系数并以此计算其综合评分,按L₉(3⁴)正交试验设计优化千里光提取工艺并进行验证。结果:千里光药材的最佳提取工艺为加入8倍量50%乙醇,回流提取3次,每次1.5 h;3次验证试验结果显示,所得提取液中绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱含量的RSD均小于1.5%(n=3)。结论:优化的提取工艺重复性好、稳定可行,可用于千里光药材的提取。**关键词** 千里光;信息熵赋权法;绿原酸;金丝桃苷;总黄酮;总生物碱;含量;正交试验;提取工艺

Optimization of the Extraction Technology of *Senecio scandens* by Orthogonal Design Combined with Information Entropy Weighting Method

LI Yan, PAN Yanfan, ZHANG Tao, HAN Zhongyao (College of Pharmacy, Qiannan Medical College for Nationalities, Guizhou Duyun 558000, China)

- www.fda.gov/drugs/guidances-drugs/all-guidances-drugs.
- [10] 金方方,尹婕,南楠.化学口服固体制剂仿制药质量和疗效一致性评价研究思考[J].药物分析杂志,2018,38(4):575-581.
- [11] 谢沐风.改善溶出度评价方法,提高固体药物制剂水平[J].中国医药工业杂志,2005,36(7):447-451.
- [12] 丁晶,汪昕.癫痫诊疗指南解读[J].临床内科杂志,2016,33(2):142-144.
- [13] 胡利华,王晓玲.我院片剂分剂量使用现状调查分析[J].儿科药学杂志,2013,19(3):32-35.
- [14] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:1406.
- [15] FDA. Drug database:dissolution methods[EB/OL].(2004-02-12)[2019-06-04]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/index.cfm>.
- [16] 国家食品药品监督管理总局.普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则[EB/OL].(2015-02-05)[2019-06-04]. <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0087/114286.html>.
- [17] 国家食品药品监督管理总局.普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则[EB/OL].(2016-03-18)[2019-06-05]. <http://www.sfda.gov.cn/ws01/cl0087/147583.html>.
- [18] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:121.
- [19] 张启明,谢沐风,宁保明,等.采用多条溶出曲线评价口服固体制剂的内在质量[J].中国医药工业杂志,2009,40(12):946-955.
- [20] 梁忠瑞.奥卡西平共晶的制备、表征与性质研究[D].北京:北京化工大学,2018.
- [21] 龚时琼.高效液相色谱分析中异常峰的分析与处理[J].实验技术与管理,2010,27(6):37-42.
- [22] 全红娜,金松子,雷勇生,等.反相高效液相色谱中流动相选择与优化的研究进展[J].现代药物与临床,2014,29(10):1190-1194.
- [23] FDA. Approved drugs:oxcarbazepine[EB/OL].(2018-10-13)[2019-06-04]. https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00048247.
- [24] 王芳,金曼,朱传祥.影响片剂脆碎度的因素分析[J].齐鲁药事,2012,31(10):613-614.
- [25] 申宝德,沈成英,徐玲霞,等.难溶性中药纳米混悬剂的体内外行为研究进展[J].中国中药杂志,2018,43(19):3828-3833.
- [26] 金瑞,程开生,李志云,等.缙沙坦原料颗粒形貌对缙沙坦氨氯地平片溶出的影响[J].中国粉体技术,2019,25(5):45-50.
- [27] 谭菊英,黄丽丽,孙煜,等.吡罗昔康原料晶型对片剂溶出度的影响研究[J].药物分析杂志,2017,37(3):550-557.
- (收稿日期:2020-01-09 修回日期:2020-05-08)
(编辑:陈 宏)
- ^Δ 基金项目:2018年、2019年中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查”项目(No.国中医药办科技函[2018]132号, No.国中医药办科技函[2019]186号);黔南州社会发展(卫生类)科技计划项目(No.黔南科合社字[2017]20号);黔南民族医学高等专科学校科研基金项目(No.QNYZ201410)
- * 讲师,硕士。研究方向:中药、民族药质量控制。电话:0854-8308661。E-mail:260457652@qq.com
- # 通信作者:副教授,硕士。研究方向:中药、民族药质量控制。E-mail:317230913@qq.com

