

综合评分法优选驱虫斑鸠菊的提取工艺

于鲁海, 孙力, 李燕菊, 尚靖, 徐建国 (新疆维吾尔自治区人民医院临床药学研究所, 乌鲁木齐 830001)

摘要:目的 优选驱虫斑鸠菊的最佳提取工艺。方法 采用正交试验设计, 以紫柳素含量、总黄酮含量及浸膏得率为指标, 考察影响提取的因素。结果 驱虫斑鸠菊的最佳提取工艺为加入 10 倍量水, 浸泡 1 h, 煎煮 1 h, 共 3 次。结论 该工艺可提高驱虫斑鸠菊的提取率。

关键词:驱虫斑鸠菊; 正交试验; 综合评分法; 提取工艺

中图分类号: R931.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)05-0373-03

Study on Extraction Techniques for *Vernonia anthelmintica* by Grading Methods

YU Lu-hai, SUN Li, LI Yan-ju, SHANG Jing, XU Jian-guo (The Clinical Medical Institute of Xinjiang, Urumqi, 830001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the extraction techniques for *Vernonia anthelmintica* Willd. **METHODS** Conditions for the extraction were studied by orthogonal test design according to the results of the contents of butin, total flavonoids and the extraction rate in the extract. **RESULTS** The optimum extracting procedure was: using 10 times volume of water for each time, marinating one hour and then boiling for three times sustaining for one hour each time. **CONCLUSION** The extraction efficiency of *Vernonia anthelmintica* Willd. can be increased by present procedure.

KEY WORDS: *Vernonia anthelmintica* Willd.; orthogonal test; grading methods; extraction techniques

驱虫斑鸠菊(*Vernonia anthelmintica* Willd.)为菊科一年生草本植物, 是新疆维吾尔医习用药材。其药用部位为驱虫斑鸠菊植物的成熟果实, 具有清除异常黏液质、驱虫、消肿、散寒止痛的作用, 用于治疗湿寒性胃痛、肝病、白癜风等症^[1]。目前主要用于治疗白癜风, 其所含的治疗白癜风的活性成分以黄酮类化合物为主, 紫柳素为活性成分之一。本实验采用正交试验设计, 以浸膏收率、紫柳素和总黄酮含量为指标, 通过综合评分优选驱虫斑鸠菊水提取工艺条件。

1 材料和仪器

驱虫斑鸠菊成熟果实采自新疆阿克苏地区扎木台乡, 经北京医科大学药学院天然药物教研室艾铁民教授鉴定为菊科植物驱虫斑鸠菊(*Vernonia anthelmintica* Willd.); 芦丁对照品(供含量测定用, 中国药品生物制品检定所), 紫柳素对照品(自制, 色谱纯度大于 99.0%); 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); Agilent 8453 紫外分光光度计(美国安捷伦公司); 电子天平(德国 Sartorius)。

2 方法与结果

2.1 紫柳素含量测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX SB-C₁₈(4.6 mm × 250

mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-0.02 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(0 min, 16: 84; 20 min, 16: 84; 50 min, 24: 76; 60 min, 16: 84), 流速: 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长: 280 nm, 柱温: 室温, 进样量: 20 μL。

2.1.2 线性关系考察 取紫柳素对照品适量, 精密称定, 置适宜量瓶中, 加甲醇溶解并用流动相稀释至刻度, 制成 0.099 mg · mL⁻¹ 的对照品溶液。精密吸取对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 分别置 5 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别吸取上述溶液各 20 μL, 进样测定。以紫柳素浓度(*C*, mg)为纵坐标, 峰面积(*A*)为横坐标, 绘制标准曲线。所得回归方程: $C = 0.00007A + 0.0018$, $r = 0.9999$ 。在 0.0495 ~ 0.495 mg 内, 紫柳素浓度与峰面积积分值有良好线性关系。

2.1.3 精密度试验 同一供试品溶液重复进样 6 次, 结果紫柳素峰面积积分值的 RSD 为 0.79%。

2.1.4 稳定性试验 同一供试品溶液, 在 24 h 内分别于不同时间进样, 结果紫柳素峰面积积分值的 RSD 为 0.41%。

2.1.5 重复性试验 取同一批号驱虫斑鸠菊药材平行处理 6 份, 测定, 结果药材中紫柳素含量的 RSD 为 1.45%。

2.1.6 回收率试验 取已知含量驱虫斑鸠菊药材适量, 共 9 份, 按高、中、低三个浓度分别加入对照品约 0.80, 1.00, 1.20

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(2002AA2Z3226)

作者简介: 于鲁海, 男, 硕士, 副主任药师 Tel: (0991)8562367

E-mail: ylh0226@sohu.com

mg 各 3 份,加入 10 倍量提取溶媒,回流提取 3 次,每次 1 h,合并,浓缩,定容,过滤,进行测定,结果平均回收率 90.2%,RSD 为 2.8%。

2.2 驱虫斑鸠菊总黄酮含量测定^[1]

以芦丁为对照品,经 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 显色反应,在波长 510 nm 处测定吸光度值,以芦丁浓度 C(mg)为纵坐标,吸光度值 A 为横坐标,绘制标准曲线。所得回归方程为 C=0.7974A+0.0029,r=0.999 3。总黄酮含量以芦丁计在 0.05065~0.5065 mg 之间呈良好的线性关系。

