

单因素试验结合 Box-Behnken 设计-响应面法优化甘草中黄酮类成分的提取工艺^Δ

袁思文^{1*}, 刘育辰^{1,2#}, 刘刚^{1,2}, 郝杰¹, 金文渊¹(1. 贵阳中医学院药学院, 贵阳 550025; 2. 国家苗药工程技术研究中心, 贵阳 550025)

中图分类号 R927.2; R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)03-0355-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.03.15

摘要 目的: 优化甘草中黄酮类成分的提取工艺。方法: 以芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、芒柄花苷 4 种黄酮类成分的总提取量为考察指标, 以提取溶剂种类(水、乙醇)及其不同体积分数、加入量与提取时间为考察因素, 在单因素试验基础上, 运用 Box-Behnken 设计-响应面法优化甘草中黄酮类成分的提取工艺, 并进行验证试验。结果: 优化的提取工艺为以 50% 乙醇为提取溶剂, 在 0.200 g 药材中加入 50 mL, 超声提取 50 min。在验证试验中, 芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、芒柄花苷提取量分别为 10.733 0、27.784 9、3.441 9、0.429 1 mg/g (RSD 均 < 3.0%, $n=3$), 4 种黄酮类成分平均总提取量为 42.388 9 mg/g, 与预测值(42.173 2 mg/g)的相对误差为 0.52% ($n=3$)。结论: 优化的提取工艺简便、快捷、稳定, 可用于甘草中黄酮类成分的提取。

关键词 甘草; 黄酮类成分; 芹糖甘草苷; 甘草苷; 芹糖异甘草苷; 芒柄花苷; Box-Behnken 设计-响应面法; 提取工艺; 优化

Optimization of Extraction Technology of Flavonoids in *Glycyrrhiza uralensis* by Single Factor Experiment Combined with Box-Behnken Design-response Surface Methodology

YUAN Siwen¹, LIU Yuchen^{1,2}, LIU Gang^{1,2}, HAO Jie¹, JIN Wenyuan¹(1. School of Pharmacy, Guiyang University of TCM, Guiyang 550025, China; 2. National Engineering Research Center for Miao Medicine, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of the flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis*. METHODS: Using total contents of four flavonoids, liquiritinapioside, glycyrrhizin, isoliquiritin apioside and formononetin as indexes, types and volume fractions of extraction solvents (water, ethanol), volume of addition and extraction time as factors, based on single factor experiment, Box-Behnken design-response surface method was used to optimize the extraction technology of flavonoids from *G. uralensis*. Validation test was also conducted. RESULTS: The optimal extraction technology was 50 mL 50% ethanol as extraction solvent, 0.200 g *G. uralensis*, ultrasonic extraction for 50 min. In validation test, the extraction amounts of liquiritinapioside, glycyrrhizin, isoliquiritin apioside and formononetin were 10.733 0, 27.784 9, 3.441 9, 0.429 1 mg/g, respectively (all RSDs < 3.0%, $n=3$). The average total extraction amount of four flavonoids was obtained was 42.388 9 mg/g, the relative error of which to predicted value (42.173 2 mg/g) was 0.52% ($n=3$). CONCLUSIONS: The optimized extraction technology is simple, rapid and stable, and can be used for the extraction of flavonoids from *G. uralensis*.

KEYWORDS *Glycyrrhiza uralensis*; Flavonoids; Liquiritinapioside; Glycyrrhizin; Isoliquiritin apioside; Formononetin; Box-Behnken design-response surface methodology; Extraction technology; Optimization

甘草为豆科甘草属植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)、胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata* Bat.)或光果甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.)的干燥根和根茎, 具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药的功效^[1]。以其制成的制剂在临床上主要用于脾胃虚弱、倦怠乏力、心悸气短、咳嗽痰多、脘腹及四肢挛急疼痛、痈肿疮毒, 还可缓解其他药物的毒性、烈性^[2]。现代药理研究表明, 甘草具有镇咳、抗病毒、抗肿瘤活性以及肝保护作用^[3]。

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81473308); 贵州省一流学科建设项目子课题(No.GNYL[2017]008号-7-Y)

* 硕士研究生。研究方向: 中药与民族药的化学成分及品质评价。E-mail: 609248642@qq.com

通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 中药与民族药的化学成分与品质评价。E-mail: lyc8564732@163.com

