

## 苦参常压提取与减压提取的工艺效果比较

梅明<sup>1</sup>, 伍振峰<sup>1,2\*</sup>, 韩丽<sup>1</sup>, 张定堃<sup>1</sup>, 杨明<sup>1,2\*</sup>

(1. 成都中医药大学 中药资源系统研究与开发利用国家重点实验室培育基地, 成都 611137;  
2. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

**[摘要]** **目的:**比较苦参常压与减压提取效果,为苦参的临床安全用药提供参考。**方法:**采用 HPLC 测定苦参碱与氧化苦参碱含量,流动相乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80:10:10),检测波长 220 nm。以苦参碱与氧化苦参碱总质量分数及比值的综合评分为指标,在单因素试验基础上,通过正交试验优化苦参常压与减压提取工艺条件并比较二者的提取效果。**结果:**最佳常压提取工艺为加 8 倍量水提取 3 次,每次 1 h;苦参碱与氧化苦参碱总质量分数及比值分别为 1.19% 和 0.430。最佳减压提取工艺为加 8 倍量水于 70 ℃ 提取 3 次,每次 1 h;苦参碱与氧化苦参碱总质量分数及比值分别为 1.18% 和 0.079。**结论:**苦参减压、常压提取时,苦参碱与氧化苦参碱的总质量分数无明显差别,但二者比值差异较大,提示减压提取可降低苦参提取物的毒性,该工艺可推广于苦参工业化生产。

**[关键词]** 苦参; 常压提取法; 减压提取法; 苦参碱; 氧化苦参碱

**[中图分类号]** R283.6;R282.71;R284.2;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)22-0016-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014220016

## Comparison Between Atmospheric and Vacuum Extraction Processes of Sophorae Flavescentis Radix

MEI Ming<sup>1</sup>, WU Zhen-feng<sup>1,2\*</sup>, HAN Li<sup>1</sup>, ZHANG Ding-kun<sup>1</sup>, YANG Ming<sup>1,2\*</sup>

(1. State Key Laboratory Breeding Base of Research and Utilization of Traditional Chinese Medicine (TCM) Resources System, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare extracting effects between vacuum and atmospheric extraction processes of Sophorae Flavescentis Radix. **Method:** HPLC was employed to determine contents of matrine and oxymatrine with mobile phase of acetonitrile-ethanol-3% phosphoric acid (80:10:10) and detection wavelength at 220 nm. Taking composite score of total mass fraction and ratio of matrine and oxymatrine as index, based on single factor tests, orthogonal design was used to optimize vacuum and atmospheric extraction processes conditions of Sophorae Flavescentis Radix. **Result:** Optimal conventional extraction process was extracted thrice with 8 times the amount of water for 1 h of each time; total mass fraction and ratio of matrine and oxymatrine were 1.19% and 0.430, respectively. Optimum vacuum extraction process was extracted thrice with 8 times the amount of water at 70 ℃, 1 h for each time; total mass fraction and ratio of matrine and oxymatrine were 1.18% and 0.079, respectively. **Conclusion:** Total mass fraction of matrine and oxymatrine has no significant difference by conventional and vacuum extraction process, but ratios of these two components have large differences. It shows that vacuum extraction can reduce toxicity of Sophorae Flavescentis Radix extracts, this optimized technology is

**[收稿日期]** 20140427(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81173565)

**[第一作者]** 梅明,在读硕士,从事中药生产新技术、新剂型、新制剂研究,Tel:18908202317,E-mail:799614276@qq.com

**[通讯作者]** \* 杨明,博士,教授,博士生导师,从事中药新剂型、新剂型、新技术研究,Tel:0791-87119118,E-mail:yangming16@126.com;  
伍振峰,博士,讲师,从事中药新剂型与新技术、中药制药装备研究,Tel:0791-87118658,E-mail:zfwu527@163.com

stable, feasible and suitable for industrial production of *Sophorae Flavescentis Radix*.

