

星点设计-响应面法优选藤梨根总皂苷提取工艺

滕坤¹, 阮洪生^{2*}, 武子敬¹, 张立秋¹, 赵蕊²

(1. 通化师范学院 制药与食品科学学院, 吉林 通化 134000;

2. 黑龙江八一农垦大学 生命科学技术学院, 黑龙江 大庆 163319)

[摘要] 目的:优选藤梨根总皂苷的提取工艺,为该药用部分的开发提供参考。方法:以总皂苷提取量为指标,采用星点设计-响应面法考察提取时间、乙醇体积分数和料液比对藤梨根总皂苷提取工艺的影响。利用 UV 测定总皂苷含量,检测波长 547 nm。结果:最佳工艺条件为提取时间 73 min,乙醇体积分数 65%,料液比 1:13;藤梨根总皂苷提取量 1.67 mg·g⁻¹,与预测值 1.69 mg·g⁻¹的偏差 1.18%。结论:该提取工艺稳定可行,适用于藤梨根总皂苷的提取。

[关键词] 藤梨根; 总皂苷; 星点设计-响应面法; 齐墩果酸

[中图分类号] R283.6;R284.1;R284.2;R282.71 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)22-0026-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220026

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141010.1016.008.html>

[网络出版时间] 2014-10-10 10:16

Optimization of Extraction Technology of Total Saponins from *Actinidia arguta* Roots by Central Composite Design-response Surface Methodology

TENG Kun¹, RUAN Hong-sheng^{2*}, WU Zi-jing¹, ZHANG Li-qiu¹, ZHAO Rui²

(1. College of Pharmaceutical and Food Science, Tonghua Normal University, Tonghua 134000, China;

2. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of total saponins from *Actinidia arguta* roots and provide a reference for development of this medicinal part. **Method:** With extraction time, ethanol concentration and ratio of solid to liquid as independent variables, extracting amount of total saponins as dependent variable, extraction technology of total saponins from *Actinidia arguta* roots was optimized by central composite design-response surface methodology. UV was employed to determine the content of total saponins with detection wavelength at 547 nm. **Result:** Optimum technological parameters were as follows: extraction time of 73 min, ethanol concentration of 65%, solid-liquid of 1:13; extracting amount of total saponins was 1.67 mg·g⁻¹, which was coincided with the model predictive value of 1.69 mg·g⁻¹. **Conclusion:** This optimized extraction technology is simple, reliable and suitable for extracting total saponins from *A. arguta* roots.

[Key words] *Actinidia arguta* roots; total saponins; central composite design-response surface methodology; oleanolic acid

藤梨根具有清热解毒、祛风除湿、利尿止血的功效,用于治疗风湿性关节炎、淋巴结核、跌打损伤、痈疖等^[1]。现代药理学研究表明藤梨根具有抗肿瘤、降糖、降脂、护肝降酶等作用^[2],与其他中药配伍主要用于治疗消化系统癌症、黄疸等疾病。藤梨根含有皂苷类、黄酮类、生物碱类、蒽醌类、挥发油、多糖、

[收稿日期] 20140410(007)
[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(31100254)
[第一作者] 滕坤,硕士,副教授,从事中药炮制及新药开发研究,Tel:13500951237,E-mail:tengkun1975999@163.com
[通讯作者] *阮洪生,博士,副教授,从事中药制剂及新药开发研究,Tel:0459-6819133,E-mail:360535646@qq.com

有机酸、甾醇等成分,其中齐墩果酸、熊果酸等皂苷类化合物为主要活性成分,是该药味抗肿瘤的活性物质^[3-4]。目前,关于藤梨根总皂苷提取工艺的研究尚未见报道。故本实验以总皂苷提取量为指标,采用星点设计-响应面法优选藤梨根总皂苷的提取工艺,为藤梨根总皂苷的深入研究提供参考。

1 材料

FA2004N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),TU-1800 型紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。藤梨根购自吉林通化医药大厦,经黑龙江八一农垦大学孙跃春副教授鉴定为为猕猴桃科软枣猕猴桃 *Actinidia arguta* 的干燥根;齐墩果酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 1153-200604),水为去离子水,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总皂苷的含量测定^[5]

2.1.1 标准曲线绘制 精密称取干燥至恒重的齐墩果酸对照品 24 mg,置于 50 mL 量瓶中,加无水乙醇溶解并定容,得对照品溶液。精密吸取该对照品溶液 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mL 分别置于 10 mL 具塞试管中,水浴挥去溶剂,依次精密加入新配置的 5% 香草醛-冰乙酸溶液 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL,混匀,密塞,于 60 ℃ 恒温水浴加热 15 min,取出,立即置于冰水浴中冷却 5 min,加入冰乙酸 5 mL,摇匀后放置 10 min,以试剂空白作参比,于 547 nm 处测定吸光度(A),以质量浓度(C)为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 0.017\ 3C - 0.002\ 7 (r = 0.999\ 1)$,线性范围 0.004 8 ~ 0.024 g·L⁻¹。方法学试验表明精密度、重复性和稳定性均良好。

