

Box-Behnken设计-响应面法优化山茱萸叶总三萜提取工艺[△]

朱登辉^{1,2*},张靖柯^{1,2},李孟^{1,2},石静亚^{1,2},刘娟娟^{1,2},魏俊俊^{1,2},郑晓珂^{1,2},冯卫生^{1,2#}(1.河南中医药大学药学院,郑州 450046;2.河南省中药开发工程技术研究中心,郑州 450046)

中图分类号 R282.4;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)01-0046-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.01.09

摘要 目的:优化山茱萸叶总三萜提取工艺。方法:在山茱萸叶充分溶胀的基础上,采用加热回流法提取其总三萜。在单因素试验中考察乙醇体积分数、液料比、提取时间和提取次数对山茱萸叶总三萜含量的影响;以齐墩果酸为对照品,采用紫外-可见分光光度法测定总三萜含量。在单因素试验的基础上,固定提取次数为3次,以总三萜含量为响应值,以乙醇体积分数、液料比、提取时间为响应因素,采用Box-Behnken设计-响应面法优化山茱萸叶总三萜的提取工艺并进行验证。结果:山茱萸叶总三萜的最佳提取工艺为乙醇体积分数73%、液料比38:1(mL/g)、提取时间60 min。3次验证试验结果显示,山茱萸叶总三萜的含量分别为6.92%、6.91%、6.84%,平均含量为6.89%(RSD=0.63%),与预测值(7.28%)的相对误差为5.36%。结论:优化的提取工艺稳定、可靠,可用于山茱萸叶总三萜的提取。

关键词 山茱萸叶;总三萜;Box-Behnken设计;响应面法;提取工艺

Optimization of Extraction Technology of Total Triterpenes from the Leaves of *Cornus officinalis* by Box-Behnken Design-response Surface Methodology

ZHU Denghui^{1,2}, ZHANG Jingke^{1,2}, LI Meng^{1,2}, SHI Jingya^{1,2}, LIU Juanjuan^{1,2}, WEI Junjun^{1,2}, ZHENG Xiaoke^{1,2}, FENG Weisheng^{1,2} (1. College of Pharmacy, Henan University of TCM, Zhengzhou 450046, China; 2. Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology for total triterpenes from the leaves of *Cornus officinalis*. METHODS: Based on the full swelling of the leaves of *C. officinalis*, total triterpenes was extracted with heating reflux method. The effects of ethanol concentration, liquid-solid ratio, extraction time and extraction times on the contents of total triterpenes from the leaves of *C. officinalis* were investigated by single factor test. Using oleanolic acid as control, the contents of total triterpenes were detected by UV spectrometry. On the basis of single factor test, fixing the times of extraction as 3 times, taking the contents of total triterpenes as response value, using ethanol volume fraction, solid-liquid ratio and extraction time as factors, Box-Behnken design-response methodology was used to optimize the extraction technology of total triterpenes from the leaves of *C. officinalis*, and the optimized extraction technology was validated. RESULTS: The optimal extraction technology of total triterpenes from the leaves of *C. officinalis* were as follows as ethanol concentration of 73%, liquid-to-material ratio of 38:1 (mL/g), extraction time of 60 min. Results of 3 validation tests showed that the contents of total triterpenes from the leaves of *C. officinalis* were 6.92%, 6.91%, 6.84%; the average content was 6.89% (RSD=0.63%), relative error of which with the predicted value (7.28%) was 5.36%. CONCLUSIONS: The optimized technology is stable and reliable, and can be used for the extraction of total triterpenes from leaves of *C. officinalis*.

