

碱水解橄榄苦苷制备羟基酪醇及其抗氧化活性研究

谢普军^{1,2}, 黄立新^{1,2*}, 张彩虹^{1,2}, 游 凤^{1,2}, 张耀雷^{1,2}

1. 中国林业科学研究院 林产化学工业研究所 生物质化学利用国家工程实验室, 国家林业局林产化学工程重点开放性实验室, 江苏省生物质能源与材料重点实验室, 江苏 南京 210042
2. 中国林业科学研究院 林业新技术研究所, 北京 100091

摘要: 目的 以橄榄苦苷粗制品为原料, 在强碱作用下水解制备羟基酪醇, 并对其体外抗氧化活性研究。方法 选取4个因素, 即水解温度、NaOH浓度、水解时间和料液比进行单因素试验; 在其基础上进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计优化; 利用HPLC-MS对羟基酪醇进行定性分析, 同时在相同条件下进行酸水解对比试验和对羟基酪醇清除DPPH抗氧化活性评价。结果 选取的4个因素均极显著, 主次因素顺序为水解温度>NaOH浓度>水解时间>料液比, 优化水平组合为水解温度90℃, NaOH浓度0.2 mol/L, 水解时间45 min, 料液比1:15; 羟基酪醇的色谱保留时间约为10.3 min, 且质谱条件下产生的碎片离子相对分子质量为134.8。通过酸与碱水解对比试验发现, 橄榄苦苷在碱性条件下水解制备羟基酪醇的效率更高; 与2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)对比, 羟基酪醇清除DPPH能力是BHT的2.45倍。结论 羟基酪醇的制备在碱性条件下产率较高, 且具有较好的抗氧化活性。

关键词: 橄榄苦苷; 碱水解; 羟基酪醇; HPLC-MS; DPPH自由基; 正交试验设计

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)15-2075-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.15.010

Preparation and anti-oxidative activity of hydroxytyrosol by alkaline hydrolysis of oleuropein

XIE Pu-jun^{1,2}, HUANG Li-xin^{1,2}, ZHANG Cai-hong^{1,2}, YOU Feng^{1,2}, ZHANG Yao-lei^{1,2}

1. Key Laboratory of Biomass Energy and Material, Jiangsu Province, Key and Open Laboratory on Forest Chemical Engineering, SFA, National Engineering Laboratory for Biomass Chemical Utilization, Institute of Chemical Industry of Forest Products, Chinese Academy of Forestry, Nanjing 210042, China
2. Institute of New Technology of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

Abstract: **Objective** To prepare hydroxytyrosol (HT) by alkaline hydrolysis of oleuropein and to investigate its anti-oxidative property. **Methods** According to single factor experiments, four variables: temperature, sodium hydroxide concentration, time, and the ratio of solid to liquid, were selected. On the basis of single factor experiments, orthogonal tests of $L_9(3^4)$ were carried out. HPLC-MS method was also further applied for the qualitative analysis on HT. Under the same conditions, contrast experiments on the acid and alkaline actions were made. Finally, anti-oxidative activity of HT was evaluated. **Results** The results showed that the selected variables were all highly significant. Also, the descending influence orders on HT were temperature > sodium hydroxide concentration > time > the ratio of solid to liquid. Lastly, the optimal conditions on HT yield were obtained as follow: temperature 90℃, sodium hydroxide concentration 0.2 mol/L, time 45 min, and the ratio of solid to liquid 1:15. The HPLC retention time of HT was about 10.3 min, and its relative molecular weight of fragment ion by MS was 134.8. By comparison with the acid action, it was proved that the alkaline action was better in HT yield. In addition, the anti-oxidative activity of HT was carried out on scavenging DPPH radical. The results showed that DPPH scavenging capability of HT was 2.45 times of BHT. **Conclusion** HT yield is well obtained under the alkaline condition and has a good anti-oxidation.

