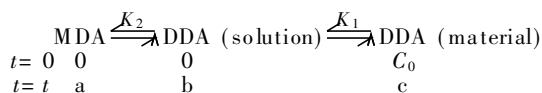


为讨论方便,可以近似认为煎煮过程中只发生 MDA 的溶出、脂碱的溶出和 DDA 的溶出及水解反应 3 种情况,下面以 DDA 为例列出平衡方程。



$$c = C_0 - a - b \quad K_2 = \frac{b}{a} \quad K_1 = \frac{C_0 - a - b}{b}$$

$$K_1 K_2 = \frac{C_0 - a - K_2 a}{a}$$

$$a = \frac{C_0}{K_2 + K_1 K_2 + 1} = \frac{1}{K_2(1 + K_1) + 1} C_0 \quad (1)$$

$$b = \frac{K_2}{K_2(1 + K_1) + 1} C_0 \quad (2)$$

$$c = \frac{K_1 K_2}{K_2(1 + K_1) + 1} C_0 \quad (3)$$

上式中设 C_0 为 DDA 的初始浓度,即附子中的 DDA 全部溶解且不发生水解反应的理论浓度,未加热时, $t=0$; 加热 t 时间后,煎煮液中苯甲酰单酯型生物碱、双酯型生物碱和药材组织中未煎出的双酯型生物碱浓度分别为 a , b 和 c 。固定投药量和最后的煎煮体积,则 C_0 为定值。如果已知双酯型乌头碱的溶出平衡常数 K_1 和水解平衡常数 K_2 ,则可推导出 t 时刻 a , b 和 c 的值。调整 K_1 、 K_2 的值,还可以用以上平衡表示单酯型生物碱和脂碱的溶出过程。

但因为复方体系和煎煮过程非常复杂,即使单一生物碱的 K_1 和 K_2 的精确值也很难确定,对每种组分都确定出其 K_1 和 K_2 难度更大。但可以根据组分是否易溶出和是否稳定估计平衡常数的值进行半定量分析。如果生物碱容易溶出和水解,则 K_1 和 K_2 的值都很小,根据以上公式, c 值将很小, b 次之, a 最大,这种情况对 MA 和 AC 适用;如果生物碱容易溶出但较难水解,则 K_1 小,但 K_1 和 K_2 较大, b 和 c

的值将增加, a 减小,这对 HA 适用;如果生物碱不易溶出, K_1 较大,这适用于脂碱,结合图 3 和公式 (3),还可以推测脂碱应不易水解,否则平衡将向左移动。可见,附子中生物碱在复方中的变化可半定量地表示出来,这对理解煎煮过程中的平衡非常有益。

References:

- [1] Chu M Q, Gu H C, Liu G J. Effect of temperature on concentration of active components extracted from medicinal herb [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(1): 22-23.
- [2] Li Y R, Zheng Q. Simulation and optimization of herb extraction process [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(7): 399-401.
- [3] Stefanowicz P, Prasain J K, Yeboah K F, et al. Detection and partial structure elucidation of basic taxoids from *Taxus wallichiana* by electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2001, 73(15): 3583-3589.
- [4] Kitagawa I, Yoshikawa M, Zhou L C, et al. Four new lipophilic alkaloids from *Aconiti tuber* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30: 758-761.
- [5] Ito K, Ohyama Y, Konishi Y, et al. Method for the simultaneous determination of aconitine alkaloids and their hydrolysis products by gas chromatography-mass spectrometry in human serum [J]. *Planta Med*, 1997, 63: 75-79.
- [6] Xu Y J, Song F R, Zhao H F, et al. Studies on antishock effect of active constituents in Renshen Sini Decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(5): 392-394.
- [7] Wang J Z, Han G Y. Study on alkaloids in *Aconitum carmichaeli* Debx. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1985, 20(1): 71-73.
- [8] Wang Z J, He S J, Xu S Q. Determination of aconitine alkaloids in *Aconitum* plants and related Chinese patent medicines by liquid chromatography/mass spectrometry/mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2001, 29(4): 391-395.
- [9] Zhang Y Z, Ding C X, Liu J Q, et al. Studies on chemical constituents of Zhentong Decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 32(2): 106-109.
- [10] Peng C S, Wang F P. Advances in chemistry of norditerpenoid alkaloid. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35(12): 932-938.

