

星点设计-效应面法优选岗松总黄酮提取工艺

邱宏聪^{1,2*}, 刘布鸣^{1,2}

- (1. 广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022;
2. 广西中药质量标准研究重点实验室, 南宁 530022)

[摘要] 目的: 优选岗松总黄酮的提取工艺条件。方法: 以总黄酮含量为指标, 乙醇体积分数、固液比、提取时间为考察因素, 采用星点设计-效应面法优选岗松中总黄酮的提取工艺, 并进行预测分析。结果: 最佳提取工艺为加 16 倍量 70% 乙醇提取 3 次, 每次 60 min, 总黄酮平均质量分数 1.43%。结论: 实测值与预测值吻合度高, 预测性良好, 优选的提取工艺合理可行。

[关键词] 星点设计; 效应面法; 岗松; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0046-04

[doi] 10.11653/syfy2013120046

Optimization of Extraction Technology for Total Flavonoids from *Baeckea frutescens* L. by Central Composite Design Response Surface Methodology

QIU Hong-cong^{1,2*}, LIU Bu-ming^{1,2}

- (1. Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China;
2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicaine Quality Standards, Nanning 530022, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of total flavonoids from *Baeckea frutescens* L. **Method:** With the content of total flavonoids as index, ethanol concentration, solid-liquid ratio and extraction time as factors, central composite design and response surface methodology was used for optimize of extraction technology of total flavonoids from *B. frutescens* L., then predicted optimal exaction process. **Result:** Optimum extraction technology conditions were as follows: extracted 3 times with 16 times the amount of 70% ethanol, 60 min each time. Under this technology, the average mass fraction of total flavonoids was 1.43%. **Conclusion:** The observed value and the predicted value were close, which proved that optimized technology was reasonable and feasible with good predictability.

[Key words] central composite design; response surface methodology; *Baeckea frutescens* L.; extraction technology

岗松具有清利湿热、杀虫止痒的功效, 常用于泄泻、腹痛、急性胃肠炎, 外治滴虫性阴道炎、皮肤湿疹。其主要有效成分为黄酮、有机酸、挥发油等, 但

目前多局限于应用其挥发油, 提油后植物部分被作为废弃物丢弃, 造成大量资源浪费。文献报道岗松枝叶和根茎的水、醇提物均具有抗炎、抑菌、镇痛、抗过敏、增强免疫等药理作用^[1-2], 具有良好的开发前景。因此, 本实验对岗松中非挥发油成分进行研究, 采用星点设计-效应面法优选岗松总黄酮的提取工艺, 为充分利用岗松药材资源提供实验参考。

1 材料

2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司), XS-205 型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公

[收稿日期] 20121019(001)

[基金项目] 广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项(GZPT1229); 广西中药质量标准重点实验室主任基金项目(桂中重科 011105)

[通讯作者] * 邱宏聪, 硕士, 助理研究员, 从事新药研发工作, Tel: 0771-5883405, E-mail: qiuhongcong@163.com

司),芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号 100080-200707),岗松采自广西北海,经广西中医药研究院中药研究所赖茂祥研究员鉴定为桃金娘科岗松属植物岗松 *Baeckea frutescens* L. 的干燥茎叶,水为超纯水,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总黄酮含量测定

2.1.1 供试品溶液的制备 取岗松粗粉约 2 g,精密称定,置锥形瓶中,加 70% 乙醇溶液 30 mL,回流提取 3 次,每次 60 min,合并提取液,置 100 mL 量瓶中,加 70% 乙醇溶液定容,滤过,即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取芦丁对照品适量,加甲醇制成 $0.0524 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液,即得。

2.1.3 标准曲线的制备 精密量取芦丁对照品溶液 1,2,3,5,10 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,以甲醇作为空白,于 360 nm 测定吸光度(A),以质量浓度为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $Y = 0.0281X - 0.0131$ ($r = 0.9998$),表明芦丁在 $5.24 \sim 52.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.1.4 精密度的试验 取同一供试品溶液,连续测定 5 次,结果 RSD 0.26%。

2.1.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0,30,45,60,90,120 min 测定,结果 RSD 0.39%,表明供试品溶液在 2 h 内基本稳定。

2.1.6 重复性试验 取同一批样品,按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液 6 份,测定 A,结果 RSD 2.41%。