Key words: oleuropein; alkaline hydrolysis; hydroxytyrosol; HPLC-MS; DPPH radical; orthogonal test design

收稿日期: 2013-02-25

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012BAD32B10); “863”课题项目“食品高效节能干燥装备开发与新技术研究”(2011AA100802)

作者简介: 谢普军(1986—), 男, 博士研究生, 主要从事天然产物化学及干燥研究工作。Tel: (025)85482630 E-mail: xpjdz@163.com

*通信作者 黄立新(1967—), 男, 博士生导师, 主要从事天然产物化学及新型干燥技术研究。

Tel: (025)85482497 E-mail: l_x_huang@163.com

网络出版时间: 2013-07-05 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130705.1556.015.html>

羟基酪醇又名3,4-二羟基苯乙醇,是一种天然小分子酚类化合物,于1950年在狭叶松果菊中以松果菊苷的形式被发现^[1]。羟基酪醇在油橄榄叶中的量甚微^[2],约0.2%~0.7%。但由于其表现出诸多的生物活性如抗氧化^[3]、抗炎^[4]、抗癌^[5]、保护心血管系统^[6]和降血糖^[7]等,尤其是抗氧化活性,使其被认为是最具清除自由基的天然抗氧化剂之一,其对自由基清除率是槲皮素的2倍,表儿茶酸的3倍之多^[8]。

羟基酪醇主要分布在油橄榄中,在油橄榄果压榨后产生的渣液里的量较高(其原因是由于原果渣中橄榄苦苷受 β -葡萄糖苷酶作用转化而来),渣液可通过回收富集羟基酪醇。然而,植物中天然存在的羟基酪醇的量普遍较低,大多数文献报道羟基酪醇的制备主要是通过水解橄榄苦苷。另外,国内外研究报道,油橄榄叶或油橄榄叶提取物中的橄榄苦苷主要是通过盐酸和 β -葡萄糖苷酶作用制备羟基酪醇,而使用碱液水解橄榄苦苷鲜有报道。本实验通过强碱作用水解橄榄苦苷制备羟基酪醇,且利用HPLC-MS对生成的羟基酪醇进行定性分析;同时比较酸与碱条件下水解橄榄苦苷制备羟基酪醇的效果,并进行羟基酪醇清除DPPH自由基的抗氧化活性研究,以期工业化生产提供科学根据。

1 仪器与材料

AR2140电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;TG16—WS高速离心机仪,湘仪离心机仪器有限公司;HH—4数显水浴锅,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;SHZ—D(III)循环水式真空泵,上海东玺制冷仪器设备有限公司;HT—130色谱柱恒温箱,天津市恒奥科技发展有限公司;岛津LC—20ATvp高效液相泵,岛津LC—20A型高效液相色谱,岛津SPD—20A紫外检测器,SIL—20A型手动进样器,色谱工作站LC-Solution;Hypersil ODS2色谱柱,大连依利特分析仪器有限公司(批号11164)。Agilent LC-MS6320,美国安捷伦有限公司。

油橄榄叶提取物(批号121013,经HPLC分析测定出橄榄苦苷的质量分数约为38%,不含羟基酪醇),陕西禾博天然产物有限公司;甲醇(色谱纯),氢氧化钠和浓硫酸,南京化学试剂有限公司;去离子水自制;羟基酪醇对照品(批号080928,质量分数为98.5%),天津一方科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 羟基酪醇的测定^[9]

精确配制0.908 mg/mL羟基酪醇对照品溶液,

在一定的色谱条件下,即流动相为10%甲醇水溶液,柱温30℃,检测波长280 nm,体积流量1 mL/min;进样量分别为2、4、6、8、10、12 μ L,以获得羟基酪醇的量(X)与其对应的色谱峰面积(Y)的回归方程 $Y=403\ 840 X+12\ 450$, $r=0.999\ 1$,保留时间约为10.3 min,线性范围为1.816~10.896 μ g。

2.2 碱性条件下水解橄榄苦苷制备羟基酪醇

精确称取样品1.0 g于250 mL圆底烧瓶中,加入一定浓度和体积的NaOH,在适当的温度下,反应一定时间,从水浴锅中取出,冷却至室温,然后再加入硫酸(2 mol/L)中和,使溶液的pH值为7。最后定容于50 mL量瓶中,进行HPLC分析。

2.2.1 单因素试验

(1)水解温度的选择:橄榄苦苷在NaOH浓度为0.1 mol/L,料液比为1:25,水解时间30 min,不同温度(60、70、80、90、100℃)的条件下,进行水解实验,结果羟基酪醇的收率(羟基酪醇的收率=水解产物量/橄榄苦苷投药量)分别为5.92%、7.103%、10.79%、10.88%、10.88%。可知橄榄苦苷在碱作用下随着温度的升高羟基酪醇的收率升高,在温度达到80℃时,羟基酪醇收率最大,其收率约为11%。因此,水解温度80℃为较适合的温度。