KEYWORDS Leaves of *Cornus officinalis*; Total triterpenes; Box-Behnken design; Response surface methodology; Extraction process

山茱萸为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.的干燥成熟果肉,具有补益肝肾、收涩固脱的功效,可用于治疗眩晕耳鸣、腰膝酸痛等症^[1]。该药主要分布于我国河南、浙江、湖南等地^[2]。近年来,研究人员发现,山茱萸叶也有药用价值,有文献报道山茱萸叶

具有细胞毒活性和抗氧化活性^[3-5]。但是作为非传统药用部位的山茱萸叶在山茱萸果实采收过程中多作为废弃物处理,造成了药用资源的浪费。

本课题组在前期研究中发现,山茱萸叶中含有大量三萜类化合物,而三萜类化合物已知的生物活性有保肝、抗菌、降血糖、抗氧化、抗炎、调节免疫、利尿、抗病毒等^[6-13]。鉴于此,为扩大山茱萸的药用资源并对山茱萸叶进行开发,本研究以干燥的山茱萸叶为原料,采用Box-Behnken试验设计方案,通过响应面法对山茱萸叶总三萜的提取工艺进行优化,并对影响山茱萸叶总三萜

[△] 基金项目:中央引导地方科技发展专项资金资助项目(No.豫财科[2016]149号)

* 硕士研究生。研究方向:中药药效物质基础。E-mail: z18737420720@163.com

通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:中药药效物质基础。电话:0371-60190296。E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

含量的主要因素进行分析,为该药材资源的后续研究和开发利用奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

Evolution 300型紫外-可见分光光度计[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];OSB-2200型旋转蒸发仪(日本EYELA株式会社);BT 25S型电子分析天平($d=0.01$ mg,德国Sartorius公司);XMTD-6000型三用电热恒温水箱(北京市长风仪器仪表公司)。

1.2 药品与试剂

山茱萸全叶采自河南省南阳市西峡县山茱萸 GAP 种植基地,经河南中医药大学董诚明教授鉴定为真品,晒干后于阴凉干燥处保存,备用;齐墩果酸对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号: MUST-12041606,纯度: $\geq 98\%$);95%医用乙醇(卫辉市众诚消毒制剂有限公司);香草醛(分析纯,天津市光复精细化工研究所);冰醋酸(分析纯,天津大茂化学试剂厂);高氯酸(分析纯,天津政成化学制品有限公司);甲醇(色谱纯,天津四友精细化学品有限公司);乙酸乙酯(分析纯,天津富宇精细化工有限公司);水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 总三萜含量测定方法的确定

根据2020年版《中国药典》(一部)中三萜含量测定的方法与对照品的选择^[1],并结合相关文献^[14],确定本研究以齐墩果酸为对照品,采用紫外-可见分光光度法在546 nm波长处测定山茱萸叶中总三萜的含量。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品贮备液的制备 精密称取齐墩果酸对照品20.00 mg,置于25 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容,得到质量浓度为800.00 $\mu\text{g/mL}$ 的齐墩果酸对照品贮备液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取山茱萸叶,粉碎,称取粗粉5.00 g,置于500 mL圆底烧瓶中,加入70%乙醇200 mL,静置10 min使其充分溶胀。待溶胀完全后,将圆底烧瓶置于500 mL加热套中,加热至沸腾,加热回流提取30 min。提取完毕后将提取液静置、冷却、过滤除杂。滤液以水浴浓缩干燥并用70%乙醇分散后转移至50 mL量瓶中,定容,得到供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 标准曲线的绘制 分别吸取齐墩果酸对照品贮备液0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.60 mL至25 mL量瓶中,以空气泵吹干,放冷;精密加入5.0%香草醛-冰醋酸溶液(现用现配)0.80 mL、高氯酸3.20 mL,摇匀,70℃水浴加热15 min后再于冰水浴中静置5 min;取出,精密加入乙酸乙酯16.00 mL,摇匀,得到质量浓度分别为4.00、8.00、12.00、16.00、20.00、24.00 $\mu\text{g/mL}$ 的系列齐墩果酸对照品溶液。以相应试剂为空白,照2020年版《中国药典》(四部)通则0401紫外-可见分光光度法^[15],在546 nm

波长处测定各对照品溶液的吸光度。以齐墩果酸的质量浓度($y, \mu\text{g/mL}$)为纵坐标、吸光度(x)为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=0.020\ 3x+0.000\ 1$ ($R^2=0.999\ 7$)。结果表明,齐墩果酸的质量浓度在4.00~24.00 $\mu\text{g/mL}$ 内与吸光度呈良好的线性关系。