2.1.7 加样回收率试验 取已知含量的岗松药材提取液,分别精密加入芦丁对照品 0.0421 mg,测定 A,计算回收率,结果平均加样回收率 97.75%,RSD 2.25%,表明该方法稳定可行。

2.2 提取工艺优化

2.2.1 提取次数考察 取岗松粗粉约 2 g,精密称定,置锥形瓶中,加 70% 乙醇溶液 30 mL,回流提取 5 次,每次 60 min,测定总黄酮含量,将 5 次提取所测总黄酮含量的总和视为 100%,计算各次提取时总黄酮提取率分别为 52.22%,83.62%,93.61%,97.35%,100%,从节能角度考虑,将提取数定为 3 次。

2.2.2 星点设计 根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,以影响岗松总黄酮提取率的主要因素乙醇体积分数、固液比、提取时间为自变量,采用三因素三水平响应面法,因素水平见表 1,以总黄酮含量为指标,试验安排及结果见表 2。

表 1 岗松总黄酮提取工艺星点设计试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数 /%	B 固液比	C 提取时间 /min
-1	30	1:10	60
0	50	1:15	90
1	70	1:20	120

表 2 岗松总黄酮提取工艺星点设计试验安排

No.	A	B	C	总黄酮质量 分数/%
1	-1.00	-1.00	0.00	0.95
2	1.00	-1.00	0.00	1.14
3	-1.00	1.00	0.00	1.17
4	1.00	1.00	0.00	1.29
5	-1.00	0.00	-1.00	1.07
6	1.00	0.00	-1.00	1.39
7	-1.00	0.00	1.00	0.96
8	1.00	0.00	1.00	1.35
9	0.00	-1.00	-1.00	0.98
10	0.00	1.00	-1.00	1.19
11	0.00	-1.00	1.00	0.91
12	0.00	1.00	1.00	1.03
13	0.00	0.00	0.00	1.21
14	0.00	0.00	0.00	1.16
15	0.00	0.00	0.00	1.20

应用 Design Expert 8.0 软件对试验数据进行多元回归分析,得回归方程 $Y = 1.19 + 0.13A + 0.087B - 0.047C - 0.018AB + 0.018AC - 0.022BC + 0.056A^2 - 0.11B^2 - 0.054C^2$ 。根据回归结果进行方差分析(表 3),结果表明各变量影响提取物中总黄酮含量的主次顺序为 $A > B > C$,其中乙醇体积分数具有极显著意义,固液比具有显著意义,提取时间无显著意义;模型回归方程具有显著意义,失拟项结果不显著,说明所选用的回归方程良好。

2.2.3 效应面分析 以 Design Expert 8.0 软件,根据回归方程分析结果,以 1 个因素固定于 0 水平,剩余 2 个因素相互作用,分别作三维响应面图(图 1~3)。结果表明,总黄酮含量随乙醇体积分数的增加而迅速增大,曲面陡峭,与方差分析结果一致;固液比曲面也较陡,固液比约 1:17 时(水平值 0.5),总黄酮含量基本达最大值;提取时间曲面相对较平缓,与方差分析结果对应。

2.2.4 效应值优化及验证 应用 Design Expert 8.0

表 3 岗松总黄酮提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
模型	0.28	9	0.031	7.00	0.022 6
A	0.13	1	0.13	29.03	0.003
B	0.061	1	0.061	13.67	0.014
C	0.018	1	0.018	4.03	0.101
AB	0.001 2	1	0.001 2	0.27	0.623 4
AC	0.001 2	1	0.001 2	0.27	0.623 4
BC	0.002	1	0.002	0.45	0.531 2
A ²	0.012	1	0.012	2.61	0.167 3
B ²	0.044	1	0.044	9.75	0.026 2
C ²	0.011	1	0.011	2.38	0.183 5
残差	0.022	5	0.004 5	10	0.092 3
失拟项	0.021	3	0.007		
纯误项	0.001 4	2	0.000 7		
总误项	0.30	14			

