

文章编号:1001-6880(2016)5-0728-07

# 王不留行刺桐碱提取工艺的比较研究

刘艳玲<sup>1</sup>, 王旭<sup>2</sup>, 侯豹<sup>1</sup>, 蔡维维<sup>2</sup>, 冯磊<sup>2</sup>, 邱丽颖<sup>2\*</sup><sup>1</sup>江南大学药学院; <sup>2</sup>江南大学无锡医学院, 无锡 214122

**摘要:**本实验采用高效液相色谱(HPLC)法检测王不留行刺桐碱含量为评价指标, 分别采用单因素试验法和正交试验法对水浴回流提取和超声提取对王不留行刺桐碱的提取工艺进行比较。结果表明: 超声提取王不留行刺桐碱的最佳工艺参数为液固比 10:1 mL/g, 60% 乙醇在 350 W 功率、80 ℃下提取 40 min, 在该工艺条件下王不留行刺桐碱含量为 0.395 mg/g; 水浴回流提取王不留行刺桐碱的最佳工艺参数为乙醇浓度 75%, 提取温度 95 ℃, 提取时间 2 h, 液固比 12:1 mL/g 时, 王不留行刺桐碱含量为 0.345 mg/g。超声提取王不留行刺桐碱的提取效率、稳定性和重复性都优于水浴回流提取法。

**关键词:**王不留行; 刺桐碱; 水浴回流提取; 超声提取; 提取工艺

中图分类号:O629.36; R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.5.016

## Comparison of Ultrasonic Extraction and Reflux Extraction of Hypaphorine from *Vaccaria segetalis*

LIU Yan-ling<sup>1</sup>, WANG Xu<sup>2</sup>, HOU Bao<sup>1</sup>, CAI Wei-wei<sup>2</sup>, FENG Lei<sup>2</sup>, QIU Li-ying<sup>2\*</sup><sup>1</sup>School of Pharmaceutical Sciences, Jiangnan University; <sup>2</sup>Wuxi Medical School, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

**Abstract:** In this study, the content of hypaphorine from *Vaccaria segetalis* determined by high performance liquid chromatography (HPLC) was used as an evaluation index, single factor and orthogonal tests were carried out to optimize of water bath reflux extraction and ultrasonic extraction of hypaphorine from *V. segetalis* separately. The results showed the optimal parameters for the extraction of hypaphorine from *V. segetalis* by ultrasonic extraction were: liquid-solid ratio of 10:1 mL/g, 60% ethanol as extraction solvent, 350 W as ultrasonic power, 80 ℃ as extraction temperature and 40 min as extraction time. Under these conditions, the content of hypaphorine from *V. segetalis* was 0.395 mg/g. The optimal water bath reflux extraction conditions were: ethanol concentration of 75%, extraction temperature of 95 ℃, extraction time of 2 h and liquid-solid ratio of 12:1 mL/g, the content of hypaphorine from *V. segetalis* was 0.345 mg/g. The efficiency, stability and repeatability of ultrasonic extraction were better than water bath reflux extraction.

**Key words:** *Vaccaria segetalis*; hypaphorine; water bath reflux extraction; ultrasonic extraction; extraction process

王不留行为石竹科植物麦蓝菜 *Vaccaria segetalis* (Neck.) Gärcke 的干燥成熟种子, 具有活血通经、下乳消肿等功效, 用于乳汁不下、经闭、痛经、乳痈肿痛等<sup>[1]</sup>。据文献报道, 王不留行的化学成分有三萜皂苷、环肽、黄酮苷和刺桐碱等, 刺桐碱是一种吲哚类生物碱, 为无色结晶, 易溶于水, 碘化铋钾试液反应阳性<sup>[2-4]</sup>。

研究表明, 刺桐碱具有诱导正常小鼠睡眠和对真菌生长激素具有拮抗作用等药理活性<sup>[5-7]</sup>。目前, 有关王不留行刺桐碱提取工艺方面的研究鲜有报

道。因此, 本实验采用高效液相色谱法测定刺桐碱含量, 通过单因素和正交试验优化王不留行刺桐碱的超声提取工艺和水浴回流提取工艺, 并对其进行比较, 旨在为王不留行的综合利用提供参考。