2.3.2 精密度试验 精密吸取对照品贮备液0.50 mL,置于25 mL量瓶中,按“2.3.1”项下方法操作,在546 nm波长处连续测定6次吸光度。结果,吸光度的RSD=0.08% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取“2.2.2”项下同一供试品溶液0.10 mL,按“2.3.1”项下方法“以空气泵吹干……精密加入乙酸乙酯16.00 mL,摇匀”步骤操作,室温条件下分别于显色后0、30、60、90、120、150 min时,在546 nm波长处测定吸光度。结果,吸光度的RSD=0.96% ($n=6$),表明供试品溶液在制备后室温放置150 min内稳定性良好。

2.3.4 重复性试验 精密称取山茱萸叶粗粉5.0 g,共6份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.3.1”项下方法“以空气泵吹干……精密加入乙酸乙酯16.00 mL,摇匀”步骤操作,显色后立即在546 nm波长处测定吸光度,根据标准曲线法计算总三萜含量。结果,含量的RSD=0.66% ($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.3.5 加样回收率试验 精密吸取“2.3.4”项下制备的供试品溶液(总三萜质量浓度分别为1 407.34、1 412.72、1 414.64、1 420.88、1 422.34、1 427.76 $\mu\text{g/mL}$)各0.10 mL,分置于6个25 mL量瓶中,分别加入对照品贮备液各0.20 mL,按“2.3.1”项下方法操作,测定并计算加样回收率。结果,平均加样回收率为98.8%,RSD=0.69% ($n=6$),表明该方法准确度良好。

2.4 山茱萸叶总三萜含量的测定

精密吸取供试品溶液0.20 mL至25 mL量瓶中,按“2.3.1”项下方法“以空气泵吹干……精密加入乙酸乙酯16.00 mL,摇匀”步骤操作,作为待测样品溶液。以相应试剂为空白,在546 nm波长处测定待测样品溶液的吸光度,并根据标准曲线法计算山茱萸叶总三萜的含量。

2.5 单因素试验初步筛选总三萜提取工艺

结合文献方法^[16-18]初步筛选影响总三萜含量的因素,发现乙醇体积分数、液料比、提取时间、提取次数等4个因素对总三萜含量影响较大,故以总三萜含量为指标,以乙醇体积分数(30%、50%、70%、90%)、液料比[10:1、20:1、30:1、40:1 (mL/g)]、提取时间(30、60、90、120 min)、提取次数(1、2、3、4次)为因素,在固定其余3个因素的条件下进行单因素试验,以确定各因素的优化区间,详见图1。

2.5.1 乙醇体积分数的影响 从图1A可以看出,随着乙醇体积分数的增加,山茱萸叶总三萜含量先上升后下降,在乙醇体积分数达到70%时,山茱萸叶总三萜含量

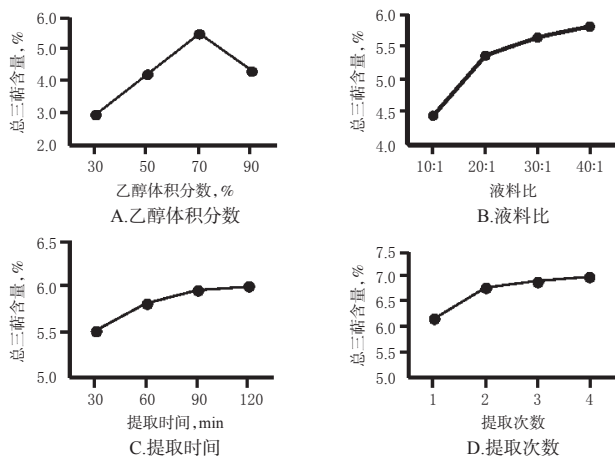


图1 各因素对山茱萸叶总三萜含量的影响

Fig 1 Effects of each factor on the content of total triterpenes from the leaves of *C. officinalis*

达到最高。笔者推测这是因为游离三萜类化合物极性小,可溶于乙醇;而三萜皂苷类化合物极性较大,易溶于热水、乙醇等。因此,当提取溶剂中含水量较大时,总三萜在提取溶剂中的溶解度受限而不能被充分提取,导致其含量降低;当提取溶剂中含水量较小时,虽因乙醇体积分数的增大而使总三萜的溶解度有所增加,但乙醇体积分数过大又可能会导致山茱萸叶的溶胀度降低,反而使总三萜含量降低^[19]。