2.1.2 供试品溶液的制备与测定 精密称取藤梨根药材粉末(过 3 号筛)5 g,置于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 75% 乙醇 50 mL,水浴回流提取,提取液减压抽滤,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。精密吸取适量供试品溶液置于 10 mL 量瓶中,按 2.1.1 项下方法测定 A,计算样品中总皂苷含量。

2.2 提取工艺优选

2.2.1 星点设计 单因素试验结果表明提取时间、乙醇体积分数和料液比 3 个因素对藤梨根总皂苷含量具有显著影响。根据星点设计原理,选择提取时间、乙醇体积分数和料液比为自变量,每个自变量确定 5 个水平,分别用代码 -α, -1, 0, 1, α (α = 1.682) 表示,共 20 个试验点(6 个中心点)。精密称取藤梨根药材粉末(过 3 号筛)5 g,共 60 份,以藤梨根总皂苷提取量为评价指标,采用星点设计优选提

取工艺条件,试验安排与结果见表 1。

表 1 藤梨根总皂苷提取工艺星点试验安排(n = 3)

No.	X ₁ 提取时间 /min	X ₂ 乙醇体积 分数/%	X ₃ 料液比 /g·mL ⁻¹	藤梨根总皂苷 提取量 /mg·g ⁻¹
1	84(-1)	63(-1)	1:14(-1)	0.72
2	156(+1)	63	1:14	0.96
3	84	87(+1)	1:14	1.14
4	156	87	1:14	1.35
5	84	63	1:26(+1)	0.81
6	156	63	1:26	1.08
7	84	87	1:26	1.26
8	156	87	1:26	1.56
9	60(-1.682)	75	1:20	1.02
10	180(+1.682)	75	1:20	1.47
11	120(0)	55(-1.682)	1:20	0.96
12	120	95(+1.682)	1:20	1.38
13	120	75	1:10(-1.682)	1.11
14	120	75	1:30(+1.682)	1.26
15	120	75	1:20	1.35
16	120	75	1:20	1.35
17	120	75	1:20	1.32
18	120	75	1:20	1.37
19	120	75	1:20	1.36
20	120	75	1:20	1.31

注:15 ~ 20 号为重复试验。

2.2.2 模型的建立与方差分析 运用 Design-Expert 7.0.0 软件对表 2 中数据进行二次多元回归拟合,得自变量与因变量间的回归方程 $Y = 1.35 + 0.13X_1 + 0.18X_2 + 0.058X_3 + 0.015X_1X_3 + 0.015X_2X_3 - 0.052X_1^2 - 0.078X_2^2 - 0.073X_3^2$ 。对该回归模型进行显著性检验,见表 2。结果表明 X₁, X₂ 对响应值的线性效应极显著, X₁², X₂², X₃², X₃ 对响应值的曲面效应作用显著,交互项则均作用不显著。该模型的 F = 18.24, P < 0.000 1,表明该二次多元回归模型极显著,回归方程相关系数(r)0.970 7,说明模型能解释 97.07% 响应值的变化,拟合情况良好。

2.2.3 响应面分析 根据回归方程,在保持 1 个因素编码值为 0 时,运用 Design-Expert 7.0.0 软件绘制另 2 个因素与藤梨根总皂苷提取量关系的三维响应面图(图 1 ~ 3)。响应面为响应值对两两交互因素所构成的三维空间曲线图,效应面曲线越陡峭,说明各自变量对响应值的影响越明显。取回归模型最大值点,X 的代码值分别为 -1.27, -0.82, -1.17,对应的实测值提取时间 73 min,乙醇体积分数 65%,料液比 1:13。

2.3 验证试验 为验证模型方程的适用性,精密称取藤梨根药材粉末(过 3 号筛)5 g,共 3 份,按优选的

表 2 回归模型方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
X_1	0.23	1	0.23	42.34	<0.000 1
X_2	0.44	1	0.44	80.26	<0.000 1
X_3	0.046	1	0.046	8.42	0.015 8
X_1X_3	1.8×10^{-4}	1	1.8×10^{-4}	0.33	0.578 5
X_2X_3	1.8×10^{-4}	1	1.8×10^{-4}	0.33	0.578 5
X_1^2	0.039	1	0.039	7.12	0.023 6
X_2^2	0.089	1	0.089	16.24	0.002 4
X_3^2	0.077	1	0.077	14.12	0.003 7
模型	0.89	9	0.099	18.14	<0.000 1
失拟项	0.052	5	0.01	18.98	0.000 2
误差	2.7×10^{-4}	5	0.5×10^{-4}		
总离差	0.95	19			
拟合度	0.942 3				
校正拟合度	0.890 3				

