

乳糖酰壳聚糖纳米粒形态圆整,粒径较小,分布均匀,包封率稳定,载药量较高。有关半乳糖修饰纳米粒的主动靶向特性尚需进一步考察。

参考文献:

- [1] Stewart S G, Hill T A, Gilbert J, *et al.* Synthesis and biological evaluation of norcantharidin analogues: towards PPI selectivity [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15(23):7301-7310.
- [2] 魏春敏,王本杰,马娅,等. ³H-去甲斑蝥素小鼠体内药代动力学与组织分布[J]. *药学报*, 2007, 42(5):516-519.
- [3] Lim S T, Mrtin G P, Berry D J, *et al.* Preparation and evaluation of the *in vitro* drug release properties and mucoadhesion of novel microspheres of hyaluronic acid and chitosan [J]. *J Controlled Release*, 2000, 66(2-3):281-292.
- [4] Chung T W, Yang J, Akaike T, *et al.* Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment [J]. *Biomaterials*, 2002, 23(14):2827-2834.
- [5] 王银松,韩月莲,李英霞,等. 甲氨喋呤-乳糖酰基壳聚糖的制备及其体外实验[J]. *高等学校化学学报*, 2007, 28(6):1092-1097.
- [6] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 第2版. 北京:化学工业出版社, 2006.
- [7] 王钦,成艳,张玮,等. 去甲斑蝥素壳聚糖微球的制备及其体外释放特性[J]. *中国新药杂志*, 2008, 17(11):947-951.
- [8] 许卉,王峰涛,刘生生,等. 多指标综合评价法优选木香挥发油提取工艺[J]. *中国药理学杂志*, 2006, 41(16):1214-1216.
- [9] 李群力. 双黄连滴丸制备工艺的研究[J]. *中草药*, 2005, 36(4):537-539.
- [10] Ishii A, Hojo H, Nakahara Y, *et al.* Silyl linker-based approach to the solid-phase synthesis of Fmoc glycopeptides thioesters [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2002, 66(2):225-232.
- [11] Park I K, Ihm J E, Park Y H, *et al.* Galactosylated chitosan (GC)-graft-poly(vinyl pyrrolidone) (PVP) as hepatocyte-targeting DNA carrier Preparation and physicochemical characterization of GC-graft-PVP/DNA complex [J]. *J Controlled Release*, 2003, 86(2-3):349-359.
- [12] Park I K, Yang J, Jeong H J, *et al.* Galactosylated chitosan as a synthetic extracellular matrix for hepatocytes attachment [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(13):2331-2337.
- [13] 何文,匡长春,张洪,等. 壳聚糖的分子参数对载药壳聚糖纳米粒体外性质的影响研究[J]. *中国药理学杂志*, 2005, 40(6):428-453.

均匀设计优选舒胸片处方药材的微波辅助提取工艺的研究

张萍,廖正根,梁新丽,赵国巍

(江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室,江西南昌 330004)

摘要:目的 研究微波辅助提取舒胸片中阿魏酸和羟基红花黄色素 A 的优化工艺,并与传统工艺进行比较,确定微波用于舒胸片中川芎、红花辅助提取工艺的可行性。方法 以阿魏酸、羟基红花黄色素 A 的提取率为指标,采用均匀设计优选微波辅助提取工艺,比较微波辅助与传统提取工艺的提取效果。结果 微波功率、微波辐射时间、溶剂用量对阿魏酸和羟基红花黄色素 A 的提取有交互作用,优选出的川芎提取工艺为微波功率 790 W,提取时间 30 min,料液比为 1:24;红花提取工艺为微波功率 790 W,提取时间 24 min,料液比为 1:22。结论 微波辅助提取时间短、有效成分提取率高,可用于舒胸片的提取工艺。

关键词:舒胸片;均匀设计;微波辅助提取

中图分类号:R284.1; R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)01-0045-05

Micro wave-assisted extraction of Shuxiong Tablets prescription by uniform design

