

响应面法优选虎耳草抗前列腺癌活性部位提取工艺

周 欣, 陈华国, 黄志金, 先 春, 杨世林

贵州师范大学, 贵州 贵阳 550001

摘 要: 目的 优选虎耳草 *Saxifraga stolonifera* 抗前列腺癌活性部位的提取工艺。方法 以岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷、槲皮素以及总黄酮的提取率为考察指标, 采用单因素试验结合 Box-Behnken 中心组合设计方法进行提取工艺优化研究。结果 虎耳草抗前列腺癌活性部位的最佳提取工艺条件为回流提取, 乙醇体积分数 60.04%, 料液比例 1 : 13.79, 提取时间 89.98 min, 提取温度 80 $^{\circ}\text{C}$, 在此条件下岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷和槲皮素以及总黄酮的提取率分别为 97.15%、98.13%、98.37%、97.82%、96.33%。结论 采用响应面法优化了虎耳草中抗前列腺癌活性部位的提取工艺, 对虎耳草的综合利用以及产业化发展提供了科学依据。

关键词: 虎耳草; 前列腺癌; 活性部位; 响应面法; 提取

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)13-1768-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.13.013

Optimization of extracting technology for active fractions from *Saxifraga stolonifera* with anti-prostate cancer activity by response surface method

ZHOU Xin, CHEN Hua-guo, HUANG Zhi-jin, XIAN Chun, YANG Shi-lin

Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China

Abstract: Objective To optimize the extracting technology for active fractions from *Saxifraga stolonifera* with anti-prostate cancer activity. **Methods** Using the extraction rates of bergenin, quercetin-5-*O*- β -D-glucopyranoside, quercetin-3-*O*-*L*-rhamnopyranoside, quercetin, and flavonoids as indexes, the single factor experiment combined with Box-Behnken design was used to optimize the extracting technology. **Results** The optimal extraction conditions were as follows: ethanol volume fraction 60.04%, liquid-solid ratio of 1 : 13.79 for 89.98 min, and at the temperature of 80 $^{\circ}\text{C}$. Under these conditions, the extraction rates of bergenin, quercetin-5-*O*- β -D-glucopyranoside, quercetin-3-*O*-*L*-rhamnopyranoside, quercetin, and flavonoids were 97.15%, 98.13%, 98.37%, 97.82%, and 96.33%, respectively. **Conclusion** The response surface analysis could optimize the extracting technology of active fraction from *S. stolonifera* with the anti-prostate cancer activity, which provides the basis for the comprehensive utilization and industrialization of *S. stolonifera*.

Key words: *Saxifraga stolonifera* (L.) Meerb.; prostate cancer; active fraction; response surface method; extraction

虎耳草为虎耳草科虎耳草属植物虎耳草 *Saxifraga stolonifera* (L.) Meerb. 的新鲜或干燥全草, 具有疏风清热、凉血解毒的功效, 传统用于治疗急性中耳炎、风热咳嗽、大泡性鼓膜炎、风疹瘙痒等疾病^[1]。通过查阅文献及预试验发现, 虎耳草除了具有上述功效外, 还具有很好的抗前列腺癌作用, 对前列腺癌细胞的生长有明显的抑制作用^[2-3]。

虎耳草抗前列腺癌是其新的药用用途, 作为贵州道地药材虎耳草的新用途, 值得深入研究。

本课题组前期对虎耳草药材开展了一定的生物活性试验, 优选出了虎耳草抗前列腺癌的活性部位, 在此基础上进行了系统的化学成分研究工作, 岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷以及槲皮素均是从活性部位中分离出的

收稿日期: 2013-01-17

基金项目: 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目 (黔科合中药字 [2010] 5023 号); 贵阳市科学技术计划项目 ([2010] 筑科合同字第 1-中-23 号); 贵州省科技创新人才团队建设项目 (黔科合人才团队[2011]4008); 贵州省教育厅特色重点实验室项目 (黔科合 KY[2012]005 号)

作者简介: 周 欣, 博士, 教授, 研究方向为中药质量控制、新药研究开发。Tel: (0851)6702167 13985028916 E-mail: alice9800@sina.com
网络出版时间: 2013-05-16 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130516.0919.003.html>