均匀设计优选微波辅助萃取何首乌中有效成分的研究

王娟^{1,2}, 沈平², 沈永嘉^{1*}

(1. 华东理工大学化学与制药学院, 上海 200237; 2. 国家中药制药工程技术研究中心, 上海 201203)

摘要: 目的 研究微波辅助萃取何首乌的提取工艺。方法 以总蒽醌和 2,3,5,4'-四羟基二苯乙炔-2-O-β-D-葡萄糖苷(二苯乙炔苷)的含量为指标,通过均匀设计的方法,采用连续微波辐射方法进行微波萃取工艺的优化。结果 微波功率、微波辐射时间、溶剂浓度、溶剂用量、原料浸泡时间对何首乌中有效成分的提取具有交互作用,优选出的最佳工艺条件为:微波功率 340 W、微波辐射时间 10 min、溶剂乙醇浓度 95%、固液比为 1:5、浸泡时间 1 h。结论 通过验证实验表明,所建立的数学模型是合理的。

* 收稿日期: 2002-08-13

基金项目: 国家重点科技攻关项目(99-929-02-14)

作者简介: 王娟(1966—),女,副教授,在读博士,研究方向为中药的研究与开发。

Tel: (021) 50801190 E-mail: jwang@necm.tcm.com

关键词: 何首乌; 二苯乙烯苷; 微波辅助萃取; 均匀设计

中图分类号: R284. 2; R286. 02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)04-0314-04

Study on optimization of microwave-assisted extraction process for active ingredients in *Radix Polygoni Multiflori* with uniform design

WANG Juan^{1,2}, SHEN Ping-niang², SHEN Yong-jia¹

(1. Institute of Chemistry and Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;

2. National Engineering Research Center for TCM Pharmaceuticals, Shanghai 201203, China)

Abstract: **Object** To study the microwave-assisted extraction process of *Radix Polygoni Multiflori*.

Methods Using the uniform design, the optimization process of microwave-assisted extraction for total anthraquinones and 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside in *Radix Polygoni Multiflori* was gained by continuous microwave radiation. **Results** Some parameters, such as microwave power, radiation time, solvent concentration, solvent consumption and dipping time had interactions to the extraction of active ingredients in *Radix Polygoni Multiflori*. The best optimization process was obtained as following: 340 W as the microwave power, 10 min as the radiation time, 95% ethanol as the solvent, 1:5 as the proportion of solid to liquid and 1 h as the dipping time. **Conclusion** The established models were proved to be reasonable by the verified experiment.

Key words: *Radix Polygoni Multiflori*; stilbene glucoside; microwave-assisted extraction; uniform design

何首乌系蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根, 是经典的补药, 始载于《神农本草经》, 列为上品。临床应用有生首乌、制首乌之别。研究表明, 其有效成分包括以大黄酚、大黄素、大黄酸、大黄素甲醚为主的蒽醌类成分及 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(简称二苯乙烯苷)等。其中蒽醌类成分能解毒、消痈、润肠通便, 而二苯乙烯苷具有明显的降低胆固醇和保肝作用^[1, 2]。

长期以来, 提取何首乌中的有效成分一直停留在传统乙醇回流方式上, 该法不仅加热时间长, 而且需要消耗较多的溶剂。本实验则采用一种新的提取工艺——微波辅助萃取法, 该法具有溶剂用量少、萃取时间短等优点。通过均匀设计考察微波功率、微波辐射时间、溶剂用量、浸泡时间等参数对提取效果的影响, 以何首乌中的总蒽醌和二苯乙烯苷为指标, 确定了微波辅助萃取何首乌的最佳工艺条件。