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of *Senecio scandens*, and to provide reference for the further development and utilization of the medicinal material. METHODS: The method of reflux extraction with 80 °C water bath was used to extract *S. scandens*. HPLC method was adopted to determine the contents of chlorogenic acid and hyperoside. The determination was performed on Diamonsil C₁₈ with mobile phase consisted of 0.2% glacial acetic acid water solution-methanol (82:18, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min; the column temperature was set at 35 °C; the detection wavelength was 327 nm, and the sample size was 5 μL. UV-Vis spectrophotometry was used to determine the contents of total flavonoids (by rutin) and total alkaloids (by matrine) and the detection wavelengths were set at 509 nm and 208 nm, respectively. Based on single factor tests, using ethanol volume fraction (A, %), solvent folds (B, mL/g), extraction time (C, h), extraction times (D, times) as factors, using the contents of chlorogenic acid, hyperoside, total flavonoids and total alkaloids as indexes, and the weight coefficients of above indicator components were calculated based on information entropy weighting method so as to calculate their comprehensive scores, then L₉(3⁴) orthogonal design was used to further optimize the extraction technology. The validation tests were also performed. RESULTS: The optimal extraction technology of *S. scandens* included that 8-fold 50% ethanol, extracting for 3 times, lasting for 1.5 h each time. Results of 3 times of validation tests showed that RSDs of the contents of chlorogenic acid, hyperoside, total flavonoids and total alkaloids were all lower than 1.5% (n=3). CONCLUSIONS: The optimized technology is reproducible, stable and feasible, and can be used for the extraction of *S. scandens*.

KEYWORDS *Senecio scandens*; Information entropy weighting theory; Chlorogenic acid; Hyperoside; Total flavonoids; Total alkaloids; Content; Orthogonal design; Extraction technology

千里光为菊科植物千里光(*Senecio scandens* Buch.-Ham.)的干燥地上部分,主要含黄酮、生物碱、有机酸类等化学成分,具有清热解毒、明目退翳、杀虫止痒、散瘀消肿等功效,被广泛应用于各种急性炎症的治疗^[1-2];同时,千里光也是多种制剂如千柏鼻炎片、千里光眼药水、千喜片等的组方药材,因此其主要活性成分的提取对其相关制剂的开发应用至关重要。已有研究采用总黄酮含量为单一评价指标筛选千里光提取工艺^[3],然而中药是通过多成分、多靶点来发挥整体药效,加之中药成分种类众多、含量差异大,故采用单一指标评价提取工艺优劣具有一定的片面性,应采用多指标成分来进行工艺优化。另外,传统中药提取工艺在确定各评价指标权重系数时通常采用主观赋值的方法来计算综合评分,客观性与科学性不足。信息熵是系统有序程度的度量,某个属性变异程度越大,系统越有序,则信息熵越小,权重系数越大;反之,则信息熵越大,权重系数小^[4]。将信息熵理论应用于系统评价,则可使结果不受研究者主观影响,更具有客观性。基于此,本研究利用信息熵赋权法评价千里光药材提取工艺优化过程中各指标的客观权重系数,以期提高工艺优化的客观性和科学性。

相关研究表明,千里光中主要有效成分为绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱等,且在6-9月份采收的药材中上述成分的含量较高^[5-6]。因此,本研究以6-9月采集的千里光药材为研究对象,以绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量为评价指标,采用L₉(3⁴)正交表进行试验设计,结合信息熵赋权法获得较客观的权重系数并用以计算上述评价指标的综合评分,旨在优化得到千里光的最佳提取工艺,为该药材的进一步开发利用提供方法参考。

1 材料

1.1 仪器

1260型高效液相色谱(HPLC)仪、Cary 100型双光束紫外-可见分光光度计(美国Agilent公司);SG-4050C型数显恒温水浴锅(上海硕光电子科技有限公司);PX125DZH型电子天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司]。

1.2 药品与试剂

绿原酸对照品(批号:CHB170713,纯度:≥98%)、金丝桃苷对照品(批号:CHB160904,纯度:≥98%)、芦丁对照品(批号:CHB170303,纯度:≥98%)、苦参碱对照品(批号:CHB160907,纯度:≥98%)均购自成都克洛玛生物科技有限公司;甲醇为色谱纯,乙醇、冰醋酸等其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

千里光植物采自贵州省都匀市都匀经济开发区老鹰坡山坡上,采集时间为2019年6-9月,每月采集2次,每次随机采集生长良好的完整植株5株。采集植物经黔南民族医学高等专科学校药学系中药教研室王传明副教授鉴定为菊科植物千里光(*S. scandens* Buch.-Ham.)的全草,样本保存在黔南民族医学高等专科学校中药标本馆。取不同月份采集的千里光地上部分切段,55 °C下烘干,粉碎成粗粉后混合均匀,备用。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取绿原酸对照品6.55 mg、金丝桃苷对照品3.27 mg,置于同一个25 mL量瓶中,加70%甲醇溶解并定容,摇匀,即得绿原酸质量浓度为0.262 0 mg/mL、金丝桃苷质量浓度为0.130 8 mg/mL的混合对照品溶液。精密称取芦丁对照品8.10 mg、苦参碱对照品5.10 mg分别置于25 mL量瓶中,加70%乙醇