量较大的化合物,同时,活性部位中还含有大量的黄酮类化合物^[4]。

槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-L-鼠李糖苷^[4-5]和槲皮素^[6]具有较好的抗前列腺癌PC-3细胞凋亡作用,岩白菜素和总黄酮是前期研究发现的虎耳草抗前列腺癌活性部位中的主要化合物,因此,为了进一步优化虎耳草抗前列腺癌活性部位提取工艺,为其后续深入研究及产业化发展提供科学依据,本实验以岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-L-鼠李糖苷、槲皮素以及总黄酮提取率为考察指标,应用 Design-Expert 软件的 Box-Behnken^[7-8]中心组合设计方法设计响应面实验进行虎耳草抗前列腺癌活性部位提取工艺优化研究。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱系统 (Agilent 科技有限公司); AL204 型电子分析天平 (美国 Mettler Toledo 公司); 旋转蒸发仪 (Buchi 公司); CARY 100 紫外-可见分光光度计 (Cary 公司); KQ5200E 超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

虎耳草,经贵阳中医学院何顺志研究员鉴定为虎耳草科虎耳草属植物虎耳草 *Saxifraga stolonifera* (L.) Meerb. 的干燥全草,产地为贵州;岩白菜素 (批号 111532-200202)、槲皮素 (批号 100081-200406)、芦丁 (批号 100080-200306) 对照品均购自中国药品生物制品检定所;槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-L-鼠李糖苷 (实验室自备,经 NMR、MS、IR、UV 鉴定其结构, HPLC 测定其质量分数 > 98%); 乙醇、甲醇、磷酸、氢氧化钠、亚硝酸钠、硝酸铝为分析纯,水为蒸馏水,乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-L-鼠李糖苷和槲皮素的测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液,梯度系统洗脱,洗脱程序为 0~8 min, 10% 乙腈; 8~10 min, 10%~15% 乙腈; 10~20 min, 15% 乙腈; 20~25 min, 15%~18% 乙腈; 25~35 min, 18% 乙腈; 35~50 min, 18%~20% 乙腈; 50~85 min, 20%~30% 乙腈; 85~90 min, 30%~100% 乙腈; 90~100 min, 100% 乙腈; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 检测波长 256 nm; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μ L。

2.1.2 对照品溶液的制备 取各对照品适量,精密

称定,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,即得含岩白菜素 66.0 μ g/mL,槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 200.0 μ g/mL,槲皮素-3-*O*-L-鼠李糖苷 24.0 μ g/mL,槲皮素 26.0 μ g/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取虎耳草提取物浸膏 0.1 g,精密称定,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解后定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察 取“2.1.2”项下混合对照品溶液,按 1、2、4、6、8、10、20 μ L 进样,在高效液相色谱仪上分析。结果表明,岩白菜素线性方程为 $Y=984.67X-16.098$, $r=0.9998$,线性范围: 0.066~1.320 μ g; 槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷线性方程为 $Y=448.17X-8.8951$, $r=0.9994$,线性范围: 0.20~4.00 μ g; 槲皮素-3-*O*-L-鼠李糖苷线性方程为 $Y=2781.5X-10.962$, $r=0.9996$,线性范围: 0.024~0.480 μ g; 槲皮素线性方程为 $Y=3077.6X+20.104$, $r=0.9993$,线性范围: 0.026~0.520 μ g。

2.1.5 精密度试验 分别精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液 5 μ L,注入液相色谱仪,连续重复 6 次,测定峰面积。结果表明,4 种成分峰面积的 RSD 在 0.3%~1.2%。

2.1.6 重复性试验 取同一虎耳草提取物浸膏样品,制备 6 份供试品溶液,进行测定,计算 4 种成分质量分数的 RSD 在 1.25%~1.86%。

2.1.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样分析,计算 4 种成分峰面积的 RSD 在 1.17%~1.95%。