ZHANG Ping, LIAO Zheng-gen, LIANG Xin-li, ZHAO Guo-wei

(Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract : Objective To optimize the feasible technique on extracting ferulic acid and hydrosafflower yellow A from Shuxiong Tablets by microwave-assisted extraction and compare the extract yield with the conventional extraction. **Methods** Taking the extract yield of ferulic acid and hydrosafflower yellow A as indexes, microwave-assisted extraction of Shuxiong Tablets was investigated by uniform design. **Results** Some parameters, such as the microwave power, radiation time, and solvent consumption had the interactions on the extraction of ferulic acid and hydrosafflower yellow A, the optimal technique parameters of extracting chuanxiong and safflower were 790 W as the microwave power, 30 and 24 min as the extracting time, 1:24 and 1:22 as the ratios of raw material to solvent, respectively. **Conclusion** The microwave

收稿日期:2008-04-25

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAI09B07-05)

作者简介:张萍(1983—),女,江西省人,在读硕士研究生,主要从事中药新剂型与新技术。

Tel: (0791)7119190 E-mail: dolphin_717 @sohu.com

assisted extraction is found to be convenient and rapid for Shuxiong Tablets with short time and high yield.

Key words: Shuxiong Tablets; uniform design; microwave-assisted extraction

舒胸片由三七、川芎、红花 3 味中药组成,具有活血、祛瘀、止痛之功效。《中国药典》2005 年版一部中该方的制备工艺为三七药材以细粉直接压片入药,川芎和红花采用水回流提取。这种提取工艺不仅加热时间长,而且有效成分提取率偏低。微波辅助提取技术具有快速、提取率高、成本低、质量好等许多优点,尤其是由于微波辅助提取具有提取时间短,可减少有效成分在长时间高温提取过程中的损失和化学转化等优点而备受关注^[1-3]。本实验采用均匀设计优化微波辅助提取舒胸片处方中川芎、红花的工艺条件,并比较微波法和药典方法对有效成分提取率的影响,为微波提取舒胸片处方药材的可行性提供依据。

1 仪器与试药

HWC-3LA 型微波提取设备(广州兴兴微波能设备有限公司);Agilent 1200 高效液相色谱系统(美国);KDM 调温电热套(鄞城华鲁电热仪器有限公司);SL6001 电子天平(上海民晰精密科学仪器有限公司);111 型中药粉碎机(瑞安高永历制药机械有限公司);KQ-250 VDB 型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110773-200611),羟基红花黄色素 A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111637-200502);川芎、红花购自南昌华庆仁栈药店,经本校教研室鉴定分别为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎和菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥管状花。甲醇为色谱级,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 阿魏酸和羟基红花黄色素 A 的 HPLC 法测定

2.1.1 色谱条件:Agilent SB C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.12% 磷酸水溶液,其梯度洗脱,0~13 min,28% 甲醇,13~25 min,38% 甲醇;体积流量为 0.8 mL/min;检测波长为 403 nm (0~13 min)、320 nm (13~25 min);柱温为 30℃;进样量 20 μL。此色谱条件下能实现阿魏酸和羟基红花黄色素 A 的同时检测。色谱图见图 1。

2.1.2 供试品溶液的制备:精密量取川芎、红花提取液 1 mL 置 10 mL 量瓶中,定容后摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过即得。

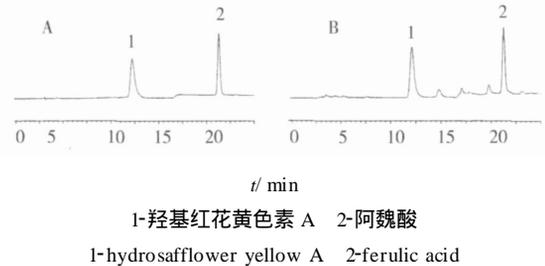


图 1 混合对照品(A)和供试品(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances (A) and sample (B)

2.1.3 对照品溶液制备:分别精密称取阿魏酸和羟基红花黄色素 A 对照品 1.03、2.06 mg 置 100 mL 量瓶中,加 25% 甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得含阿魏酸 10.3 μg/mL、羟基红花黄色素 A 20.6 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.4 标准曲线的绘制:分别精密吸取阿魏酸和羟基红花黄色素 A 混合对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,加 25% 甲醇定容至刻度。吸取上述各混合溶液 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图及峰面积。以色谱峰面积(Y)对各质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程。阿魏酸: $Y = 221.73 X + 0.14$, $r = 0.9993$,线性范围 1.03 ~ 7.21 μg/mL;羟基红花黄色素 A: $Y = 54.06 X - 5.788$, $r = 0.9999$,线性范围 2.06 ~ 14.42 μg/mL。

