

## 妇舒保凝胶中黄柏、苦参的提取工艺优选

杨锐<sup>1</sup>, 王建春<sup>2\*</sup>, 陈晓峰<sup>2</sup>, 汪明志<sup>1</sup>, 张咏梅<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 张家港中医医院, 江苏 张家港 215600)

**[摘要]** 目的: 优选妇舒保凝胶中黄柏、苦参的提取工艺。方法: 以出固率和盐酸小檗碱、苦参碱的得率为指标, 单因素试验考察水煎煮法、乙醇回流法及乙醇渗漉法对黄柏、苦参提取效率的影响; 选取乙醇体积分数、乙醇用量、提取次数、提取时间为考察因素, 采用正交试验优选妇舒保凝胶中黄柏、苦参的提取工艺。结果: 选择乙醇回流法进行提取, 最佳提取工艺为加 8 倍量 50% 乙醇提取 3 次, 每次 1.5 h, 总生物碱得率约 2.47%。结论: 该优选工艺稳定可行、重复性良好, 为妇舒保凝胶中有效成分的提取提供试验依据。

**[关键词]** 妇舒保凝胶; 提取方法; 正交试验; 黄柏; 苦参

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0046-03

## Optimization of Extraction Technology of *Phellodendrom chinense* and *Sophora flavescens* from Fushubao Gel

YANG Rui<sup>1</sup>, WANG Jian-chun<sup>2\*</sup>, CHEN Xiao-feng<sup>2</sup>, WANG Ming-zhi<sup>1</sup>, ZHANG Yong-mei<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;  
2. Zhangjiagang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiagang 215600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction technology of *Phellodendrom chinense* and *Sophora flavescens* from Fushubao gel. **Method:** Taking yield of matrine, berberine hydrochloride and extract as indexes, single factor test was used to choose extraction method, including water boiling method, ethanol reflux method and ethanol percolation method; Orthogonal test was designed to optimize extraction technology of *P. chinense* and *S. flavescens* from Fushubao gel with extraction times, extraction time, the amount and concentration of ethanol as factors. **Result:** Ethanol reflux method was selected, optimum extraction technology was as follows: extracted 3 times with 8 times the amount of 50% ethanol, 1.5 hours each time. Yield of total alkaloid was about 2.47%. **Conclusion:** This optimized process was stable, feasible and reproducible, it could provide experimental basis for extraction of active ingredients from Fushubao gel.

**[Key words]** Fushubao gel; extraction technology; orthogonal experiment; *Phellodendrom chinense*; *Sophora flavescens*

妇舒保凝胶为江苏省中医院验方, 具有清热解毒、燥湿杀虫、祛腐生肌等作用, 由黄柏、苦参、大黄、虎杖等 10 味中药组成, 主要用于治疗阴道炎、宫颈炎、宫颈糜烂以及衣原体、支原体感染等, 属中医

“内病外治”者。本方中药物有效成分复杂, 既有脂溶性成分, 又有水溶性成分, 同时还含有中医配伍中“相恶”情况, 故拟将复方药物按所含主要有效成分进行分组提取。生物碱类是方中黄柏、苦参的有效成分<sup>[1-2]</sup>, 对药材及其制剂的质量控制起着决定作用。本试验以盐酸小檗碱、苦参碱得率及出固率为指标, 采用单因素试验筛选提取方法, 通过正交试验考察乙醇体积分数、乙醇用量、提取次数、提取时间对黄柏、苦参提取工艺的影响, 为妇舒保凝胶的提取工艺提供试验依据。

**[收稿日期]** 20120906(004)

**[第一作者]** 杨锐, 硕士, 从事药物新剂型和药物制剂研究, Tel: 15806248329, E-mail: yru0101@126.com

**[通讯作者]** \* 王建春, 主任中药师, 从事药物新剂型和药物制剂研究, Tel: 13706221220, E-mail: wjc13706221220@163.com

## 1 材料

Waters2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters), Shimadzu Aux220 型分析天平(日本岛津), pH 计(Mettler Toledo), 300 g 摇摆式 DFY-300 高速中药粉碎机(浙江温岭市林大林木有限公司)。

盐酸小檗碱、苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110713-200911, 110805-200508), 黄柏(产地四川,批号 110121), 苦参(产地江苏,批号 101206)均购自张家港市绿色中药饮片有限公司,经张家港中医医院药剂科余辉副主任鉴定,均符合《中国药典》2010 年版一部相关项下要求。乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 溶液的制备** 黄柏的提取方法有水提法、酸提法、醇提法及酸醇提法<sup>[3-4]</sup>等;苦参的提取方法有水提法、酸水渗漉法、醇提法、超声萃取法、超临界萃取法等<sup>[2]</sup>。考虑到工艺大生产的方便实用,本文选取醇提、水提、渗漉 3 个方法提取黄柏、苦参中有效成分,以盐酸小檗碱、苦参碱得率及出固率为指标,筛选最佳提取方法。