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料与试剂

王不留行购自江苏省无锡市山禾药业股份有限公司, 经南京中医药大学陈建伟教授鉴定为石竹科植物麦蓝菜的干燥成熟种子; 刺桐碱对照品(纯度 >98%, 批号: 14031824)购自上海同田生物技术股份有限公司; Millipore 0.22 μm 滤膜, 水为超纯水, 甲醇为色谱纯, 无水乙醇、石油醚为分析纯。

收稿日期:2015-09-21 接受日期:2016-01-05

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金(JUSRP51412B); 江苏省普通高校研究生科研创新计划(SJLX\_0530)

\*通讯作者 Tel:86-013861690781; E-mail: qiluydoc@sina.com

## 1.2 仪器与设备

Waters e2695 高效液相色谱仪、2489 UV 检测器(美国 Waters 公司); Milli-Q 纯水仪(Millipore 公司); AL104 型分析天平[梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司]; R-201 型旋转蒸发器、W201 型恒温水浴锅(上海申顺生物科技有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 粉碎机(上海淀久中华机械制造有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 刺桐碱的含量测定

#### 2.1.1 高效液相色谱测定条件

色谱柱为 Agilent TC-C18 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(20:80);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 280 nm;柱温 30 °C;进样量 10 μL。

#### 2.1.2 标准曲线的绘制

精密称取刺桐碱对照品 2 mg, 置于 50 mL 容量瓶中, 用 70% 甲醇水溶液溶解, 定容, 摆匀, 作为刺桐碱标准品贮备液。再分别准确量取适量标准品贮备液, 制成浓度为 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 μg/mL 的溶液, 作为各对照品溶液。照上述 2.1.1 色谱条件进行测定, 以峰面积为纵坐标(Y), 其质量浓度为横坐标(X), 绘制标准曲线。

#### 2.1.3 王不留行刺桐碱含量测定

取适量干燥的王不留行, 粉碎过 III 号筛, 4 倍石油醚脱脂, 过滤, 晾干。准确称取 5 g 粉末于 250 mL 圆底烧瓶中, 按不同提取条件进行提取, 分两次提取, 取出过滤, 合并两次滤液, 旋干, 加去离子水复溶, 定容至 250 mL, 精确吸取样品溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用 70% 甲醇定容至刻度, 摆匀, 经 0.22 μm 滤膜过滤, 按 2.1.1 色谱条件进样检测。测得峰面积代入标准曲线方程中计算, 得出王不留行刺桐碱的含量, 含量计算公式为  $A = 0.079B - 0.2074$ , 其中 A 为王不留行刺桐碱含量, B 为峰面积。

0.079B - 0.2074, 其中 A 为王不留行刺桐碱含量, B 为峰面积。

### 2.2 水浴回流提取工艺研究

#### 2.2.1 水浴回流提取单因素试验

##### 2.2.1.1 乙醇浓度

准确称取 5 份经石油醚脱脂的王不留行粉末, 每份 5 g, 分别以 60%、70%、75%、80%、90% 的乙醇溶液按液固比为 10:1 mL/g, 水浴温度为 85 °C 下回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并滤液, 按 2.1.3 得出王不留行刺桐碱的含量。以王不留行刺桐碱含量为指标考察乙醇浓度对王不留行刺桐碱含量的影响。

##### 2.2.1.2 提取时间

准确称取 5 份经石油醚脱脂的王不留行粉末, 每份 5 g, 提取时间分别设定为 1、1.5、2、2.5、3 h, 其他处理同 2.2.1.1。

##### 2.2.1.3 提取温度

准确称取 5 份经石油醚脱脂的王不留行粉末, 每份 5 g, 提取温度分别设定为 75、80、85、90、95 °C, 其他处理同 2.2.1.1。

##### 2.2.1.4 提取液固比

准确称取 5 份经石油醚脱脂的王不留行粉末, 每份 5 g, 提取液固比分别设定为 6:1、8:1、10:1、12:1、14:1 mL/g, 其他处理同 2.2.1.1。

