

响应面法优选合欢花多糖的提取工艺^Δ

袁建梅*, 范秉琳, 汪应灵[#](新乡医学院化学教研室, 河南 新乡 453003)

中图分类号 R284.2; R283

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2013)23-2145-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.12

摘要 目的: 优选合欢花多糖的提取工艺。方法: 在单因素试验的基础上, 选择浸提温度、浸提时间和液料比为考察因素, 以多糖提取率为评价指标, 采用响应面法优选合欢花多糖的最佳提取工艺。结果: 优选的提取工艺为浸提温度 91.4 °C、浸提时间 3.7 h、液料比为 26.6:1 (ml/g), 在此条件下, 合欢花多糖的实际提取率为 5.79%, 与响应面拟合方程的预测值 5.74% 相当。结论: 所选工艺合理、可行, 可用于合欢花多糖的提取。

关键词 合欢花; 多糖; 响应面法; 提取工艺

Optimization of Extraction Technology of Polysaccharides from Flower of *Albizia julibrissin* by Response Surface Methodology

YUAN Jian-mei, FAN Bin-lin, WANG Ying-ling (Dept. of Chemistry, Xinxiang Medical University, Henan Xinxiang 453003, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of polysaccharide from flower of *Albizia julibrissin*. METHODS: Based on single factor test, the extraction technology was optimized with response surface methodology with extraction temperature, extraction time and ratio of liquid to solid as factors using yield of polysaccharides as index. RESULTS: The optimum extraction technology was as follows: extraction temperature 91.4 °C, extraction time 3.7h and ratio of liquid to solid 26.6:1 (ml/g). In this condition, the actual extraction yield of polysaccharides from flower of *A. julibrissin* was 5.79%, which was consistent with the predicted value of 5.74%. CONCLUSIONS: Optimized technology is reasonable and feasible, and it is suitable for the extraction of polysaccharide from flower of *A. julibrissin*.

KEY WORDS Flower of *Albizia julibrissin*; Polysaccharide; Response surface methodology; Extraction technology

合欢花为豆科植物合欢(*Albizia julibrissin* Durazz.)的干燥花序, 是一种药食同源植物, 全国大部分地区均有分布, 具有安神解郁、活血、消痈肿等作用, 适用于治疗郁结胸闷、忿怒忧郁、虚烦不安、健忘失眠等症^[1-2]。合欢花中含有多酚、黄酮、皂苷、多糖等多种活性成分^[3]。植物多糖具有特殊的生理活性, 可以参与生物体的免疫调节功能, 如降血糖、降血脂、抗炎、抗肿瘤、抗疲劳、抗衰老等^[4-7]。因此, 植物多糖的提取及其生物活性受到了大家的关注。而目前对于合欢花多糖的研究较少, 为了合理开发和利用合欢花多糖, 笔者采用热水浸提法^[8]提取合欢花中多糖, 在单因素试验基础上, 利用响应面法^[8-9]对合欢花多糖的提取条件进行优化, 为开发利用合欢花的药用和保健功能提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

752 紫外-可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司); CH1015 超级恒温水槽(上海衡平仪器仪表厂); SBH-II 循环水式真空泵(郑州长城科工贸有限公司); BS244 电子分析天平(德国 Sartorius 公司); R206D 旋转蒸发器(上海申生科技有限公司)。

^Δ 基金项目: 河南省科技发展计划资助项目(No.112300410104)

* 讲师, 硕士。研究方向: 天然产物化学与利用。电话: 0373-3029128。E-mail: yyjm@163.com

[#] 通信作者: 副教授, 博士。研究方向: 天然产物化学与利用。E-mail: yyjm@163.com

1.2 药材

合欢花购于新乡市张仲景大药房, 经新乡医学院药学院李卫林讲师鉴定为真品。

1.3 试剂

D-葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110833-200503); 石油醚、氯仿、正丁醇、无水乙醇、浓硫酸、苯酚等试剂均为分析纯; 水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 合欢花多糖的制备工艺流程