2.1.5 精密度试验:取适宜质量浓度的阿魏酸和羟基红花黄色素 A 混合对照品溶液,连续 6 次测定,以色谱峰面积计,其 RSD 分别为 0.20%、0.41%。

2.1.6 稳定性试验:取供试品溶液,分别于 0、2、4、8、10 h 进样测定。结果显示,供试品溶液在 10 h 内测定结果稳定。以色谱峰面积计阿魏酸 RSD 1.54%,羟基红花黄色素 A 的 RSD 1.02%。

2.1.7 加样回收率试验:在已测定的川芎、红花混提液中分别加入已知量约 80%、100%、120% 的阿魏酸和羟基红花黄色素 A 对照品,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率,结果阿魏酸平均回收率为 97.76%,RSD 为 2.25%;羟基红花黄色素 A 平均回收率为 97.93%,RSD 为 1.53%。

2.1.8 样品的测定:精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,测定,按外标法计算。

2.2 舒胸片处方药材的微波辅助提取工艺流程:《中国药典》2005 年版一部中舒胸片方提取工艺为川芎加水煎煮,滤过,滤液另存,药渣与红花加水煎煮 2 次,合并 3 次煎液,滤过,取上清液。

为了便于比较,在原煎煮的相应环节改用微波提取。50 g 川芎粗粉,加入适量提取溶剂浸泡 20 min,置于微波提取罐中进行微波提取 1 次,分别改变微波提取时间、料液比(药材质量与水体积比)、微波输出功率,将其滤过,即得提取液,计算阿魏酸的提取率(阿魏酸的提取率 = 提取液中阿魏酸的质量/药材中阿魏酸的质量 × 100%)。25 g 红花药材,加入适量提取溶剂浸泡 20 min,置于微波提取罐中进行微波提取 1 次,分别改变微波提取时间、料液比、微波输出功率,将其滤过,即得提取液,计算羟基红花黄色素 A 的提取率(羟基红花黄色素 A 的提取率 = 提取液中羟基红花黄色素 A 的质量/药材中羟基红花黄色素 A 的质量 × 100%)。

参考单因素试验结果,选择均匀设计表安排试验。

2.3 微波辅助提取川芎工艺优选

2.3.1 微波辐射时间对阿魏酸的影响:50 g 川芎粗粉,600 mL 水浸泡 20 min,微波输出功率 530 W,动态提取,每 5 min 取样 2 mL,并立即补加相应提取溶剂 2 mL,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,精密吸取各时间点续滤液 20 μL 注入液相色谱仪,测定,计算阿魏酸的提取率,结果见图 2。阿魏酸的提取率随微波辐射时间的延长而逐渐增大,但 25 min 后随辐射时间的延长提取率变化不明显。故微波辐射时间选择 25 min 左右为宜。

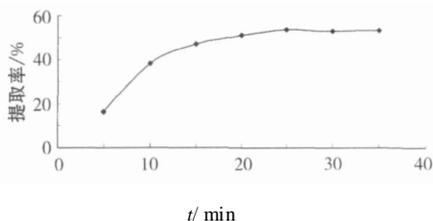


图 2 微波辐射时间对阿魏酸提取率的影响
Fig. 2 Effect of microwave-assisted extraction time on extract yield of ferulic acid

2.3.2 料液比对阿魏酸的影响:50 g 川芎粗粉,以一定料液比的溶剂浸泡 20 min,微波功率 530 W,提取 25 min,测定提取液中阿魏酸的质量浓度,计算提取率,结果见图 3。可知当料液比为 1:15 时阿魏酸的提取率趋于稳定。

