

# 益母草提取工艺优选

刘莉<sup>1</sup>, 高鹏<sup>1</sup>, 李慧金<sup>2</sup>

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250014; 2. 山东省医学科学院药物所, 山东 济南 250014)

**摘要:**以浸膏特性、水苏碱含量、总生物碱含量为指标, 比较了不同溶剂对益母草中生物碱的提取效果, 结果表明以水为溶剂, 经济易行, 且能够充分地提出有效成分。以盐酸水苏碱为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计法, 优选了水提取的最佳工艺条件, 水煎煮两次, 第一次加12倍量水, 第二次加9倍量水, 各煎1.5h。

**关键词:** 提取工艺; 盐酸水苏碱; 益母草

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)02-0003-03

## Studies on Extracting Techniques of Herba Leonuri

LIU Li<sup>1</sup>, GAO Peng<sup>1</sup>, LI Hui-jin<sup>2</sup>

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji-nan 250014, China;

2. Institute of Materia Medica, Shandong Medical Academy, Ji-nai 250014, China)

**Abstract:** The extracting effects of alkaloids from *Leonurus heterophyllus* by different solvents were optimized by extract properties, contents of stachydrine hydrochloride and total alkaloids. The results showed water was better extracting solvent. The optimized extracting condition were: boiling with water for two times sustaining for 1.5h each, using 12 times volume of water for first time and 9 times for the second by orthogonal designed method, by use of content of as makers.

**Key words:** extracting technique; stachydrine hydrochloride; herba Leonuri

益母草为中医妇科良药。其有效部位是以水苏碱和益母草碱为代表的总生物碱<sup>[1]</sup>, 其中水苏碱具有兴奋子宫的作用<sup>[2]</sup>, 且含量高, 易于测定。药理研究表明, 益母草的水浸膏和乙醇浸膏均有兴奋子宫的作用<sup>[3]</sup>。因此, 为了更完全地提出有效成分, 保证益母草制剂的质量, 以水苏碱和总生物碱含量为指标, 比较了不同溶剂对益母草中生物碱的提取效果, 结果以水为溶剂, 经济易行, 且能够充分地提出有效成分, 又采用正交试验优选了水提取工艺条件。

## 1 仪器与试药

CS-930 薄层扫描仪(日本岛津); 定量毛细管(美国 Drummond 厂); 硅胶 G(60 型, 青岛海洋化工集团公司); 盐酸水苏碱对照品(中国药品生物制品检定所); 其余试剂均为分析纯; 益母草(莱芜大峡谷采割, 经山东中医药大学中药鉴定教研室周凤琴老师鉴定为唇形科植物益母草 *Leonurus heterophyllus* Sweet. 地上部分, 符合药典 2000 版规定)。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 不同溶剂对益母草生物碱的提取效果

**2.1.1 供试品溶液的制备 水煎煮法(I):** 取益母草药材饮片 20g, 加水煎煮两次: 第一次 10 倍量 2.0h, 第二次 8 倍量 1.5h, 合并滤液, 浓缩制成每 1ml 含 1g 原药材的水提浓缩液, 备用。

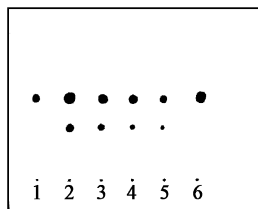
**乙醇回流提取法(II):** 取益母草药材饮片, 每份 20g, 共三份, 分别用 50% 乙醇、70% 乙醇、95% 乙醇回流提取, 提取时间, 次数及溶剂用量同上述水煎煮法(I), 滤液回收乙醇, 并浓缩制成浓度为每 1ml 含 1g 原药材的提取浓缩液, 备用。

将(I)法和(II)法中 50% 乙醇提取所制得的提取浓缩液, 加乙醇使含醇量达 70%, 滤过, 滤液回收乙醇并浓缩成每 1ml 含 1g 原药材的浓缩液。分别精密量取上述四份提取浓缩液各 3ml, 分别加于氧化铝柱(中性, 100~200 目, 3g)上, 用水 60ml 洗脱, 洗脱液分别水浴蒸干, 用 70% 乙醇定容至 2ml, 作为供试品溶液。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取 105℃下干燥至恒重的盐酸水苏碱对照品 10mg, 置 10ml 量瓶中, 加 70% 乙醇使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.1.3 薄层层析** 精密吸取供试品溶液 6μl, 对照品溶液 1μl 和 4μl, 点于同一 0.5% CMC-Na 硅胶 G 薄

层板上,以丙酮-无水乙醇-盐酸(10:6:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以改良碘化铋钾-1%三氯化铁无水乙醇(5:1)试液,冷风吹干,水苏碱及其下方未知生物碱斑点都呈红色,对水苏碱在  $\lambda = 525\text{nm}$ ,  $\lambda_r = 700\text{nm}$  处进行薄层扫描定量,同时将水苏碱及其下方斑点扫描的总积分值作为总生物碱,色谱图见图1,结果见表1。



