

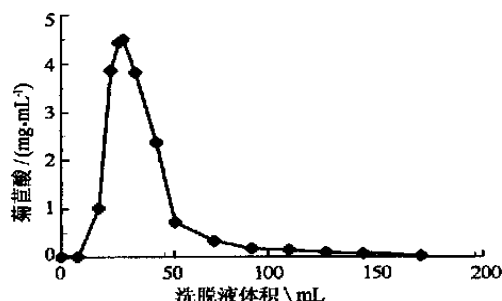


图 3 AB-8 树脂的解吸曲线

Fig. 3 Desorption curve of AB-8 resin

乙酯进行萃取。

溶液的 pH 值对醋酸乙酯萃取的影响的结果见表 3。pH 为 2~3 时, 萃取效果较好, 萃取率高, 产品纯度高。这是由于当  $\text{pH} \leq 3$  时, 菊苣酸由原来的菊苣酸盐变为游离态, 从而改变了菊苣酸在水相和有机相中的分配率, 因此用醋酸乙酯能很好地把它从水相中萃取出来。

表 3 pH 值对醋酸乙酯萃取效果的影响

Table 3 Effect of pH value on extraction with ethyl acetate as solvent

| pH      | 萃取率/% | 萃取物中菊苣酸/% |
|---------|-------|-----------|
| 4.2(原液) | 7.45  | 40.32     |
| 2       | 93.04 | 65.71     |
| 3       | 96.83 | 69.28     |

当溶液的 pH 3 时, 用等体积的醋酸乙酯分别萃取 1~4 次, 菊苣酸的萃取率分别为 41.40%、63.43%、80.51%、96.83%。即醋酸乙酯萃取 4 次可以基本萃取完全。

2.5 产品的检测: 经 40% 乙醇提取、AB-8 树脂吸附、50% 乙醇洗脱、醋酸乙酯萃取最终得到产品为浅黄色粉末, 纯度达 69% 以上。

### 3 结论

紫锥菊中菊苣酸提取纯化工艺为: 取一定量

的紫锥菊根粉末, 用 15 倍的 40% 乙醇溶液于 90℃ 下加热回流提取 3 次, 每次为 2 h, 合并滤液, 浓缩至原液体积的 1/10, 回收乙醇, 滤过, 得到的水溶液以 2 BV/h 的流速上柱床体积 (BV) 为 30 mL 的 AB-8 树脂柱, 吸附完成后, 用去离子水洗至流出液无色, 再用 50% 乙醇溶液洗脱, 乙醇洗脱液浓缩蒸干, 可得到菊苣酸粗品。粗品溶于水, 用 6 mol/L 盐酸调 pH 3, 醋酸乙酯萃取 4 次, 萃取液浓缩蒸干即得产品。

利用乙醇水溶液提取、AB-8 树脂吸附、醋酸乙酯萃取的方法从紫锥菊根中提取纯化菊苣酸是可行的。该工艺操作简单, 方便, 成本低, 适合工业化生产, 生产的菊苣酸可作为医药原料或添加到保健食品中。

### References:

- [1] Xiao P G. International popular immunomodulator — *Echinacea purpurea* and its preparations [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(1): 46-48.
- [2] Liu Y B. Chemical and immune functions and clinic of preparations of *Echinacea purpurea* [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 2001, 16(2): 47.
- [3] Zhang Y, Liu K, Wu L J. Advance in studies on *Echinacea Moench* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(9): 852-855.
- [4] Soicke H, Al-Hassan G, Gorler K. Weitere Kaffeesäure Derivate aus *Echinacea purpurea* [J]. *Planta Med*, 1988, 54: 175.
- [5] Robinson W E J. L-chicoric acid, a dicaffeoyltaric acid inhibitor of HIV integrase, improves on the *in vitro* anti-HIV effect of zidovudine and a protease inhibitor (AG1350) [J]. *Antiviral Res*, 1998, 39: 101-111.
- [6] Wang H, Liu W Z, Ai T M, et al. Determination of cichoric acid in *Echinacea purpurea* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(6): 418-420.
- [7] Luo X B, Chen B, Zhu X L, et al. Determination of cichoric acid in *Echinacea purpurea* and its preparation by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(10): 890-891.
- [8] Nusslein B, Kurzman M, Bauer R, et al. Enzymatic degradation of cichoric acid in *Echinacea purpurea* preparations [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63: 1615-1618.