[Key words] *Sophorae Flavescentis Radix*; conventional extraction; vacuum extraction; matrine; oxymatrine

苦参又名苦骨、地槐等,性寒,味苦,具有清热燥湿、杀虫利尿之功效,主要有效成分为生物碱类和黄酮类。其中生物碱类成分具有抗炎、杀菌、安定镇痛等药理作用,活性成分为苦参碱和氧化苦参碱<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明苦参碱与氧化苦参碱的作用大致相同<sup>[2]</sup>,但前者的毒性较后者大<sup>[3-4]</sup>,这也制约了苦参的临床应用推广,具有一定的安全隐患,亟需寻找适宜的控毒手段。前期研究发现了苦参碱与氧化苦参碱的稳定性特点、相互转化条件及利用减压提取控制其转化的工艺路径。基于上述认识,本实验采用单因素试验与正交试验优选苦参的常压、减压提取工艺条件,以期促进苦参提取的科学化与规范化,为其临床安全用药提供参考。

## 1 材料

LC-10AT型高效液相色谱仪(日本岛津),AE240型1/10万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FA1104型1/1万电子天平(上海天平仪器厂),pHS-3C型精密pH计(上海日岛科学仪器有限公司)。

苦参饮片购自四川科伦天然药业有限公司,批号101209,经成都中医药大学药教研室卢先明教授鉴定为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* 的干燥根;苦参碱、氧化苦参碱(成都曼斯特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-13021904, MUST-13021902),乙腈、无水乙醇为色谱级,水为自制纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 苦参碱与氧化苦参碱的含量测定

**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取苦参碱、氧化苦参碱对照品适量,分别置于10 mL棕色量瓶中,加乙腈-无水乙醇(80:20)溶解并稀释至刻度,作为贮备液;临用前精密吸取1.0 mL置于10 mL量瓶中,加乙腈-无水乙醇(80:20)稀释至刻度,分别得每1 mL含苦参碱0.052 8 mg和氧化苦参碱0.152 3 mg的对照品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 精密量取提取液10 mL,加氨水调节pH 9~10,加三氯甲烷萃取6次,每次20 mL,合并萃取液,回收溶剂,残渣加无水乙醇适量使溶解并转移至25 mL量瓶中,加无水乙醇定容,即得。

**2.1.3 色谱条件** Kromasil NH<sub>2</sub> 色谱柱(4.6 mm ×

250 mm, 5 μm),流动相乙腈-无水乙醇-3%磷酸溶液(80:10:10),流速1 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长220 nm,柱温30℃,进样量10 μL。

**2.1.4 线性关系考察** 量取2.1.1项下苦参碱、氧化苦参碱对照品溶液,分别进样2,4,6,8,16,20 μL按2.1.3项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程分别为  $Y = 6.976 \times 10^5 X - 3\ 028.1$  ( $R^2 = 0.999\ 8$ ),  $Y = 7.353 \times 10^5 X - 7\ 315.3$  ( $R^2 = 0.999\ 8$ ),线性范围分别为0.105 6~1.056,0.304 6~3.046 μg。

**2.1.5 精密度试验** 取2.1.1项下苦参碱、氧化苦参碱对照品溶液,照2.1.3项下色谱条件连续测定6次,计算峰面积RSD分别为1.1%和2.6%,表明仪器精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于0,2,4,6,8,10,12 h按2.1.3项下色谱条件测定,计算苦参碱、氧化苦参碱峰面积的RSD分别为2.1%和2.4%,表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

**2.1.7 重复性试验** 在同一提取条件下平行制备6份提取液,照2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.3项下色谱条件测定,计算苦参碱、氧化苦参碱峰面积的RSD分别为2.5%和2.7%,表明该方法重复性良好。

**2.1.8 加样回收试验** 取已知含量的苦参提取液6份,每份5.0 mL,各加入苦参碱对照品溶液11.76 mL和氧化苦参碱对照品溶液9.06 mL,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.3项下色谱条件测定,计算苦参碱、氧化苦参碱平均回收率依次为97.63%,98.12%,RSD分别为2.2%,2.4%,表明该分析方法准确可靠。

**2.2 单因素试验考察** 在预试验基础上,称取苦参饮片10 g,共34份,选取提取温度(仅针对减压提取)、提取时间、溶剂用量、提取次数为考察因素,以苦参碱与氧化苦参碱总量、苦参碱与氧化苦参碱比值的综合评分为指标,权重系数均为0.5,使苦参碱与氧化苦参碱总量达最大,同时苦参碱与氧化苦参碱比值为最小值。