2.3.3 微波功率对阿魏酸的影响:50 g 川芎粗粉,以 1:15 的水浸泡 20 min,改变微波功率 提取

min,测定提取液中阿魏酸的质量浓度,计算提取率,结果见图 4。可知功率在 600 W 左右阿魏酸的提取率趋于稳定。

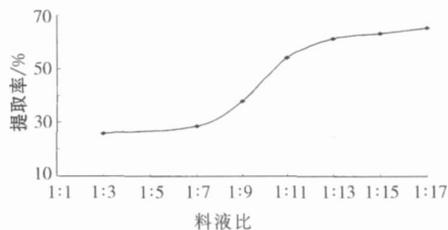


图 3 料液比对阿魏酸提取率的影响
Fig. 3 Effect of ratio between raw material and solvent on extract yield of ferulic acid

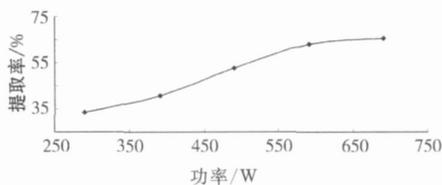


图 4 微波功率对阿魏酸提取率的影响
Fig. 4 Effect of microwave power on extract yield of ferulic acid

2.3.4 均匀试验设计:根据单因素试验考察结果,取 50 g 川芎粗粉 9 份,以适量的水浸泡 20 min,选择溶剂用量、微波功率、微波提取时间 3 个因素进行试验,考察这 3 个因素对川芎有效成分阿魏酸提取 1 次时提取率的影响。按 $U_{10}(10 \times 5^2)$ 均匀设计表安排试验,各试验条件及结果见表 1。

表 1 混合水平均匀设计结果

Table 1 Uniform design for mixed levels and result

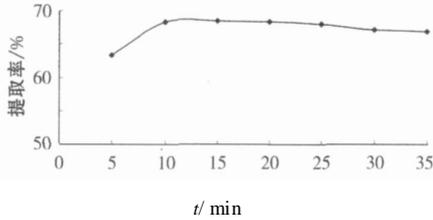
试验号	X_1 (溶剂用量)	X_2 (微波功率)/W	X_3 (微波提取时间)/min	Y (阿魏酸提取率)/%
1	10	610	35	46.91
2	16	790	30	55.47
3	22	520	25	47.23
4	6	790	20	33.32
5	12	520	15	35.82
6	18	700	35	65.17
7	24	430	30	34.17
8	8	700	25	49.88
9	14	430	20	33.10
10	20	610	15	59.78

2.3.5 工艺条件优化:将测定结果用数据处理系统 SPSS 11.5 中的二次多项式逐步回归方法进行分析,得 $Y = 13.7000 - 0.0470 X_1^2 + 0.0043 X_1 X_2$, 其复相关系数 $R = 0.9220$, $F = 13.5660$, 方程在 $\alpha = 0.05$ 水平上显著。根据回归方程分析,其最优组合为 24 倍量的水

790 W 提取 30 min。

2. 4 微波辅助提取红花工艺优选

2. 4. 1 微波辐射时间对羟基红花黄色素 A 的影响:25 g 红花药材,350 mL 水浸泡 20 min,微波功率 530 W,提取,每 5 min 取样 2 mL,并立即补加相应提取溶剂 2 mL,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,精密吸取各时间点续滤液 20 μL 注入液相色谱仪,测定羟基红花黄色素 A 的质量浓度,计算提取率,结果见图 5。可见选 15 min 左右能达较好效果。



5 微波辐射时间对羟基红花黄色素 A 提取率的影响
Fig. 5 Effect of microwave-assisted extraction time on extract yield of hydroxyflavone A

2. 4. 2 料液比对羟基红花黄色素 A 的影响:25 g 红花药材,以一定料液比的溶剂浸泡 20 min,微波功率 530 W,提取 15 min,测定提取液中羟基红花黄色素 A 质量浓度,计算提取率,结果见图 6。可知随料液比的增加,提取率逐渐增大,其原因可能是因为羟基红花黄色素 A 为水溶性物质,溶于水。随料液比的增加,红花药材浸润完全,使得有效成分很好的溶出,当料液比为 1:18,羟基红花黄色素 A 达到最大提取率,此后,随着料液比的增加,提取率下降,这可能是因为料液比增加,单位体积溶剂获得的微波能相应减少,即在相同的微波加热时间内,溶剂量的体系温度较低,这必然会影响溶质在溶剂中的扩散。