##### 2.2.2 正交试验

在水浴回流单因素试验结果的基础上, 选择乙醇浓度、提取时间、提取温度和液固比进行 4 因素 3 水平的正交试验,  $L_9(3^4)$  正交试验设计水平表如表 1 所示, 正交试验以王不留行刺桐碱含量和干粉得率的综合评分为指标, 权重系数分别为 0.8、0.2<sup>[8]</sup>。利用正交试验获取不同因素影响王不留行刺桐碱含量的主次顺序以及最佳提取工艺参数组合。

##### 2.2.3 验证试验

按照正交试验优化的最佳水浴回流提取工艺进行三次验证试验, 以考察其重复性和稳定性。

表 1 水浴回流提取因素水平表

Table 1 Factors and levels of water bath reflux extraction

水平 Levels	因素 Factors			
	(A) 乙醇浓度 Ethanol concentration(%)	(B) 提取时间 Extraction time(h)	(C) 提取温度 Temperature(°C)	(D) 液固比 Liquid/solid ratio(mL/g)
1	75	1.5	85	10:1
2	80	2	90	12:1
3	90	2.5	95	14:1

## 2.3 超声提取工艺研究

### 2.3.1 超声提取工艺单因素试验

#### 2.3.1.1 乙醇浓度

准确称取5份经石油醚脱脂的王不留行粉末，每份5 g，分别以60%、70%、75%、80%、90%的乙醇溶液按液固比为10:1 mL/g在60 °C、超声功率为400 W下超声提取2次，每次40 min，合并滤液，按2.1.3得出王不留行刺桐碱的含量。以王不留行刺桐碱含量为指标考察乙醇浓度对王不留行刺桐碱含量的影响。

#### 2.3.1.2 提取时间

准确称取5份经石油醚脱脂的王不留行粉末，每份5 g，提取时间分别设定为20、30、40、50、60 min，其他处理同2.3.1.1。

#### 2.3.1.3 提取温度

准确称取5份经石油醚脱脂的王不留行粉末，

每份5 g，提取温度分别设定为40、50、60、70、80 °C，其他处理同2.3.1.1。

#### 2.3.1.4 超声功率

准确称取5份经石油醚脱脂的王不留行粉末，每份5 g，超声功率分别设定为300、350、400、450、500 W其他处理同2.3.1.1。

### 2.3.2 正交试验

在超声提取单因素试验的基础上，以乙醇浓度、提取时间、提取温度和超声功率进行4因素3水平的正交试验，根据2.3.1中单因素试验结果设计L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验水平表见表2。正交试验以王不留行刺桐碱含量和干粉得率的综合评分为指标，权重系数分别为0.8、0.2<sup>[8]</sup>，探索不同因素影响王不留行刺桐碱含量的主次顺序以及最佳提取工艺参数组合。

表2 超声提取因素水平表

Table 2 Factors and levels of ultrasonic extraction

水平 Levels	因素 Factors			
	(A) 乙醇浓度 Ethanol concentration(%)	(B) 提取时间 Extraction time( min)	(C) 提取温度 Temperature( °C)	(D) 超声功率 Ultrasonic power( W)
1	60	40	60	300
2	70	50	70	350
3	75	60	80	400

#### 2.3.3 验证试验

按照正交试验优化的最佳超声提取工艺进行三次验证试验，以考察其重复性和稳定性。

## 3 结果与分析

### 3.1 标准曲线的绘制

按方法1.3.1.2绘制标准曲线方程为： $Y = 12.653X + 2.6584, R^2 = 0.9999$ ，王不留行刺桐碱在2.5~80.0 μg/mL浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系。

### 3.2 水浴回流提取工艺研究

#### 3.2.1 水浴回流提取单因素试验

按2.2.1进行水浴回流提取的单因素试验，不同乙醇浓度对王不留行刺桐碱含量的影响结果如图1(A)。由图可知：王不留行刺桐碱含量随乙醇浓度的增大，先增加后减少。当乙醇浓度为80%时，王不留行刺桐碱含量达到最大，因此选取75%、80%、90%三个乙醇浓度进行正交试验设计。图1(B)是

