

基于成分状态分析溶液环境对三七总皂苷超滤分离行为的影响

李存玉^{1,2}, 支兴蕾^{1,2}, 牛学玉¹, 戴凌婕¹, 李红阳¹, 彭国平^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 基于三七总皂苷(PNS)存在状态,明确溶液环境对其分离行为的影响。**方法** 以成分透过率、溶液表面张力为指标,分析单因素乙醇、无机盐、表面活性剂和 pH 值对 PNS 存在状态的影响,进而采用 Box-Behnken 中心组合设计建立数学模型,考察乙醇浓度、氯化钠浓度、溶液 pH 值对三七皂苷 R₁(R₁)和人参皂苷 Rb₁(Rb₁)超滤分离的影响,分析因素交互作用,明确影响规律。**结果** 乙醇可以降低皂苷分子间作用力,pH 值促进皂苷离子化,增加临界胶束浓度,PNS 超滤透过率增加;无机盐的盐析作用降低临界胶束浓度,PNS 透过率降低;表面活性剂类型与 PNS 超滤分离行为相关;通过响应面分析成分超滤透过行为,Rb₁对考察因素的敏感度高于 R₁。**结论** 明确了溶液环境因素对 PNS 超滤分离的影响规律,可以动态调节成分状态,实现皂苷类成分的目的性分离。

关键词: 超滤;三七总皂苷;溶液环境;成分状态;三七皂苷 R₁;人参皂苷 Rb₁

中图分类号: R283.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)21-5246-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.017

Effect of solution environment on ultrafiltration separation of *Panax notoginseng* total saponins based on molecular state

LI Cun-yu^{1,2}, ZHI Xing-lei^{1,2}, NIU Xue-yu¹, DAI Ling-jie¹, LI Hong-yang¹, PENG Guo-ping^{1,2}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To clarify the effect of solution environment on ultrafiltration separation of *Panax notoginseng* total saponins (PNS) based on the molecular state. **Methods** In the experiment, the transmittance and surface tension were selected as indexes for analyzing the effect of ethanol, inorganic salts, surfactants, and pH on the molecular state of PNS. And then, ethanol, NaCl, and pH were selected as influencing factors to analyze the separation rule of notoginsenoside R₁(R₁) and ginsenoside Rb₁(Rb₁). **Results** The intermolecular interaction force of saponins was weakened by increasing the ethanol concentration; The pH value promoted saponin ionization, increased critical micelle concentration, and increased PNS ultrafiltration transmittance; The salting out effect of inorganic salt reduced the critical micelle concentration and PNS transmittance; The surfactant type was related to the ultrafiltration separation behavior of PNS. Rb₁ was more sensitive to the factors than R₁ by response surface methodology. **Conclusion** The effect of solution environmental factors on the ultrafiltration separation of PNS was clarified by the combination of single factor analysis and response surface methodology. And the saponins can be separated purposefully by dynamically adjusting the molecular state.

Key words: ultrafiltration; *Panax notoginseng* total saponins; solution environment; molecular state; notoginsenoside R₁; ginsenoside Rb₁

中药皂苷类成分多表现出改善心脑血管功能、调节免疫系统等效用^[1-2],以皂苷为主要药效成分的中成药在临床应用广泛,如血塞通注射液^[3-6]、人参茎叶总皂苷胶囊等。中药皂苷类成分结构的特殊性

在水溶液环境下表现出类表面活性^[7],以缔合态胶束、胶粒形式存在,且存在状态与溶液环境直接相关,影响相应的分离、精制过程^[8]。

膜分离技术作为新型的制药分离单元,其中超

收稿日期: 2019-06-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81603307);江苏省高校自然科学基金(17KJB360010)

作者简介: 李存玉(1985—),男,博士,副教授,研究方向为中药制药。Tel/Fax: (025)86798186 E-mail: licunyuok@163.com

*通信作者 彭国平(1963—),男,博士,教授,博士生导师,主要从事中药制剂精制及新药研究。

Tel/Fax: (025)86798186 E-mail: guopingpeng@126.com

滤技术是依靠分子筛分为主要分离效应^[9-10], 且具有高效、节能等优势, 在注射剂、口服液等液体制剂中用于精制除杂, 提升制剂稳定性和安全性^[11-14]。因皂苷成分存在状态不明确, 在实际的超滤分离时, 根据分子筛分理论选择膜分离参数, 难以达到预期分离目的, 限制超滤技术在中试化、放大化生产中的推广应用。