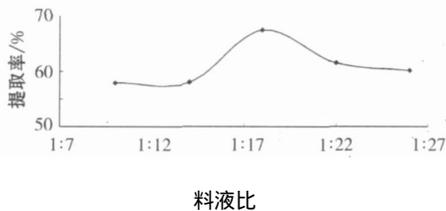


图 6 料液比对羟基红花黄色素 A 提取率的影响
Fig. 6 Effect of ratio between raw material and solvent on extract yield of hydroxyflavone A

2. 4. 3 微波功率对羟基红花黄色素 A 的影响:25 g 红花药材,450 mL 溶剂浸泡 20 min,改变微波功率,提取 15 min,测定提取液中羟基红花黄色素 A 质量浓度,计算提取率,结果见图 7。可知当微波功率在 550 W 左右羟基红花黄色素 A 的提取率趋于稳定。

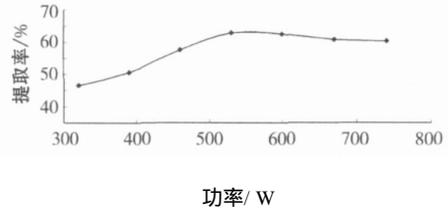


图 7 微波功率对羟基红花黄色素 A 提取率的影响
Fig. 7 Effect of microwave power on extract yield of hydroxyflavone A

2. 4. 4 均匀设计试验:根据单因素实验考察结果,精确量取 25 g 红花药材,合并川芎提取一次得到的药渣,选择微波辐射时间、溶剂用量、微波功率 3 个因素进行试验,考察这 3 个因素对红花有效成分羟基红花黄色素 A 提取率的影响(药渣重复提取 1 次)。按 $U_{10}(10 \times 5^2)$ 均匀设计表安排试验,各试验条件及结果见表 2。

表 2 混合水平均匀设计结果

Table 2 Uniform design for mixed levels and result

试验号	X_1 (辐射时间)/ min	X_2 (溶剂用量)	X_3 (微波功率)/ W	Y (羟基红花黄色素 A 提取率)/ %
1	10	18	790	78.49
2	16	26	690	67.49
3	22	14	590	58.58
4	6	26	490	48.98
5	12	14	390	50.21
6	18	22	790	85.37
7	24	10	690	44.75
8	8	22	590	71.07
9	14	10	490	56.42
10	20	18	390	68.81

2. 4. 5 工艺条件优化:将测定结果用数据处理系统 SPSS11.5 中的二次多项式逐步回归方法进行分析,得 $Y = 46.9280 + 0.0020 X_2 X_3$,其复相关系数 $R = 0.9100$, $F = 15.2690$,方程在 $\alpha = 0.05$ 水平上显著。根据回归方程及单因素考察分析,其最优组合为 $X_1 = 24$, $X_2 = 22$, $X_3 = 790$,即 22 倍量的水 790 W 提取 24 min。

2. 5 对比实验:50 g 川芎粗粉加 1 200 mL 水浸泡 20 min,功率 790 W,提取时间 30 min,滤过,滤液另存,药渣与 25 g 红花加 550 mL 水,功率 790 W,提取 2 次,每次 24 min,合并 3 次提液,滤过,得提取液,测定有效成分的质量浓度,计算提取率。按《中国药典》2005 年版一部中舒胸片项下方法,50 g 川芎粗粉加 1 200 mL 水煎煮 2 h,滤过,滤液另存,药渣与 25 g 红花加 550 mL 水煎煮 2 次,每次 1 h,合并 2 次煎液 滤过 得提取液 测定有效成分的质量

浓度,计算提取率。两种提取方法结果见表 3。可知微波法对有效成分的提取率较药典法高,而且还节约了时间。

表 3 微波辅助与《中国药典》法提取舒胸片中有效成分的比较 (n=3)

Table 3 Comparison between microwave-assistant and Pharmacopeia method on extracting active ingredients in Shuxiong Tablets (n=3)

