中加工出来的一定数量的药材为一批。严格按照以下要求进行生产操作管理:①生产区域专一:在同一区域中只生产一种规格的产品(包括同一规格产品的不同批号)②状态标志明确:每一生产操作间、生产设备、盛物容器均指明正在加工的药材品名、规格、批号及数量等状态标志,以防止由于标志不明造成混药事故的发生。③严格的清场管理:每批产品的每一加工阶段完成后则对生产操作的整个区域、生产设备进行清场,并填写清场记录。清场后由质管部专人检查合格后,发给清场合格证,这样做的目的是为防止混药事故的发生,防止药材之间的交叉污染。

5 药学人员的配备和较高的人员素质

新内田大部分职员都是从天津力生制药股份有限公司调入,而新增人员主要是天津市药科中等专业学校的毕业生。因此,在药品质量意识和 GMP 意识方面相对来说具有有利条件。但该公司注重对人员的培训和考核,尤其是对现

场操作人员的培训,除了每周 1 h 的全员培训,还有针对个别操作人员的特殊培训。培训内容既有《药品管理法》方面,也有熟悉产品工艺,提高加工技能方面。由于购进的中药材原料中,不可避免地有混有异物或其他药材的现象,因而该公司对加强中药材外观鉴别的培训更为重视。例如,在野生柴胡中常混有黄芩。该公司在柴胡加工过程中,对柴胡切前、切制第一工序后,以及半成品分别共进行 3 次人工手选,以尽可能排除原有的混药现象,进而将高质量的药材加工品提供给市场。

6 结语

中药材加工是整个中药产业链中一个最基础的环节。可以说,如果中药材加工没有严格的质量保证体系,不实施 GMP 管理,那么整个中药产业的现代化就无从谈起,中药产品的质量也得不到相应的保证。从源头抓起,对中药材加工实施现代化管理,是中药现代化、中药国际化的必备条件。

微波协助萃取技术在现代中草药生产中的应用

许晓菁, 闻建平, 毛国柱

(天津大学化工学院 生物化工系, 天津 300072)

中草药是我国传统医学的瑰宝,随着现代医药的快速发展以及全球经济一体化进程的加速,尤其是我国已加入 WTO,中草药面临的挑战越来越严峻。而中草药作用机制不明确,生产过程不易控制,有效成分不确定,杂质含量过高等缺陷限制了中草药生产的进一步发展及其国际化进程。

要使我国的中草药在日益激烈的国际竞争中立于不败之地,必须用高新技术对中草药生产过程进行改造,走现代化、国际化之路。萃取是中草药精制过程的关键,主要用于有效成分的提取和杂质的去除。本文主要介绍微波协助萃取技术的原理、特点、操作影响因素以及在中草药生产中的应用。

微波协助萃取是在传统的有机溶剂萃取基础上发展起来的一种新型萃取技术。自从 20 世纪 50 年代微波在各个领域得到应用,其中一个诱人的应用就是利用微波提取天然产物,微波协助萃取技术由此而产生。应用微波协助萃取中草药中有效成分,可以克服传统萃取方法本身固有的种种缺陷,表现出良好的发展前景和巨大的应用潜力。

1 微波协助萃取的原理

微波是波长介于 $1\text{ mm} \sim 1\text{ m}$ (频率介于 $3 \times 10^6\text{ Hz} \sim 3 \times 10^9\text{ Hz}$) 的电磁波,微波在传输过程中遇到不同的物料,依物料性质不同而产生反射、穿透、吸收现象。极性分子接受微波辐射能量后,通过分子偶极以每秒数十亿次的高速旋转产生热效应。不同物质的介电常数、比热、形状及含水量的不同,将导致各种物质吸收微波能的能力的不同^[1]。

微波协助萃取过程中,微波透过对微波透明的萃取剂到达植物物料内部,由于物料的维管束和腺胞系统含水量高,故而吸收微波能很快升温,使细胞内部的压力增大。当内部压力超过细胞壁可承受的能力时,细胞壁破裂,于是位于细胞内的有效成分自由流出,进入萃取剂而被溶解。过滤除去残渣,即可达到萃取的目的。

2 微波协助萃取的特点

由于微波协助萃取可对体系中的一种或几种组分进行选择加热,故可使目标组分直接从基体分离,而周围的环境温度却不受影响。与传统的萃取方法相比,微波协助萃取具有以下特点:(1)快速;(2)不必像其他方法那样进行干燥等预处理,简化工艺,减少投资;(3)节省能源,降低人力消耗;(4)降低溶剂用量,从而降低排污量,改善环境条件并减少投资;(5)选择性好,从而产品纯度提高,产品质量得以改善;(6)微波协助萃取可在同一装置中采用两种以上萃取剂分别萃取或分离所需成分,从而降低工艺费用;(7)可避免长时间高温引起样品分解,从而利于萃取热不稳定物质。