(2)碱浓度的选择:橄榄苦苷在80℃的条件下,料液比为1:25,NaOH浓度分别为0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L,各水解30 min,结果羟基酪醇的收率分别为3.96%、11.09%、16.13%、18.09%、13.78%、11.304%。可知,随着NaOH浓度的增大羟基酪醇收率趋势是先升高后降低,过高的NaOH浓度反而不利于获得羟基酪醇。在浓度为0.3 mol/L时,羟基酪醇的收率最高,达到约18%。因此,碱的浓度为0.3 mol/L为最佳浓度。

(3)水解时间的选择:橄榄苦苷在80℃的条件下,料液比为1:25,NaOH浓度为0.3 mol/L,各进行不同反应时间(15、30、45、60、90、120、180、270 min)进行水解实验,结果羟基酪醇的收率分别为9.32%、18.09%、11.81%、9.86%、2.81%、2.45%、2.65%、1.001%。可知,随着时间的延长羟基酪醇的收率是先增加后减小,当水解为30 min时,羟基酪醇的收率最高,可达约18.09%。因此,水解时间选取30 min较为合适。

(4)料液比的选择:橄榄苦苷在80℃的条件下,NaOH浓度0.3 mol/L,不同料液比(1:10、1:15、1:25、1:35、1:45)的条件下分别水解30 min,

结果羟基酪醇的收率分别为 14.96%、17.09%、18.09%、6.58%、6.79%。可知, 羟基酪醇收率也是随着料液比的增加而先增加后减小, 在料液比为 1:25 时, 羟基酪醇收率最高。而当料液比大于 1:25 时, 羟基酪醇收率迅速下降, 可能的原因是由于料液比增加, 总碱量增加, 使羟基酪醇发生变化。因此, 料液比 1:25 为水解羟基酪醇的最佳比例。

2.2.2 正交试验 根据上述单因素试验结果, 确定 4 个考察因素即水解温度 (A)、NaOH 浓度 (B)、水解时间 (C) 及料液比 (D), 各选取 3 个水平, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 试验设计与结果见表 1。方差分析见表 2。

通过各因素的 K 值及极差分析可以看出影响羟基酪醇收率的主次因素为水解温度 > NaOH 浓度 > 水解时间 > 料液比, 且选取的 4 个影响因素都极显著, 最优水平为 $A_3B_1C_3D_1$, 即水解温度为 90 °C, NaOH 浓度为 0.2 mol/L, 水解时间为 45 min, 料液比为 1:15。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果 ($n=2$)

Table 1 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal tests ($n=2$)

试验号	A/ °C	B/ (mol·L ⁻¹)	C/ min	D	羟基酪醇 收率/%
1	70 (1)	0.2 (1)	15 (1)	1:15 (1)	11.66
2	70 (1)	0.3 (2)	30 (2)	1:25 (2)	10.30
3	70 (1)	0.4 (3)	45 (3)	1:35 (3)	8.61
4	80 (2)	0.2 (1)	30 (2)	1:35 (3)	12.26
6	80 (2)	0.3 (2)	45 (3)	1:15 (1)	16.75
5	80 (2)	0.4 (3)	15 (1)	1:25 (2)	7.35
7	90 (3)	0.2 (1)	45 (3)	1:25 (2)	17.66
8	90 (3)	0.3 (2)	15 (1)	1:35 (3)	14.51
9	90 (3)	0.4 (3)	30 (2)	1:15 (1)	16.02
K_1	10.192	13.862	11.175	14.810	
K_2	12.123	13.857	12.860	11.770	
K_3	16.063	10.660	14.343	11.798	
R	5.872	3.202	3.186	3.040	

表 2 方差分析表

Table 2 Analysis of variance

变异来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	107.462 8	2	109.899 5	$P<0.01$
B	40.938 7	2	41.867 0	$P<0.01$
C	30.155 7	2	30.839 5	$P<0.01$
D	36.625 1	2	37.455 6	$P<0.01$
误差	3.911 3	9		
总变异	219.143 8	17		

2.3 验证试验

为了检验所得优化条件的重复性和稳定性, 按照“2.2”项下方法在优化条件下, 进行 5 次重复试验, 羟基酪醇收率分别为 17.13%、16.91%、17.09%、16.98%、17.16%, 平均值为 17.05%, RSD 为 0.64%, 说明本工艺相对稳定可行。