不同提取时间对王不留行刺桐碱含量影响的结果。由图可见：王不留行刺桐碱含量增加的速度随提取时间的延长，先加快后减慢。当提取时间为2 h时，王不留行刺桐碱含量达到最大，因此选取1.5、2、2.5 h三个提取时间进行正交试验设计。图1(C)显示了不同提取温度对王不留行刺桐碱含量的影响。在一定范围内，随提取温度的升高，王不留行刺桐碱含量呈现上升趋势，而当提取温度高于90 °C时，王不留行刺桐碱含量增加趋势逐渐减小，因此选取85、90、95 °C三个提取温度进行正交试验设计。不同液固比对王不留行刺桐碱含量的影响结果如图1(D)。从图分析可知：王不留行刺桐碱含量随溶剂量的增加而增加，而当液固比超过12:1 mL/g时，含量变化的幅度趋于平缓，因此选取10:1、12:1、14:1 mL/g三个液固比进行正交试验设计。

#### 3.2.2 水浴回流提取正交试验结果

水浴回流提取正交试验结果和方差分析见表3和表4。综合表3的极差及表4的方差分析可知，

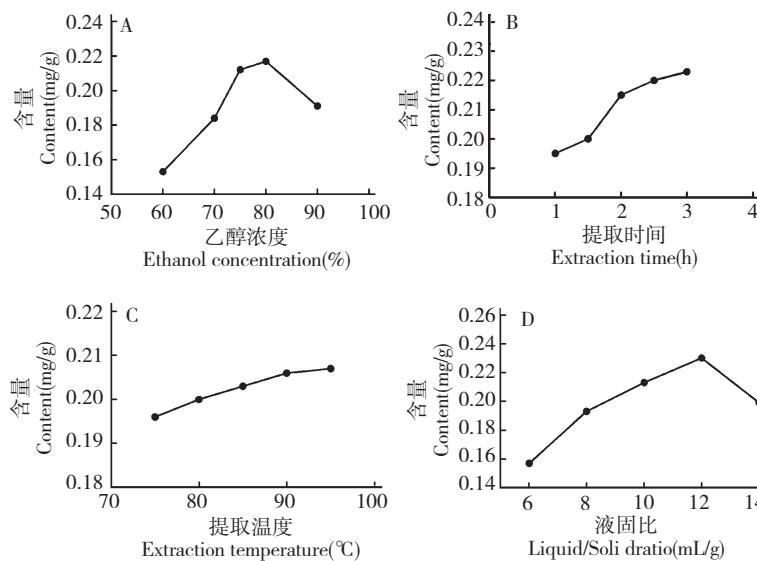


图1 水浴回流提取乙醇浓度(A)、提取时间(B)、提取温度(C)和液固比(D)对王不留行刺桐碱含量的影响

Fig. 1 The effect of ethanol concentration (A), extraction time (B), extraction temperature (C) and liquid-solid ratio (D) on water bath reflux extraction of hypaphorine from *V. segetalis*

影响水浴回流提取王不留行刺桐碱含量工艺的主次因素为:D(液固比)>B(提取时间)>C(提取温度)>A(乙醇浓度),且提取时间和液固比对王不留行刺桐碱的提取有显著影响。综合直观分析和方差分析可以确定王不留行刺桐碱水浴回流提取的最佳工艺条件为A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,即乙醇浓度75%,提取时间为2 h,提取温度为95 °C,液固比12:1 mL/g。

### 3.2.3 验证试验

根据3.2.2中得出的最佳工艺条件提取,三次

的王不留行刺桐碱含量分别为0.354、0.340、0.340 mg/g,平均含量为0.345 mg/g,相对偏差RSD=2.350%,且王不留行刺桐碱含量均高于其他正交试验值,说明试验结果可靠,工艺稳定、重复性好。

## 3.3 超声提取工艺研究

### 3.3.1 超声提取单因素试验

按2.3.1进行超声提取的单因素试验,不同乙醇浓度对王不留行刺桐碱含量的影响结果如图2(A)。由图可知:王不留行刺桐碱含量随乙醇浓度

表3 水浴回流提取正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal test of water bath reflux extraction