甘草中含有黄酮类、皂苷类、香豆素类、二苯乙烯类以及糖类成分^[4], 其中甘草总黄酮具有抗炎、抗病毒、抗氧化、强心、镇静和镇痛作用, 并对人类免疫缺陷病毒有较强的抑制增殖作用^[5]。黄酮类化合物是甘草中已知的主要活性物质, 其中甘草苷的抗抑郁作用显著^[6], 芹糖异甘草苷有显著的镇咳效果^[7], 而且以芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、芒柄花苷等为代表, 可以用于不同基源甘草的鉴别研究^[8]。响应面法(Response surface methodology, RSM)是一种常用于优化提取工艺条件的方法^[9], 具有试验次数少、精度高、预测值精准的优点^[10], 已广泛应用于百花蛇舌草^[9]、枳壳^[11]、酸藤子^[12]、桑叶总黄酮^[13]、仙鹤草^[14]、山茱萸^[15]等中药提取工艺的研究。本试验选择芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、芒柄花苷作为黄酮

类成分的代表,以这4种成分的总提取量作为考察指标,采用Box-Behnken设计-响应面法优化甘草中黄酮类成分的提取工艺,为甘草中黄酮类成分的进一步开发、利用提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

SB-5200DT超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);EX225DZH十万分之一天平[美国奥豪斯仪器(上海)有限公司];LC-2030CN高效液相色谱仪,包括紫外检测器(日本岛津公司)。

1.2 药品与试剂

甘草药材于2016年10月采自兰州市榆中县,经贵阳中医学院刘育辰副教授鉴定为甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)的干燥根和根茎;蔗糖甘草苷(宝鸡市辰光生物科技有限公司,批号:20170710,纯度:98%);甘草苷(批号:CHB160307,纯度:98%)、蔗糖异甘草苷(批号:AB17060712,纯度:98%)对照品均购于成都埃法生物科技有限公司;芒柄花苷对照品(贵州迪大生物科技有限责任公司,批号:GZDD-0721,纯度:99.62%);乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 4种成分的含量测定

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 本课题组前期研究建立的色谱条件^[6]如下:色谱柱为CAPCELL PAK C₁₈ MG II (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A)-0.1%醋酸水溶液(B),梯度洗脱(0~12 min, 18%→21% A; 12~21 min, 21%→23% A; 21~30 min, 23%→25% A; 30~40 min, 25%→30% A; 40~50 min, 30%→35% A; 50~55 min, 35%→40% A; 55~56 min, 40%→100% A; 56~70 min, 100% A);检测波长为265 nm;柱温为30℃;流速为1.0 mL/min;对照品进样体积为10 μL,供试品进样体积为20 μL。

取“2.1.2”项下供试品溶液和混合对照品溶液进样分析,结果,理论板数按蔗糖甘草苷、甘草苷、蔗糖异甘草苷峰计均大于9 000;保留时间分别为12.09、13.19、26.79、28.69 min,表明各成分在此条件下基线分离良好。色谱图见图1。

2.1.2 溶液的制备 (1)混合对照品溶液。分别精密称取蔗糖甘草苷、甘草苷、蔗糖异甘草苷、芒柄花苷对照品适量,加50%乙醇溶解,配制成质量浓度分别为0.080 4、0.052 5、0.032 0、0.004 3 mg/mL的混合对照品溶液。(2)供试品溶液。精密称取甘草粉末0.200 g,置于具塞锥形瓶中,加入提取溶剂50%乙醇50 mL,超声提取(功率:200 W,频率:40 kHz)50 min。放置至室温后称质量并用50%乙醇补足质量,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.1.3 线性关系考察 取“2.1.2”项下的混合对照品溶液1、2、5、10、15、20、25 μL,按“2.1.1”项下色谱条件进样