溶解并定容,摇匀,即得质量浓度分别为0.324 0 mg/mL的芦丁对照品溶液和0.204 0 mg/mL的苦参碱对照品溶液。

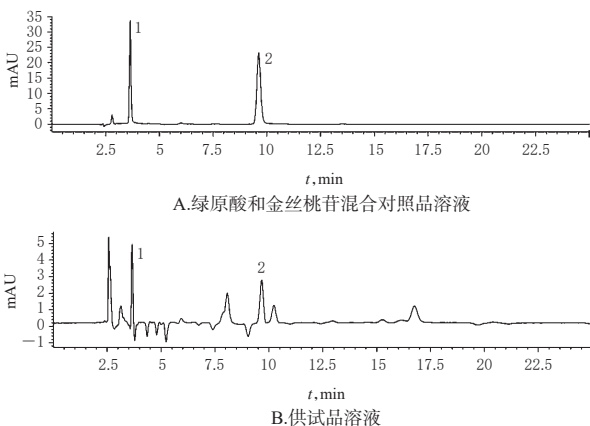
2.1.2 供试品溶液 称取千里光药材粗粉约2 g,精密称定,置于50 mL圆底烧瓶,加入提取溶剂后按一定的工艺条件进行回流提取,提取液经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2 绿原酸和金丝桃苷的含量测定

参照文献方法^[5,7],采用HPLC法测定绿原酸和金丝桃苷的含量。

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.2%冰醋酸水溶液-甲醇(82:18, V/V);柱温:35 ℃;流速:1.0 mg/mL;检测波长:327 nm;进样量:5 μL。

2.2.2 系统适用性考察 取“2.1.2”“2.1.3”项下绿原酸和金丝桃苷混合对照品溶液和供试品溶液适量,以70%甲醇为空白对照,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。结果显示,理论板数按绿原酸和金丝桃苷峰计均不低于8 000,空白对照无干扰(图略),详见图1。



注:1.绿原酸;2.金丝桃苷

Note:1. chlorogenic acid;2. hyperoside

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.2.3 线性关系考察 参照文献方法^[5-8],精密吸取“2.1.1”项下绿原酸和金丝桃苷混合对照品溶液适量,以70%甲醇稀释制成5个质量浓度梯度的系列线性工作溶液(另设0 mg/mL的空白),按“2.2.1”项下色谱条件分别进样分析,记录峰面积。以待测成分质量浓度(x, mg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归。结果,得绿原酸的回归方程 $y=1\ 066.5x+0.786$ ($r=0.999\ 3$),金丝桃苷的回归方程 $y=3\ 495.6x-0.748$ ($r=0.999\ 1$)。这表明绿原酸、金丝桃苷检测质量浓度的线性范围分别为0.026 2~0.262 0、0.013 1~0.130 8 mg/mL。

2.2.4 精密度、稳定性、重复性试验 参照文献方法^[5]进行相应方法学考察。结果,上述试验的RSD均小于

1.5%($n=6$),表明方法的精密度、稳定性(室温,36 h内)、重复性均良好。

2.2.5 加样回收率试验 参照文献方法^[7]进行相应方法学考察。结果,绿原酸、金丝桃苷的平均加样回收率分别为101.25%、98.62%,RSD均小于1.5%($n=6$),表明方法准确度良好。

2.2.6 绿原酸和金丝桃苷的含量测定 取“2.1.2”项下供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,各样品平行操作3次,记录峰面积并代入“2.2.3”项下回归方程分别计算绿原酸和金丝桃苷的含量。