**2.1.1 乙醇回流提取(AE)液的制备**<sup>[3-6]</sup> 以 70% 乙醇为回流提取溶剂,按处方量分别称取黄柏、苦参饮片(1:0.8)30,24 g,加 8 倍量 70% 乙醇浸泡 30 min,回流提取 3 次,每次 2 h,合并乙醇液,减压回收乙醇,加 70% 乙醇定容至 500 mL,冷藏备用。

**2.1.2 水煎煮提取(WE)液的制备** 分别称取黄柏、苦参饮片 30,24 g,加 8 倍量 H<sub>2</sub>O 浸泡 30 min,煎煮 3 次,每次 2 h,合并煎液,减压浓缩,加水定容至 500 mL,冷藏备用。

**2.1.3 乙醇渗漉提取(PE)液的制备** 分别称取黄柏、苦参颗粒(10 目)30,24 g,加 70% 乙醇润湿 3 h,装渗漉筒,加 70% 乙醇浸泡 24 h,以 5 mL·min<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup> 速率渗漉,收集 15 倍量渗漉液,减压回收乙醇,加 70% 乙醇定容至 500 mL,冷藏备用。

**2.1.4 对照品溶液的制备** 精密称取已干燥至恒重的苦参碱、盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇分别制成盐酸小檗碱、苦参碱质量浓度分别为 0.140, 0.009 98 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.1.5 盐酸小檗碱供试品的制备** 精密移取 AE 液,WE 液,PE 液各 1 mL,每份提取液各 2 份,分别加 1% 盐酸甲醇溶液 5 mL 超声 30 min,取出,用盐酸甲醇溶液定容于 10 mL 量瓶中,滤过,精密吸取续滤液 1 mL,挥去溶剂,加甲醇定容于 5 mL 量瓶中,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.1.6 苦参碱供试品的制备** 精密移取 AE,WE,PE 液各 1 mL,每份提取液各 2 份,分别加氨水调 pH 至 9~10,用三氯甲烷萃取 6 次,每次 20 mL,合并萃取液,回收溶剂至干,残渣加无水乙醇适量使溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

## 2.2 盐酸小檗碱含量测定

**2.2.1 色谱条件** SunFire C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 溶液(85:15),流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,检测波长 265 nm,对照品、供试品进样量分别为 10,20 μL。

**2.2.2 线性关系考察** 分别精密吸取 2.1.4 项下盐酸小檗碱对照品溶液 2,4,6,8,10 μL,注入色谱仪,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样 3 次,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 4.57 \times 10^6 X - 1.57 \times 10^5$  ( $r = 0.999 8$ )。表明盐酸小檗碱在 0.28~1.40 μg 呈良好线性关系。

**2.2.3 样品测定** 吸取盐酸小檗碱供试品溶液,按 2.2.1 项下方法测定,结果盐酸小檗碱质量分别为 762,633,483 mg;盐酸小檗碱得率分别为 2.54%, 2.11%,1.61%。

## 2.3 苦参碱含量测定

**2.3.1 色谱条件** Lanbo 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 °C,对照品、供试品进样量分别为 10,20 μL。

**2.3.2 线性关系考察** 分别精密吸取 2.1.4 项下苦参碱对照品 5,7,9,11,13 μL,注入色谱仪,按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 3 次。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程  $Y = 1.022 \times 10^3 X - 0.035 6$  ( $r = 0.999 9$ ),线性范围 0.030~0.13 μg。

**2.3.3 样品测定** 吸取苦参碱供试品溶液,按 2.3.1 项下依法测定,结果苦参碱质量分别为 52.3, 47.3, 24.9 mg。苦参碱得率分别为 0.218%, 0.197%,0.104%。

**2.4 出固率的测定** 精密移取 AE,WE,PE 液各 25 mL,置恒重蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 °C 常压干燥 5 h,取出置干燥器中冷却 30 min,称定质重,按药材量计算出固率分别为 22.3%,28.9%,17.1%。

盐酸小檗碱得率 =  $\omega_1 \times 10^{-3} / 30 \times 100\%$ ; 苦参碱得率 =  $\omega_2 \times 10^{-3} / 24 \times 100\%$ ; 出固率 =  $W \times V / (25 \times \text{药材质量}) \times 100\%$ 。其中  $\omega_1$  为提取液中盐酸小檗碱含量; $\omega_2$  为提取液中苦参碱含量; $W$  为干

