

苦参提取工艺优选

刘涛¹,李娟²,徐玉玲^{3*},陆梦婷¹,李冬磊¹

(1. 成都大学生物产业学院,成都 610106; 2. 南京海陵中药制药工艺技术研究有限公司,南京 210049;
3. 成都大学实验技术中心,成都 610106)

[摘要] 目的:优选苦参提取工艺参数。方法:以苦参总生物碱和干膏率为考察指标,单因素试验考察提取溶媒、溶媒 pH;采用正交试验法,选取溶媒用量、提取时间、提取次数为考察因素,以苦参总碱总量和固含物总量的总权重为考察指标,优选苦参提取工艺。结果:优选的提取工艺为加 0.2% 盐酸溶液提取 3 次,每次加 6 倍量溶媒,每次提取 2 h。结论:该优选工艺稳定可行,可用于苦参的工业化提取。

[关键词] 苦参; 滴定法; 苦参总生物碱; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)20-0058-03

Optimization of Extraction Process for *Sophora flavescens*

LIU Tao¹, LI Juan², XU Yu-ling^{3*}, LU Meng-ting¹, LI Dong-lei¹

(1. Faculty of Biotechnology Industry, Chengdu University, Chengdu 610106, China;

2. Nanjing Hailing R&D for Chinese Pharmaceutical Technology Co. Ltd, Nanjing 210049, China;

3. Experiment Technology Center of Chengdu University, Chengdu 610106, China)

[Abstract] Objective: To optimize extraction process parameters of *Sophorae flavescens*. Method: With total alkaloids from *S. flavescens* and dry extract as indexes, extraction solvent and pH of solvent were investigated by single factor test; With total weight of the content of total alkaloids and solid as indexes, Orthogonal design was used to investigate effect of solvent consumption, extraction time, extraction times on extraction process. Result: Optimal extraction process was: extracted 3 times with 6 times the amount of 0.2% hydrochloric acid, 2 hours each time. Conclusion: This optimized technology was stable and feasible, it could be used to industrial extraction of *S. flavescens*.

[Key words] *Sophora flavescens*; titration; total alkaloids from *S. flavescens*; extraction process

肺毒清(FDQ)来源于临床经验方,具有清热解毒、止咳化痰的功效,其处方中含苦参。文献研究表明,生物碱为苦参中主要有效成分,具有抗心肌梗死^[1]、抗肿瘤^[2]、抗病毒^[3-4]及镇静催眠作用^[5]。其含量测定方法有滴定法、薄层扫描法、HPLC^[6-8]、分光光度法^[9],提取纯化方法有酸提、醇提及水提

等^[10]。本试验旨在优选苦参的提取工艺,同时测定提取液中总生物碱的含量。

1 材料

BP211D 型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),苦参购自成都市荷花池中药材市场,批号 20120228,经成都大学生物产业学院刘涛研究员级高级工程师鉴定为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总生物碱含量测定

2.1.1 醇提取液供试液的制备 称取适量药材,加 6 倍量 60% 乙醇浸泡 30 min 后提取 3 次,每次 1 h,合并提取液,滤过,取相当于 1 g 原药材的续滤液,80 ℃ 水浴蒸干,加入酸水使完全溶解,加入浓氨试

[收稿日期] 20120704(020)
[基金项目] 成都大学开放实验室项目
[第一作者] 刘涛,博士,研究员级高级工程师,从事中药新药及成药质量再评价研究, Tel: 028-84641906, E-mail: liutao0578@sina.com
[通讯作者] * 徐玉玲,本科,工程师,从事中药研究, Tel: 13348967508, E-mail: xuyuling@cdu.edu.cn

液调药液 pH 10 ~ 11,用三氯甲烷萃取 5 次(三氯甲烷用量分别为滤液体积的 1,1,1/2,1/2,1/2 倍),合并、回收三氯甲烷,残渣加中性乙醇(对甲基红指示液显中性)3 mL 使溶解,蒸干,残渣加石油醚 5 mL 使溶解。精密加硫酸滴定液 20 mL,摇匀,即得。本法经方法学考察,符合相关规定。