基于成分状态与分离行为的相关性, 结合皂苷类成分在溶液中的表面活性特征, 以溶液表面张力、透过率为指标, 采用单因素分析与响应面分析相结合的方法, 考察复杂溶液环境中有机溶剂、无机离子、表面活性剂以及 pH 值对三七总皂苷 (*Panax notoginseng* total saponins, PNS) 超滤分离行为的影响^[15-16], 明确溶液环境对 PNS 透过率的影响规律, 为皂苷类成分的分离精制选择提供技术支撑。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 检测器, 美国安捷伦公司; Millipore 蠕动泵, 美国密理博公司; POWEREACH JK99B 全自动张力仪, 上海中晨数字技术设备有限公司; PB-10 型 pH 计, 德国 Sartorius 公司; KH-250B 型超声波清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司。

PNS 提取物, 批号 20100701, 质量分数 > 95.0%, 云南玉溪万方天然药物有限公司; 对照品三七皂苷 R₁ (R₁, 批号 110745-201619, 质量分数 95.0%)、人参皂苷 Rg₁ (Rg₁, 批号 110703-201529, 质量分数 96.3%)、人参皂苷 Rb₁ (Rb₁, 批号 110704-201625, 质量分数 95.0%), 人参皂苷 Rd (Rd, 批号 111818-201603, 质量分数 92.1%), 均购自中国食品药品检定研究院。Millipore 板框膜组件, 截留相对分子质量 10 000, 美国密理博公司。

四丁基溴化铵 (TBAB)、十二烷基硫酸钠 (SDS) 均为分析纯, 均购自 Adamas 试剂有限公司。聚山梨酯 80 (Tween 80, T80) 为分析纯, 购自 Sigma 公司。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

2.1.1 混合对照品溶液 精密称取干燥至恒定质量的对照品置 5 mL 量瓶中, 其中 R₁ 2.30 mg、Rg₁ 3.14 mg、Rb₁ 2.80 mg、Rd 1.68 mg, 甲醇稀释至刻度, 制得含 4 种皂苷分别为 0.460、0.628、0.560、0.336 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.2 PNS 溶液 称取 PNS 提取物适量, 根据实验方案配制相应溶液环境的 PNS 溶液。

2.2 样品检测

2.2.1 色谱条件^[17] 色谱柱为 Agela Venusil XBP C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~20 min, 20%乙腈; 20~45 min, 20%~46%乙腈; 45~55 min, 46%~55%乙腈; 55~60 min, 55%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长为 203 nm。

2.2.2 线性关系考察 分别吸取混合对照品溶液 1、2、5、10、20 μL, Agilent 1100 高效液相色谱仪检测, 以峰面积为纵坐标 (Y), 对照品溶液进样量为横坐标 (X), 得线性回归方程, R₁ $Y=101.3 X+10.5$, $r^2=0.998\ 9$; Rg₁ $Y=166.4 X-25.3$, $r^2=0.999\ 1$; Rb₁ $Y=149.1 X+29.4$, $r^2=0.998\ 4$; Rd $Y=114.5 X-10.0$, $r^2=0.998\ 9$; 表明 R₁ 在 0.460~9.200 μg、Rg₁ 在 0.628~12.560 μg、Rb₁ 在 0.560~11.200 μg、Rd 在 0.336~6.720 μg 峰面积与进样量之间线性关系良好。

2.3 有机溶剂对透过行为及表面张力的影响

将板框膜组件置于平板式超滤夹具中, 采用乳胶软管连接蠕动泵、压力表及超滤夹具。分别配制体积分数为 0、5.0%、10.0%、20.0%、40.0%乙醇水溶液, 超声溶解 PNS (质量浓度 2.0 mg/mL), 置于超滤系统中进行循环平衡, 待溶质与超滤之间的吸附-解吸附达到平衡时, 取样平衡液, 进而将溶液进行超滤, 待超滤完成后, 取样超滤液。按照“2.2”项下色谱条件及线性关系计算成分质量浓度, 根据 $T=C_1/C_2$ 计算透过率, 其中 T 为透过率, C_1 为超滤液中待测组分质量浓度, C_2 为平衡液中待测组分质量浓度。