合欢花→粉碎→石油醚脱脂→晾干→水浸提→抽滤→滤液减压浓缩→80%乙醇沉淀→4 °C 放置 12 h→离心→无水乙醇洗涤沉淀 2 次→Sevag 法脱蛋白→水相定容至 50 ml→测定多糖含量。

2.2 合欢花多糖提取率的测定

2.2.1 标准曲线的制备 称取 0.100 2 g 已干燥至恒质量的 D-葡萄糖对照品, 用去离子水定容至 100 ml, 得 1 mg/ml 的葡萄糖对照品贮备液。取 10 ml 此贮备液, 加去离子水定容到 100 ml, 得 0.1 mg/ml 的葡萄糖对照品溶液。分别量取 0、0.25、0.50、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 ml 此对照品溶液, 置 10 ml 量瓶中, 用水定容, 摇匀, 分别取 1.0 ml, 置刻度试管中, 再依次加入 5% 苯酚溶液 1.0 ml 和浓硫酸 5.0 ml, 振荡混匀后于室温下反应 30 min, 然后以 0 ml 试管为参比, 于 490 nm 波长下测定吸光度(A)值, 平行测定 3 次, 取平均值。以 A 值为纵坐标, 检测浓度(c)为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程为

$A=0.09737c-0.00306(r=0.9999)$ 。

2.2.2 多糖提取率的测定^[10] 准确称取合欢花粉末 2.00 g,按“2.1”项下方法提取,提取液稀释一定倍数后,准确吸取 1.0 ml,置 10 ml 量瓶中,按“2.2.1”项下方法测定吸光度,根据下式计算多糖提取率:多糖提取率= $c \times V \times N / m \times 100\%$ (式中, c 为多糖质量浓度; V 为提取液体积; N 为样品稀释倍数; m 为未脱脂前原料的质量)。

2.3 单因素试验

2.3.1 浸提温度对多糖提取率的影响 准确称取 2.00 g 合欢花粉末,共 5 份,用 40 ml 的去离子水在 60、70、80、90、100 ℃ 水浴中浸提 2 h,按“2.2.2”项下方法测定多糖提取率。结果,当浸提温度 < 90 ℃ 时,多糖提取率随着温度的升高而增加,当温度达到 90 ℃ 时,多糖提取率最大,再升高温度,提取率略有下降,可能是温度太高破坏了多糖结构的原因,而且温度过高,提取成本增加。因此,浸提温度宜选择 90 ℃。浸提温度对多糖提取率的影响见图 1。

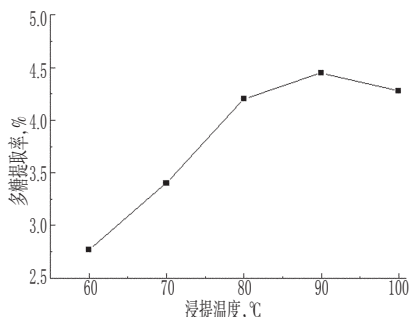


图 1 浸提温度对多糖提取率的影响

Fig 1 Effects of extraction temperature on yield of polysaccharides

2.3.2 液料比对多糖提取率的影响 准确称取 2.00 g 合欢花粉末,共 5 份,分别加入去离子水 20、30、40、50、60 ml,液料比分别为 10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 (ml/g),在 90 ℃ 水浴中浸提 2 h,按“2.2.2”项下方法测定多糖提取率。结果,多糖提取率随液料比的增大而增大,当液料比达到 25:1 (ml/g) 后,再增大液料比多糖提取率增加速度缓慢,说明合欢花中多糖基本提取完全。考虑到水用量过大会导致浓缩工艺能耗增加,所以选择液料比在 20:1~30:1 (ml/g) 范围内。液料比对多糖提取率的影响见图 2。

2.3.3 浸提时间对多糖提取率的影响 准确称取 2.00 g 合欢花粉末,共 5 份,用 50 ml 去离子水分别在 90 ℃ 水浴中浸提 0.5、1、2、3、4 h,按“2.2.2”项下方法测定多糖提取率。结果,随着浸提时间的延长,多糖提取率增加,当浸提时间超过 3 h 后,多糖提取率增加不明显,趋于稳定,说明浸提 3 h 已基本达到平衡。浸提时间对多糖提取率的影响见图 3。