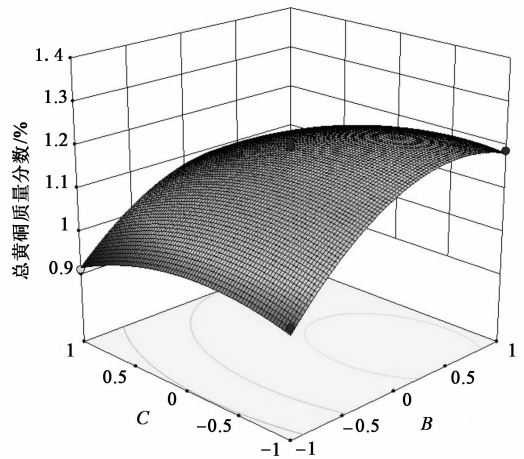


图 3 固液比和提取时间对黄酮含量的三维效应面

平值 -1 ~ 0.34)。结合效应优化分析结果,综合考虑生产周期及成本,确定最佳提取条件为固液比 1:16,加 70% 乙醇提取 3 次,每次 60 min。按优选的提取工艺进行 3 次验证试验,结果岗松总黄酮平均质量分数 1.43%,实测值与预测值相对偏差 2.82%,说明所建立的模型具有良好预测性,可用于岗松中总黄酮提取工艺的优选。

3 讨论

通过前期对岗松茎叶部分中化学成分的系統研究,分离得到 6,8-二甲基山奈酚-3-O- α -鼠李糖苷、槲皮素、槲皮素-3-O- α -鼠李糖苷、芦丁、芦丁-3-O- α -鼠李糖苷、没食子酸、熊果酸、1,3-二羟基-2-(2'-甲基丙酰基)-5-甲氧基-6-甲基苯、白桦脂酸、齐墩果酸、没食子酸乙酯、5-羟基-6-甲基-7-甲氧基-二氢黄酮、5-羟基-7-甲氧基-8-甲基二氢黄酮、5-羟基-7-甲氧基-2-异丙基色原酮、 β -谷甾醇等^[3-5],其中杨梅素质量分数达 0.6%^[6],槲皮素质量分数达 0.1%^[7],表明岗松含有大量的黄酮类成分。因此,本实验对岗松中总黄酮的提取工艺进行优选,为深入开发岗松总黄酮提取物奠定基础。

目前工艺优选常采用正交设计,但存在实验精度不够、建立的数学模型预测性较差等问题。而星点设计-效应面法则具有直观、方便、预测性精确的优点^[8],已广泛应用于提取工艺的优选^[9-11],故本实验采用后者。

[参考文献]

[1] 李燕婧,陈学芬,钟正贤,等. 岗松水提物药理作用的实验研究[J]. 中药材,2007,30(11):1429.
[2] 李燕婧,陈学芬,钟正贤,等. 岗松醇提物药理作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2009,16(3):192.

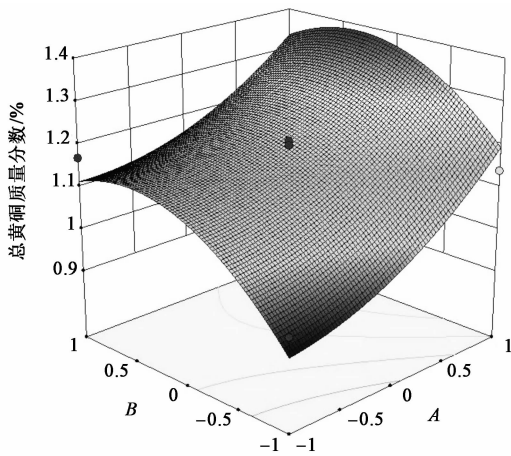


图 1 乙醇体积分数和固液比对总黄酮含量的三维效应面

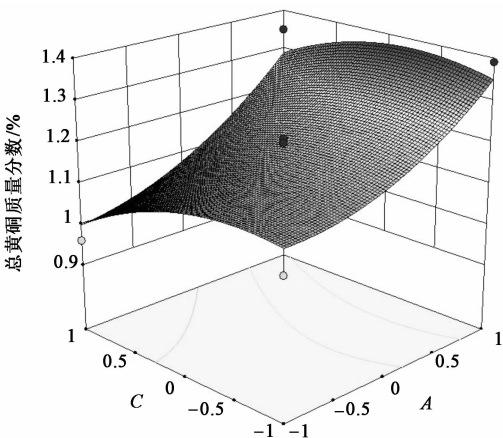


图 2 乙醇体积分数和提取时间对总黄酮含量的三维效应面

软件系统计算出 27 种优化方案,乙醇体积分数 69% ~ 70% (水平值 0.97 ~ 1.00),固液比 1:16 ~ 1:19 (水平值 0.12 ~ 0.81),提取时间 60 ~ 100 min (水