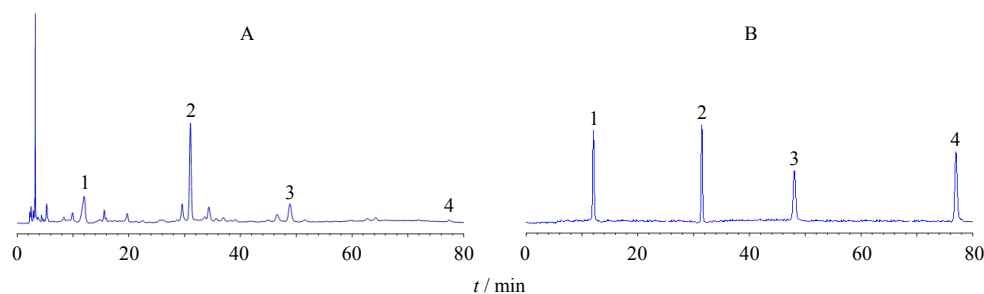
2.1.8 加样回收率试验 取虎耳草提取物浸膏 0.05 g,精密称定,置 10 mL 量瓶中,精密加入“2.1.2”项下混合对照品溶液 2 mL,再加甲醇溶解后定容至刻度,平行操作 6 份。进样测定,4 种成分的平均回收率在 98.66%~101.31%,RSD 在 1.22%~2.18%。

2.1.9 样品测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算各成分的量。色谱图见图 1。

2.2 总黄酮的测定

2.2.1 对照品溶液的制备 取芦丁对照品 5 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加入适量的 60%乙醇溶液,超声助溶,补足溶剂至刻度,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 准确称取 0.1 g 虎耳草提取物,加甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,即得。



1-岩白菜素 2-槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 3-槲皮素-3-*O*-L-鼠李糖苷 4-槲皮素
1-bergenin 2-quercetin-5-*O*- β -D-glucopyranoside 3-quercetin-3-*O*-L-rhamnopyranoside 4-quercetin

图1 虎耳草提取物 (A) 及混合对照品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of extract (A) and mixed reference substance (B) of *S. stolonifera*

2.2.3 显色及测定条件 取 1.0 mL 待测溶液置 10 mL 量瓶中, 加入 5% 亚硝酸钠试液 0.3 mL, 摇匀, 静置 6 min 后, 再加入 10% 硝酸铝试液 0.3 mL, 摇匀, 静置 6 min 后, 再加入 4% NaOH 溶液 4.0 mL, 用 60% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 静置 15 min, 于紫外-可见分光光度计上测定吸光度 (A) 值, 检测波长 504 nm。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取芦丁对照品溶液 1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 分别加入 5% 亚硝酸钠试液 0.3 mL 摇匀, 静置 6 min 后, 再加入 10% 硝酸铝试液 0.3 mL, 摇匀, 静置 6 min 后, 再加入 4% NaOH 溶液 4.0 mL, 用 60% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 静置 15 min, 以 60% 乙醇加显色剂为空白, 于 504 nm 处测定 A 值。线性回归得回归方程为 $A=10.12C+0.0079$, $r=0.9998$, 线性范围为 0.02~0.08 mg/mL。

2.2.5 精密度试验 分别精密吸取对照品溶液 1.0 mL, 按照“2.2.3”项下条件测定 A 值, 连续重复 6 次。结果表明, 芦丁 A 值的 RSD 为 0.33%。

2.2.6 重复性试验 取同一虎耳草提取物浸膏样品, 制备 6 份供试品溶液, 进行测定, 计算总黄酮质量分数的 RSD 为 1.37%。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样分析, 计总黄酮 A 值的 RSD

为在 1.56%。

2.2.8 加样回收率试验 取虎耳草提取物浸膏 0.05 g, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入“2.1.1”项下对照品溶液 1 mL, 再加甲醇溶解后定容至刻度, 平行操作 6 份。进样测定, 平均回收率为 98.93%, RSD 为 1.09%。

2.2.9 样品测定 分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液 1 mL, 按照“2.2.3”项下条件测定 A 值, 计算总黄酮的量。

2.3 不同提取方法的比较

取粉碎过 60 目筛的虎耳草药材 9 份, 每份 20 g, 固定溶剂 70% 乙醇, 料液比 1:10, 分别回流提取 2 h, 超声提取 (功率 1.5 kW) 1 h, 冷浸提取 24 h (各平行 3 份), 提取液 80 °C 减压除去溶剂, 得虎耳草浸膏, 计算各指标成分提取率, 结果见表 1。可知, 3 种提取方式对槲皮素的提取效果无明显差异, 其他 3 个成分及总黄酮提取率均以回流提取为最高, 故选用回流提取法。