试验号 No.	A	B	C	D	刺桐碱含量 Hypaphorine content (mg/g)	干粉得率 Yield (%)	综合评分 Overall rating
1	1	1	1	1	0.282	5.12	1.2496
2	1	2	2	2	0.346	6.87	1.6508
3	1	3	3	3	0.337	6.58	1.5856
4	2	1	2	3	0.309	6.13	1.4732
5	2	2	3	1	0.317	5.97	1.4476
6	2	3	1	2	0.282	6.21	1.4916
7	3	1	3	2	0.283	6.33	1.4924
8	3	2	1	3	0.263	6.58	1.5264
9	3	3	2	1	0.269	5.92	1.3992
K1	4.4860	4.2152	4.2676	4.0964			
K2	4.4124	4.6248	4.5232	4.6348			
K3	4.4180	4.4764	4.5256	4.5852			
R	0.0736	0.4096	0.2580	0.5384			

表 4 水浴回流提取方差分析表

Table 4 Variance analysis of water bath reflux extraction

因素 Factors	偏差平方和 Sum of squares of deviations	自由度 Degree of freedom	F 值 F value	显著性 Significance
A	0.001	2	1	
B	0.029	2	29	*
C	0.015	2	15	
D	0.059	2	59	*
误差	0.000	2		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

的增大,先增加后减少。当乙醇浓度为 70% 时,王不留行刺桐碱含量达到最大,因此选取 60%、70%、75% 三个乙醇浓度进行正交试验设计。图 2 (B) 为不同提取时间对王不留行刺桐碱含量的影响结果。从图可看出:王不留行刺桐碱含量随提取时间的延长,先增加后趋于平缓。当提取时间到达 50 min 时,王不留行刺桐碱含量达到最大,因此选取 40、50、60 min 三个提取时间进行正交试验设计。图 2(C) 显示了不同提取温度对王不留行刺桐碱含量

的影响结果。结果表明王不留行刺桐碱含量随提取温度的升高而增加。而当提取温度高于 60 ℃ 时,王不留行刺桐碱含量变化趋于平缓,因此选取 60、70、80 ℃ 三个提取温度进行正交试验设计。不同超声功率对王不留行刺桐碱含量的影响结果如图 2 (D)。由图可见:王不留行刺桐碱含量随超声功率的增大,先增加后减少。当超声功率为 350 W 时,王不留行刺桐碱含量达到最大,因此选取 300、350、400 W 三个超声功率进行正交试验设计。

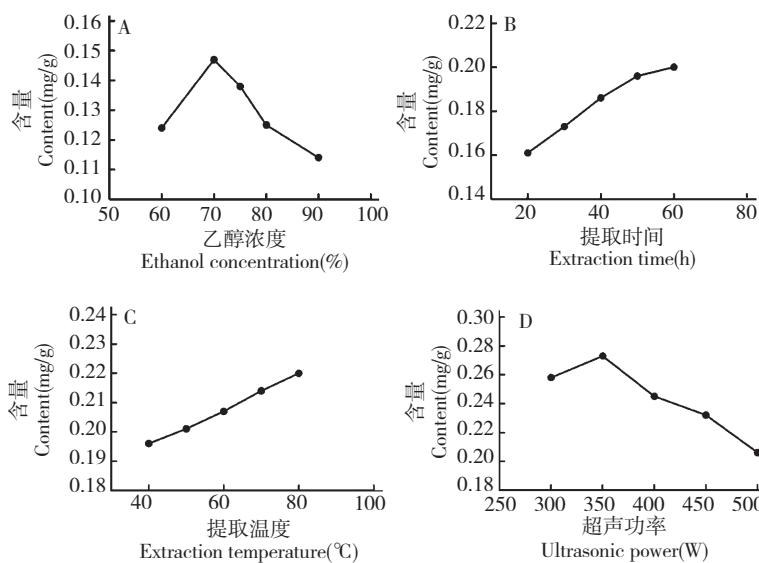


图 2 超声提取乙醇浓度(A)、提取时间(B)、提取温度(C)、超声功率(D)对王不留行刺桐碱含量的影响

Fig. 2 The effect of ethanol concentration (A), extraction time (B), extraction temperature (C) and ultrasonic power (D) on ultrasonic extraction of hypaphorine from *V. segetalis*