与超临界萃取比较,微波协助萃取的仪器设备比较廉价,且适应面广,较少受被萃取物极性大小的影响(超临界萃取目前难以用来萃取极性较强的物质)。

3 微波协助萃取的参数及其影响因素

微波协助萃取操作过程中,萃取参数包括萃取溶剂、萃取功率和萃取时间。影响萃取效果的因素很多,如萃取剂、微

波剂量、物料含水量、温度、时间及溶剂 pH 等。Guo^[2] 认为, 萃取剂、微波作用时间、温度、操作压强对萃取效果影响较大, 其中萃取剂是首要的影响因素。在 5~50 L/kg 时, 溶剂的体积和样品重量的比不是重要的影响因素。

3.1 萃取剂的选择: 在微波协助萃取中, 应尽量选择对微波透明或部分透明的介质作为萃取剂, 也就是选择介电常数较小的溶剂, 同时要求萃取剂对目标成分要有较强的溶解能力, 对萃取成分的后续操作干扰较少。当欲提取物料中不稳定或挥发性的成分时, 如中药中的精油, 宜选用对微波射线高度透明的溶剂; 若需除去此类成分, 则应选用对微波部分透明的萃取剂, 这样萃取剂可吸收部分微波能转化成熟, 从而驱除或分解不需要的成分^[3]。

目前微波协助萃取剂有: 甲醇、丙酮、乙酸、二氯甲烷、正己烷、苯等有机溶剂和硝酸、盐酸、氢氟酸、磷酸等无机溶剂以及己烷-丙酮、二氯甲烷-甲醇、水-甲苯等混合溶剂, 对同一种待处理物料, 不同的萃取剂其提取效果往往差异较大。在微波萃取法去除除草剂三嗪农药残留的研究中发现, 乙腈-水 (70:30), 二氯甲烷-水 (50:50), 二氯甲烷-甲醇 (90:10) 3种混合溶剂在同样的操作条件下, 以二氯甲烷-甲醇体系的萃取效果为最好^[4]。

国外有人^[5] 报道萃取剂的用量因物料不同而有较大变动, 一般萃取剂与物料之比 (L/kg) 在 1:1~20:1。

3.2 试样中水分或湿度的影响: 水是介电常数较大的物质, 可以有效地吸收微波能转化为热能, 所以植物物料中含水量的多少对萃取率的影响很大。另外含水量的多少对萃取时间也有很大影响。

国外有人^[5] 以异辛烷-乙腈 (1:1) 为萃取剂, 5次 30 s 反复提取为优化条件从植物中微波萃取除去有机氯杀虫剂农药残留, 不仅能得到较高的去除率, 而且没有化合物分解。同时表明, 样品水分为 15% 时效率最高。

也有研究^[6] 表明: 以丙酮-正己烷和二氯甲烷 (1:1) 为萃取剂从植物中微波萃取 PAHs 时, 试样中小于 20% 的水分使丙酮-正己烷的萃取能力提高, 而水分高于 5% 则使二氯甲烷的萃取能力有所降低。

3.3 微波剂量的影响: 在微波协助萃取过程中, 所需的微波剂量的确定应以最有效地萃取出目标成分为原则。一般所选用的微波功率在 200~1000 W, 频率 $2 \times 10^3 \sim 3 \times 10^5$ MHz, 微波辐照时间不可过长。

3.4 溶剂 pH 值的影响: 有文献报道^[7] 微波萃取去除植物中除草剂三嗪农药残留时, pH 值对去除率的影响。结果表明: 当溶剂的 pH 值介于 4.7~9.8 时, 三嗪农残的去除率最高。

3.5 萃取时间的影响: 一般微波协助萃取辐照时间在 10~100 s。对于不同的物质, 最佳萃取时间不同。连续辐照时间也不可太长, 否则容易引起溶剂沸腾, 不仅造成溶剂的极大浪费, 还会带走目标产物, 降低产率^[8]。

3.6 其他因素的影响: 温度、基体物质等因素对萃取的效率以及溶剂回收率也有不同程度的影响, 最佳条件的选择应据

处理物料的不同而有所不同。

4 微波协助萃取的操作及设备

微波协助萃取操作一般包括以下步骤^[3]: (1) 将物料切碎, 使之更充分地吸收微波能。(2) 将物料与适宜的萃取剂混合, 置于微波设备中, 接受辐照。这是关键性的一步。(3) 从萃取相中分离除去残渣。(4) 获得目标产物。若萃取相需离析, 可采用反渗透、色层分离等方法离析获得所需组分; 若萃取物可直接使用, 则无需除去萃取剂。