提取率=(浸膏中指标成分质量分数×浸膏质量)/原药材中指标成分质量

2.4 单因素试验

2.4.1 溶剂用量对提取效果的影响 取粉碎过 60 目筛的虎耳草药材 20 g, 分别选取料液比 1:6、1:8、1:10、1:12、1:14、1:16, 固定提取温度 80 °C,

表1 提取方式考察结果

Table 1 Investigation of extraction methods

提取方式	提取率 / %				
	岩白菜素	槲皮素-5- <i>O</i> - β -D-吡喃葡萄糖苷	槲皮素-3- <i>O</i> -L-鼠李糖苷	槲皮素	总黄酮
回流	91.23	93.47	94.53	93.24	85.13
超声	80.68	87.33	73.24	92.98	78.09
冷浸	63.55	74.08	62.33	92.85	64.30

提取时间 90 min, 乙醇体积分数 70%, 观察对虎耳草指标成分提取效果的影响。结果整体的提取效率呈现上升的趋势, 在 1:10~1:14 虎耳草指标成分提取率均达到最好, 故选择料液比为 1:10~1:14 为进一步优化范围。

2.4.2 乙醇体积分数对提取效果的影响 取粉碎过 60 目筛的虎耳草药材 20 g, 分别加入 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%乙醇 240 mL, 固定提取温度 80 ℃, 提取时间 90 min, 料液比 1:10, 改变乙醇体积分数, 观察其对虎耳草指标成分提取效果的影响。结果显示, 提取效率呈现上升的趋势, 在乙醇体积分数 60%~80%虎耳草指标成分提取率均达到最好, 故选择乙醇体积分数 60%~80%为进一步优化范围。

2.4.3 提取温度对提取效果的影响 取粉碎过 60 目筛的虎耳草药材 20 g, 固定提取时间 90 min, 料液比 1:10, 乙醇体积分数 70%, 以 60、70、80、90 ℃分别回流提取, 观察对虎耳草指标成分提取效果的影响。结果显示, 60、70、80、90 ℃对提取效率影响不大, 考虑到能耗问题以及回流提取实际操作问题, 选择 80 ℃为提取温度。

2.4.4 回流时间对提取效果的影响 取粉碎过 60

目筛的虎耳草药材 20 g, 固定提取温度 80 ℃, 料液比 1:10, 乙醇浓度 70%, 分别提取 50、60、70、80、90、100、110、120、130、140 min, 观察对虎耳草指标成分提取效果的影响。结果显示, 50~90 min 提取效率呈上升趋势, 90~140 min 提取效率变化不大, 处于平衡状态, 故选择 80~100 min 为进一步优化范围。

2.5 响应曲面优化试验设计及其结果

根据中心组合试验设计原理, 综合单因素影响试验结果, 选取乙醇体积分数 (A)、料液比 (B) 和提取时间 (C) 作为考察对象, 采用 Design Expert 8.0 统计分析软件的响应面分析法安排试验, 以获取最适工艺参数。采用 3 因素 3 水平的响应面分析法进行试验设计, 试验设计与结果见表 2。

综合评分 = 岩白菜素提取率 × 0.1 + 槲皮素-5-O-β-D-吡喃葡萄糖苷提取率 × 0.25 + 槲皮素-3-O-L-鼠李糖苷提取率 × 0.25 + 槲皮素提取率 × 0.25 + 总黄酮提取率 × 0.15

使用统计软件 Design Expert 8.0 对表 2 中各指标性成分提取率的综合权重数据进行多元回归拟合, 得到综合评分对编码自变量 X_1 、 X_2 、 X_3 的二次多项回归方程 $Y = 1.934 - 0.228 X_1 + 0.108 X_2 + 0.068 X_3 - 0.121 X_1 X_2 + 0.004 X_1 X_3 + 0.082 X_2 X_3 + 0.008 X_1^2 +$