2.3 总黄酮和总生物碱的含量测定

参照文献方法^[5-8],采用紫外-可见分光光度法测定总黄酮(以芦丁计)和总生物碱(以苦参碱计)的含量。

2.3.1 线性关系考察 参照文献方法^[5],取“2.1.1”项下芦丁对照品溶液各适量,分别进行预处理,即加入5%亚硝酸钠溶液1 mL,摇匀后静置6 min;再加入10%硝酸铝溶液1 mL,摇匀后静置6 min;然后加入5%氢氧化钠溶液10 mL,再用70%乙醇稀释并定容至25 mL,摇匀,静置15 min,制成5个质量浓度梯度的系列线性工作溶液(另设0 mg/mL的空白),在509 nm波长处分别检测其吸光度。参照文献方法^[6],取“2.1.1”项下苦参碱对照品溶液各适量,以70%乙醇稀释制成5个质量浓度梯度的系列线性工作溶液(另设0 mg/mL的空白),在208 nm波长处分别检测其吸光度。分别以芦丁、苦参碱的质量浓度(x, mg/mL)为横坐标、相应吸光度(y)为纵坐标进行线性回归。结果,得芦丁的回归方程 $y=7.932\ 4x+0.279\ 9$ ($r=0.999\ 4$)、苦参碱的回归方程 $y=29.684\ 87x+0.055\ 3$ ($r=0.999\ 2$)。这表明芦丁、苦参碱检测质量浓度的线性范围分别为0.012 9~0.064 8、0.010 2~0.051 0 mg/mL。

2.3.2 精密度、稳定性、重复性试验 参照文献方法^[5-7]进行相应方法学考察。结果,上述试验的RSD均小于1.5%($n=6$),表明方法的精密度、稳定性(室温,10 h内)、重复性均良好。

2.3.3 加样回收率试验 参照文献方法^[5-7]进行相应方法学考察。结果,芦丁、苦参碱的平均加样回收率分别为101.13%、98.30%,RSD均小于1.5%($n=6$),表明方法准确度良好。

2.3.4 总黄酮和总生物碱的含量测定 取“2.1.2”项下供试品溶液,采用紫外-可见分光光度法测定(测定总黄酮时需先按“2.3.1”项下方法预处理),各样品平行操作3次,记录吸光度并代入“2.3.1”项下回归方程分别计算总黄酮和总生物碱的含量。

2.4 单因素试验筛选千里光提取工艺

参考文献方法^[8-11],采用80 ℃水浴回流提取的方法提取千里光药材,以绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物

碱等4个指标成分的含量为指标,进行该药材提取工艺的单因素考察。

2.4.1 提取溶剂的选择 称取千里光药材粗粉约2 g,精密称定,平行7份,固定提取次数为2次、每次提取1.5 h,分别加入10倍量(mL/g,下同)50%甲醇、60%甲醇、70%甲醇、50%乙醇、60%乙醇、70%乙醇、80%乙醇作为提取溶剂进行回流提取。取提取液,按“2.1.2”项下方法滤过后,取续滤液,再按“2.2”“2.3”项下方法分别测定绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量。结果,以50%乙醇、60%乙醇、70%乙醇为提取溶剂时,提取液中4种成分含量相对较高,故选择50%乙醇、60%乙醇、70%乙醇为提取溶剂进行后续工艺优化。

2.4.2 溶剂倍量的选择 称取千里光药材粗粉约2 g,精密称定,平行5份,分别加入5、6、8、10、20倍量的70%乙醇,回流提取2次,每次提取1.5 h。取提取液,按“2.4.1”项下方法处理并测定绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量。结果,随着溶剂倍量的增加,提取液中4种成分的含量逐渐上升,但以10、20倍量溶剂提取后各成分的含量差异不大,故选择溶剂倍量为6、8、10倍进行后续工艺优化。

2.4.3 提取时间的选择 称取千里光药材粗粉约2 g,精密称定,平行4份,加入10倍量70%乙醇,回流提取2次,每次分别均提取0.5、1.0、1.5、2.0 h。取提取液,按“2.4.1”项下方法处理并测定绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量。结果,当单次提取时间为1.0、1.5、2.0 h时,提取液中4种成分含量相对较高,故选择提取时间为1.0、1.5、2.0 h进行后续工艺优化。

2.4.4 提取次数的选择 称取千里光药材粗粉约2 g,精密称定,平行4份,加入10倍量70%乙醇进行回流提取,按单次提取时间为1.5 h,分别提取1、2、3、4次。取提取液,按“2.4.1”项下方法处理并测定绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量。结果,随着提取次数的增加,提取液中4种成分的含量均逐渐上升,但分别提取3、4次后各成分的含量差异不大,故选择提取次数为1、2、3次进行后续工艺优化。