2.3.4 浸提次数对多糖提取率的影响 准确称取 2.00 g 合欢花粉末,用 50 ml 去离子水在 90 ℃ 水浴中浸提 3 h,抽滤,将滤渣再按上述条件浸提 2 次,每次所得滤液按“2.2.2”项下方法测定多糖提取率。结果,经过 2 次提取,合欢花中多糖基本提取完全,因此浸提次数选择 2 次。浸提次数对多糖提取率的影响见图 4。

2.4 响应面法优选合欢花多糖的最佳提取工艺

2.4.1 试验设计与结果 在单因素试验基础上,根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,以浸提温度(X_1)、浸提

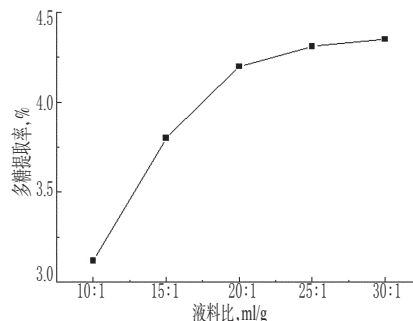


图 2 液料比对多糖提取率的影响

Fig 2 Effects of ratio of liquid to solid on yield of polysaccharides

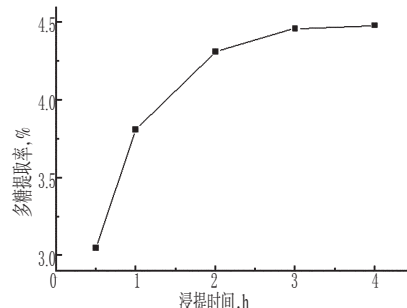


图 3 浸提时间对多糖提取率的影响

Fig 3 Effects of extraction time on yield of polysaccharides

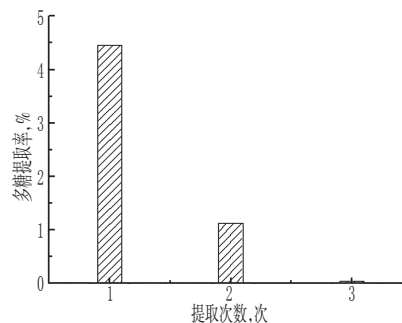


图 4 浸提次数对多糖提取率的影响

Fig 4 Effects of extraction times on yield of polysaccharides

时间(X_2)、液料比(X_3)为自变量,以多糖提取率为响应值进行响应面试验。因素与水平见表 1;响应面试验设计与结果见表 2。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

编码水平	因素		
	$X_1, ^\circ\text{C}$	X_2, h	X_3
-1	80	2	20:1
0	90	3	25:1
1	100	4	30:1

2.4.2 回归模型分析 利用 Design Expert 8.0 软件对试验结果进行响应面分析,得出回归模型的方差分析结果,见表 3。由表 3 可知,模型的 $P < 0.0001$,表明响应回归模型达到了极显著水平;失拟项 $P = 0.0689 (> 0.05)$,差异不显著,说明未知因素对试验结果干扰小,残差均由随机误差引起;回归方程的相关系数 $r = 0.9989$ 与模型的修正相关系数 $R^2_{\text{adj}} = 0.9954$ 相近,说明模型拟合程度良好,试验误差小,可以用此模型对合欢花中多糖的提取工艺结果进行分析与预测。因素 X_1 、 X_2 及其二次项对多糖提取率有极显著性影响 ($P < 0.01$),因素 X_3 及

表2 响应面试验设计与结果

Tab 2 Experiment design and results of response surface methodology

试验号	X_1	X_2	X_3	多糖提取率, %
1	1	0	-1	4.87
2	0	0	0	5.60
3	0	-1	-1	4.68
4	-1	0	1	4.46
5	1	0	1	4.96
6	0	0	0	5.60
7	-1	1	0	4.59
8	0	0	0	5.59
9	0	1	-1	5.62
10	0	1	1	5.72
11	0	-1	1	5.01
12	-1	-1	0	3.81
13	0	1	0	5.56
14	1	1	0	5.05
15	0	0	0	5.55
16	-1	0	-1	4.30
17	1	-1	0	4.37