白花蛇舌草中熊果酸的透皮吸收试验

努尔拉江·帕合尔丁¹, 吐鲁洪·卡地尔², 沈腾^{3*}, 西尔艾力·吐尔逊²

(1. 新疆维吾尔自治区维吾尔医医院, 乌鲁木齐 830049;

2. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 乌鲁木齐 830049; 3. 复旦大学药学院, 上海 200032)

[摘要] 目的: 考察白花蛇舌草中熊果酸的透皮吸收特性。方法: 采用 HPLC 测定熊果酸含量。选择 SD 大鼠背部皮肤, 通过 Franz 垂直扩散池考察熊果酸的透皮性能, 并考察氮酮 (azone)、桉叶油、冰片、白花蛇舌草水提取物和醇提取物对熊果酸透皮吸收的影响。结果: 熊果酸很难透过皮肤, 需加入透皮吸收促进剂才能有效地透过皮肤。不同质量分数促进剂对熊果酸促透作用顺序为 5% 醇提取物 > 5% 醇提取物 + 2% 冰片 > 5% 水提取物 > 2% azone + 10% 丙二醇 (PG) > 2% 桉叶油 > 4% azone > 3% 桉叶油 > 2% azone > 1% azone。结论: Azone 和桉叶油是白花蛇舌草中熊果酸的良好促透剂, 复方水提取物和醇提取物具有协同促透的作用。

[关键词] 白花蛇舌草; 熊果酸; 透皮吸收; 促进剂

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0049-04

[doi] 10.11653/syfy2013120049

Transdermal Absorption Test of Ursolic Acid in *Hedyotis diffusa*

NURULLA Pahirdin¹, TURGHUN Kadir², SHEN Teng^{3*}, XIERAILI Tuerxun²

(1. Xinjiang Uighur Medical Hospital, Urumqi 830049, China;

2. Institute of Traditional Uyghur Medicine, Urumqi 830049, China;

3. College of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate transdermal absorption characteristics of ursolic acid in *Hedyotis*

[收稿日期] 20121127(006)

[基金项目] 上海市科学技术委员会中药现代化专项(07DZ19713); 国家重大科技专项(2009ZX09310-006)

[第一作者] 努尔拉江·帕合尔丁, 主管药师, 学士, 从事中药、民族药有效成分分离测定及药物质量标准的研究, Tel: 13899918109, E-mail: pami3206@sina.com

[通讯作者] * 沈腾, 博士, 讲师, 从事药剂学研究, Tel: 13764597380, E-mail: shenteng@fudan.edu.cn

[3] 牙启康, 卢文杰, 刘布鸣, 等. 岗松化学成分的研究

[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(4): 641.

[4] 卢文杰, 牙启康, 陈家源, 等. 岗松中的一个新黄酮醇
苷类化合物[J]. 药学学报, 2008, 40(10): 1032.

[5] 陈家源, 牙启康, 卢文杰. 等. 岗松化学成分的研究
[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(5): 827.

[6] 陈明生, 刘布鸣, 林霄, 等. 岗松中杨梅素的含量测定
[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(11): 2771.

[7] 林霄, 刘布鸣, 陈明生. 高效液相色谱法测定岗松中
槲皮素的含量[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 102.

[8] 吴伟, 崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中

的应用[J]. 国外医学: 药学分册, 2000, 27(5): 292.

[9] 谢臻, 陈勇, 曾海生, 等. 星点设计-响应面法优选地
花中总黄酮的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,
2011, 17(12): 27.

[10] 刘常青, 谢友良, 赖小平. 星点设计-效应面法优选青
天葵总黄酮提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,
2012, 18(12): 24.

[11] 王国华, 张保献, 聂其霞, 等. 星点设计-效应面法优化
荷叶中荷叶碱与荷叶黄酮的提取工艺[J]. 中国中药
杂志, 2008, 33(20): 2332.

[责任编辑 全燕]