2.1.2 酸水提取供试液的制备 称取适量药材,加 6 倍量 0.2% 盐酸溶液,浸泡 30 min 后提取 3 次,其余操作同 2.1.1 项下方法。本法经方法学考察,符合相关规定。

2.1.3 方法学考察 参照《中国药典》1995 年版一部苦参含量测定项下进行,供试品在考察的 1 h 内稳定,方法重复性良好 (RSD 1.15%, $n=5$),加样回收率 96.17% (RSD 0.69%, $n=6$),精密度良好 (RSD 0.98%, $n=5$),该方法可用作提取液中总生物碱的含量测定。

2.2 干膏率的测定 取干燥至恒重的蒸发皿,精密加入 100 mL 药液,水浴蒸干,于 105 ℃ 烘 3 h,干燥器中放冷,精密称重,计算,即得。

2.3 提取工艺优选

2.3.1 提取溶媒的选择 分别称取苦参药材 3 份,每份 100 g,倒入圆底烧瓶中并编号。于 1 号烧瓶中加入水 600 mL,2 号烧瓶中加 60% 乙醇 600 mL,3 号烧瓶加 pH 2 的盐酸溶液 600 mL。接上冷凝管,浸泡 0.5 h 后开始加热,提取 2 h,测得苦参总碱总量分别为 1.407,1.761,1.609 g;出膏率依次为 10.71%,12.21%,12.61%。表明 60% 乙醇苦参总碱总量最高,pH 2 盐酸溶液出膏率最高。但考虑到醇提液生

产成本较高,且其与酸水提取液苦参总碱总量无显著性差异,故本试验选用出膏率高、苦参总碱总量较高的盐酸溶液为提取溶媒。

2.3.2 盐酸溶液浓度考察 分别称取苦参药材 3 份,每份 100 g,倒入圆底烧瓶中并编号。于 1 号烧瓶中加入 0.1% 盐酸溶液 800 mL,2 号烧瓶中加入 0.2% 盐酸溶液 800 mL,3 号烧瓶加 0.3% 盐酸溶液 800 mL,浸泡 30 min 后开始加热。提取 2 h,测得苦参总碱总量分别为 1.609,1.78,1.788 g;出膏率分别为 16.16%,21.05%,20.30%。说明以 0.2% 盐酸溶液提取时,出膏率高及总生物碱含量相对较高。故选择 0.2% 盐酸溶液为提取溶媒。

2.3.3 正交试验优选^[10] 苦参提取工艺的影响因素有加溶媒量、提取时间、提取次数及提取溶媒。以 0.2% 盐酸溶液为溶媒,选取加溶媒量、提取时间、提取次数为考察因素,以苦参总碱总量及出膏率为考察指标,分别称取苦参药材 9 份,每份 100 g,按 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,以提取液中苦参总生物碱量和干膏率为考察指标,采用加权评分法进行评分,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 苦参提取工艺优选正交试验因素水平

水平	A	B	C
	加溶媒量/倍	提取时间/h	提取数/次
1	6	1	1
2	8	1.5	2
3	10	2	3

表 2 苦参提取工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	苦参总碱总量 /g	苦参总碱权重	固含物总量 /g	固含物权重	总权重
1	1	1	1	1.52	94.18	15.95	39.23	133.41
2	1	2	2	1.53	94.97	31.82	78.29	173.26
3	1	3	3	1.61	100	39.74	97.75	197.75
4	2	1	2	1.33	79.53	33.85	83.28	162.81
5	2	2	3	1.31	81.44	38.67	95.13	176.57
6	2	3	1	1.61	98.15	23.34	57.42	157.35
7	3	1	3	1.29	77.04	40.65	100	177.04
8	3	2	1	1.49	92.29	24.81	61.05	153.34
9	3	3	2	1.41	87.68	36.46	89.70	177.56
K_1	504.42	473.26	444.10					
K_2	496.73	503.17	513.63					
K_3	507.94	532.66	551.36					
R	11.21	59.40	107.26					