分析表 1 中数据, 随着乙醇体积分数的升高, PNS 中主要成分透过率均随之升高, 其中 Rb₁ 和 Rd 升高幅度高于 R₁ 和 Rg₁, 根据超滤分离的分子筛理论, 4 种成分中 Rb₁ 和 Rd 的相对分子质量应高于 R₁ 和 Rg₁, 但是 4 种成分相对分子质量相似, 其中 R₁ 为 933, Rg₁ 为 801, Rb₁ 为 1 109, Rd 为 917, 推测 4 种成分在不同乙醇体积分数的溶液中存在状态决定了其分离行为。

以乙醇水溶液为空白, 采用铂金板拉片法, 将待测溶液置于容器中, 放于待测样品台上, 调节上升按钮, 至铂金板与溶液接近时, 按停止键, 表面张力数值清零, 点击测试, 记录溶液表面张力值,

每组样品平行检测 3 次, 取平均值。分析表 1 中表面张力变化趋势, 随着乙醇体积分数升高, PNS 溶液表面张力呈现出明显的下降趋势。而空白溶液环境下, 乙醇体积分数变化并未对溶液表面张力产生明显影响。

表 1 乙醇体积分数对 PNS 透过率及表面张力的影响

Table 1 Effect of ethanol concentration on transmittance and surface tension of PNS

乙醇/%	透过率/%				表面张力/(mN·m ⁻¹)	
	R ₁	R _{g1}	R _{b1}	R _d	空白溶液	PNS 溶液
0.0	67.21	69.39	22.43	15.87	37.17	71.88
5.0	69.65	71.06	25.64	18.32	36.22	55.21
10.0	77.45	79.67	29.87	23.09	35.14	47.02
20.0	82.12	82.70	34.44	27.87	34.08	38.20
40.0	85.94	86.51	83.06	80.09	31.56	29.64

表 2 无机盐对 PNS 透过率及表面张力的影响

Table 2 Effect of inorganic salt on transmittance and surface tension of PNS

溶液环境	透过率/%				表面张力/(mN·m ⁻¹)	
	R ₁	R _{g1}	R _{b1}	R _d	空白溶液	PNS 溶液
NaCl (0.10 mol·L ⁻¹)	65.68	68.14	15.24	11.77	74.52	37.61
NaCl (0.50 mol·L ⁻¹)	62.27	63.85	9.07	6.94	75.51	38.71
MgCl ₂ (0.10 mol·L ⁻¹)	62.32	67.07	13.41	10.62	78.02	37.90
MgCl ₂ (0.50 mol·L ⁻¹)	59.42	60.95	8.88	6.76	79.31	39.16
Na ₂ SO ₄ (0.10 mol·L ⁻¹)	54.75	56.09	8.27	6.22	75.02	38.26
Na ₂ SO ₄ (0.50 mol·L ⁻¹)	47.08	48.41	2.27	1.59	77.04	38.85

以系列浓度无机盐水溶液为空白, 对比 PNS 溶液中添加无机盐后的表面张力变化, 从表 2 中可以看出, 虽然不同无机盐引起溶液表面张力发生小幅度变化, 但溶液表面张力主要由 PNS 所主导, 无机盐并未对溶液表面张力产生明显影响。

2.5 表面活性剂对透过行为及表面张力影响

按照“2.3”项下方法计算成分透过率及表面张力。表面活性剂对 PNS 膜分离行为的影响存在差异性, 分析表 3 中数据, SDS 引起 R_{b1} 和 R_d 透过率下降, TBAB 引起 PNS 透过率升高; T80 对 R₁、R_{g1} 与 R_{b1}、R_d 有所差异, 前两者透过率升高、后者降低。

根据表 3 中 SDS 对 PNS 中成分的影响规律, 可以看出水溶液中胶束与皂苷类成分结构相关, 其中 R_{b1} 和 R_d 属于人参二醇型三萜皂苷, 临界胶束浓度低于 R₁ 和 R_{g1} (人参三醇型三萜皂苷)。引起