表 2 响应面法试验设计方案及结果

Table 2 Experimental design and results of response surface method

试验号	A / %	B	C / min	岩白菜素 / %	槲皮素-5-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 / %	槲皮素-3-O-L-鼠李糖苷 / %	槲皮素 / %	总黄酮 / %	综合评分
1	70 (0)	1:14 (1)	100 (1)	90.68	95.13	94.53	92.93	97.76	0.943 8
2	70 (0)	1:12 (0)	90 (0)	89.32	91.89	91.67	92.46	81.71	0.901 9
3	70 (0)	1:12 (0)	90 (0)	91.23	96.03	91.67	93.87	86.16	0.924 4
4	70 (0)	1:10 (-1)	80 (-1)	86.04	84.12	88.80	92.32	80.12	0.869 3
5	70 (0)	1:12 (0)	90 (0)	89.32	93.92	91.67	93.78	85.20	0.915 5
6	80 (1)	1:12 (0)	100 (1)	86.31	91.36	90.23	93.07	77.39	0.889 0
7	80 (1)	1:14 (1)	90 (0)	87.41	89.32	91.67	92.55	71.78	0.878 9
8	70 (0)	1:12 (0)	90 (0)	93.42	96.49	94.53	92.87	86.25	0.932 5
9	70 (0)	1:14 (1)	80 (-1)	87.13	86.15	87.37	92.69	84.18	0.878 9
10	80 (1)	1:12 (0)	80 (-1)	88.77	86.76	91.67	92.33	69.38	0.869 7
11	80 (1)	1:10 (-1)	80 (-1)	83.04	87.36	87.37	92.87	75.24	0.864 9
12	70 (0)	1:12 (0)	90 (0)	90.68	94.90	91.67	92.87	86.20	0.918 6
13	70 (0)	1:10 (-1)	100 (1)	85.77	90.15	85.94	92.99	76.60	0.873 4
14	60 (-1)	1:12 (0)	80 (-1)	83.31	84.04	84.50	93.52	93.31	0.878 4
15	60 (-1)	1:14 (1)	90 (0)	92.32	99.88	93.10	93.06	91.57	0.944 8
16	60 (-1)	1:12 (0)	100 (1)	91.78	99.05	93.10	92.97	98.20	0.951 9
17	60 (-1)	1:10 (-1)	90 (0)	91.50	95.88	93.10	92.98	87.39	0.9275

0.005 X_2^2 - 0.034 X_3^2 。方差分析及回归系数显著性检验结果见表3。所建立的二次多项模型具有高度的显著性 ($P < 0.001$)，模型决定系数 $R^2 = 0.9603$ ，表明模型拟合度良好。通过求解回归方程，得到最佳提取工艺条件：乙醇体积分数为 60.04%，料液比例为 1 : 13.79，提取时间为 89.98 min，此条件下，岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷、槲皮素以及总黄酮的提取率预测值分别为 97.35%、98.11%、97.84%、96.37%、97.61%。

2.6 验证试验

为了检验试验结果的可靠性，根据以上结果进行验证试验，但考虑到实际操作的方便性，选用料液比 1 : 13.8、提取温度 80 °C、提取时间为 90 min 和 60%乙醇的条件下进行 5 次重复验证试验，结果见表4，此条件下，岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷、槲皮素以及总黄酮的提取率平均值分别为 95.23%、98.58%、

表3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	0.638 0	9	39.648 4	<0.000 1
A	0.417 2	1	233.346 1	<0.000 1
B	0.093 5	1	52.306 5	0.000 2
C	0.036 7	1	20.536 3	0.002 7
AB	0.058 8	1	32.888 0	0.000 7
AC	0.000 0	1	0.027 4	0.873 2
BC	0.026 6	1	14.859 0	0.006 3
A ²	0.000 3	1	0.151 6	0.708 5
B ²	0.000 1	1	0.048 2	0.832 5
C ²	0.004 9	1	2.758 3	0.140 7
残差	0.012 5	7		
失拟项	0.005 5	3	1.036 3	0.466 7
净误差	0.007 0	4		
总离差	0.650 6	16		

表4 验证试验

Table 4 Verification test

序号	提取率 / %				
	岩白菜素	槲皮素-5- <i>O</i> - β -D-吡喃葡萄糖苷	槲皮素-3- <i>O</i> - <i>L</i> -鼠李糖苷	槲皮素	总黄酮
1	95.06	98.19	95.92	97.27	95.44
2	95.32	98.66	95.63	97.11	95.32
3	95.13	98.89	95.70	97.03	95.28
4	95.41	98.77	95.15	97.15	95.30
5	95.22	98.71	95.33	97.18	95.19