2.5.2 液料比的影响 从图1B可以看出,随着液料比的增加,山茱萸叶总三萜含量一直呈现上升趋势,但当液料比达到30:1(mL/g)时这一上升趋势趋于平缓。笔者推测这是因为随着提取溶剂用量的增加,山茱萸叶的溶胀度也会随之增大,其中的总三萜会越来越多地进入提取溶剂,最终达到平衡;另外在总三萜溶解度不变的情况下,提取溶剂用量的增加也会使总三萜的提取总量有所增加,但是当总三萜含量达到一定程度后,药材中的总三萜已基本提取完全,再增加液料比也难以使其含量有较大的改变。

2.5.3 提取时间的影响 从图1C可以看出,随着提取时间的增加,山茱萸叶总三萜含量一直呈现上升趋势,但当提取时间达到90 min时这一上升趋势趋于平缓。笔者推测这是因为刚开始提取时,山茱萸叶可能未能够充分地溶胀,总三萜的溶出度较低;随着提取时间的增加,山茱萸叶的溶胀度逐渐增大,总三萜大量溶出;但当提取时间达到90 min左右时,药材中的总三萜已基本提取完全,其含量增加趋于平缓。

2.5.4 提取次数的影响 从图1D可以看出,随着提取次数的增加,山茱萸叶总三萜含量呈现上升趋势,但当提取次数超过3次时这一上升趋势趋于平缓。笔者推测这是因为刚开始提取时,提取溶剂能够和山茱萸叶充分地接触,故总三萜含量逐渐升高;但当提取次数增加到一定程度时,药材中的总三萜已基本提取完全,再增加提取次数也难以使总三萜含量有较大改变。

2.6 Box-Behnken设计-响应面法优化总三萜提取工艺

由单因素试验结果可以看出,山茱萸叶总三萜含量随提取次数的增加而增加,但是当提取次数达到3次时,总三萜含量随提取次数上升的幅度明显减小,此时再增加提取次数对总三萜含量的影响较小。同时,综合考虑山茱萸叶总三萜提取成本等实际生产问题,将提取次数固定为3次,并以总三萜含量(Y)为响应值,以乙醇体积分数(A)、液料比(B)、提取时间(C)等3个影响因素为响应因素,利用Design Expert 8.0.6软件设计3因素3水平的响应面试验以优化山茱萸叶总三萜的最佳提取工艺。因素与水平见表1;Box-Behnken设计及结果见表2;方差分析结果见表3。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B	C, min
-1	50	20:1	60
0	70	30:1	90
1	90	40:1	120

表2 Box-Behnken设计及结果

Tab 2 Box-Behnken design and results

试验号	A	B	C	总三萜含量, %
1	-1	-1	0	4.55
2	1	-1	0	5.81
3	-1	1	0	5.12
4	1	1	0	6.23
5	-1	0	-1	5.43
6	1	0	-1	6.17
7	-1	0	1	5.00
8	1	0	1	6.26
9	0	-1	-1	6.83
10	0	1	-1	7.08
11	0	-1	1	7.09
12	0	1	1	7.17
13	0	0	0	6.93
14	0	0	0	7.07
15	0	0	0	7.02

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis result of variance

因素	平方和	自由度	均方	F	P
模型	10.770	9	1.200	42.38	0.000 3
A	2.390	1	2.390	84.56	0.000 3
B	0.220	1	0.220	7.72	0.039 0
C	1.250×10^{-5}	1	1.250×10^{-5}	4.428×10^{-4}	0.984 0
AB	5.625×10^{-3}	1	5.625×10^{-3}	0.20	0.674 0
AC	0.068	1	0.068	2.39	0.182 4
BC	7.225×10^{-3}	1	7.225×10^{-3}	0.26	0.634 4
A ²	7.800	1	7.800	276.28	<0.000 1
B ²	0.058	1	0.058	2.07	0.209 6
C ²	0.097	1	0.097	3.42	0.123 7
残差	0.140	5	0.028		
失拟项	0.130	3	0.044	8.68	0.105 1
纯误差	0.010	2	5.033×10^{-3}		
总和	10.910	14			