2.4 无机盐对透过行为及表面张力影响

按照“2.3”项下方法计算成分透过率及表面张力。PNS 超滤透过率的影响与无机离子价态存在相关性 (表 2), PNS 中 4 种主要成分均属于非离子型表面活性剂, 无机盐对其存在状态影响主要体现在“盐析作用”^[18]。而 PNS 类成分结构中的氧原子可以通过氢键与 H₃O⁺ 结合, 表现出一定的类阳离子表面活性剂性质。因此, 相同浓度的 NaCl、MgCl₂ 对 PNS 的透过率影响相似, 盐析作用促使皂苷类成分缔合程度增加, 分子团增大, 透过率降低。

Na₂SO₄ 中的硫酸根与具有阳离子性质的 PNS 呈现出一定的“反离子”效应^[19], 硫酸根与皂苷结构中的 H₃O⁺ 结合, 使得缔合成胶束的表面阳离子电荷密度下降, 胶束或皂苷分子之间的电性排斥变弱, 利于高分子缔合胶束、胶团的形成, 从而表现出透过率下降的趋势。

R_{b1} 和 R_d 透过率下降的原因在于“反离子效应”, 磷酸根与皂苷结构中的 H₃O⁺ 结合, 皂苷分子之间的电性排斥变弱, 利于缔合胶束、胶团的形成, 从而表现出透过率下降的趋势。而人参三醇型皂苷 R₁ 和 R_{g1} 对 SDS 并不敏感。

离子型表面活性剂对 PNS 分离行为的影响, 主要是极性基团之间的“离子-偶极”相互作用^[16], TBAB 分子插入 PNS 分子间, 增强了极性基团之间的排斥力, 溶液中 PNS 以低分子缔合胶束、单分子游离态比例增加, 引起 PNS 类成分透过率升高。而 T80 对 PNS 带来的差异性作用行为, 应该是极性基团相互作用的结果。相较于 PNS 水溶液, SDS、T80 引起溶液表面张力降低 (表 3), 所考察的 3 种表面活性剂对溶液表面张力影响均较小, 但多组分表面活性剂之间的相互作用行为以及对溶液表面张力的影响难以判断。

表 3 表面活性剂对 PNS 透过率及表面张力的影响

Table 3 Effect of surfactant on transmittance and surface tension of PNS

溶液环境	透过率/%				表面张力/(mN·m ⁻¹)	
	R ₁	R _{g1}	R _{b1}	R _d	空白溶液	PNS 溶液
水溶液	67.21	69.39	22.43	15.87	37.17	71.88
SDS (0.05 mol·L ⁻¹)	69.47	68.78	5.64	4.02	41.37	34.23
TBAB (0.05 mol·L ⁻¹)	73.27	75.65	26.10	18.54	36.99	32.00
T80 (0.05 mol·L ⁻¹)	76.60	77.62	16.57	10.87	38.13	40.24

2.6 pH 值对透过行为的影响

按照“2.3”项下方法,计算成分透过率及表面张力。溶液 pH 值升高,PNS 4 种指标性成分透过率也随之升高(表 4),分析皂苷结构中的醇羟基部分解离,非离子表面活性剂向离子型表面活性剂过渡,临界胶束浓度升高,溶液中低分子缔合态胶束和单分子态比例增加,成分透过率升高。同时,考察因素 pH 值对皂苷溶液表面张力未产生明显影响,因此以表面张力判断多组分混合的表面活性剂状态存在一定的局限性。

表 4 pH 值对 PNS 透过率的影响

Table 4 Effect of pH on transmittance of PNS

pH 值	透过率/%			
	R ₁	R _{g1}	R _{b1}	R _d
3.0	62.53	61.34	5.52	3.27
4.0	63.48	65.68	7.69	4.74
5.0	65.75	66.06	16.46	12.28
6.0	67.21	69.39	22.43	15.87
7.0	70.42	72.36	33.61	27.55
8.0	72.77	75.21	41.27	32.32
9.0	75.52	78.85	48.42	41.33

2.7 响应曲面实验设计方案和结果

根据所考察因素乙醇体积分数、无机盐、表面活性剂、pH 值对 PNS 透过行为的影响,结合中药皂苷类制剂、中间体分离时的溶液环境,结合实际生产中的存在因素,选择乙醇体积分数、氯化钠浓度、pH 值 3 个因素作为变量,以-1、0、1 代表变量水平(表 5),进行 Box-Behnken 设计 3 因素 3 水平实验方案,结合 PNS 中皂苷分离行为以及成分结构类型,选择 R₁(人参三醇型)、R_{b1}(人参二醇型)为代表性成分,分析溶液环境对皂苷成分超滤分离影响的规律。