### 3.3.2 超声提取正交试验结果

超声提取正交试验结果和方差分析见表 5 和表 6。综合表 5 的极差及表 6 的方差分析可知,影响超声提取王不留行刺桐碱含量工艺的主次因素为:A(乙醇浓度) > C(提取温度) > D(超声功率) > B(提取时间),且乙醇浓度和提取温度对王不留行刺

桐碱含量有显著影响。综合直观分析和方差分析可以确定王不留行刺桐碱超声提取的最佳工艺条件为  $A_1B_1C_3D_2$ , 即乙醇浓度 60%, 提取时间为 40 min, 提取温度为 80 ℃, 超声功率为 350 W。

### 3.3.3 验证试验

根据 3.3.2 中得出的最佳工艺条件提取,三次

表 5 超声提取正交试验结果

Table 5 Results of orthogonal test of ultrasonic extraction

试验号 No.	A	B	C	D	刺桐碱含量 Hypaphorine content( mg/g )	干粉得率 Yield( % )	综合评分 Overall rating
1	1	1	1	1	0.269	6.13	1.4412
2	1	2	2	2	0.274	7.19	1.6572
3	1	3	3	3	0.208	8.58	1.8824
4	2	1	2	3	0.270	6.37	1.4900
5	2	2	3	1	0.272	6.49	1.5156
6	2	3	1	2	0.262	6.22	1.4536
7	3	1	3	2	0.276	7.00	1.6208
8	3	2	1	3	0.244	5.25	1.2452
9	3	3	2	1	0.245	5.13	1.2220
K1	4.9808	4.5520	4.1400	4.1788			
K2	4.4592	4.4180	4.3692	4.7316			
K3	4.0880	4.5580	5.0188	4.6176			
R	0.8928	0.1400	0.8788	0.5528			

表 6 超声提取方差分析表

Table 6 Variance analysis of ultrasonic extraction

因素 Factors	偏差平方和 Sum of squares of deviations	自由度 Degree of freedom	F 值 F value	显著性 Significance
A	0.134	2	33.50	*
B	0.004	2	1.00	
C	0.139	2	34.75	*
D	0.057	2	14.25	
误差	0.000	2		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

的王不留行刺桐碱含量分别为 0.390、0.403、0.393 mg/g, 平均含量为 0.395 mg/g, 相对偏差 RSD = 1.730%, 且王不留行刺桐碱含量均高于其他正交试验值, 说明试验结果可靠, 工艺稳定、重复性好。

### 3.4 水浴回流提取与超声提取效果的比较

根据水浴回流提取和超声提取的正交试验及验证试验结果可知, 三次最佳工艺验证试验中, 水浴回流提取王不留行刺桐碱的平均含量为 0.345 mg/g, 相对偏差 RSD = 2.350%。超声提取王不留行刺桐碱的平均含量为 0.395 mg/g, 相对偏差 RSD = 1.730%。从上述结果可以看出超声提取的提取效率、重复性和稳定性都要高于水浴回流提取。

## 4 讨论

目前关于王不留行刺桐碱提取, 笔者未见有对

不同方法提取效果的对比研究。本研究就水浴回流提取和超声提取两种不同方法的对比研究, 得到王不留行刺桐碱较优的提取方法和工艺, 为王不留行刺桐碱的进一步综合开发利用提供参考依据。从试验结果可以看出, 超声提取法的提取效率和重复性、稳定性都要明显优于水浴回流提取法, 超声提取法作为中草药有效成分提取方法, 因其超声波产生的瞬间高压让植物细胞壁破裂, 加强了细胞内物质的释放、扩散和溶解, 从而提高有效成分的提取效率。总的来说, 超声提取相对于水浴回流提取具有操作简便、提取效率高、省时、耗能少等优点。本实验仅仅对水浴回流提取和超声提取两种典型的提取方法做了比较, 对于其他提取方法的比较仍有待进一步研究。