2.4 羟基酪醇的 HPLC-MS 分析

2.4.1 分析条件 HPLC-MS 的色谱条件与“2.1”项的色谱条件一致。质谱条件设定为电离源: 电喷雾电离源 (ESI); 扫描模式: 正 (负) 离子模式; 扫描范围: m/z 100~600; 雾化器压力: 206.85 kPa; 干燥器体积流量 10 L/min; 干燥器温度 340 °C。

2.4.2 分析结果 对橄榄苦苷水解后制备的羟基酪醇进行 HPLC-MS 的定性分析, 检测结果见图 1。在“2.1”项色谱条件下, 羟基酪醇的出峰时间与羟基酪醇对照品出峰时间一致, 均约为 10.3 min。羟基酪醇在电子轰击下, 检测到生成的分子离子 (m/z 153) 不稳定, 会裂解成更稳定的邻羟基苯环丁烷离子 (m/z 135)^[10]。因此, 从 HPLC 的保留时间和质谱的分子离子和一级碎片离子可以确定为羟基酪醇。

2.5 酸性条件下水解橄榄苦苷

橄榄苦苷可以在酸、碱或 β -葡萄糖苷酶作用下水解制备羟基酪醇, 据文献报道, 盐酸水解作用大于 β -葡萄糖苷酶作用^[11-12], 但没有与碱水解进行比较, 因此, 本实验在上述优化碱水解条件下与酸性条件水解进行对比试验。精确称取样品 1.0 g 于 250 mL 圆底烧瓶中, 分别在相同浓度 0.2 mol/L HCl 和 NaOH 作用下, 加入 15 mL 体积溶液, 水解 45 min 后, 中和至 pH 值为 7, 醋酸乙酯萃取 3 次, 每次 15 mL, 旋干, 再用 60% 甲醇定容于 50 mL, 最后

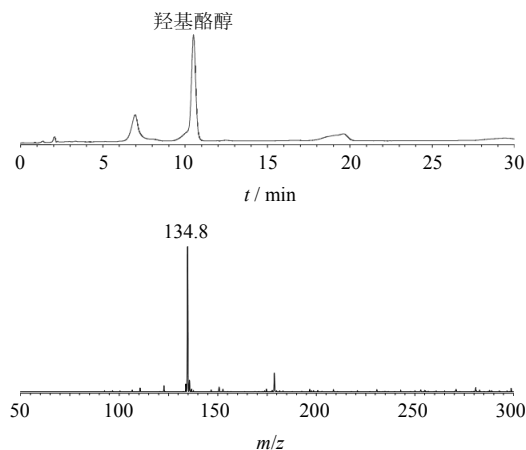


图 1 羟基酪醇的 HPLC-MS 图谱

Fig. 1 HPLC-MS spectrograms of HT

通过 0.45 μm 有机膜滤过, 进行 HPLC 分析。实验结果显示, 碱水解和酸水解的羟基酪醇收率分别为 17.11%、8.21%; 可以看出, 在相同条件下, NaOH 水解橄榄苦苷的效果优于 HCl, 且前者获得的羟基酪醇收率远大于后者, 约是后者的 2.08 倍。

2.6 抗氧化活性研究

配制不同浓度的羟基酪醇对照品溶液, 称取 10 mg DPPH 于 100 mL 量瓶中并用甲醇溶解得到 0.1 mg/mL 醇溶液作为母液, 再准确移取 3.9 mL 母液于具塞试管中, 分别各加入 0.1 mL 不同浓度的羟基酪醇和 2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚 (BHT), 混合均匀后在黑暗处室温下反应 30 min, 并在 517 nm 处测定各样品的吸光度, 进行清除 DPPH 自由基实验^[11], BHT 对照品进行对比, 考察羟基酪醇清除 DPPH 自由基抗氧化能力。羟基酪醇与 BHT 清除 DPPH 抗氧化活性按公式计算: $\text{DPPH 清除率} = (A_0 - A_1 \times 100) / A_0$, 其中 A_0 为 DPPH 醇溶液的初始吸光度值, A_1 为反应 30 min 后溶液的吸光度值。结果见图 2, 可知, 羟基酪醇的 IC_{50} 为 0.569 mg/mL, 而 BHT 的 IC_{50} 为 1.396 mg/mL。因此, 羟基酪醇清除 DPPH 活性比 BHT 更强, 清除 DPPH 的能力约是 BHT 的 2.45 倍。因其具有高效的抗氧化活性使其可在食品、药品和化妆品领域广泛应用。