利用 Design-Expert 8.06 软件开展响应面设计实验方案^[20],分析溶液环境因素对皂苷成分分离行为的影响规律及其交互作用,根据中心组合设计原理,以乙醇体积分数(A)、氯化钠浓度(B)、pH 值(C)作为变量,以-1、0、1 代表变量水平,通过 17 个实验组成响应面,以 R₁、R_{b1} 透过率为响应值,具体实验设计与结果见表 5。

2.8 回归方程拟合与显著性分析

2.8.1 R₁ 根据 Box-Behnken 中心组合设计原理,利用 Design-Expert 8.06 软件对表 5 中结果进行多元回归拟合,得到 R₁ 透过率与所考察因素变量的回归

表 5 响应面实验设计及结果

Table 5 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	A/%	B/(mol·L ⁻¹)	C	R ₁ 透过率/%	R _{b1} 透过率/%	试验号	A/%	B/(mol·L ⁻¹)	C	R ₁ 透过率/%	R _{b1} 透过率/%
1	0 (-1)	0.25 (0)	4.0 (-1)	56.52	8.63	10	20 (0)	0.25 (0)	6.0 (0)	74.52	26.06
2	0 (-1)	0.10 (-1)	6.0 (0)	66.47	20.82	11	0 (-1)	0.25 (0)	8.0 (+1)	70.94	38.64
3	20 (0)	0.50 (+1)	8.0 (+1)	89.07	51.64	12	20 (0)	0.10 (-1)	4.0 (-1)	79.42	34.85
4	20 (0)	0.10 (-1)	8.0 (+1)	95.19	76.13	13	40 (+1)	0.25 (0)	8.0 (+1)	98.09	90.87
5	0 (-1)	0.50 (+1)	6.0 (0)	55.78	14.39	14	20 (0)	0.25 (0)	6.0 (0)	76.97	30.62
6	20 (0)	0.50 (+1)	4.0 (-1)	75.11	27.64	15	40 (+1)	0.50 (+1)	6.0 (0)	93.67	54.38
7	20 (0)	0.25 (0)	6.0 (0)	79.42	32.57	16	20 (0)	0.25 (0)	6.0 (0)	70.56	32.71
8	40 (+1)	0.10 (-1)	6.0 (0)	90.31	85.24	17	20 (0)	0.25 (0)	6.0 (0)	75.36	31.83
9	40 (+1)	0.25 (0)	4.0 (-1)	85.75	70.76						

方程: R_1 透过率 $Y=75.37+14.76 A-2.47 B+6.81 C+3.51 AB-0.52 AC-0.95 BC-2.59 A^2+3.78 B^2+5.05 C^2$, 由表 6 可知, 该回归方程模型 $P<0.000 1$, 模型极显著, 失拟项不显著 ($P=0.880 5>0.05$), 说明模型成立。所考察的 3 个因素对 R_1 透过率影响的排序为 $A>C>B$, 通过方差分析, 乙醇体积分数 (A) 与氯化钠浓度 (B) 存在显著交互作用。

2.8.2 R_{b1} R_1 透过率与所考察因素变量的回归方程: R_{b1} 透过率 $Y=30.76+27.35 A-8.62 B+14.42 C-6.11 AB-2.48 AC-4.32 BC+8.80 A^2+4.414 B^2+12.66 C^2$, 由表 6 可知, 该回归方程模型 $P<$

$0.000 1$, 模型极显著, 失拟项不显著 ($P=0.259 4>0.05$), 说明模型成立。所考察的 3 个因素对 R_1 透过率影响的排序为 $A>C>B$, 所考察因素中乙醇体积分数 (A) 与氯化钠浓度 (B) 交互作用高度显著、氯化钠浓度 (B) 与 pH 度 (C) 交互作用显著。

2.9 响应面分析

2.9.1 R_1 拟合所考察因素的等高线图 (图 1), 其中乙醇体积分数与氯化钠浓度交互作用显著, 固定氯化钠浓度, 随着乙醇体积分数增加, 溶剂与 R_1 分子间作用力增强, 引起临界胶束浓度 (CMC) 升高, 溶液中单分子及低分子缔合态比例增加, 呈现