微波协助萃取设备一般要求为带有功率选择, 有控制温度、压力、时间附件的微波制样设备。一般由聚四氟乙烯材料制成专用密闭容器作为萃取罐, 它不仅能够允许微波自由通过, 而且具有耐高温高压、不与溶剂反应的优点。

5 应用实例

微波协助萃取具有快速、高效、高度选择性、不受环境影响等特点, 决定了此项技术很适合于中草药有效成分的提取。现在国内外已有许多应用微波协助萃取技术从中草药中成功提取有效成分的文献报道。以薄荷精油和蒜油的提取^[2] 为例, 说明微波协助萃取技术在中草药生产中的应用。

将新采集的薄荷碎成约 1 cm 大小, 取 3份各 100 g 分别置于开口容器中, 各加入 250 mL 己烷 (介质常数 1.9, 对微波是透明的), 充分浸润, 进行微波辐照萃取。所用的微波功率 625 W, 频率 2450 MHz, 辐照时间 40 s。滤去残渣, 真空蒸发己烷萃取物, 得到薄荷精油, 己烷可重复使用。薄荷精油的得率分别为 0.474%, 0.343% 和 0.296%。得率的差异归因于物料的含水量不均, 进料的含水量约 80%。大蒜含水量 30%, 切碎成 1 cm 大小。取样 100 g, 注入 250 mL 二氯甲烷, 充分浸润, 微波辐照 30 s, 功率 625 W, 频率 2450 MHz。

蒜油是极不稳定的有机硫化物, 常温下 (20℃) 经 20 h 几乎全部降解, 受热分解更快。以微波协助萃取得到的成分再现性好, 产品质量均一。另外, 微波萃取所用的时间仅为水蒸气蒸馏法的 1/240。

6 展望

我国具有中草药应用的悠久历史, 拥有丰富的中草药资源。长期以来, 传统萃取技术的缺陷限制了人们对中草药的药理、药效等重要问题的理解和把握, 同时造成了中草药质量难以控制, 疗效不稳定, 实验结果重现性差等。要使中草药满足现代医药学的要求, 全面进入国际市场, 必须走中药生产的现代化、国际化和高科技之路。微波协助萃取技术是提取中草药中的有效成分和去除农残的有效手段之一, 不仅具有很高的经济效益, 而且有望改变中药传统服用方式。

目前, 虽然国内外微波协助萃取技术的研究才刚刚起步, 但其发展非常迅速, 已成为当前和今后新型提取技术研究的热点之一。随着我国中草药资源开发的进一步深化和国际交流的进一步扩大, 必将为微波协助萃取技术提供更好的发展契机, 而相关的微波技术和新型萃取技术的发展无疑会给微波协助萃取技术的研究注入新的活力, 并提出新的研究课题。

参考文献:

- [1] Pare J R J, Belanger J M R, Stafford S S. Microwave-assisted process (MAPTM): a new tool for the analytical laboratory [J]. Trends in Anal Chem, 1994, 13(4): 176
- [2] Guo Z K, Jin Q H, Fan G Q, et al. Microwave-assisted extraction of effective constituents from a Chinese herbal medicine *Radix pueraride* [J]. Analytica Chimica Acta, 2001(436): 41.
- [3] 缪宏良. 微波辐射诱导萃取天然香料 [J]. 上海轻工业, 1994, (1): 29-32.
- [4] Molins C, Hogendoorn E A, Heusinkveld H A G, et al. Microwave assisted solvent extraction (MASE) for the efficient determination of triazines in soil samples with aged residues [J]. Chromatographia, 1996, 43(9-10): 527-532.
- [5] Onuska F E, Terry K A. Extraction of pesticides from Sediments using a microwave technique [J]. Chromatographia, 1993, 36: 191-194.
- [6] 熊国华, 梁今明, 邹世春, 等. 微波萃取土壤中 PAHs 的研究 [J]. 高等学校化学学报, 1998, 19(10): 1560-1565.
- [7] Xiong G H, Tang B Y, He X Q, et al. Comparison of microwave-assisted extraction of triazines from soils using water and organic solvents as the extractants [J]. Talanta, 1999, 48(2): 333-339.
- [8] 郝金玉, 黄若华, 王平艳, 等. 微波萃取除虫菊酯 [J]. 精细石油化工, 2001(2): 48.