1 材料及仪器

生首乌(产地河南)由上海浦东新区养和堂饮片厂提供, 经上海中药研究所鉴定, 符合《中华人民共和国药典》规定, 为蓼科植物何首乌 *P. multiflorum* Thunb. 的干燥块根。

1, 8-二羟基蒽醌对照品和二苯乙烯苷对照品均购自中国药品生物制品检定所, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

美国 Waters 510 高效液相色谱仪, PDA 检测

器, Millennium³² 色谱工作站; UV-2102PCS 型紫外可见分光光度计。微波萃取器由 Whirlpool 家用微波炉改造而成, 具有常压回流装置。

2 方法与结果

2.1 分析方法

2.1.1 紫外分光光度法^[3]: 标准曲线的制备: 精确称取 1, 8-二羟基蒽醌对照品 4 mg, 用氯仿定容于 25 mL 容量瓶中。准确吸取 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 mL 到 10 mL 容量瓶中, 挥干溶剂。加 5% 醋酸镁甲醇液 5 mL, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 于 510 nm 处测定。以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 得回归方程 $Y = 0.01534 + 4.274X$, $r = 0.9998$ 。线性范围为 3.2~25.6 μ g/mL。

样品测定方法: 精密称取何首乌干浸膏 0.3 g 于圆底烧瓶中, 加 10 mL 30% 硫酸, 用氯仿在水浴上回流 3 次(每次 30 mL, 分别用时 2 h, 30 min, 30 min), 每次回流后小心吸出氯仿层, 合并氯仿层于分液漏斗中, 用适量的水洗涤后移至 100 mL 量瓶中, 加氯仿至刻度, 摇匀。精密量取 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 挥干氯仿, 残渣加 5% 醋酸镁甲醇溶液 5 mL 使溶解, 再用甲醇稀释至刻度, 摇匀。于 510 nm 处测定吸光度值, 据回归方程即可计算出以 1, 8-二羟基蒽醌计的何首乌总蒽醌的含量。

2.1.2 HPLC 法^[4]: 色谱条件: Kromasil 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 150 mm, 3.5 μ m); 流动相: 乙腈-水 (25:75); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 检测波

长: 320 nm。

标准曲线的制备: 精密称取二苯乙烯苷对照品 5 mg 于 25 mL 容量瓶中, 用稀乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。分别进样 2, 4, 8, 12, 16, 20 μ L 测定峰面积。以对照品进样量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为 $Y=1.807\,02\times 10^5+3.204\,39\times 10^6X$, $r=0.999\,7$, 线性范围为 0.4~4 μ g。

样品溶液制备及含量测定: 将微波萃取工艺所得的干浸膏样品, 各精密称取 30 mg, 用稀乙醇溶解并定容于 25 mL 容量瓶中, 在上述色谱条件下, 分别进样 10 μ L, 由回归方程计算二苯乙烯苷的含量。

2.2 微波萃取方法与优化

2.2.1 均匀设计与选表: 采用连续微波照射的微波萃取工艺, 分别将微波功率、微波辐射时间、溶剂浓度、溶剂用量、原料浸泡时间对微波辅助萃取何首乌中有效成分的综合影响进行考察。采用均匀设计 4.0 版软件筛选出 $U_{10}(10^8)$ 表安排试验, 因素与水平列于表 1, 实验设计及结果列于表 2。

表 1 因素与水平
Table 1 Factors and levels

水平	因 素				
	X_1 微波 功率/W	X_2 辐射 时间/min	X_3 浸泡 时间/h	X_4 乙醇 浓度/%	X_5 乙醇 用量/倍
1	170	10	1	55	4
2	340	20	2	65	6
3	510	30	3	75	8
4	680	40	4	85	10
5	850	50	5	95	12