提取方法	阿魏酸提取率/ %	羟基红花黄色素 A 提取率/ %	总耗时/ h
微波法	83.00 ±2.96	85.34 ±1.60	1.23
药典法	79.13 ±3.15	70.84 ±2.79	4.00

3 讨论

通过单因素试验确定了各影响因素的较优水平范围,在此基础上采用均匀设计法进一步优化出微波辅助提取舒胸片方的最优工艺条件,得出阿魏酸的提取率为 83.00%,羟基红花黄色素 A 的提取率为 85.34%,均高于药典法的提取率,其原因可能在于微波辅助提取不同于传统加热方式的基于热传导作用的外加热,而是通过偶极子旋转和离子传导两种方式内外同时加热^[4],升温迅速导致药材基质结构组织发生变化,材料变得疏松,减小了传质阻力,

从而达到提高提取效果的目的。

《中国药典》2005 年版一部中舒胸片处方工艺为三七粉碎成细粉直接压片,川芎先单提 1 次,药渣再与红花混提 2 次,总共为提取 3 次。因此,本实验首先优选川芎单次微波辅助提取的工艺条件,再优选混提的工艺条件。由于混提过程中尚能提取部分阿魏酸(测得阿魏酸的提取率为 15%左右),故最后阿魏酸 3 次总提取率为 83.00%。

本实验以多成分提取率为考察指标,研究微波技术对舒胸片方中活性成分提取率的影响,并将对制剂的理化性质及有效成分的药理和药物疗效、不良反应作进一步考察,为微波提取舒胸片方工艺的可行性提供参考。

参考文献:

- [1] 张力,孙秀丽,王松青,等.微波法提取葡萄籽中原花青素的工艺研究[J].中草药,2007,38(12):1808-1811.
- [2] Kwon J H, Belange J M R, Pare J R J, et al. Application of the microwave-assisted process (MAPTM) to the fast extraction of ginseng saponins [J]. *Food Res Int*, 2003,36(5):491-498.
- [3] Pare J R, Miche S. Microwave-assisted natural products extraction [P]. US: 5002784, 1991.
- [4] Pare J R J, Belanger J M R, Stafford S S. Microwave-assisted Process (MAPTM); a new tool for the analytical laboratory [J]. *Trend Anal Chem*, 1994,13(4):176-184.

均匀设计优选驱虫斑鸠菊的半仿生提取工艺研究

刘晓东¹, 闫明², 高丽丽³, 霍仕霞¹, 张兰兰¹

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832003; 2. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830049; 3. 长江大学研究生学院, 湖北 荆州 434023)

摘要:目的 优选驱虫斑鸠菊的半仿生提取的最佳工艺条件。方法 以指纹图谱共有峰 HPLC 总面积、总黄酮、干浸膏得率等为综合评定指标,采用均匀设计及指纹图谱优选驱虫斑鸠菊半仿生提取法的条件。结果 优化条件结合工业生产实际,确定其半仿生提取法工艺条件为:3 次煎煮用 80%乙醇的 pH 值依次 6.0、6.5、8.0;煎煮时间依次为 1、0.5、0.5 h。结论 驱虫斑鸠菊的提取工艺采用半仿生提取,均匀设计优选相关参数效果较好。

关键词: 驱虫斑鸠菊;半仿生提取法;均匀设计

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)01-0049-04

Technical condition for semi-bionic extraction of *Vernonia anthelmintica* by uniform design

LIU Xiao-dong¹, YAN Ming², GAO Li-li³, HUO Shi-xia¹, ZHANG Lan-lan¹

(1. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. Xinjiang Institute of Traditional Uighur Medicine, Urumqi 830049, China; 3. Graduate School, Yangtze University, Jingzhou 434023, China.)

Abstract: Objective To optimize the best condition of semi-bionic extraction for *Vernonia anthelmintica*

收稿日期:2008-06-05

基金项目:国家科技支撑计划项目(2007BA130B00; 2007BA148B06)

作者简介:刘晓东(1980—),男,河南商丘人,硕士研究生,从事仪器分析新方法 & 新药研究。

Tel:15894683921 E-mail: xiaodongliu204@hotmail.com