其二次项对多糖提取率有显著性影响显著($P < 0.05$),交互项中 X_2X_3 对多糖提取率也有显著性影响($P < 0.05$),其余的交互项不显著,表明各因素对多糖提取率的影响不是简单的线性关系。

表3 回归模型方差分析结果

Tab 3 ANOVA results of regression model

方差来源	离差平方和	n	均方	F	P
模型	5.460	9	0.61	383.12	<0.000 1
X_1	0.550	1	0.55	345.11	<0.000 1
X_2	1.210	1	1.21	764.16	<0.000 1
X_3	0.058	1	0.058	36.53	0.000 5
X_1X_2	2.500×10^{-3}	1	2.5×10^{-3}	1.58	0.249 1
X_1X_3	1.225×10^{-3}	1	1.225×10^{-3}	0.77	0.408 1
X_2X_3	0.013	1	0.013	8.36	0.023 3
X_1^2	3.170	1	3.17	2002.76	<0.000 1
X_2^2	0.280	1	0.28	176.46	<0.000 1
X_3^2	0.018	1	0.018	11.24	0.012 2
残差	0.011	7	1.582×10^{-3}		
失拟项	8.875×10^{-3}	3	2.958×10^{-3}	5.38	0.068 9
纯误差	2.200×10^{-3}	4	5.5×10^{-4}		
总和	5.470	16			

2.4.3 三维效应面分析 根据回归模型方程,将浸提温度、浸提时间、液料比对多糖提取率的影响绘制成三维效应面图(见图5)。由图5可知,浸提温度对多糖提取率影响最显著,表现为曲线最陡,而浸提时间的影响次之,液料比的影响最小。

2.4.4 最佳工艺条件的预测 将表2所得的试验数据进行多元回归拟合,得到多糖提取率对浸提温度、浸提时间、液料比的二次多项回归方程: $Y = 5.58 + 0.26X_1 + 0.39X_2 + 0.085X_3 - 0.025X_1X_2 - 0.018X_1X_3 - 0.058X_2X_3 - 0.87X_1^2 - 0.26X_2^2 - 0.065X_3^2$ 。对回归方程取一阶偏导等于0,整理得方程组:

$$0.26 - 1.74X_1 - 0.025X_2 - 0.018X_3 = 0$$

$$0.39 - 0.025X_1 - 0.52X_2 - 0.058X_3 = 0$$

$$0.085 - 0.018X_1 - 0.058X_2 - 0.13X_3 = 0$$

解方程组得: $X_1 = 0.14$, $X_2 = 0.71$, $X_3 = 0.32$,即最佳提取条件为浸提温度91.4℃、浸提时间3.71 h、液料比为26.6:1(ml/g)

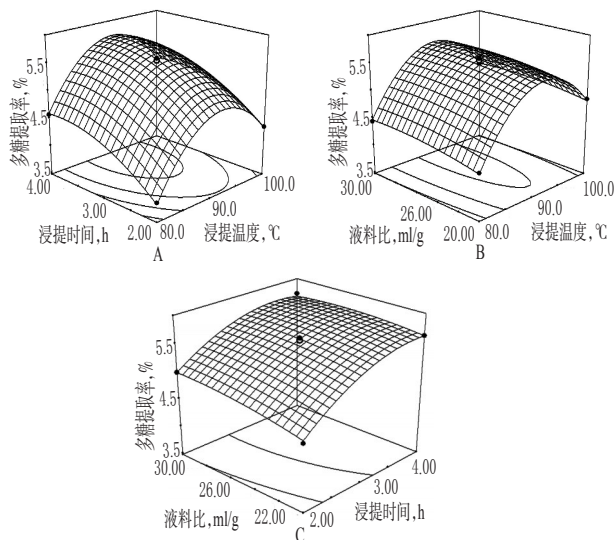


图5 三维效应面图

A. 浸提温度与浸提时间对多糖提取率的影响;B. 浸提温度与液料比对多糖提取率的影响;C. 浸提时间与液料比对多糖提取率的影响

Fig 5 Three-dimensional response surface

A. effects of extraction temperature and time on yield of polysaccharides; B. effects of extraction temperature and ratio of liquid to solid on yield of polysaccharides; C. effects of extraction time and ratio of liquid to solid on yield of polysaccharides