$$R^2=0.987 1 \quad R_{adj}^2=0.963 8 \quad R_{pred}^2=0.805 6$$

利用 Design Expert 8.0.6 软件对试验结果进行回归拟合分析,得到山茱萸叶总三萜含量(Y)对乙醇体积分数(A)、液料比(B)、提取时间(C)的三元二次回归方程: $Y=7.01+0.55A+0.16B+1.250\times 10^{-3}C-0.037AB+0.13AC-0.043BC-1.45A^2-0.13B^2+0.16C^2$ 。从表3可以看出,失拟项 $P=0.1051$,说明残差主要由随机误差组成,对优化试验结果影响不显著;交互项 AB 、 AC 、 BC 的 P 值均大于0.05,说明其交互作用较弱; A 和 A^2 的 P 值均小于0.01,说明 A 因素对总三萜含量的影响很显著; B 的 $P<0.05$,说明 B 因素对总三萜含量的影响显著; C 的 $P>0.1$,说明 C 因素对总三萜含量的影响不显著,对于响应值 Y 的波动起次要作用。因此,因素 A 、 B 、 C 对山茱萸叶总三萜含量的影响主次顺序为: $A>B>C$,即乙醇体积分数 $>$ 液料比 $>$ 提取时间。

在其他因素不变的情况下,选取2个交互因素对山茱萸叶总三萜含量进行响应面分析,利用 Design Expert 8.0.6 软件绘制响应面图和等高线图(详见图2)。结果发现,乙醇体积分数与液料比的交互作用显著,即这2个因素的交互作用对山茱萸叶总三萜含量的影响显著;此外,乙醇体积分数与提取时间的交互作用较显著,液料比与提取时间的交互作用不显著。

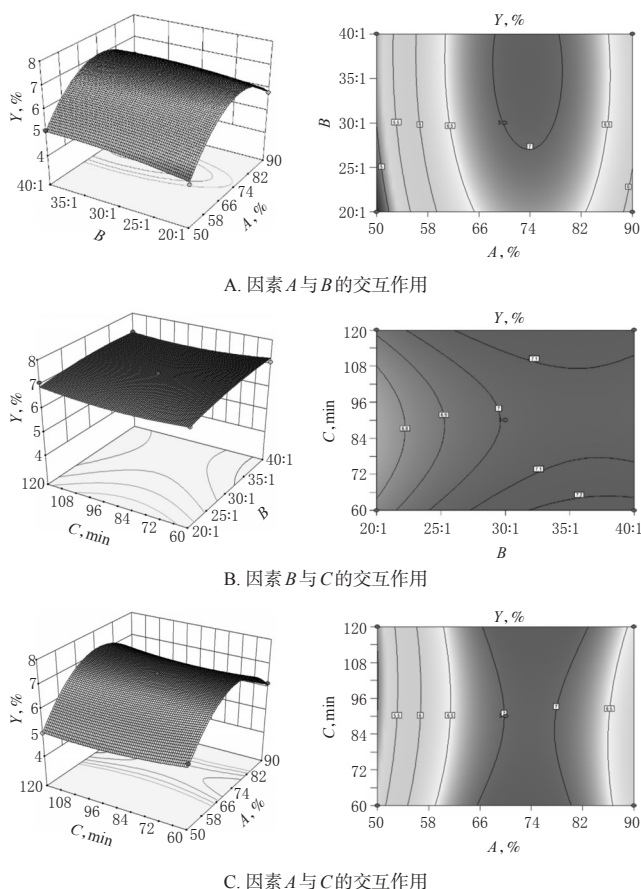


图2 各因素交互作用对总三萜含量影响的响应面图和等高线图

Fig 2 Response surface and contour plot of interactive effects on the contents of total triterpenes