## 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取椒目仁油的工艺研究

王捷频<sup>1</sup>, 王四旺<sup>1</sup>, 蒋永培<sup>2</sup>, 党碧艳<sup>1\*</sup>

(1. 第四军医大学药物研究所, 陕西 西安 710032; 2. 第四军医大学西京医院 药剂科, 陕西 西安 710032)

椒目为芸香科植物青椒 *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. 或花椒 *Z. bungeanum*

Maxim. 的干燥成熟种子。秋季果实成熟时采收, 晒干, 除去果皮、果柄及杂质。椒目是一种内外含油的

\* 收稿日期: 2003-11-31

作者简介: 王捷频(1978—), 女, 江苏扬州人, 药剂学硕士。Tel: (029) 83373265

油脂加工资源,其表皮层含油 13% 左右,酸价高,品质差,易析层,可作为工业性用油。内仁含油 15% 左右,不饱和脂肪酸约占总量的 90% (以  $\alpha$ -亚麻酸为主)。  $\alpha$ -亚麻酸是人体必需脂肪酸,具有调血脂、抗癌、提高机体免疫力等多种作用<sup>[1]</sup>。另外,椒目仁油中含有丰富的 Ca、Mg、Fe、Zn、Sr、Mn 等人体必须的矿物质元素<sup>[2]</sup>,因此椒目仁油可成为稀有的功能性食用油及新型的中药原料。超临界流体萃取具有无毒、无污染、快速廉价、操作简便等优点,并可通过对提取温度和压力的调节来改变其溶解性能,达到将不同成分分离的效果<sup>[2]</sup>。本实验就椒目仁油的超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取工艺进行了研究。

### 1 材料与仪器

椒目购自陕西盛华药业有限公司,为陕西韩城产大红袍花椒晒干,除去果皮、果柄及杂质;CO<sub>2</sub>(西安兴华 BOC 气体有限公司)。

FY221-50-06 型超临界萃取装置(南通市飞宇石油科技开发有限公司),CSF—1A 超声波发生器(上海超声波仪器厂),气相色谱仪(Agilent 4899D)。

$\alpha$ -亚麻酸(250 mg/mL, Cayman Chemical, No. 90210); 十七酸(E. Merck. Darmstadt, Mol. - Gew. 270, 46), 甲醇、浓硫酸、正己烷等试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 因素水平的确立:根据多种技术条件及试验比较的结果,选择提取温度(A)、提取压力(B)和药材粒度(C)3 个因素,见表 1。

表 1 因素水平表  
Table 1 Factors and levels

| 水 平 | 因 素 |       |   |
|-----|-----|-------|---|
|     | A/  | B/MPa | C |
| 1   | 35  | 30    | 1 |
| 2   | 40  | 35    | 2 |
| 3   | 45  | 40    | 3 |

药材粒度:1 为基本通过 1 号筛;2 为完全通过;3 为部分可通过 2 号筛

Granularity of drugs: 1 means to almost pass through No. 1 medicinal sieve; 2 means to pass totally No. 1 medicinal sieve; and 3 means to pass partly through No. 2 medicinal sieve

#### 2.2 GC 法测定 $\alpha$ -亚麻酸

2.2.1 色谱条件:色谱柱:HP-5 石英毛细管柱(Crosslinked 5% PH ME Siloxane, 15 m  $\times$  0.53 mm  $\times$  1.5  $\mu$ m);载气:高纯氮,体积流量:20 mL/min;燃气:氢气,体积流量 25 mL/min;空气,体积流量 300 mL/min;检测器:氢焰离子化检测器