g)。考虑到实际操作方便性,将最佳提取条件修正为浸提温度91.4℃、浸提时间3.7 h、液料比为26.6:1(ml/g)。在此条件下,3次提取合欢花多糖得到的实际提取率为5.79%,与理论预测值5.74%非常接近,相对误差为0.87%,说明该回归方程能较真实地反映各因素对合欢花多糖提取率的影响,该模型用于优化合欢花多糖提取工艺是可行的。

3 讨论

笔者通过单因素试验考察了浸提温度、浸提时间、液料比、浸提次数对合欢花多糖提取率的影响,根据响应面试验原理建立了合欢花多糖提取率与浸提温度、浸提时间、液料比之间关系的二次多项回归模型,该模型拟合程度高,准确有效,在此模型下选取的工艺合理、可行,可用于合欢花多糖的提取。

参考文献

- [1] 李作平,张嫚丽,毛知娟,等.中药合欢花抗抑郁活性部位的初步筛选研究[J].时珍国医国药,2006,17(8):1388.
- [2] 李作平,赵丁,任雷鸣,等.合欢花抗抑郁作用的药理实验研究初探[J].河北医科大学学报,2003,24(4):214.
- [3] 李作平,张嫚丽,刘伟娜,等.合欢花化学成分的研究(II)[J].天然产物研究与开发,2005,17(5):585.
- [4] Manami M, Kaori E, Fumiko K, et al. Immunostimulating activity of a crude polysaccharide derived from green tea (*Camellia sinensis*) extract[J]. J Agric Food Chem, 2008,56(4):1423.
- [5] 宋晓勇,刘强,杨磊,等.蒲公英多糖提取工艺及其抗菌活性研究[J].中国药房,2010,21(47):4453.
- [6] 徐洁昕,方红霞,楚文靖,等.黄山贡菊多糖的微波浸提工艺和抑菌效果研究[J].食品工业科技,2011,32(9):280.
- [7] 杨华,庄陈丰.响应面法优化微波辅助提取龙须菜多糖工

复方阿魏酸钠/天麻素缓速释双层片的处方优化

胡静波^{1,2*}, 胡晓^{1,3}, 苏卫^{1,2}, 董少华^{1,3}, 陈鹰^{1#} (1. 广州军区武汉总医院, 武汉 430070; 2. 南方医科大学, 广州 510515; 3. 湖北中医药大学, 武汉 430065)

中图分类号 R283; R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2148-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.13

摘要 目的: 优化复方阿魏酸钠/天麻素缓速释双层片的处方。方法: 以累积释放度为指标, 以填充剂用量、崩解剂用量和片剂硬度为考察因素, 采用正交试验优化速释层处方; 以阿魏酸钠和天麻素在1、4、8、12 h的累积释放度为指标, 以羟丙基甲基纤维素(HPMC K15M)和羧甲基纤维素钠(CMC-Na)的用量为考察因素, 采用星点设计-效应面法优化缓释层处方。结果: 速释层处方为填充剂40 mg(微晶纤维素: 预胶化淀粉=1:1, *m/m*), 崩解剂(交联聚维酮)10 mg, 阿魏酸钠25 mg, 天麻素25 mg, 硬脂酸镁1 mg, 压片硬度为5 kg/cm²; 缓释层处方为阿魏酸钠50 mg, 天麻素50 mg, HPMC K15M 47 mg, CMC-Na 13.8 mg, 微晶纤维素 38.2 mg, 微粉硅胶1 mg, 硬脂酸镁1 mg。结论: 所选处方合理、可行, 可制备出合格的复方阿魏酸钠/天麻素缓速释双层片。