**2.2.1 提取温度** 固定提取时间1 h,溶剂用量10倍,提取数2次,提取温度分别为50,60,70,80,90,100℃,结果苦参碱与氧化苦参碱总质量分数分别

为 0.89% ,0.99% ,1.04% ,0.91% ,0.87% ,0.74% ;  
苦参碱与氧化苦参碱比值依次为 0.127, 0.125,  
0.118,0.167,0.192,0.423;综合评分依次为 0.89,  
0.94,1.00,0.79,0.73,0.50。

**2.2.2 提取时间** 恒定提取温度 60 ℃,溶剂用量  
10 倍,提取数 2 次,提取时间分别为 0.5,1.0,1.5,  
2.0 h,结果苦参碱与氧化苦参碱总质量分数分别为  
0.81% ,0.99% ,1.09% ,1.06% ;苦参碱与氧化苦参  
碱比值依次为 0.125,0.100,0.124,0.140;综合评  
分依次为 0.76,0.95,0.92,0.84。

**2.2.3 溶剂量** 恒定提取温度 60 ℃,提取时间  
1 h,提取数 2 次,溶剂用量分别为 8,10,12,14 倍,  
结果苦参碱与氧化苦参碱总质量分数依次为  
0.97% ,1.03% ,1.04% ,1.03% ;苦参碱与氧化苦参  
碱比值分别为 0.090,0.085,0.118,0.120;综合评

分依次为 0.97,0.99,0.87,0.87。

**2.2.4 提取次数** 固定提取温度 60 ℃,提取时间  
1 h,溶剂用量 10 倍,提取数分别为 1,2,3 次,计算  
苦参碱与氧化苦参碱总质量分数依次为 0.74,  
1.01,1.05;苦参碱与氧化苦参碱比值分别为  
0.088, 0.098, 0.117;综合评分依次为 0.85,  
0.93,0.87。

**2.3 正交试验优化** 在单因素试验基础上,确定减  
压提取温度 70 ℃,以水为提取溶剂,选取提取时间、  
溶剂用量及提取次数为考察因素,以苦参碱与氧化  
苦参碱总量、苦参碱与氧化苦参碱比值的综合评分  
为指标。

**2.3.1 常压提取工艺** 精密称取苦参饮片约 10  
g,共 18 份,试验安排及结果见表 1,方差分析见  
表 2。

表 1 苦参常压提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A 提取时间/h	B 溶剂用量/倍	C 提取数/次	D(空白)	苦参碱与氧化苦参碱		综合评分
					总质量分数/%	比值	
1	0.5	8	1	1	0.70	0.429	0.77
2	0.5	10	2	2	0.92	0.415	0.88
3	0.5	12	3	3	1.12	0.400	0.98
4	1	8	2	3	0.84	0.448	0.81
5	1	10	3	1	1.12	0.455	0.92
6	1	12	1	2	0.76	0.434	0.79
7	1.5	8	3	2	1.16	0.415	0.98
8	1.5	10	1	3	0.88	0.419	0.86
9	1.5	12	2	1	1.07	0.446	0.91
$K_1$	2.63	2.56	2.42	2.60			
$K_2$	2.52	2.66	2.60	2.65			
$K_3$	2.75	2.68	2.88	2.65			
R	0.08	0.04	0.15	0.02			

表 2 常压提取工艺综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	0.01	0.00	15.88	>0.05
B	0.00	0.00	4.96	>0.05
C	0.04	0.02	64.48	<0.05
D(误差)	0.00	0.00		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19$ (表 4 同)。

由直观分析可知,影响苦参常压提取效果的因  
素主次为  $C > A > B$ ,最佳组合  $A_1B_1C_3$ 。方差分析表  
明因素 C 对提取工艺具有显著性影响,其他因素则  
均无显著性差异。综合生产实际情况考虑,确定最

佳常压提取工艺为  $A_2B_1C_3$ ,即加 8 倍量水提取 3  
次,每次 1 h。称取苦参饮片 3 份,每份约 10 g,按优  
选的工艺条件进行验证试验,结果苦参碱与氧化苦  
参碱总质量分数分别为 1.19% ,1.17% ,1.20% ;二  
者比值依次为 0.417,0.444,0.429,说明该提取工  
艺稳定可行。