2.5 正交设计法优化千里光提取工艺

2.5.1 因素与水平 根据单因素试验结果并参考文献方法^[9-11],对千里光的提取工艺进一步优化。以乙醇体积分数(A)、溶剂倍量(B)、提取时间(C)、提取次数(D)等4个因素为考察对象,以绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量为评价指标,采用L₉(3⁴)正交表进行试验设计,再按“2.2”“2.3”项下方法测定绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱的含量。正交试验因素与水平见表1,试验设计与结果见表2。

表1 正交试验因素与水平

Tab 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	A,%	B,mL/g	C,h	D,次
1	50	6	1.0	1
2	60	8	1.5	2
3	70	10	2.0	3

表2 正交试验设计和结果

Tab 2 Design and results of orthogonal test

试验号	因素				绿原酸含量, mg/g	金丝桃苷含量, mg/g	总黄酮含量, mg/g	总生物碱含量, mg/g	M
	A(误差)	B	C	D					
1	1	1	1	1	0.42	2.06	1.19	62.70	2.519
2	1	2	2	2	3.18	7.27	0.66	71.79	5.209
3	1	3	3	3	3.55	1.58	0.12	89.88	3.611
4	2	1	2	3	3.88	1.90	0.54	62.86	3.395
5	2	2	3	1	0.39	2.22	1.23	71.78	2.765
6	2	3	1	2	3.64	4.10	0.38	69.76	4.156
7	3	1	3	2	3.88	1.95	0.87	71.76	3.701
8	3	2	1	3	3.29	4.28	0.39	83.63	4.394
9	3	3	2	1	2.46	1.30	0.56	54.79	2.565
\bar{K}_1	3.780	3.203	3.690	2.617					
\bar{K}_2	3.437	4.120	3.723	4.357					
\bar{K}_3	3.553	3.447	3.357	3.797					
R	0.343	0.917	0.366	1.740					

2.5.2 基于信息熵赋权计算综合评分(M) 以绿原酸、金丝桃苷、总黄酮、总生物碱含量为评价指标,采用信息熵赋权法对各指标进行赋值并计算综合评分,参考文献方法^[9-11]建立原始指标矩阵(X)如下:

$$X = \begin{bmatrix} 0.42 & 3.18 & 3.55 & 3.88 & 0.39 & 3.64 & 3.88 & 3.29 & 2.46 \\ 2.06 & 7.27 & 1.58 & 1.90 & 2.22 & 4.10 & 1.95 & 4.28 & 1.30 \\ 1.19 & 0.66 & 0.12 & 0.54 & 1.23 & 0.38 & 0.87 & 0.39 & 0.56 \\ 62.70 & 71.79 & 89.88 & 62.86 & 71.78 & 69.76 & 71.76 & 83.63 & 54.79 \end{bmatrix}$$

根据公式 $P_{ij} = X_{ij} / \sum X_{ij}$ 计算 P_{ij} ,式中 P_{ij} 表示第j次试验在i指标下的概率,将原始矩阵(X)转换为概率矩阵(P):

$$P = \begin{bmatrix} 0.0171 & 0.1288 & 0.1438 & 0.1570 & 0.0159 & 0.1473 & 0.1573 & 0.1331 & 0.0997 \\ 0.0771 & 0.2728 & 0.0592 & 0.0711 & 0.0831 & 0.1540 & 0.0731 & 0.1606 & 0.0488 \\ 0.2005 & 0.1107 & 0.0197 & 0.0903 & 0.2075 & 0.0649 & 0.1468 & 0.0653 & 0.0943 \\ 0.0981 & 0.1124 & 0.1407 & 0.0984 & 0.1123 & 0.1092 & 0.1123 & 0.1309 & 0.0857 \end{bmatrix}$$

根据信息熵(H_i)计算公式 $H_i = -(\sum_{j=1}^n P_{ij} \ln P_{ij}) / \ln n$ 计算各项指标的 H_i (式中,n为试验数),结果 $H_i = [0.9286, 0.9260, 0.9315, 0.9954]$;再根据权重系数(W_i)计算公式 $W_i = (1 - H_i) / [\sum_{i=1}^m (1 - H_i)]$ 计算各项指标的 W_i (式中,m为指标个数),结果 W_i 为 $[0.3269, 0.3387, 0.3135, 0.0209]$ 。以此对概率矩阵(P)的数据进行加权处理,计算综合评分, $M_i = P_{1i}W_1 + P_{2i}W_2 + P_{3i}W_3 + P_{4i}W_4$,结果见表2。

2.5.3 正交试验结果分析 对正交试验进行极差分

析。结果显示,各因素对绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱含量综合评分的影响程度大小排序为D>B>C>A,即提取次数>溶剂倍量>提取时间>乙醇体积分数,详见表2。以极差最小的因素A作为误差项,进行方差分析,结果见表3。