膏质量;  $V$  为提取液总体积。

由以上结果可知, 3 种提取方法中乙醇回流提取法效果最佳。

**2.5 提取工艺优选** 按处方量称取同一批黄柏、苦参药材各 9 份, 每份 54 g, 按  $L_9(3^4)$  正交表进行试验, 选取乙醇体积分数、乙醇用量、提取次数、提取时间为考察因素, 采用 HPLC 测定提取物中盐酸小檗碱、苦参碱的含量并计算得率。因素水平见表 1, 试验安排及结果见表 2, 方差分析见表 3, 4。

表 1 妇舒保凝胶中黄柏、苦参的提取工艺正交试验因素水平

水平	A 回流时间 /h	B 回流次数	C 液料比	D 乙醇体积 分数/%
1	1.5	1	8:1	50
2	2	2	10:1	60
3	2.5	3	12:1	70

表 2 妇舒保凝胶中黄柏、苦参的提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	总生物碱 得率/%	出固率 /%
1	1.5	1	8	50	1.521	12.76
2	1.5	2	10	60	2.211	16.05
3	1.5	3	12	70	2.432	18.48
4	2	1	10	70	1.857	14.02
5	2	2	12	50	2.213	18.20
6	2	3	8	60	2.471	19.83
7	2.5	1	12	60	2.049	15.80
8	2.5	2	8	70	2.315	25.98
9	2.5	3	10	50	2.303	20.84
总生物碱得率	$K_1$ 2.055	1.809	2.102	2.012	$K_2$ 2.180	2.244
	$K_3$ 2.222	2.402	2.231	2.201	$R$ 0.167	0.593
出固率	$K_1$ 15.763	14.193	19.523	17.267	$K_2$ 17.35	20.077
	$K_3$ 20.873	19.717	17.493	19.493	$R$ 5.11	5.884

注: 表中总生物碱得率是指盐酸小檗碱和苦参碱的得率之和。

表 3 总生物碱得率方差分析

方差来源	SS	$f$	$F$	$P$
A	0.046	2	1.586	>0.05
B	0.567	2	19.552	<0.05
C(误差)	0.029	2	1.000	
D	0.091	2	3.138	>0.05

注:  $F_{0.05}(2, 2) = 19.0$  (表 4 同)。

表 4 出固率方差分析

方差来源	SS	$f$	$F$	$P$
A	41.043	2	4.065	>0.05
B	65.250	2	6.462	>0.05
C	10.914	2	1.081	>0.05
D(误差)	10.097	2	1.000	

由直观分析可知, 各因素对提取工艺的影响大小依次为提取次数 > 乙醇体积分数 > 回流时间 > 料液比。以总生物碱得率为指标, 以极值最小的 C 因素为误差项进行方差分析, B 因素具有显著性差异, 其他因素无显著影响; 以出固率为指标, 各因素不同水平之间均无统计学意义。综上考虑, 确定最佳提取工艺为  $A_2B_3C_1D_1$ , 即加 8 倍量 50% 乙醇提取 3 次, 每次 1.5 h。

**2.6 验证试验** 按优选的提取工艺进行 3 次验证试验, 结果总生物碱得率分别为 2.468%, 2.436%, 2.472%; 出固率分别为 20.89%, 19.83%, 21.34%。说明优选的工艺重复性较好。

### 3 讨论

黄柏、苦参均为妇舒保凝胶中的君药, 且均含有生物碱类有效成分, 因此可归为一组进行提取。考虑到微波提取、超声提取等生产设备相对昂贵, 根据生产实际及盐酸小檗碱、苦参碱的理化性质, 确定从水提法、醇提法以及渗漉法中选取较优的提取方法。

### [参考文献]

- [1] 刘仁俊. 黄柏化学成分及药理作用浅谈[J]. 中国中医药杂志, 2011, 9(13): 83.
- [2] 郝秋娟, 李树立, 贾月眉. 苦参生物碱提取及检测方法研究进展[J]. 河北化工, 2011, 34(10): 23.
- [3] 刘丽梅, 王瑞海, 陈琳, 等. 黄柏总生物碱提取方法及工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 3.
- [4] 刘丽花, 陈天朝, 翟来超. 均匀设计优选黄连紫草膏中黄连、黄柏、当归水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 33.
- [5] 陈吉航, 黄松, 黄孟秋, 等. 多指标综合评分法优选妇科栓剂的提取工艺[J]. 中成药, 2010, 32(3): 508.
- [6] 王丹, 吕佳, 张振秋, 等. 正交实验法优选苦参生物碱提取工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(1): 51.

[责任编辑 全燕]