由图2A可知,固定液料比时,随乙醇体积分数的升高,总三萜含量先升高后降低,在乙醇体积分数达到70%~74%时其含量达到最大值;固定乙醇体积分数时,随液料比的增大,总三萜含量变化不明显。同时,等高线沿 B 轴变化相对密集,明显密于 A 轴方向,表明乙醇体积分数对响应值峰值的影响比液料比大。由图2B可知,液料比与提取次数的交互作用不显著。固定液料比时,随提取时间的变化,总三萜含量没有明显改变;固定提取时间时,随液料比的增加,总三萜含量也没有发生明显的变化。从图2C可知,固定提取时间时,随乙醇体积分数的升高,总三萜含量先升高后降低,并在乙醇体积分数达到66%~74%时其含量达到最大值;固定乙醇体积分数时,随提取时间的增加,总三萜含量并未发生明显改变。

综合图2结果可知,乙醇体积分数对总三萜含量的影响较为显著,提取次数和液料比对总三萜含量的影响不显著。这与单因素试验结论不符。究其原因,这可能与一开始将提取次数定为3次有关。当提取次数达到一定程度时,山茱萸叶中的总三萜基本溶出完毕,这时无论是增大液料比或者是延长提取时间,所能够提取出的总三萜基本已达到峰值,所以才导致液料比与提取时间的交互作用不显著;而乙醇体积分数对山茱萸叶溶胀度的影响较大,可在一定程度上消减提取次数带来的负面影响,使得乙醇体积分数对总三萜含量仍有较为显著的影响。

2.7 最优提取工艺的确定与验证

利用 Design Expert 8.0.6 软件进行计算,得出山茱萸叶总三萜的最佳提取工艺为:乙醇体积分数72.67%,液料比38.04:1(mL/g),提取时间60 min;预测总三萜含量为7.28%。

结合生产实际,将该工艺简化为:乙醇体积分数73%,液料比38:1(mL/g),提取时间60 min。取5.00 g山茱萸叶粗粉,按照该工艺条件进行提取,平行操作3次。结果,总三萜含量分别为6.92%、6.91%、6.84%,平均含量为6.89%(RSD=0.63%),与预测值的相对误差为5.36%。

3 讨论

近年来,一直有学者进行中药非传统入药部位的开发及药用部位的扩大研究,如杜仲叶可以在某些方面代替杜仲(树皮)进行使用^[20]。山茱萸叶作为山茱萸的非传统药用部位,虽然表现出了一定的生物活性,但是少有学者对其进行研究,对山茱萸叶总三萜的研究更是鲜见。因此,笔者选用果实成熟期的山茱萸叶进行研究,旨在扩大山茱萸的入药部位,为后续山茱萸的开发奠定基础;同时,选取果实成熟期的山茱萸叶进行研究,可以与山茱萸干燥成熟果实中的总三萜含量作比较,为后续研究提供参考。

响应面法是一种综合设计试验和数学建模的优化方法,具有试验次数少、精度高、预测值精准的优点,已广泛应用于中药工艺领域^[21-22]。本研究在单因素试验的基础上,采用Box-Behnken设计-响应面法优化山茱萸叶总三萜的提取工艺,以期得到一种高效的提取方法。研究表明,乙醇体积分数对山茱萸叶总三萜含量具有显著影响,当乙醇体积分数达到70%左右时,山茱萸叶总三萜含量达到最大值。这一方面是因为水可以增加山茱萸叶的溶胀度,另一方面是因为乙醇对已溶胀的山茱萸叶中的游离三萜和三萜皂苷均有良好的溶解性,但是醇类溶剂又会降低山茱萸叶的溶胀度。综合可得,70%的含水乙醇可最大程度地将山茱萸叶总三萜提取出来。

本研究也有不足之处,如将提取次数固定为3次虽然能够最大程度地提取出山茱萸叶中的总三萜,但也使得在改变液料比或提取时间进行试验时,提取液中的总三萜含量都较为接近山茱萸叶所含总三萜总量,从而导致液料比或提取时间对总三萜含量的影响均不显著。而乙醇体积分数对山茱萸叶溶胀度的影响较大,因而其对总三萜含量仍有较为显著的影响。