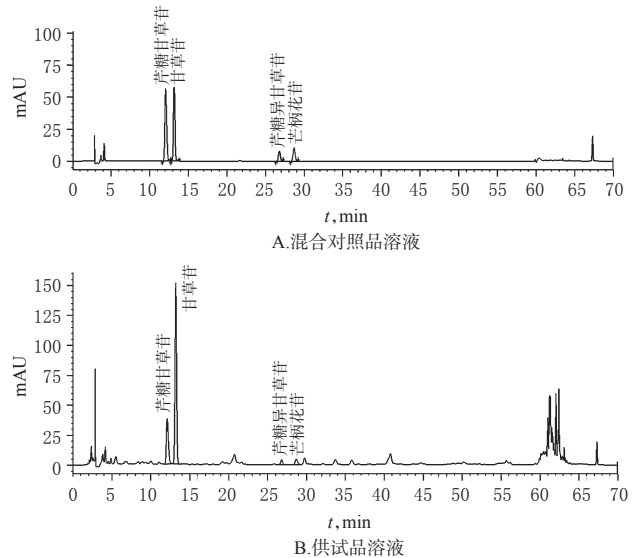


图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

测定,记录峰面积。以各对照品进样量(μg)为横坐标(x)、峰面积为纵坐标(y),绘制标准曲线。将上述混合对照品溶液逐步稀释后进样测定,以色谱图中信噪比(S/N)约为10倍时的进样量确定为定量限。线性关系及定量限结果见表1。

表1 各成分的线性关系与定量限

Tab 1 Linear range and quantitation limit of each component

对照品	线性方程	线性范围, μg	r	定量限, ng
蔗糖甘草苷	$y=10^4x+10\ 469$	0.080 4~1.607 0	0.999 5	1.731
甘草苷	$y=10^4x+8\ 135.3$	0.052 5~1.312 0	0.999 7	1.366
蔗糖异甘草苷	$y=458\ 496x-1\ 431.1$	0.031 2~0.799 8	0.999 8	3.469
芒柄花苷	$y=5 \times 10^4x+868.78$	0.004 3~0.107 2	0.999 9	0.491

2.1.4 精密度试验 取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.1.1”项下色谱条件,连续进样测定6次,记录峰面积。结果,蔗糖甘草苷、甘草苷、蔗糖异甘草苷、芒柄花苷峰面积的RSD分别为0.04%、0.05%、0.11%、0.18% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果,蔗糖甘草苷、甘草苷、蔗糖异甘草苷、芒柄花苷含量的平均值分别为9.135 5、30.829 0、2.442 8、0.358 9 mg/g, RSD分别为0.73%、1.15%、1.57%、1.60% (n=6),表明重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液6份,分别于室温下放置0、3、5、8、13、20、24 h后进样测定。结果表明,供试品溶液中蔗糖甘草苷、甘草苷、蔗糖异甘草苷、芒柄花苷峰面积的RSD分别为0.91%、0.62%、0.51%、1.43% (n=7),表明供试品溶液中4种成分的含量在室温下放置24 h内稳定。

2.1.7 加样回收率试验 取已知含量的药材样品6份,每份约0.100 g,分别加入蔗糖甘草苷、甘草苷、蔗糖异甘

草苣、芒柄花苣对照品溶液各适量,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,计算回收率和RSD值。结果,4种成分的平均回收率为97.77%~102.08%,RSD为0.46%~1.87%(n=6),详见表2。

表2 回收率结果

Tab 2 Results of recovery rates

待测成分	取样品量		加入量		测得量		回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
	g	μg	μg	μg	μg	μg			
芹糖甘草苣	0.101	921.63	910.00	1 861.17	103.25	102.08	1.02		
	0.100	912.50	910.00	1 848.09	101.81				
	0.100	912.50	910.00	1 847.19	101.71				
	0.100	912.50	910.00	1 835.52	100.43				
	0.100	912.50	910.00	1 851.40	102.17				
甘草苣	0.101	921.63	910.00	1 860.07	103.13		101.78	0.46	
	0.101	3 113.33	3 083.75	6 261.81	102.10				
	0.100	3 082.50	3 083.75	6 236.93	102.29				
	0.100	3 082.50	3 083.75	6 210.45	101.43				
	0.100	3 082.50	3 083.75	6 199.99	101.09				
芹糖异甘草苣	0.100	3 082.50	3 083.75	6 216.63	101.63		99.88	1.87	
	0.101	3 113.33	3 083.75	6 262.06	102.11				
	0.101	247.45	244.50	487.99	98.38				
	0.100	245.00	244.50	487.98	99.38				
	0.100	245.00	244.50	495.32	102.38				
芒柄花苣	0.100	245.00	244.50	492.88	101.38		97.77	0.54	
	0.100	245.00	244.50	483.10	97.38				
	0.101	247.45	244.50	492.88	100.38				
	0.101	35.35	35.90	70.68	98.43				
	0.100	35.00	35.90	69.97	97.42				