表 2 试验设计及结果
Table 2 Test design and result

实验号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	浸膏得 率 Y_1 /%	总蒽醌含 量 Y_2 /%	二苯 乙 烯 苷 含量 Y_3 /%
1	1	2	2	3	5	6.14	0.27	3.64
2	1	3	4	5	4	1.59	0.54	4.61
3	2	5	1	2	3	14.33	0.13	3.37
4	2	1	3	5	2	2.18	0.64	7.92
5	3	2	5	2	1	10.31	0.21	5.61
6	3	4	1	4	5	7.78	0.22	3.79
7	4	5	3	1	4	15.77	0.096	4.34
8	4	1	5	4	3	4.75	0.38	5.92
9	5	3	2	1	2	11.41	0.089	3.13
10	5	4	4	3	1	10.30	0.21	5.36

2.2.2 工艺条件优化: 将测定结果采用均匀设计 4.0 版软件中自选变量法进行数据分析, 结果如下:

$Y_1=0.696\,246+0.394\,856X_1X_4+0.062\,176X_2^2+0.373\,197X_3X_5-0.705\,024X_4^2-0.163\,872X_4X_5$, 复相关系数 $R=0.990\,7$ 。

$Y_2=0.588\,934+0.527\,512X_1X_5-0.113\,137$

$X_2X_3+0.431\,366X_2X_5+0.161\,626X_3X_4-0.617\,762X_4^2-0.416\,626X_5^2$, 复相关系数 $R=0.997\,9$ 。

$Y_3=0.527\,126-1.172\,96X_1+1.376\,99X_1^2+0.658\,854X_1X_4-0.720\,959X_2X_3-0.282\,465X_5^2$, 复相关系数 $R=0.997\,6$ 。

根据回归方程, 求出最优组合, 并在此基础上进一步进行综合分析, 得出综合最优组合: $X_1=340$, $X_2=10$, $X_3=1$, $X_4=95$, $X_5=1:5$ 。

2.2.3 验证试验: 用均匀设计优选出的条件制备 3 批样品, 测定产品得率、总蒽醌含量和二苯乙烯苷的含量, 测得 $Y_1=6.87$ ($n=3$), $Y_2=0.563$ ($n=6$), $Y_3=11.23$ ($n=6$)。

3 结论

3.1 通过采用均匀设计优化微波萃取何首乌中有效成分的工艺研究, 发现所涉及的工艺参数彼此间有交互作用。且通过验证实验发现, 优化出来的结果较均匀设计表中的其他数据更合理、优越。说明采用均匀设计的方法, 不仅可以有效地指导实验, 而且可以帮助我们更好地挖掘微波辅助萃取中药中有效成分的潜力和优势。

3.2 通过均匀设计优选出微波辅助萃取何首乌中有效成分的最优工艺条件: 微波功率 340 W、微波辐射时间 10 min、溶剂乙醇浓度 95%、固液比例 1:5, 浸泡时间 1 h。

4 讨论

4.1 在传统加热回流方式中, 热量传递由外向内、质量传递由内向外, 而在微波辅助萃取法中, 传热和传质的方向均由内向外, 因此微波辅助萃取法更有利于有效物质的溶出。与传统方法相比, 虽然微波辅助萃取法中干浸膏产率较低, 但具有溶剂用量少、萃取时间短和干浸膏中有效成分含量高等优点(表 3)。

表 3 微波萃取工艺与传统工艺的比较

Table 3 Comparison between micorowave extraction and traditional extraction					
萃取方法	溶剂用量 / mL	萃取时间 / min	产率 / %	总蒽醌 含量/ %	二苯 乙 烯 苷含量/ %
传统回流法	2 400	270	8.92	0.32	6.03
微波萃取法	600	10	6.63	0.65	9.86

4.2 微波辅助萃取可以依据溶剂极性的不同, 透过或部分透过溶剂, 使物料直接被加热, 这种“体加热”的方式有助于有效物质的快速溶出, 因此它是一种具有发展潜力的新的萃取技术^[5,6], 可望为我国中药提取工艺的改进注入新的活力。

References:

- [1] Mei M Z, Zhuang Q Q, Liu G Z, *et al.* Study on rapid sieving method for hypocholesterol agents [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1979, 14(1): 8-10.
- [2] Su W, Guo Q. Summary of modern pharmaceutical study about *Radix Polygoni Multiflori* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(2): 119-121.
- [3] Yao G G, Sun X P. Determination of anthraquinone in *Radix Polygoni Multiflori* and its preparations by magnesium acetate-methanol colorimetry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1983, 14(6): 15-17.
- [4] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.
- [5] Vioria L, Yang R. Microwave-assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments [J]. *Anal Chem*, 1994, 66: 1097-1106.
- [6] Craveiro A A, Matos F J. Microwave oven extraction of essential oil [J]. *Flavor Fragrance*, 1989, 4(1): 43-44.