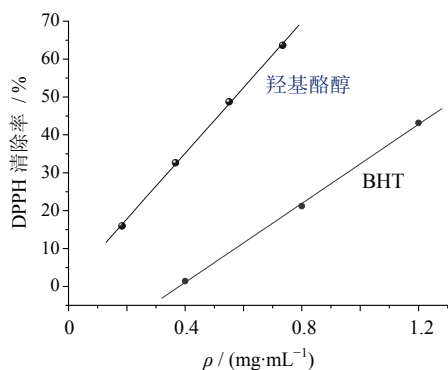


图2 羟基酪醇与 BHT 清除 DPPH 自由基

Fig. 2 Comparison on DPPH scavenging activities of HT and BHT

3 讨论

本实验研究了油橄榄叶提取物中的橄榄苦苷水解制备羟基酪醇的影响因素, 选取的 4 个因素包括温度、NaOH 浓度、时间和料液比均极显著。并且, 通过酸、碱水解对比试验, 橄榄苦苷在碱性作用下水解制备羟基酪醇的效率更高; 同时通过 HPLC-MS 分析, 对羟基酪醇进行了定性。获得了碱制备羟基酪醇的优化条件以及鉴定方法, 并对羟基酪醇的抗

氧化活性进行了评价。本实验由于时间等原因没有考察橄榄苦苷及羟基酪醇在酸碱水解过程中可能伴随的变化, 如温度、时间等因素可能造成橄榄苦苷和羟基酪醇变化的相关机制有待进一步的研究。

此外, 对羟基酪醇进行了清除 DPPH 自由基实验, 结果表明, 与 BHT 相比, 羟基酪醇的清除 DPPH 能力更强。因此, 羟基酪醇可以作为一种广泛应用于食品、药品和化妆品的工业原料。

参考文献

- [1] 许超, 高俊超, 张坚, 等. 羟基酪醇合成工艺研究 [J]. 精细化工, 2010, 27(12): 1209-1212.
- [2] 王晓飞, 李辰, 郑媛媛, 等. 油橄榄叶多酚类成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 848-851.
- [3] Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, *et al.* On the *in-vitro* antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1999, 51(8): 971-974.
- [4] de Leonadis A, Macciola V, Lembo G, *et al.* Studies on oxidative stabilization of lard by natural antioxidants recovered from olive-oil mill wastewater [J]. *Food Chem*, 2007, 100(3): 998-1004.
- [5] Owen R W, Haubner R, Hull W E, *et al.* Olive and olive oil in cancer prevention [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2004, 13(4): 319-326.
- [6] Visioli F, Galli C. Olive oil phenols and their potential effects on human health [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46(10): 4292-4296.
- [7] Jemai H, El Feki A, Sayadi S. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from Olive leaves in alloxan-diabetic rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(19): 8798-8804.
- [8] Richards K L. The most powerful antioxidant discovered to date-hydroxytyrosol [EB/OL]. <http://www.prohealth.com/library/showarticle.cfm?libid=17054>, 2012-6-22.
- [9] 叶建中, 王成章, 陈虹霞, 等. 油橄榄叶中羟基酪醇含量及提取工艺研究 [J]. 林产化学与工业, 2011, 31(1): 63-67.
- [10] 林贤福. 现代波谱分析方法 [M]. 上海: 华东理工大学出版社, 2009.
- [11] 卜文文, 刘常金, 田仕夫. 盐酸和 β -葡萄糖苷酶法水解橄榄叶提取物制备羟基酪醇的比较 [J]. 食品工业科技, 2011(7): 228-232.
- [12] Khoufi S, Hamza M, Sayadi S. Enzymatic hydrolysis of olive waste water for hydroxytyrosol enrichment [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(19): 9050-9058.
- [13] 黄阿根, 董瑞建, 鲁茂林, 等. 茶树花多酚粗提物分离纯化及抗氧化性 [J]. 农业机械学报, 2008, 39(12): 107-111.
- [14] de Leonadis A, Aretini A, Alfano G, *et al.* Isolation of a hydroxytyrosol-rich extract from olive leaves (*Olea europaea* L.) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity [J]. *Eur Food Res Technol*, 2008, 226(4): 653-659.