(FID), 温度 240 ;进样口温度:240 ;柱温:185 ;进样量:3  $\mu$ L。

2.2.2 对照品溶液的配制:精密量取  $\alpha$ -亚麻酸 0.04 mL,以十七酸作为内标,称取约 7 mg 加 4 mL 甲醇溶解后,加 1 mL 硫酸-甲醇(1 5)溶液,通入氮气保护下,80 水浴回流 30 min,取出,用流水使冷却后,加 4 mL 蒸馏水,再加正己烷萃取 3 次,每次 3 mL。合并上层液,置 10 mL 量瓶中,加正己烷至刻度,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备:取椒目仁油一滴(约 15 mg),精密称定,加 2 mL 甲醇超声使分散,加入十七酸约 7 mg、1 mL 甲醇、1.5 mL 硫酸-甲醇(1 5)溶液,摇匀,同 2.2.2 项下方法配制,酯化后加 3 mL 正己烷萃取 1 次,收集上层液,置 3 mL 量瓶中,加正己烷至刻度,即得。

2.2.4 测定法<sup>[4]</sup>:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 3  $\mu$ L,注入气相色谱仪,测定,按内标法计算峰面积,并计算  $\alpha$ -亚麻酸的含量。

#### 2.3 工艺的优选

2.3.1 综合评分的计算:按主次指标,规定  $\alpha$ -亚麻酸含量满分为 70 分,试验值 71.60% 为 70 分;出油量满分为 30 分,根据试验结果规定 80 mL 为 30 分,35 mL 为 0 分。计算公式分别为:

$$\alpha\text{-亚麻酸含量评分} = \frac{X}{71.6} \times 70 \quad \text{出油量评分} = \frac{Y}{80} \times 30$$

X 为每份样品中  $\alpha$ -亚麻酸含量;Y 为每份样品中的出油量

2.3.2 正交试验的结果:结果见表 2,方差分析见表 3。3 个因素影响的主次顺序为 C> A> B, A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub> 为最佳工艺条件。由于 A 因素的改变对试验结果影响不显著,且温度高于 CO<sub>2</sub> 临界点(31.1 )即可满足需要,故在实际提取时选用的条件为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>,即萃取釜:40 MPa / 35 ;分离 :8 MPa / 35 ;分离 :6 MPa / 35 ,药材粒度为用打粉机粉碎,基本可通过一号筛,萃取时间为 70 min。

2.4 验证试验:按上述条件进行 3 批中试放大试验,每批投料总药材量 56.93 kg,出油量分别为 10.27、10.30、10.36 kg,  $\alpha$ -亚麻酸体积分数分别为 70.88%、69.98%、70.83%。表明本工艺重现性好,简便、易行。

### 3 讨论

3.1 可作为超临界流体的物质很多,如二氧化碳、一氧化碳、水、乙烷、庚烷、氨、六氟化硫等,以二氧化碳最为常用,因为它有以下特点:临界点较低( $t$  = 31.1 ,  $P_c$  = 7.4 MPa),容易达到;化学性质不活泼,且无色,无味,无毒,安全性好;价格便宜,纯度

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验结果

Table 2 Results of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test

| 实验号            | A     | B     | C      | D(空白) | 出油量<br>/(mL) | α-亚麻<br>酸/% | 综合<br>评分 |
|----------------|-------|-------|--------|-------|--------------|-------------|----------|
| 1              | 1     | 1     | 1      | 1     | 64           | 66.29       | 3.81     |
| 2              | 1     | 2     | 2      | 2     | 50           | 66.07       | -1.66    |
| 3              | 1     | 3     | 3      | 3     | 40           | 63.18       | -8.23    |
| 4              | 2     | 1     | 2      | 3     | 56           | 67.08       | 1.58     |
| 5              | 2     | 2     | 3      | 1     | 45           | 64.25       | -5.31    |
| 6              | 2     | 3     | 1      | 2     | 60           | 71.60       | 7.50     |
| 7              | 3     | 1     | 3      | 2     | 40           | 63.35       | -8.07    |
| 8              | 3     | 2     | 1      | 3     | 75           | 69.92       | 11.49    |
| 9              | 3     | 3     | 2      | 1     | 60           | 69.20       | 5.15     |
| K <sub>1</sub> | -6.08 | -2.68 | 22.80  | 3.65  |              |             |          |
| K <sub>2</sub> | 3.77  | 4.52  | 5.07   | -2.23 |              |             |          |
| K <sub>3</sub> | 8.57  | 4.42  | -21.61 | 4.84  |              |             |          |
| R              | 14.65 | 7.20  | 44.41  | 7.07  |              |             |          |