表3 正交试验方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A(误差)	0.183	2	0.092	1.000	>0.05
B	1.353	2	0.677	7.393	>0.05
C	0.247	2	0.124	1.350	>0.05
D	4.734	2	2.367	25.869	<0.05

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

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

由表2可知, A₁B₂C₂D₂为最优提取工艺;由表3可知,因素D对综合评分的影响有统计学意义($P<0.05$),其他因素无显著性影响($P>0.05$),说明提取次数对千里光药材的综合提取效果有显著影响,故因素D取其最高水平值即D₃(提取3次)。因此,最终确定 A₁B₂C₂D₃为千里光药材的最佳提取工艺,即加入8倍量的50%乙醇提取3次,每次1.5 h。

2.5.4 优化工艺的验证试验 根据“2.5.3”项下优化的最佳提取工艺条件,取千里光药材粗粉适量,平行进行3次验证试验。结果,绿原酸、金丝桃苷、总黄酮和总生物碱含量的RSD均小于1.5%(见表4),表明优化所得的提取工艺稳定可行。

表4 验证试验结果

Tab 4 Results of validation tests

序号	绿原酸含量,mg/g	金丝桃苷含量,mg/g	总黄酮含量,mg/g	总生物碱含量,mg/g
1	3.61	4.12	1.06	83.53
2	3.51	4.09	1.05	81.32
3	3.54	4.06	1.04	82.48
RSD, %	1.44	0.73	0.95	1.34

3 讨论

3.1 HPLC含量测定法中流动相和检测波长的选择

本课题组分别比较了以磷酸水溶液-乙腈、磷酸水溶液-甲醇、冰醋酸水溶液-乙腈、冰醋酸水溶液-甲醇为流动相的分离效果。结果发现,当以0.2%冰醋酸水溶液-甲醇(82:18, V/V)为流动相时,所得色谱图的基线平稳、分离效果好。

另外,结合文献方法^[4-5],采用二极管阵列检测器对供试品溶液进行扫描,结果发现在327 nm波长下的色谱图基线相对平稳,且绿原酸和金丝桃苷的响应信号均较强,并能达到有效分离,故最终确定检测波长为327 nm。

3.2 正交试验结合信息熵赋权法优化提取工艺的意义

信息熵理论具有处理复杂多量数据的优势,将试验

所得的多指标数据结果用信息熵赋权法进行处理并计算其权重系数,进而计算得到的综合评分更加客观,能更为科学地优化提取工艺^[10-11]。本研究在单因素考察的基础上,采用正交试验对千里光药材的提取工艺进行优化,有效减少了试验的次数;基于信息熵赋权法计算各评价指标权重系数并此计算综合评分,客观、合理地反映各指标的重要程度,筛选出了较为科学、可行的最佳工艺。对此最佳工艺进行的3次验证试验结果显示,4种成分含量的RSD均小于1.5%。

综上,本研究优化所得的提取工艺重复性好、稳定可行,可为千里光药材提取工艺技术参数的量化提供科学参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:17.
- [2] 孟凡君,张雪君,谢卫东.中草药千里光研究进展[J].东北农业大学学报,2010,41(9):156-160.
- [3] 景年水.正交设计优化千里光总黄酮的提取工艺[J].中医药导报,2015,21(16):46-47.
- [4] 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.
- [5] 李燕,韩忠耀,魏学军.不同采收期和部位黔产千里光中总黄酮、绿原酸和金丝桃苷含量动态比较[J].天津中医药大学学报,2018,37(2):155-160.
- [6] 李燕,蒙慧彤,韩忠耀,等.不同采收期和不同药用部位黔产千里光中总生物碱含量动态比较[J].黔南民族医学学报,2016,29(4):235-237.
- [7] 李燕,潘炎帆,张涛,等.黔产千里光炮制前后高效液相色谱指纹图谱及多成分含量变化研究[J].食品与机械,2020,36(2):94-99.
- [8] 高淑云,焦灿.麻叶千里光中生物碱的提取及测定分析[J].食品科学,2009,30(18):261-266.
- [9] 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.
- [10] 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):377-380.
- [11] 顿佳颖,郑鹏,李佳佳,等.响应面法结合信息熵理论优化桃核承气汤水提取工艺[J].中国药房,2019,30(16):2210-2215.

(收稿日期:2020-02-11 修回日期:2020-05-01)

(编辑:段思怡)