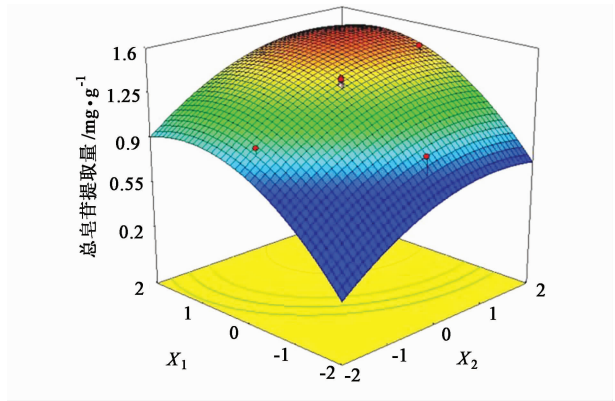


图 1 提取时间和乙醇体积分数对藤梨根总皂苷提取量的响应面

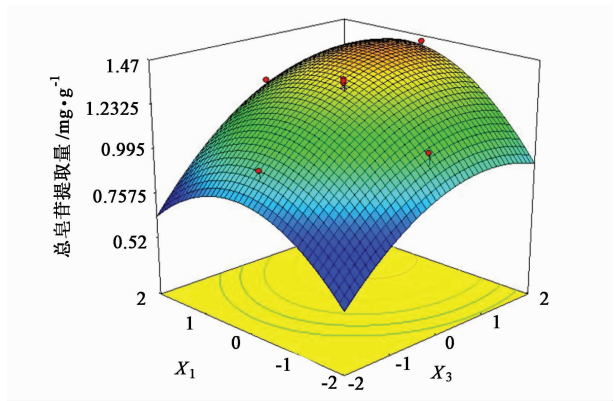


图 2 提取时间和料液比对藤梨根总皂苷提取量的响应面

工艺条件进行验证试验,结果总皂苷提取量平均值 $1.67\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 1.5%,与预测值 $1.69\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的偏差 1.2%,表明建立的数学模型具有良好的预测性,优选的工艺条件重复性好。

3 讨论

星点设计-响应面法采用非线性模型拟合,中心点试验的重复次数越多,精确度越高,本文采用 6 次

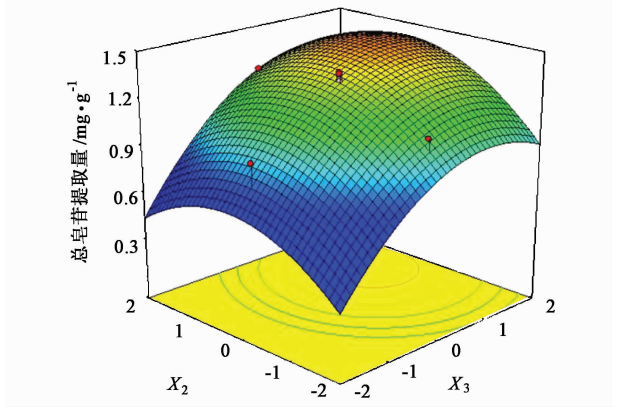


图 3 乙醇体积分数和料液比对藤梨根总皂苷提取量的响应面

重复试验,建立的方法简便合理、稳定,可预测性较优^[6]。齐墩果酸具有消炎、增强免疫力、抑制血小板聚集、降血糖等药理作用;熊果酸具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎保肝、降血脂等作用^[2]。齐墩果酸和熊果酸具有的药理效应与藤梨根药理作用一致,印证了齐墩果酸和熊果酸是藤梨根主要活性成分的说法。藤梨根中所含的皂苷元,如 $2\alpha,3\beta,23$ -三羟基-12,20(30)-二烯-28-乌苏酸, $2\alpha,3\alpha,23$ -三羟基-12,20(30)-二烯-28-乌苏酸, $2\alpha,3\alpha,24$ -三羟基-12,20(30)-二烯-28-乌苏酸, $2\alpha,3\beta,23$ -三羟基-12-烯-28-齐墩果酸, $2\alpha,3\alpha,24$ -三羟基-12-烯-28-齐墩果酸等^[7],均以齐墩果酸和熊果酸为基本母荷,故藤梨根总皂苷的含量测定选择齐墩果酸为对照品。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:人民卫生出版社,1977:552.

[2] 唐阳. 藤梨根药用成分及作用机制的现代研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2013,22(3):330.

[3] 张丽,国宏莉,田林,等. 藤梨根提取物对人食管癌细胞生长抑制作用的研究[J]. 中药材,2007,30(5):564.

[4] 王岚,康琛,杨伟鹏,等. 藤梨根正丁醇提取物和总黄酮苷抗肿瘤作用研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2184.

[5] 姚志娟,徐健. 三七药材中总皂苷的含量测定[J]. 黑龙江医药,2005,18(5):319.

[6] 滕坤,阮洪生,武子敬,等. 星点设计-响应面法优选藤梨根中总黄酮的提取工艺研究[J]. 中国现代应用药学,2012,29(7):610.

[7] Hassane L E, Hirai N, Kamo T, et al. Actinidic acid, a new triterpene phytoalexin from unripe kiwi fruit[J]. Biosci Biotechnol Biochem,2001,65(2):480.

[责任编辑 刘德文]