2.2 单因素试验考察

2.2.1 提取溶剂 称取0.200 g甘草粉末2份,分别以50 mL 70%乙醇、水溶液为提取溶剂进行超声提取(功率:200 W,频率:40 kHz,下同)30 min,同时做平行试验一次。以4种黄酮类成分总提取量为指标,结果以70%乙醇为提取溶剂时较高,经综合考虑,选择乙醇为提取溶剂,详见表3。

表3 提取溶剂的筛选

Tab 3 Extraction solvent screening

提取溶剂	提取量,mg/g				
	芹糖甘草苣	甘草苣	芹糖异甘草苣	芒柄花苣	总量
70%乙醇	4.444 9	20.200 8	1.655 4	0.390 7	26.691 8
水	6.184 8	17.965 6	1.039 4	0.217 3	25.407 1

2.2.2 提取溶剂的体积分数 称取0.200 g甘草药材粉末2份,分别加入40%、50%、60%、70%、80%的乙醇溶液50 mL,超声提取30 min,同时做平行试验一次,测定各成分提取量。结果以乙醇体积分数为50%时,4种黄酮类成分的总提取量最大,详见表4。

2.2.3 提取溶剂加入量 称取0.200 g甘草药材粉末2份,分别加入30、40、50、60、70 mL的50%乙醇溶液,超声提取30 min,同时做平行试验一次。测定4种黄酮类

成分的提取量。结果以加入40 mL 50%乙醇溶液进行提取时,4种黄酮类成分的总提取量最大,详见表5。

表4 乙醇体积分数的筛选

Tab 4 Ethanol volume fraction screening

乙醇体积分数, %	提取量,mg/g				
	芹糖甘草苣	甘草苣	芹糖异甘草苣	芒柄花苣	总量
40	10.303 2	24.343 7	2.765 9	0.346 5	37.759 3
50	10.719 6	26.098 9	2.914 8	0.417 7	40.151 0
60	7.352 2	19.907 3	2.172 6	0.364 6	29.796 7
70	4.444 9	20.200 8	1.655 4	0.390 7	26.691 8
80	3.597 8	16.645 8	1.384 4	0.325 9	21.953 9

表5 提取溶剂加入量的筛选

Tab 5 Extraction solvent volume of addition screening

提取溶剂加入量, mL	提取量,mg/g				
	芹糖甘草苣	甘草苣	芹糖异甘草苣	芒柄花苣	总量
30	8.234 7	26.962 6	3.097 6	0.366 8	39.661 7
40	8.982 9	29.008 9	3.292 0	0.412 2	41.696 0
50	8.186 6	27.350 3	3.058 2	0.424 6	39.019 7
60	7.627 7	26.059 1	2.928 3	0.385 0	37.000 1
70	8.165 0	27.406 6	3.059 6	0.404 8	39.036 0

2.2.4 提取时间 称取0.200 g甘草药材粉末2份,每份加入50%的乙醇溶液40 mL,分别超声提取10、20、30、40、50、60 min,同时做平行试验一次,测定4种黄酮类成分的提取量。结果以超声提取40 min时,4种黄酮类成分总提取量最大,详见表6。

表6 提取时间的筛选

Tab 6 Extraction time screening

提取时间, min	提取量,mg/g				
	芹糖甘草苣	甘草苣	芹糖异甘草苣	芒柄花苣	总量
10	10.463 4	25.058 3	2.806 0	0.369 6	38.697 3
20	9.050 2	21.674 1	2.399 4	0.331 3	33.455 0
30	10.363 1	25.369 1	2.820 1	0.399 0	38.951 3
40	10.531 8	25.762 8	2.863 8	0.407 5	39.565 9
50	10.033 2	24.696 0	2.738 4	0.440 6	37.908 2
60	8.769 2	21.580 2	2.358 6	0.337 3	33.045 3

2.3 Box-Behnken设计-响应面法优化提取工艺

2.3.1 Box-Behnken设计的试验与结果 在单因素考察的基础上,根据Box-Behnken设计原理,以乙醇的体积分数、提取溶剂加入量、提取时间为因素(自变量),选择芹糖甘草苣、甘草苣、芹糖异甘草苣、芒柄花苣4种成分总提取量为指标(因变量),筛选各因素的最优条件。称取甘草药材粉末17份,每份0.200 g,按表7的因素与水平进行超声提取;分别测定各提取液中芹糖甘草苣、甘草苣、芹糖异甘草苣、芒柄花苣4种成分的提取量,并对4种成分的提取量求和得到Y_总值。因素与水平见表7,试验安排与结果见表8。