2.3 浸膏得率的测定

精密移取驱虫斑鸠菊提取液 15 mL,置于干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,残渣于 105℃干燥至恒重,取出,置干燥器中放置 30 min 后迅速精密称定重量。

2.4 工艺优选

通过单因素实验设计,以综合评分法为评定指标,确定驱虫斑鸠菊提取溶媒为水,在此基础上,根据初步筛选的结果,按表 1 设定的因素水平表进行正交试验,优化提取工艺条件。

表 2 L₉(3⁴)正交试验设计表及结果

Tab 2 Result of L₉(3⁴) orthogonal test

实验号	因 素				评 价 指 标			
	A	B	C	D	紫柳素含量	总黄酮含量	浸膏得率	综合评分
					/mg·g ⁻¹	/mg·g ⁻¹	/mg·g ⁻¹	
1	1	1	1	1	0.274	12.70	63.60	38.24
2	1	2	2	2	0.514	23.86	100.70	70.21
3	1	3	3	3	0.758	27.60	119.00	92.21
4	2	1	2	3	0.549	28.03	109.60	78.13
5	2	2	3	1	0.332	27.24	76.00	60.07
6	2	3	1	2	0.553	34.28	95.20	84.48
7	3	1	3	2	0.422	30.09	99.20	71.28
8	3	2	1	3	0.613	25.91	103.10	79.33
9	3	3	2	1	0.362	24.41	76.80	58.82
k1	66.88	62.55	67.35	52.37				
k2	74.23	69.87	69.05	75.32				
k3	69.81	78.50	74.52	83.22				
R	7.35	15.95	7.17	30.85				

表 3 综合评分方差分析表

Tab 3 Variance analysis of grading methods

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
B	382.63	2	191.31	4.61	0.0916
D	1540.48	2	770.24	18.55	0.0095
误差(A+C)	166.12	4	41.53		

注:数据处理采用 EMPS 3.1 软件包

Note: data was analyzed by EMPS 3.1

直观分析表明,以综合评分为标准,在所选因素水平范围内,提取次数对驱虫斑鸠菊的提取效率影响最大,其次为溶媒量,浸泡时间和提取时间的影响最小。由于因素 A 和因素 C 的影响较小,故列为误差项进行方差分析,结果表明,因素 D 为主要影响因素,具有统计学意义(P<0.01),因素 A 和因素 C 的影响则无统计学意义。综合考虑,选择最佳提取条件为 A₂B₃C₁D₃,即加入 10 倍量水,浸泡 1 h,煎煮 1 h,共

表 1 因素水平表

Tab 1 Factors and levels

水平	因 素			
	浸泡时间/h (A)	溶媒量/倍 (B)	提取时间/h (C)	提取次数 (D)
1	2	6	1	1
2	1	8	1.5	2
3	0	10	2	3

称取驱虫斑鸠菊成熟果实 9 份,每份约 10 g,按 L₉(3⁴)正交表的条件分别进行提取,过滤,合并滤液,适当浓缩或稀释,定容至 100 mL,离心,取上清液分别测定紫柳素含量、总黄酮含量和浸膏得率,并进行多指标综合评分。评分时以各指标的最大值为参照将数据进行归一化,再给出不同权重。紫柳素含量、总黄酮含量和浸膏得率的权重系数分别为 0.5,0.4,0.1。以综合值进行统计分析,见表 2,表 3。其中综合评分 Y=0.5×X₁×100/0.758+0.4×X₂×100/34.28+0.1×X₃×100/119.0。

3 次。

2.5 验证试验

根据正交实验结果筛选的工艺条件 A₂B₃C₁D₃,进行 3 批验证试验,得驱虫斑鸠菊药材中紫柳素含量(0.712±0.019)mg·g⁻¹,总黄酮含量(29.57±0.48)mg·g⁻¹,浸膏得率(98.77±2.02)mg·g⁻¹。

3 讨论

采用多指标综合评分法进行工艺优化,需解决两个问题。一是指标间量纲不一致和指标间的矛盾问题,此问题可通过适宜的数学运算予以解决;另一问题则是由于指标间的重要性很难明确,故权重系数的给予存在困难。本实验通过观察测定指标与药效筛选结果的相关度以及各指标测定方法的准确性确定权重系数。因为在体外筛选试验中,紫柳素和驱虫斑鸠菊总黄酮均有促进黑色素细胞增殖的作用,所以权重系数较大;由于总黄酮采用以芦丁为对照品,NaNO₂-Al

(NO_3)₃-NaOH 的显色反应方法进行含量测定, 尽管此方法应用很普遍, 但与高效液相色谱法测定紫铆素含量相比, 其分析方法的专属性稍差, 故确定紫铆素和总黄酮的权重系数分别为 0.5 和 0.4。另外, 尽管认为在有效成分明确时, 浸膏得率越高纯度越低, 但考虑到中药成分的复杂性, 同时存在许多对药效有贡献的活性成分不甚清楚以及中药治疗机制可能是多组分、多靶点的作用方式, 因此, 设定浸膏的权重

系数为 0.1。

REFERENCES

- [1] The Drugs Standard of Ministry of Health Peoples Republic of China-Uygur Traditional Medicine Fascicule (中华人民共和国卫生部药品标准—维吾尔药分册)[S]. 1999:47,150.

收稿日期:2006-10-21