表 6 响应曲面二次回归模型的方差分析
Table 6 Analysis of variance of regression model

方差来源	自由度	R_1				R_{b1}			
		平方和	均方	F 值	P 值	平方和	均方	F 值	P 值
模型	9	2 412.97	268.11	37.71	<0.000 1**	9 664.98	1 073.89	99.77	<0.000 1**
A	1	1 743.75	1 743.75	245.26	<0.000 1**	5 982.54	5 982.54	555.83	<0.000 1**
B	1	48.81	48.81	6.86	0.034 4*	594.95	594.95	55.28	0.000 1**
C	1	371.15	371.15	52.20	0.000 2**	1 664.64	1 664.64	154.66	<0.000 1**
AB	1	49.35	49.35	6.94	0.033 7*	149.21	149.21	13.86	0.007 4**
AC	1	1.08	1.08	0.15	0.708 1	24.50	24.50	2.28	0.175 1
BC	1	3.63	3.63	0.51	0.498 1	74.65	74.65	6.94	0.033 7*
A^2	1	28.26	28.26	3.97	0.086 4	326.42	326.42	30.33	0.000 9**
B^2	1	60.23	60.23	8.47	0.022 6*	72.33	72.33	6.72	0.035 8*
C^2	1	107.36	107.36	15.10	0.006 0**	675.08	675.08	62.72	<0.000 1**
残差	7	49.77	7.11			75.34	10.76		
失拟项	3	6.95	2.32	0.22	0.880 5	45.01	15.00	1.98	0.259 4
纯误差	4	42.82	10.71			30.33	7.58		
总离差	16	2 462.74				9 740.32			

* $P<0.05$, 显著; ** $P<0.01$, 极显著

* $P<0.05$ significant ** $P<0.01$ highly significant

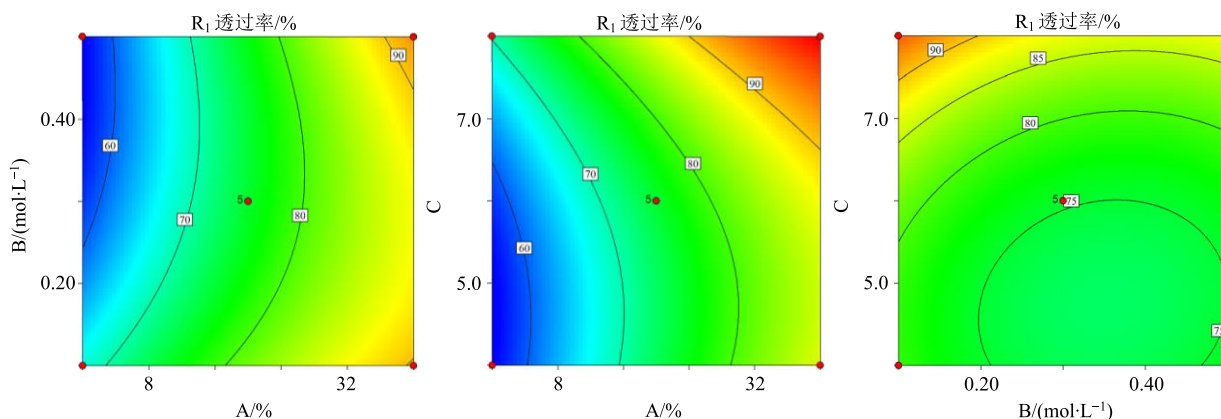


图 1 R_1 超滤分离考察因素相关性等高线图

Fig. 1 Contour maps of R_1 ultrafiltration factors

出 R_1 透过率逐步升高的趋势。乙醇体积分数与 pH 值的相关性,乙醇体积分数升高促进 R_1 透过, pH 值升高离子型表面活性剂 CMC 升高,也利于 R_1 透过。pH 值与氯化钠之间的交互行为,固定溶液 pH 值,随着氯化钠浓度增加,在“盐析作用”和“反离子效应”的综合作用下,呈现出 R_1 透过率下降。