表7 因素与水平

Tab 7 Factors and levels

水平	因素		
	A(乙醇体积分数), %	B(提取溶剂加入量), mL	C(提取时间), min
-1	40	30	30
0	50	40	40
1	60	50	50

表8 Box-Behnken设计与结果

Tab 8 Box-Behnken design and results

编号	A, %	B, mL	C, min	提取量, mg/g				Y _总 , mg/g
				芹糖甘草苷	甘草苷	芹糖异甘草苷	芒柄花苷	
1	-1	0	1	7.105 8	26.263 3	2.078 3	0.249 4	35.696 8
2	1	0	-1	7.789 4	24.748 7	2.070 9	0.332 9	34.941 9
3	0	-1	1	7.809 6	28.296 3	2.252 9	0.308 7	38.667 5
4	0	1	1	9.137 9	30.788 8	2.457 4	0.357 2	42.741 3
5	0	0	0	7.808 7	28.456 9	2.304 7	0.315 4	38.885 7
6	-1	1	0	6.778 8	24.939 9	2.010 3	0.254 1	33.983 1
7	0	0	0	7.317 7	26.926 5	2.164 8	0.306 3	36.715 3
8	0	0	0	7.803 3	28.544 5	2.306 7	0.309 7	38.964 2
9	1	1	0	7.822 5	27.496 2	2.237 5	0.270 0	37.826 2
10	1	-1	0	9.020 7	29.895 6	2.167 7	0.292 9	41.376 9
11	-1	-1	0	6.711 0	24.501 8	1.959 1	0.242 2	33.414 1
12	0	1	-1	7.563 2	27.895 5	2.263 8	0.278 2	38.000 7
13	0	0	0	7.798 3	28.644 0	2.308 0	0.310 5	39.060 8
14	0	0	0	7.675 5	28.599 7	2.275 2	0.303 9	38.854 3
15	0	-1	-1	8.137 6	28.849 1	2.327 0	0.316 5	39.630 2
16	1	0	1	7.149 6	26.385 6	2.098 6	0.271 2	35.905 0
17	-1	0	-1	6.065 3	23.857 4	1.883 2	0.208 8	32.014 7

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 8 中的数据进行二次多项式逐步回归拟合分析, 得二次多项式回归方程为: $Y_{总} = 38.50 + 1.87A - 0.067B + 1.05C - 1.03AB - 0.68AC + 1.43BC - 3.48A^2 + 1.64B^2 - 0.37C^2$ (相关系数 $R^2 = 0.867 1$)。提示该模型拟合度良好, 试验误差小, 可用此模型对 $Y_{总}$ 值进行分析和预测; 进一步对方程进行方差分析, 结果见表 9。

表9 方差分析结果

Tab 9 Analysis of variance

方差来源	平均和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	112.00	9	12.44	5.08	0.021 8	显著
A	27.91	1	27.91	11.38	0.011 9	显著
B	0.036	1	0.036	0.015	0.906 8	不显著
C	8.87	1	8.87	3.62	0.098 9	不显著
AB	4.24	1	4.24	1.73	0.229 7	不显著
AC	1.85	1	1.85	0.75	0.414 0	不显著
BC	8.13	1	8.13	3.32	0.111 4	不显著
A ²	51.08	1	51.08	20.84	0.002 6	显著
B ²	11.29	1	11.29	4.60	0.069 1	不显著
C ²	0.59	1	0.59	0.24	0.639 7	不显著
残差	17.16	7	2.45			
失拟项	13.17	3	4.39	4.40	0.093 1	不显著
纯误差	3.99	4	1.00			
总误差	129.16	16				

由表 9 结果显示, A、A² 对 $Y_{总}$ 值的影响显著, 交互项 AB、BC、AC 的影响不显著, 失拟项影响不显著, 提示回归方程拟合度良好, 未知因素对其干扰很小。模型的 $P = 0.021 8$, 提示选用的二次多项式模型有高度显著性, 得到的回归方程能较好地反映各指标与各因素之间的关系, 各因素对 $Y_{总}$ 值的影响大小顺序为: 乙醇体积分数 (A) > 提取时间 (C) > 提取溶剂加入量 (B)。