表 3 方差分析表

Table 3 Variance analysis

| 方差来源  | 离差平方和 | 自由度 | 均方  | F 值   | 显著性    |
|-------|-------|-----|-----|-------|--------|
| A     | 38    | 2   | 19  | 4.75  |        |
| B     | 12    | 2   | 6   | 1.5   |        |
| C     | 334   | 2   | 167 | 41.75 | P<0.05 |
| D(误差) | 8     | 2   | 4   |       |        |
| 总和    | 392   | 8   |     |       |        |

$F_{0.05}(2, 2) = 19$   $F_{0.01}(2, 2) = 99$

高, 容易获得。

3.2 采用超临界萃取技术进行中药的研究开发及产业化具有许多独特的优点: 对提取温度和(或)压力的改变可改变溶解度, 可选择性的进行中药中多种物质的分离, 从而可减少杂质, 使有效成分高度富集, 便于减小剂量和质量控制, 产品外观大为改善; 操作温度低, 可较好地保存有效成分不被破坏, 不发生生化。因此, 特别适合于对热敏感性强、容易氧化分解破坏的成分的提取; 提取时间快、生产周期短, 一般 2~4 h 便可完全提取; 流程简单, 操作方便, 污染小等。

References:

[1] Wang Y Q, Lai B S, Yan X L, et al. Quantitative determination of α-linolenic acid from *Perilla Frutescens* seeds oil [J]. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 1998, 19(2): 91-92.

[2] Zhuang S H, Li M L. The ingredients analysis of the seeds oil of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. [J]. *Acta Agric Boreali-occidentalis Sin* (西北农业学报), 2002, 11(2): 43-45.

[3] Zhen Q, Zhang H. The technology of supercritical-CO<sub>2</sub> fluid extraction of herbal medicine and its issues of industrialization [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11(12): 1137-1138.

[4] Wang J D, Li X Y, Xu Z C, et al. Determination of α-linolenic acid in the *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. seeds oil by GC [J]. *China New Med* (中国新医药), 2003, 2(10): 17-18.

RP-HPLC 法测定大鼠血浆中苦参碱的含量

何盛江<sup>1,2</sup>, 宋力<sup>2</sup>, 栾立标<sup>2\*</sup>

(1. 南京海陵中药制药工艺技术研究有限公司, 江苏 南京 210049; 2. 中国药科大学 药剂学教研室, 江苏 南京 210009)

苦参碱类生物碱以苦参碱为代表, 来源于豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait.、苦豆子 *S. alpeceuroides* L. 及扁豆根 *S. subprostrata* Chun et T. Chen 中<sup>[1]</sup>。苦参碱有多方面的药理作用和功效, 如抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗过敏、抗心律失常、消肿利尿、免疫及生物反应调节作用等<sup>[2]</sup>。本实验建立了 RP-HPLC 法测定大鼠血浆中苦参碱含量的方法, 为进行苦参碱的药动学研究提供了一个灵敏、可靠的检测手段。

1 仪器与试药

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器(日本岛津公司); N-2000 双通道色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所); BS110S 型

电子天平(北京赛多利斯天平公司); KQ-250DE 型超声处理仪(昆山市超声仪器有限公司)。

苦参碱对照品(宁夏盐池制药厂提供, 批号: 020711, 纯度为 98.9%), 乙腈(江苏双邦科技有限公司, 色谱纯), 其他试剂均为分析纯, 水为重蒸水。苦参碱氯化钠注射液(5 mL 50 mg)由本实验室自制。

SD 大鼠, 200~250 g, 由中国药科大学实验动物中心提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: ODS C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 大连依立特公司, 5 cm 预柱); 流动相: 乙腈-水(10:90, 磷酸盐缓冲液调 pH 至 2.7); 体积流量: 0.7 mL/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 25; 灵

\* 收稿日期: 2003-12-13  
作者简介: 何盛江(1975—), 男, 硕士研究生。Tel: (025) 83505999-2888 E-mail: herbsj@elong.com