注:总权重 = $\frac{\text{苦参总碱总量}}{1.6098} \times 100 + \frac{\text{固含物总量}}{40.6479} \times 100$ 。

表 3 总权重方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	21.91	2	10.96	0.17	>0.05
B	588.07	2	294.04	4.65	>0.05
C	2 690.87	2	1 345.44	21.28	<0.05
D(空白)	126.48	2	63.29	1.00	

注： $F_{0.05}(2,2)=19.00$ 。

从表 2,3 结果可知,各因素影响顺序为 $C > B > A$,其中提取次数对总权重有显著性影响,其他因素对总权重无显著性差异。根据正交试验直观分析,确定苦参药材的最佳提取工艺为 $A_1B_3C_3$,即加 0.2% 盐酸溶液提取 3 次,每次加溶媒量 6 倍,每次提取时间 2 h。

2.4 验证试验 称取苦参药材 3 份,每份 200 g,按最佳提取工艺参数进行 3 次验证试验,结果苦参总碱总量分别为 3.21,3.20,3.22 g;固含物总量分别为 83.24,82.83,82.47 g。说明优选的苦参药材提取工艺稳定可行。

3 讨论

溶媒筛选试验表明,60% 乙醇较水及酸水更好,但考虑到醇提取生产成本较高,且其与酸水提取液苦参总碱总量无显著性差异,故本试验选用稀盐酸溶液为提取溶媒,目前我国制药工业所采用的提取设备材质经过钝化处理后能保证设备不受稀酸溶液的腐蚀。

从历版《中国药典》苦参原药材项下苦参总碱的含量测定方法的变化可知,随测定仪器的发展,其测定方法由滴定法发展为薄层扫描法直至 HPLC 等。但现代测定方法受检测仪器等的影响较大,目前较少用。采用正交试验对苦参总碱提取工艺进行研究时,由于供试液性质(如 pH)变化较大,因此,用 HPLC 测定提取液中苦参总碱的含量时需根据不同样品对色谱条件进行摸索,误差较大,试验结果可信度不强;且 HPLC 测定的只是生物碱含量,滴定法

测定总生物碱含量,更能代表苦参中有效成分,但文献研究表明,近年来对于苦参提取液,多采用 HPLC 测定其所含的苦参碱和氧化苦参碱,作为滴定法能够测定提取液中总生物碱含量,其结果更具有代表性,加之其供试液制备方法相对简单,故误差较小。因此,建议在进行含苦参原药材的工艺研究时,宜采用滴定法对提取苦参的工艺进行优化。

[参考文献]

[1] 王恒,吉杨丹,徐旖旎,等. 氧化苦参总碱对大鼠冠脉结扎诱发急性心肌梗死的保护作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):154.

[2] 马玲娣. 中药苦参总碱抗肿瘤作用的实验研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2005.

[3] 许斌,周双,黄玉仙,等. 氧化苦参总碱在鸭原代肝细胞中抗鸭乙肝病毒(DHBV)作用的研究[J]. 病毒学报,2006,22(5):369.

[4] 谭勇,杨静,赵宁等. 利用文本挖掘技术探索中药治疗慢性乙型肝炎的用药规律[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):232.

[5] 刘敬霞,李建生. 苦参及其有效成分治疗失眠症研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):284.

[6] 闵庆璐,王巍,鞠成国,等. HPLC 测定丹黄祛瘀片中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(1):60.

[7] 胥爱丽,毕晓黎,张建军,等. 重参消炎胶囊质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(12):13.

[8] 陈大中,赵润琴. 高效液相色谱法测定艾愈片中苦参碱和氧化苦参碱含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):20.

[9] 刘志才,毕鸿亮. 应用紫外分光光度法测定苦参总碱的含量[J]. 黑龙江医药,2001,14(3):174.

[10] 仝燕,王锦玉,张锴镔,等. 苦参总生物碱提取纯化工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2007,13(1):19.

[责任编辑 仝燕]