2.3.2 响应面法优化提取工艺 利用 Design-Expert 8.0.6 软件得到二次回归方程的响应面图, 以此评价试验因素之间的交互强度, 以确定最优工艺参数。响应面图

见图 2。

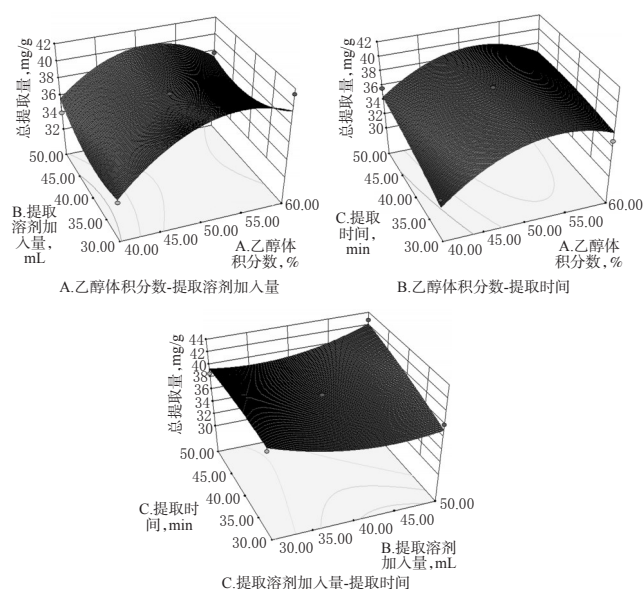


图2 各因素与总提取量之间的响应面图

Fig 2 Response surface of each factor and total extraction amount

由图 2 可知, 因素 A 的曲面较陡峭, 提示因素 A 对响应值影响显著, 这与方差分析结果一致。经 Design-Expert 8.0.6 软件优化得甘草中黄酮类成分的最优提取工艺条件为乙醇体积分数 50.22%, 加入量为 48.98 mL, 超声提取 48.05 min。结合实际所需, 最终确定提取工艺为取 0.200 g (过三号筛) 的甘草粉末, 加入 50 mL 的 50% 乙醇, 超声提取 50 min。

2.3.3 验证试验 称取 10 倍量处方药材, 按优化的提取工艺进行 3 次验证试验, 得到芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、芒柄花苷的平均提取量分别为 10.733 0、27.784 9、3.441 9、0.429 1 mg/g (RSD 均 < 3.0%, $n = 3$), 4 种黄酮类成分平均总提取量为 42.388 9 mg/g, 与预测值 (42.173 2 mg/g) 的相对误差为 0.52%, 提示优化得到的提取工艺质量稳定、可靠。

3 讨论

目前已有报道, 从甘草中分离出了 400 多个化合物, 其中以黄酮类化合物在甘草中含量最多, 且是生物活性较强的一类化合物^[16], 故对于甘草中黄酮类化合物的研究是必要且有意义的。从甘草中提取出黄酮类成分是后续各项研究的基础, 如何提高甘草中黄酮类成分的提取率及优化提取工艺则是关键。提取工艺一般是以药材中成分的提取量为指标进行优化, 而采用高效液相色谱法测定药材成分的含量则更加精确和可靠。所以本试验采用高效液相色谱法测定 4 种成分即芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、芒柄花苷的含量, 以这 4 种黄酮类成分的总提取量为指标进行单因素考察, 再在单因素考察的基础上, 采用 Box-Behnken 设计-响应面法优化出甘草中黄酮类成分的提取工艺。结果表明, 优化的提

Box-Behnken设计-响应面法优选雪松松针中蛇床子素的提取工艺^Δ

范彬^{1*},李琳²,石晓峰^{1,2#},沈薇¹,马趣环¹,刘东彦¹,王新娣¹(1.甘肃省医学科学研究院,兰州 730050; 2.甘肃中医药大学药学院,兰州 730030)

中图分类号 R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)03-0359-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.03.16