95.55%、97.15%、95.31%，与理论值的相对误差为 2.3%，说明验证值与回归方程预测值吻合较好。

2.7 药效对比研究

采用 MTT 法^[9]对优化前（优化前的相关工艺参数：料液比 1 : 10、提取温度 80 °C、提取时间为 60 min 和 80%乙醇）后的虎耳草提取物进行了抗 PC-3 细胞的抑制作用研究，研究结果见表5。结果表明，优化后的提取物较之优化前对前列腺癌 PC-3 细胞生长抑制作用显著增加，说明该提取工艺有效、可行。

3 讨论

3.1 实验总体设计

本研究首先通过单因素试验分别考察提取方式、乙醇体积分数、提取时间、料液比和提取温度对提取工艺的影响，在此基础上，采用 Design-Expert 软件的 Box-Behnken 中心组合设计方法设计响应面

表5 虎耳草提取物对前列腺癌 PC-3 细胞生长抑制作用 (给药后 48 h)

Table 5 Inhibition of *S. stolonifera* extract on growth of prostate cancer cells (48 h after administration)

组别	提取物 / (mg·mL ⁻¹)	抑制率 / %
对照组	—	—
优化前提取物组	0.15	42.34 ± 0.01*
	0.20	45.86 ± 0.01*
	0.30	48.87 ± 0.04*
	0.40	61.57 ± 0.02**
优化后提取物组	0.15	46.09 ± 0.02*
	0.20	55.82 ± 0.01*
	0.30	60.17 ± 0.02**
	0.40	73.45 ± 0.01**

与对照组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

试验,建立了数学模型,得到了较优的提取工艺条件。并结合响应面分析得到的数学模型,预测更优的工艺条件,并进行验证试验,最后得到了最佳提取工艺条件:乙醇体积分数为60.04%,料液比例为1:13.79,提取时间为89.98 min。

3.2 权重系数选择依据

相应面分析时,对岩白菜素、槲皮素-5-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷、槲皮素和总黄酮进行了权重计算,选择依据为把5个考察指标权重系数设置为1,其中槲皮素-5-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷和槲皮素有明确的文献支撑具有抗前列腺癌PC-3细胞生长活性,故权重分别设置为0.25;槲皮素-5-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-*L*-鼠李糖苷和槲皮素均属于黄酮类化合物,故对黄酮类化合物的权重设置时,选0.15;剩余0.10的权重分配给岩白菜素。

3.3 实验结果验证

本实验从选取的指标性成分的提取率和抗前列腺癌PC-3细胞生长活性2个方面对所优选得到的提取工艺进行了验证,验证结果证明了工艺的可行性。研究结果对虎耳草的综合利用以及产业化具有理论指导意义。

参考文献

- [1] 贵州省中药材、民族药质量标准 [S]. 2003.
- [2] 丁家欣,张立石,张玲,等.虎耳草提取物对前列腺癌细胞凋亡的影响 [J].中国中医基础医学杂志,2005,11(12):905-907.
- [3] 居龙涛.虎耳草制剂治疗前列腺增生症 [J].中国中医基础医学杂志,2007,13(1):79.
- [4] 先春.虎耳草活性部位化学成分的研究 [D].贵阳:贵州师范大学,2012.
- [5] 黄志金.虎耳草抗前列腺癌活性部位筛选及提取工艺研究 [D].贵阳:贵州师范大学,2012.
- [6] 朱清毅,胡瑞,刘丽,等.槲皮素对前列腺癌PC-3细胞凋亡作用的研究 [J].中华男科学杂志,2011,17(9):790-793.
- [7] 杨磊,刘婷婷,卫蔚,等.响应面法优选新疆紫草总萘醌的匀浆提取工艺研究 [J].中草药,2010,41(4):568-573.
- [8] 陈敬,温庆果,刘韶,等.正交设计与响应面法优化壳聚糖对莲子心提取液除杂工艺对比研究 [J].中草药,2012,43(11):2183-2188.
- [9] 逯海燕,郭顺星,林晨,等.一种真菌菌丝体甲醇提取物-A7的抗肿瘤活性研究 [J].中草药,2002,33(5):61-63.