水蛭的湿法超微粉碎提取及其工艺优化

朱华明¹, 付廷明¹, 郭立玮^{1*}, 刘峰², 张伟²

1. 南京中医药大学 中药复方分离工程重点实验室, 江苏 南京 210029

2. 陕西步长制药有限公司, 陕西 西安 710075

摘要: 目的 优选湿法超微粉碎提取水蛭的最佳工艺。方法 在单因素试验基础上, 以料液比、浸泡时间、提取温度和粉碎时间为自变量, 根据 Box-Behnken 原理采用 4 因素 3 水平的响应面分析法, 以抗凝血酶活性为响应值, 对湿法超微粉碎提取条件进行优化。结果 湿法超微粉碎提取水蛭的最佳工艺条件: 料液比为 1:12, 浸泡时间为 4.9 h, 提取温度为 6.5 °C, 粉碎时间为 12 min, 其抗凝血酶活性达到 20.13 U/g。结论 湿法超微粉碎提取技术适用于水蛭的提取, 本实验优选的提取工艺稳定可行, 适于进一步推广应用。

关键词: 湿法超微粉碎; 水蛭; 响应面分析法; 抗凝血酶活性; 中心组合试验设计

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)15-2079-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.15.011

Optimization of wet ultrafine grinding technology for *Hirudo* extraction

ZHU Hua-ming¹, FU Ting-ming¹, GUO Li-wei¹, LIU Feng², ZHANG Wei²

1. Key Laboratory of Separation Engineering for Chinese Medicine Compound, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

2. Shanxi Buchang Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710075, China

Abstract: Objective To study the optimal extraction for *Hirudo* by wet ultrafine grinding technology. **Methods** On the basis of single-factor experiments, the response surface analysis was made for exploring the optimal extraction conditions by wet ultrafine grinding technology for *Hirudo*, with solid-liquid ratio, soaking time, extraction temperature, and grinding time as independent variable and the anticoagulant activity as the response value. According to Box-Behnken principles, the response surface analysis method with four factors and three levels was used. **Results** The optimum extraction condition for *Hirudo* by wet ultrafine grinding technology was as follows: solid-liquid ratio 1:12, soaking time 4.9 h, extraction temperature 6.5 °C, grinding time 12 min; The anticoagulant activity could reach 20.13 U/g. **Conclusion** The extraction by wet ultrafine grinding technology for Chinese materia medica *Hirudo* is stable and feasible, and it could be further promoted.

Key words: wet ultrafine grinding; *Hirudo*; response surface method; anticoagulant activity; central composite test design

水蛭为水蛭科动物蚂蟥 *Whitmania pigra* Whitman、水蛭 *Hirudo nipponica* Whitman 或柳叶蚂蟥 *Whitmania acranulata* Whitman 的干燥全体, 具有破血通经、逐瘀消癥的功效^[1]。传统中医临床用药, 水蛭常用于治疗心血管类疾病^[2-3]。现代药理学研究表明, 中药水蛭提取所得的蛋白质组分, 在抗凝血、抗血栓形成等方面具有很强的生物活性^[4-6]。然而,

采用传统水提或者醇提工艺, 蛋白质会受到高温或者有机溶剂破坏而变性, 进而影响其药理活性。

基于中药材细胞结构的提取动力学研究表明, 减小药材的粒径, 尤其是细胞级超微粉碎能减小扩散的阻力、缩短成分溶出的路径、增加溶出的面积, 有利于有效成分的快速完全溶出。但采用干式超微粉碎技术, 使药材达到细胞级粉碎, 然后再加水煎

收稿日期: 2013-03-03

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(子课题 2011ZX09401-308-008); 国家科技重大专项子课题: 中药大品种脑心通胶囊技术改造研究(2011ZX09201-201-26); 陕西省科技统筹创新工程计划课题(2011KTZB03-01-04)

作者简介: 朱华明, 硕士研究生, 从事药物新剂型与新技术研究。Tel: 13770672459 E-mail: mingzhuta@163.com

*通信作者 郭立玮, 博士生导师, 从事药物新剂型与新技术研究。Tel: 13952091198 E-mail: guoliwei815@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2013-07-05 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130705.1557.016.html>