蝎毒抗癌多肽的研究进展

张文萍

(天津市医药科学研究所, 天津 300070)

蝎毒抗癌多肽 (antineoplastic polypeptide from *Buthus martensii venom*, APBMV) 是从东亚钳蝎蝎毒中提取分离的抗肿瘤有效部位, 对人食管癌、胃癌、喉癌、鼻咽癌及直肠癌癌细胞株等有显著的细胞杀伤和细胞毒性作用, 对肝癌、肺癌等有确切的疗效。目前该项研究越来越深入并从 APBMV 中又分离出单一成分蝎毒抗癌多肽组分 III (antineoplastic polypeptide-III from APBMV, AP-III), 纯度达 95%, 毒性较 APBMV 强约 16%, 具有抑制 H₂ 生长的作用, 高剂量的 AP-III 可增加带瘤小鼠胸腺重量, 提高机体的免疫功能。

1 蝎毒抗癌多肽的提取分离

蝎毒抗癌多肽^[1]是河南医科大学生物毒素中心利用分子筛层析技术从东亚钳蝎粗蝎毒中分离出的抗肿瘤有效部位, 其相对分子质量在 6 000~7 000 之间。孔天翰等^[2]对该部位用 HPLC 仪进行检测发现有 4 个峰, 说明 APBMV 并不是一个单一成分的多肽, 而是由 4 组多肽组成并带有不同电荷或电量的 APBMV。郭进武等^[3]对 APBMV 进行了分离纯化条件的摸索, 选用 Sepharose FF 强阳性离子交换凝胶, 通过改变柱长和流速, 可得到不同的蝎毒样品。当选择柱长 25 cm, 直径 5 cm, 流速 0.2 mL/min 时出现有 3 个峰, 得到 APBMV, AP-III 纯度为 83% 且峰形低平; 当流速为 0.5 mL/min 时, 分离出 4 个峰, AP-III 纯度为 85%; 流速为 1.0 或 0.8 mL/min 时, 可得到 6 个峰, 纯度为 89%, 研究表明流速为 1.0 或 0.8 mL/min 是最佳的分离条件。孔天翰等^[4]探讨了 AP-III 的分离和纯化方法, 将蝎毒预处理后, 分别采用 Sephadex FF 阳性离子交换凝胶柱层析法和 Sepharose FF 阳性离子交换凝胶柱与 Sephadex G-50 凝胶柱联合层析法, 从 APBMV 中分离 AP-III, 用 HPLC 仪检测两种方法分离出的 AP-III 的纯度及产量。结果表明: 前者的分离纯度及产量与郭进武等人的分离结果相同。而后的分离结果比前者的效果好, 其产率为 4.72%, 纯度为 95%。

2 蝎毒抗癌多肽的热稳定性

近年来研究显示生物毒素主要由多种肽类物质所组成, 其活性及毒力与温度有密切关系。随着温度的升高, 加热时间的延长, 毒素的毒力逐渐下降, 直至完全失活^[5]。APBMV 对热是否稳定引起了专家的关注, 孔天翰等^[6]利用紫外分光光谱、聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定了 APBMV 粉针剂的热稳定性, 结果显示 50℃~80℃ 范围内随着加热时间延长, 在波长 280 nm 处吸光度逐渐升高, 聚丙烯酰胺凝胶电泳主色带逐渐变浅, 但 pH 值、水溶性及外观色泽无明显变化。朱心强等^[7]报道新鲜蝎毒煮沸 30 min, 其毒性基本未见破坏, 即使煮沸 120 min, 其 LD₅₀ 升高 1 倍左右, 仍有明显的毒性。两者研究结果基本一致, 由此可见蝎毒及其注射剂在常压下煮沸不易破坏。据上述结果, 注射用 APBMV 粉针剂在 4℃ 密闭、暗处储藏的情况下, 其保质期可暂定为 5 年^[6]。

3 蝎毒抗癌多肽的药理研究

3.1 蝎毒抗癌多肽抑瘤作用: 蝎毒抗癌多肽对多种肿瘤均有抑制作用^[1, 8], 尤对食管癌 (Eca109) 细胞株、人喉癌 (Hep-2) 细胞株及人直肠癌 (C1184) 细胞株有显著的细胞杀伤和细胞毒性作用; 明显延长腹腔接种艾氏腹水癌小鼠的生存期; 抑制小鼠肉瘤 37(S37) 的生长; 并可提高小鼠的细胞免疫功能, 连续注射 91 d APBMV, 对重要器官没有损害作用。董伟华等^[9]以 APBMV 不同浓度处理 4 种肿瘤细胞 (人早幼粒细胞白血病细胞株 HL-60 人肝癌细胞株 SMMC-7721 人低分化鼻咽上皮癌细胞株 CNE-2Z 和人胃癌细胞株 MGC-803), 结果 APBMV 均有显著的细胞毒性和生长抑制作用。APBMV 对 HL-60 细胞的生长抑制作用以 48 h 为显著, 还可显著抑制 SMMC-7721 细胞的集落形成。另外 APBMV 对小鼠肝癌 H₂ 和小鼠黑色素瘤 B₁₆ 均有明显的抑制作用, 抑制率均大于 30%, 与对照组相比差异显著 ($P < 0.001$); APBMV 在高、中、低 3 个剂量组对 B₁₆ 具有显著的抑制作用, 其