1. 盐酸水苏碱对照品 2ml 2. 水提液 3. 50% 醇提液 4. 70% 醇提液 5. 95% 醇提液 6. 盐酸水苏碱对照品 4ml

图1 不同溶剂提取的生物碱 TLC 图谱

表1 益母草总生物碱提取溶剂的优选

提取	浸膏	水苏碱含量	总生物碱积值
(I) 水	较粘	4.54	19935
II(50% 乙醇)	含少量叶绿素	4.31	19209
II(70% 乙醇)	含较多叶绿素	4.25	18781
II(95% 乙醇)	含很多叶绿素	3.74	16429

由表中可以看出,水煎煮法(I)较不同浓度的乙醇回流提取法(II)经济易行,且能够充分地提出有效成分。在实验中发现,益母草为全草类药材,吸液量大,因此进一步对水煎煮的条件进行了考察。

## 2.2 益母草水提取工艺的正交筛选

**2.2.1 正交表设计及实验数据** 选择水为溶剂,重点考查溶剂用量,煎煮时间,煎煮次数三个因素。经预试验表明,益母草吸液量较大,故溶剂用量为12倍,10倍,8倍量(由于第一次煎煮吸液已达平衡,故二、三煎减少加水量),煎煮时间、次数取三个水平,设计了实验方案(见表2)。

表2 因素水平表

水平	因素		
	加水量(倍)	煎煮时间(h)	煎煮次数
	A	B	C
1	12 (9.9)	1	1
2	10 (7.7)	1.5	2
3	8 (5.5)	2	3

将三个因子用  $L_9(3^4)$  正交表安排实验(见表3),以水苏碱的含量为指标,(并测定浸膏得率作参考)。

实验方法:取益母草 50g,按正交表各列号项下条件分别进行提取、浓缩,定容至 50ml 作为供试品

溶液,精密吸取各供试品液 10ml,置已恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,105℃烘至恒重,并置干燥器中冷却 0.5h,称重测得浸膏重。

水苏碱的含量测定:精密吸取供试品液 3ml,加于  $\text{Al}_2\text{O}_3$  柱上,水 60ml 洗脱,洗脱液蒸干,甲醇溶解,定容至 2ml,薄层层析测定。

表3 正交实验表  $L_9(3^4)$

加水量	煎煮时间	煎煮次数	水苏碱含量 (mg/ml)	得膏量 (参考)
1	1	1	3.76	0.989
1	2	2	5.29	1.675
1	3	3	5.17	2.068
2	1	2	3.64	1.499
2	2	3	3.88	1.829
2	3	1	1.99	0.879
3	1	3	3.17	1.582
3	2	1	1.97	1.715
3	3	2	2.35	1.058
14.22	10.57	7.72	9.99	
9.51	11.14	11.28	10.45	
7.49	9.51	12.22	10.78	
2.243	0.543	1.5	0.263	

注:得膏量为参考值,不参与直观分析和方差分析。

**2.2.2 方差分析** 对实验数据的直观分析见表3,方差分析见表4。(两测定值相加计为总分,水苏碱约占 70%,得膏率约占 30%)。

表4 方差分析表

	离差平方和	自由度	方差	F 值
A	7.9508	2	3.9754	75.75*
B	0.4562	2	0.2281	4.35
C	3.7564	2	1.8782	35.79*
D	0.1050	2	0.0525	

由以上两表分析可知:加水量与煎煮次数为显著性因素,加水量 A 为主要因素,应选最优水平  $A_1$ ,煎煮次数为次要因素,由于  $K_3 - K_2 = 0.94$  较小,从工业生产省时考虑,应选  $C_2$ ;煎煮时间 B 为非主要因素,可选  $B_1$  或  $B_2$ ,直观分析说明:2号实验为最优实验,故最后确定水煎煮条件是  $A_1B_2C_2$ 。即水煎煮两次,第一次 12 倍量,1.5h;第二次 9 倍量,1.5h。

## 3 讨论

益母草水提和乙醇提取液因为含叶绿素等杂质,较粘稠,无法直接点样,需经进一步的精制。实

验试用了过大孔树脂柱、离子交换树脂柱、聚酰胺柱、氧化铝柱等方法,以过氧化铝柱为好,可以起到精制去杂的目的。

实验考察了水苏碱在中性  $\text{Al}_2\text{O}_3$  柱上的洗脱行为,按梯度洗脱的顺序,分别收集了水洗脱部分,70%乙醇洗脱部分和95%乙醇洗脱部分的洗脱液,经薄层分析,水洗即能将水苏碱完全洗下,且去除了杂质的干扰。

实验中发现,对于水提液和50%醇提液,其中含有大量的粘液质,氨基酸等水溶性杂质,仅通过

$\text{Al}_2\text{O}_3$  柱精制不能达到含量测定的要求,需先进行醇沉达70%的去杂处理。

#### 参考文献:

- [1] 吕富华. 益母草的药理研究[J]. 中华医学杂志. 1954, (9): 699.
- [2] 洪山海. 益母草生物碱之研究(第一报)[J]. 药学学报. 1959, 7(2): 59.
- [3] 阴健, 郭力弓. 中药现代研究与临床应用[M]. 北京: 学苑出版社, 1994. 556.