**2.3.2 减压提取工艺** 精密称取苦参饮片 18 份,  
每份约 10 g,试验安排及结果见表 3,方差分析见  
表 4。

由直观分析可知,各因素影响减压提取效果的  
顺序为  $C > A > B$ ,最佳组合  $A_1B_1C_3$ 。方差分析表明  
因素 C 对提取工艺具有极显著性影响,其他因素则

表3 苦参减压提取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A 提取时间/h	B 溶剂用量/倍	C 提取数/次	D(空白)	苦参碱和氧化苦参碱		综合评分
					总质量分数/%	比值	
1	0.5	8	1	1	0.59	0.093	0.64
2	0.5	10	2	2	0.83	0.092	0.75
3	0.5	12	3	3	0.89	0.072	0.88
4	1	8	2	3	1.01	0.098	0.80
5	1	10	3	1	1.17	0.083	0.93
6	2	12	1	2	0.57	0.096	0.62
7	1.5	8	3	2	1.13	0.076	0.96
8	1.5	10	1	3	0.70	0.094	0.68
9	1.5	12	2	1	1.05	0.094	0.83
$K_1$	2.27	2.40	1.94	2.40			
$K_2$	2.35	2.36	2.38	2.33			
$K_3$	2.47	2.33	2.77	2.36			
R	0.07	0.02	0.28	0.02			

表4 减压提取工艺综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	F	P
A	0.01	0.00	8.22	>0.05
B	0.00	0.00	1.01	>0.05
C	0.11	0.06	139.81	<0.01
D(误差)	0.00	0.00		

注:  $F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

均无显著性差异。综合生产实际情况考虑,确定最佳减压提取工艺为  $A_2B_1C_3$ ,即加 8 倍量水于 70 ℃ 减压提取 3 次,每次 1 h。称取苦参饮片 3 份,每份约 10 g,按优选的工艺条件进行验证试验,结果苦参碱与氧化苦参碱总质量分数分别为 1.16%, 1.20%, 1.17%; 二者比值依次为 0.084, 0.071, 0.083,说明该工艺合理可行。

### 3 讨论

苦参饮片及其复方在常压提取过程中会受到其他还原性物质(如黄酮类)的影响而使得氧化苦参碱转化为苦参碱<sup>[5-6]</sup>,但低温可减弱该转化过程。减压提取技术是在密闭环境中,通过抽真空使系统处于负压条件,在较低温度下使溶液处于沸腾状态的一种提取方法,能满足溶剂低温沸腾动态提取的要求且具有提取周期短、提取收率高、提取物杂质含量低等优点<sup>[7]</sup>。通过对苦参常压、减压提取工艺的

比较发现,虽然减压提取技术在苦参碱与氧化苦参碱总量上未能体现出明显优势,但能明显减弱氧化苦参碱向苦参碱的转化作用,说明温度能明显影响氧化苦参碱向苦参碱的转化,低温可减弱该转化过程,提高苦参提取物的安全性,为改善苦参的临床用药安全性提供参考。

### [参考文献]

- [1] 候杰荣,柯发敏,候思奎. HPLC 法测定苦参中 3 中苦参碱的含量[J]. 中药材,2014,37(2):274.
- [2] 苗抗立,张建中,董颖,等. 苦参的化学成分及药理的研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2001,13(2):69.
- [3] 张茜,李峰杰,金若敏,等. 苦参碱和氧化苦参碱致 HL7702 细胞毒性研究[J]. 中华中医药学刊,2011,29(6):1222.
- [4] 戴五好,钱利武,王丽丽,等. 苦参碱、氧化苦参碱对小鼠的毒性研究[J]. 安徽医药,2012,16(7):904.
- [5] 陆蕴如,杨钟柯,董育妹. 苦参在复方中化学成分变化的研究[J]. 中国中药杂志,1996,21(7):412.
- [6] 贾敏鸽,孙文基. 苦参及其复方中苦参碱与氧化苦参碱的转化研究[J]. 药物分析杂志,2003,23(2):90.
- [7] 陈晓东. 中药减压提取法原理及突破点[J]. 机电信息,2008(23):31.

[责任编辑 刘德文]