## 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I,49.
- 2 Li F(李帆), Liang JY(梁敬钰). Research progress of *Vaccaria segetalis*. *Straits Pharm*(海峡药学), 2007, 19(3):1-5.
- 3 Sang SM(桑圣民), Lao AN(劳爱娜), Wang HC(王洪城), et al. Study on the chemical constituents of *Vaccaria segetalis* (II). *China Tradit Herb Drug*(中草药), 2000, 31: 169-171.
- 4 Lu J(鲁静), Lin YX(林一星), Ma SC(马双成). Separation, identification and determination of hypaphorine and isosaponarin in *Vaccaria segetalis*. *China J Pharm Anal* (药

(上接第 727 页)

- 13 Murakami H, Kobayashi M, Takeuchi H, et al. Further application of a modified spontaneous emulsification solvent diffusion method to various types of PLGA and PLA polymers for preparation of nanoparticles. *Power Technol*, 2000, 107: 137-143.
- 14 Dong Y, Feng S. Methoxy poly (ethylene glycol)-poly (lactide) nanoparticles for controlled delivery of anticancer drugs. *Biomaterials*, 2004, 25:2843-2849.

(上接第 748 页)

- 2 Li XH(李晓红), Zhao YN(赵永娜), Shao XX(邵晓霞), et al. The effects of aqueous fraction of *Urtica macrorrhiza* Hand-Mazz on production of TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub> release from peritoneal macrophages induced by LPS in adjuvant arthritis rats. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2008, 20: 614-616.
- 3 Li XX(李颖曦), Chen D(陈丹), Li KQ(李克秋), et al. Strategies for generating regulatory dendritic cells and the clinical application of immune tolerance. *Tianjin Med J*(天津医药), 2014, 42:725-727.
- 4 Yuan Y(袁媛), Su C(苏川), Su YQ(束永前). Dendritic cells-based tumor vaccines: advances in research and practice. *Chin J Clin* (中华临床医师杂志), 2014, 17: 3181-3185.

物分析杂志), 1998, 18:163-165.

- 5 Ozawa M, Honda K, Nakai I, et al. Hypaphorine, an indole alkaloid from *Erythrina velutina*, induced sleep on normal mice. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18:3992-3994.
- 6 Hakima BK, Driss L, Akino J, et al. Role of hypaphorine in the toxicity of *Astragalus lusitanicus*. *Nat Prod Res*, 2008, 22: 453-457.
- 7 Dauphin A, Gérard J, Lapeyrière F, et al. Fungal hypaphorine reduces growth and induces cytosolic calcium increase in root hairs of *Eucalyptus globulus*. *Protoplasma*, 2007, 231(2):83-88.
- 8 Ren AN(任爱农), Lu AL(卢爱玲), Tian YZ(田耀州), et al. AHP application to study of weighted coefficient on multi-criteria optimization of extraction technology about Chinese traditional compound drugs. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, 33:372-374.

- 15 Dai DB(戴东波), You J(尤佳), He WJ(何雯洁), et al. Preparation of curcumin-loaded mPEG-PLA nanoparticles and its quality evaluation. *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2014, 45:194-199.
- 16 Duan YR(段友容), Zhang ZR(张志荣), Tang YG(唐永刚). The preparation of PELGE-NP and a study of the factors affecting their diameter. *J Sichuan Univ, Med Sci* (四川大学学报, 医学版), 2005, 36:115-118.

- 5 Wu N(吴楠), Liu W(刘薇), Lu GX(卢光琇). Experimental study on induction and expansion of dendritic cells from human peripheral blood *in vitro*. *Progr Mod Biomed* (现代生物医学进展), 2012, 25:4948-4997.
- 6 Ju XH(鞠晓红), Fang DY(方德洋), Liu YX(刘玉侠), et al. *In vitro* induction of dendritic cell from umbilical cord blood and characteristic identification. *Chin J Clin Rehabil* (中国临床康复), 2006, 10(9):40-42.
- 7 Li N(李宁), Zhang QL(张庆林). Chemical components and pharmacological effects of *Urtica*. *Chin New Drugs J* (中国新药杂志), 2007, 21:1746-1750.
- 8 Li XH(李晓红), Li BL(李兵兰), Zhao YN(赵永娜), et al. Chemical components and pharmacological effects of *Urtica*. *Chin J Ethnomed Ethnopharm* (中国名族民间医药杂志), 2007, 87:190-193.