2.9.2 Rb_1 分析考察因素对 Rb_1 透过行为影响 (图 2), 其中乙醇体积分数、氯化钠浓度交互作用

高度显著,氯化钠浓度与溶液 pH 值交互作用显著。对比考察因素对 R_1 的影响, Rb_1 透过率对考察因素的敏感度明显增加,比如 pH 6.0、氯化钠浓度 0.30 mol/L 时,乙醇体积分数由 8.0% 增加至 32.0%, Rb_1 透过率增加超过 30%。 Rb_1 为人参二醇型皂苷,其在水溶液中的亲水性弱于 R_1 , Rb_1 CMC 小于 R_1 , 所以表现出 Rb_1 透过率对考察因素变化相对灵敏。

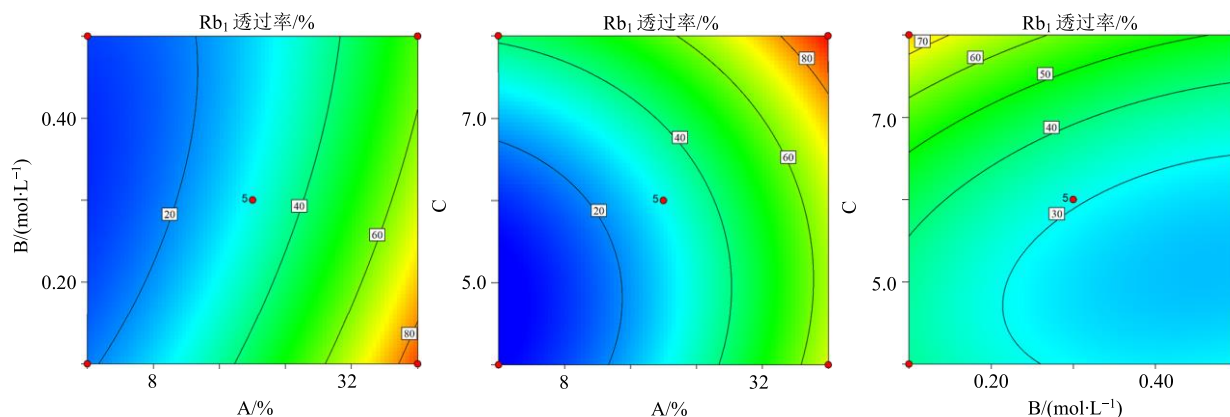


图 2 Rb_1 超滤分离考察因素相关性等高线

Fig. 2 Contour maps of Rb_1 ultrafiltration factors

3 讨论

皂苷类成分分离多采用树脂-色谱联用技术,存在分离周期长、试剂消耗高等生产现状问题。结合待分离溶液环境,发现所考察因素中对 PNS 分离行为的影响程度为乙醇体积分数 > pH 值 > 氯化钠浓度,其中人参二醇型皂苷 Rb_1 对考察因素的敏感度高于人参三醇型皂苷 R_1 ,这与皂苷类成分在溶液中存在状态以及 CMC 直接相关,因此,可以通过调节溶液环境,动态调控多组分共存的皂苷成分分离,进而采取膜联用技术或树脂-膜联用技术提升分离效率^[21]。

中药皂苷类成分在溶液中多表现出非离子型表面活性剂的特征,而结构中的羟基、羧基也带来了离子型表面活性剂性质,有机溶剂浓度增加,降低皂苷类成分分子间作用力,提高 CMC;无机盐浓度增加,“盐析效应”增强,降低 CMC; pH 值升高调节皂苷结构中酸性基团的解离,提高 CMC,因此对于溶液环境变化,需要综合分析皂苷成分存在状态与超滤分离的相关性。同时,皂苷类成分通过形成胶束降低溶液表面张力,在中药制药环节,溶液中离子、溶剂、pH 值等因素可以改变成分透过行为,但是表面张力并未明显变化,因此,以表面张力为

指标评价多组分皂苷溶液中成分存在状态的适用性偏低。

成分存在状态与其药效活性、稳定性直接相关,通过明确溶剂组成、离子效应、pH 值、表面活性剂对中药皂苷分离行为的影响,探索其存在状态与透过规律的相关性,对于阐明中药皂苷为主要活性成分的中药制剂之间、中西药之间的配伍作用规律,提供一定的基础数据支撑^[22-23]。