褐藻中高相对分子质量褐藻多酚的抗氧化活性研究

魏玉西, 徐祖洪*

(中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 目的 评价鼠尾藻和海黍子两种褐藻中高相对分子质量褐藻多酚的抗氧化活性。方法 分别利用 3 种体系, 通过对羟自由基($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)和 1,1-二苯基-2-苦味肼基自由基(DPPH $\cdot$)清除效率来评价其抗氧化活性。结果 两种褐藻中高相对分子质量褐藻多酚对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 DPPH $\cdot$ 均有很高的清除效率, 且效果相近。结论 鼠尾藻和海黍子两种褐藻中高相对分子质量褐藻多酚具有较强的抗氧化活性, 是一类潜在的海洋生物天然抗氧化剂。

关键词: 鼠尾藻; 海黍子; 褐藻多酚; 自由基; 抗氧化

中图分类号: R 286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)04-0317-03

Studies on antioxidative activity of high molecular weight polyphenols from two kinds of brown algae

WEI Yu-xi, XU Zu-hong

(Institute of Oceanology, CAS, Qingdao 266071, China)

Abstract: **Object** To evaluate the antioxidative activity of the high molecular weight polyphenols from *Sargassum thunbergii* Kuntze and *Sargassum kjellmanianum* Yendo. **Methods** Three kinds of evaluation systems for antioxidative activity were adopted to test their efficiency to scavenge radicals (including hydroxyl free radical $\cdot\text{OH}$, superoxide radical $\text{O}_2^{\cdot-}$ and DPPH $\cdot$ free radical). **Results** The high molecular weight polyphenols from the two kinds of brown algae had strong activity to scavenge the radicals above. Furthermore, they acted almost as the same level. **Conclusion** The high molecular weight polyphenols from the two kinds of brown algae had strong antioxidative activity, thus they are the potential, natural and marine antioxidants.

Key words: *Sargassum kjellmanianum* Yendo; *Sargassum thunbergii* Kuntze; brown algae polyphenol; free radical; antioxidation

我国沿海自然生长着大量的褐藻, 资源十分丰富。其中, 海黍子 *Sargassum kjellmanianum* Yendo 与鼠尾藻 *S. thunbergii* Kuntze 具有软坚散结、利尿消肿、清热化痰之功效, 已被收载于《中国海洋药物辞典》^[1]。褐藻多酚亦称间苯三酚萜质(phlorotan-nin), 是一类来自褐藻、以间苯三酚为结构单元的聚

合物, 具有许多独特的生物活性和医药价值^[2]。从泡叶藻 *Ascophyllum nodosum* 和墨角藻 *Fucus vesiculosus* 分离出的高相对分子质量褐藻多酚具有多种生物活性, 如裂解质粒 DNA^[3]、抑制某些酶的活性^[4]等。海黍子提取物对不饱和脂质具抗氧化^[5]、抑菌活性^[6], 海黍子多酚对亚油酸甲酯的氧化^[7]、鱼油

* 收稿日期: 2002-08-21

基金项目: 山东省教委资助项目(J01C11)

作者简介: 魏玉西(1964-), 男, 山东青岛人, 1990年毕业于青岛海洋大学水产学院, 获硕士学位; 1990年至1995年工作于青岛市卫生防疫站, 主管医师; 1995年至今工作于青岛大学, 现为青岛大学生物系副教授, 在职攻读中国科学院海洋研究所博士学位, 研究方向为海藻化学与海洋药物。Tel: (0532)5953227 Fax: (0532)5953138 E-mail: weiyuxi@sohu.com