关键词 阿魏酸钠; 天麻素; 双层片; 制备; 星点设计-效应面法; 正交设计

Preparation of Compound Sodium Ferulate-gastrodin Quick-release Double-layer Tablets

HU Jing-bo^{1,2}, HU Xiao^{1,3}, SU Wei^{1,2}, DONG Shao-hua^{1,3}, CHEN Ying¹ (1. Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Command, Wuhan 430070, China; 2. Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 3. Hubei University of TCM, Wuhan 430065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize Compound sodium ferulate/gastrodin quick-release double-layer tablets. METHODS: The formulation of quick-release layer was optimized by orthogonal design with accumulative release rate as index using the amount and solidity of filler and disintegrating agent as factors; the formulation of sustained-release layer was optimized by central composite design-response surface methodology with accumulative release rate of ferulaic acid and gastrodin within 1, 4, 8 and 12 h as index using the amounts of HPMC K15M and CMC-Na as factors. RESULTS: The formulation of quick-release layer was as follows: filler 40 mg as (MCC; pregelatinized starch=1:1, *m/m*), PVPP 10 mg as disintegrating agent, sodium ferulate 25 mg, gastrodin 25 mg, magnesium stearate 1 mg; solidity of tableting 5 kg/cm²; that of sustained-release layer was as follows: Sodium ferulate 50 mg, gastrodin 50 mg, HPMC K15M 47 mg, CMC-Na 13.8 mg, MCC 38.2 mg, silica gel 1 mg, magnesium stearate 1 mg. CONCLUSIONS: Optimized formulation is reasonable and feasible, and Compound sodium ferulate/gastrodin quick-release double-layer tablets can be prepared.

KEY WORDS Sodium ferulate; Gastrodin; Double-layer tablets; Preparation; Central composite design-response surface methodology; Orthogonal design

天麻与川芎为传统配伍“药对”, 天麻素与阿魏酸分别是天麻与川芎^[1]中的主要药效成分。天麻素具有增加脑血流量, 保护神经细胞的功能, 临床用于治疗神经衰弱、血管神经性头痛、神经衰弱综合征和恢复脑功能等^[2]; 阿魏酸钠为阿魏酸的钠盐, 临床上用于闭塞性血管疾病、脑血栓形成、冠心病等血管性疾病的辅助治疗^[3]。目前, 已有研究者将川芎与天麻合用制成天舒胶囊, 用于治疗血管神经性头痛、偏头痛等疾病^[4], 由

此笔者得到启发, 将两药的活性提取物进行配伍, 制成复方制剂, 即复方阿魏酸钠/天麻素缓速释双层片, 用于偏头痛及血管性头痛疾病的治疗。

缓速释双层片在快速起效的同时还能起到长效作用, 避免频繁给药所致血药浓度波动大, 且可保持血药浓度相对稳定, 使药物更好地发挥作用; 同时减少患者服药次数, 增加患者的顺应性。本研究将羟丙基甲基纤维素(HPMC)与羧甲基

- 艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(20): 79.
- [8] 徐卫东, 王佩香, 欧阳臻, 等. 响应曲面法优化桑枝多糖提取工艺[J]. 中国药房, 2011, 22(43): 4 064.
- [9] Qiao DL, Hu B, Gan D, *et al.* Extraction optimized by us-

* 硕士研究生。研究方向: 口服给药系统。电话: 027-87649309。
E-mail: 839030715@qq.com

通信作者: 副主任药师, 硕士研究生导师。研究方向: 药物新剂型和新技术。电话: 027-87649309。E-mail: cy9262005@yahoo.com.cn

ing responsesurface methodology, purification and preliminary characterization of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 76 (3): 422.

- [10] 李妍, 魏建, 许旭东, 等. 苯酚-硫酸法定量测定桔梗多糖的研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 5.

(收稿日期: 2012-07-01 修回日期: 2012-09-10)