综上所述,本研究选用加热回流提取法,在研究不同单因素条件对山茱萸叶总三萜含量影响的基础上,采用Design Expert 8.0.6软件进行Box-Behnken设计-响应面试验,得到乙醇体积分数、液料比、提取时间与山茱萸叶总三萜含量的回归模型,并对不同因素的交互作用与山茱萸叶总三萜含量的关系进行了响应面分析,得到各影响因素对山茱萸叶总三萜含量的影响大小为:乙醇体积分数>液料比>提取时间;所建立的回归模型较为合理,能够用于预测山茱萸叶总三萜的含量;验证值与预测值的相对误差在一个相对合理的范围,说明该优化工艺较为稳定、可靠,可用于山茱萸叶总三萜的提取。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:29、196.
- [2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1990:84.
- [3] LI YC, JING Y, WU XG, et al. Three new iridoids from leaves of *Cornus officinalis*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(8): 788-792.
- [4] 李玥彤,隋怡,郝晓伟,等.山茱萸叶多糖的理化性质和抗氧化活性[J].西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(8): 109-116、143.
- [5] 孙建瑞,赵君峰,原江峰,等.响应面法优化豫西山茱萸叶黄酮的提取及其抑菌和抗氧化活性[J].天然产物研究与开发, 2020, 32(4): 672-680.
- [6] CHIU HF, FU HY, LU YY, et al. Triterpenoids and poly-saccharide peptides-enriched *Ganoderma lucidum*: a randomized, double-blind placebo-controlled crossover study of its antioxidation and hepatoprotect efficacy in healthy volunteers[J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 1041-1046.
- [7] 常霞,景炳年,范毅,等.金银花总三萜提取工艺及其抗菌抗氧化活性[J].江苏农业科学, 2019, 47(16): 198-202.
- [8] 王婧茹,赵晶晶,叶春玲,等.番石榴叶总三萜对2型糖尿病大鼠的降血糖和血脂作用[J].中国病理生理杂志, 2012, 28(6): 1109-1113.
- [9] 王亚红,刘芮含,周明,等.瓦松总三萜成分超声提取工艺优化及抗氧化活性分析[J].基因组学与应用生物学, 2018, 37(9): 3988-3995.
- [10] 李小妹,贺君宇,李爽,等.木瓜总三萜对非甾体抗炎药诱导大鼠小肠损伤的保护作用及机制研究[J].中药药理学与临床, 2018, 34(5): 55-60.
- [11] 崔仙红,张鹏,朱笛.茯苓三萜类化合物药理活性研究进展[J].中国药物经济学, 2019, 14(12): 123-125.
- [12] ZHANG X, LI XY, LIN N, et al. Diuretic activity of compatible triterpene components of *Alismatis rhizoma*[J]. *Molecules*, 2017. DOI: 10.3390/molecules22091459.
- [13] 刘美红,李帅岚,张莲,等.女贞属植物的化学成分和药理活性研究进展[J].中草药, 2020, 51(12): 3337-3348.
- [14] 洪赫彤,楚东海,孙洋洋,等.响应面法优化瓜蒌子中总三萜类成分含量测定的方法研究[J].辽宁中医杂志, 2019, 46(4): 799-802.
- [15] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社, 2020: 39-40.
- [16] 魏磊,李晓,王学方,等.紫苏叶总三萜超声提取工艺优化及对10种常见致病菌的抑菌作用研究[J].中国药房, 2018, 29(16): 2193-2197.
- [17] 段丽萍,孙炜炜,苗丽坤,等.艾叶总三萜的提取工艺优化及其抑菌活性[J].现代食品科技, 2020, 36(5): 88-95.
- [18] 檀琪,阮文辉,杨官娥,等.响应面法优化桦褐孔菌总三萜回流提取工艺[J].山西医科大学学报, 2020, 51(1): 99-104.
- [19] 李晓斌,陈振斌,杨旸,等.响应面分析法优化槐叶中黄酮类化合物的提取工艺[J].中国药房, 2015, 26(7): 960-964.
- [20] 郭姝,刘杰,李娜,等.指纹图谱结合一测多评法评价杜仲叶代替杜仲皮的可行性[J/OL].中药材, 2020. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2020.04.022.
- [21] 李莉,张赛,何强,等.响应面法在试验设计与优化中的应用[J].实验室研究与探索, 2015, 34(8): 41-45.
- [22] 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.

(收稿日期:2020-06-29 修回日期:2020-09-11)

(编辑:胡晓霖)