参考文献

- [1] 向 玥, 陈 璐, 姚 辉, 等. 人参皂苷 Rg_1 对 D -半乳糖所致衰老小鼠海马的保护机制 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3789-3795.
- [2] Liu L, Ning B B, Cui J G, et al. miR-29c is implicated in the cardioprotective activity of *Panax notoginseng* saponins against isoproterenol-induced myocardial fibrogenesis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 198: 1-4.
- [3] Zhao N N, Tang S M, Li X Y, et al. Protective effects of combination of Xuesaitong and aspirin on cerebral ischemia and reperfusion injury in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2018, 10(2): 222-229.
- [4] 徐 冰, 薛 忠, 罗 赣, 等. 基于 β -容量容忍区间的血塞通注射液近红外定量分析不确定度评估 [J]. 中草

- 药, 2015, 46(6): 832-839.
- [5] 陈明会, 苏玉霞, 罗 丹, 等. 血塞通联合尼莫地平对急性脑梗死患者认知功能的影响 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(7): 1375-1378.
- [6] 吴智刚, 朱倩桃, 梁 慧. 血塞通注射液联合脑苷肌肽治疗老年急性脑梗死的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(9): 2207-2212.
- [7] 顾佳美, 李存玉, 郑云枫, 等. 三七总皂苷胶束状态与超滤分离的相关性 [J]. 中成药, 2017, 39(8): 1608-1611.
- [8] Schwarze M, Schaefer L, Chiappisi L, *et al.* Micellar enhanced ultrafiltration (MEUF) of methylene blue with carboxylate surfactants [J]. *Sep Purif Technol*, 2018, 199: 20-26.
- [9] 李存玉, 马 赟, 陈 涛, 等. 一种适用于制药行业中快速评价超滤膜孔径的方法 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1603-1608.
- [10] 丁 菲, 李除夕, 周 颖, 等. 基于“绿色设计”理念的中药制药膜分离工艺选择原则与方法 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1759-1767.
- [11] 周 瑞, 唐志书, 武 婧, 等. 基于抗类风湿关节炎作用评价膜分离技术富集山茱萸抗炎组分的适用性 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1182-1188.
- [12] 汪 荔, 王 征, 张 娇, 等. 传统工艺与膜分离技术联合对马齿苋多糖的提取分离与抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(10): 1676-1681.
- [13] 伍利华, 黄 英, 刘 婷, 等. 陶瓷膜分离技术应用于中药口服液的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(2): 184-187.
- [14] 徐益清, 杨 辉, 罗友华, 等. 中药复方有效成分群在陶瓷膜分离过程中的迁移研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1525-1530.
- [15] Samal K, Das C, Mohanty K. Application of saponin biosurfactant and its recovery in the MEUF process for removal of methyl violet from wastewater [J]. *J Environ Manage*, 2017, 203(1): 8-16.
- [16] 赵国玺, 朱瑋瑶. 表面活性剂作用原理 [M]. 北京: 北京轻工业出版社, 2003.
- [17] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [18] Cui Q, Liu J Z, Xu W J, *et al.* Enhanced extraction and preconcentration of main target saponins from *Panax notoginseng* root using green and efficient formulated surfactant aqueous systems [J]. *J Clean Pro*, 2019, 210: 1507-1516.
- [19] Santini E, Jarek E, Ravera F, *et al.* Surface properties and foamability of saponin and saponin-chitosan systems [J]. *Colloid Surface B*, 2019, 181: 198-206.
- [20] 李存玉, 陈 琪, 刘乃榕, 等. 有机溶液环境中阿魏酸的纳滤“强化”分离行为研究 [J]. 中草药, 2018, 49(21): 5070-5075.
- [21] 李存玉, 马 赟, 刘奕洲, 等. 超滤-纳滤联用优化益母草生物碱的浓缩工艺 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 100-106.
- [22] Liu Z F, Li Z G, Zhong H, *et al.* Recent advances in the environmental applications of biosurfactant saponins: A review [J]. *J Environ Chem Eng*, 2017, 5(6): 6030-6038.
- [23] Riquelme N, Zúñiga R N, Arancibia C. Physical stability of nanoemulsions with emulsifier mixtures: Replacement of tween 80 with quillaja saponin [J]. *LWT*, 2019, 111: 760-766.