摘要 目的:优选雪松松针中蛇床子素的提取工艺。方法:采用高效液相色谱法测定蛇床子素含量。在单因素考察的基础上,以乙醇体积分数、提取时间、料液比为考察因素,以蛇床子素含量为响应值,采用Box-Behnken设计-响应面法优选雪松松针中蛇床子素的提取工艺,并进行验证试验。结果:确定的最佳提取工艺为乙醇体积分数88%,料液比1:20(g/mL),提取2次、每次57 min。在此工艺条件下,提取得到蛇床子素的平均含量为0.675 7 mg/g(RSD=1.78%,n=3),与预测值0.680 9 mg/g的相对误差为0.59%。结论:优选的最佳提取工艺方法简便、可行,可用于雪松松针中蛇床子素的提取。

关键词 雪松松针;蛇床子素;提取工艺;Box-Behnken设计;响应面法

Optimization of Extraction Technology of Osthole from Pine Needles of *Cedrus deodara* by Box-Behnken Design-response Surface Methodology

FAN Bin¹, LI Lin², SHI Xiaofeng^{1,2}, SHEN Wei¹, MA Quhuan¹, LIU Dongyan¹, WANG Xindi¹(1.Gansu Provincial Academy of Medical Science, Lanzhou 730050, China; 2.School of Pharmacy, Gansu University of TCM, Lanzhou 730030, China)

取工艺简便、快捷,结果稳定、可靠,为甘草中黄酮类成分的后续开发和利用等研究提供了一定的参考。

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,2015:86.
[2] 王忠全,丁旧玲.复方甘草酸苷的临床应用[J].中国药房,2015,16(20):1585-1586.
[3] 高雪岩,王文全,魏胜利,等.甘草及其活性成分的药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2009,34(21):2695-2700.
[4] 向诚,乔雪,叶敏,等.利用数据库对甘草属植物化学成分的分类和分布分析[J].药学学报,2012,47(8):1023-1030.
[5] 方鉴.甘草及其有效成分对免疫系统调节作用探究[J].海峡药学,2017,29(8):28-30.
[6] 苏国林,刘刚,刘育辰,等.甘草苷的提取纯化方法和药理作用研究进展[J].中国现代中药,2011,13(10):48-51.
[7] 马玲.甘草黄酮及皂苷类成分谱效关系研究[D].银川:宁夏医科大学,2015.
[8] 刘育辰,李铮,马丽端,等.同时检测甘草中4种黄酮糖苷类成分的方法及其在基源植物鉴别上的应用[J].中国药

学杂志,2011,46(14):1112-1116.

[9] 王欢,黄嫣,李希,等.响应面法优化白花蛇舌草中齐墩果酸和熊果酸的提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(20):34-37.
[10] 万丹娜,饶倩如,俞梦莹,等.Box-Behnken设计-响应面法优化山楂的醇沉工艺[J].中国药房,2018,29(15):2078-2081.
[11] 张琳,赵凤平,王云红.Box-Behnken响应面法优选枳壳饮片炮制工艺研究[J].亚太传统医药,2018,14(2):61-64.
[12] 高雪梅,祁岳,张志.响应面法优化酸藤子叶总黄酮的超声提取工艺[J].黑龙江畜牧兽医,2018(17):167-170,240.
[13] 牟会荣,陈昆,王晓岚,等.正交试验法与响应面法在桑叶黄酮提取工艺优化中的应用和比较[J].江苏科技大学学报(自然科学版),2016,30(1):88-93.
[14] 程艳刚,谭金燕,叶文冲,等.基于Plackett-Burman设计和Box-Behnken响应面法优化仙鹤草总黄酮超声提取工艺及其抗氧化抗肿瘤活性研究[J].中华中医药学刊,2018,36(10):2414-2419.
[15] 苏艳莹,雷小小,桂卉,等.星点设计-效应面法优化山茱萸总环烯醚萜苷脂质体的制备工艺[J].中国药房,2018,29(19):2612-2616.
[16] 邢国秀,李楠,王童,等.甘草中黄酮类化学成分的研究进展[J].中国中药杂志,2003,28(7):10-14.

(收稿日期:2018-10-23 修回日期:2018-11-21)

(编辑:刘萍)

^Δ基金项目:甘肃省科技支撑计划项目(No.甘财教[2012]197号);兰州市人才创新创业项目(No.2014-RC-62)

*副主任药师,硕士。研究方向:中药制剂及中药质量标准。电话:0931-2302864。E-mail:fb1124@sohu.com

#通信作者:教授,主任药师,硕士生导师。研究方向:中药制剂及天然产物化学。电话:0931-2302664。E-mail:shixiaofeng2005@sina.com