

# 苦参超滤液中氧化苦参碱络合萃取-反萃取工艺优化

乩 蕾<sup>1</sup>, 侯昕阳<sup>1</sup>, 魏舒畅<sup>1,2\*</sup>, 冯晓莉<sup>1,2</sup>, 万玲娟<sup>1</sup>, 刘晓霞<sup>1</sup>, 王博<sup>1</sup>

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃省中药制药工艺工程研究中心, 甘肃兰州 730000)

**摘要:** 目的 优化苦参超滤液中氧化苦参碱络合萃取-反萃取工艺。方法 以氧化苦参碱萃取率为评价指标, 单因素试验筛选稀释剂种类、超滤液 pH、络合剂体积分数、萃取时间; 以氧化苦参碱反萃取率为评价指标, 正交试验筛选反萃取剂种类、反萃取时间、转速。结果 最佳络合萃取条件为 12% 二(2-乙基己基)磷酸酯+88% 碘化煤油在 pH 10、转速 25 r/min 下萃取 4 h, 氧化苦参碱萃取率为 90.20%; 最佳反萃取条件为 1% 盐酸在 35 r/min 下反萃取 4 h, 氧化苦参碱反萃取率为 93.86%。结论 该方法可实现氧化苦参碱从超滤液到萃取剂再到反萃取剂的高效转移而进行分离制备。

**关键词:** 苦参; 超滤液; 氧化苦参碱; 络合萃取工艺; 反萃取工艺; 单因素试验; 正交试验

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)02-0565-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.033

苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根, 在我国药用历史悠久, 具有清热祛湿、化瘀解毒的功效<sup>[1]</sup>, 常用于治疗湿热痢疾、赤白带下、湿疹、湿疮与皮肤瘙痒等症, 含有丰富的生物碱类化合物<sup>[2]</sup>, 以氧化苦参碱为主<sup>[3]</sup>, 其也是 2020 年版《中国药典》规定的苦参质量控制指标成分之一。氧化苦参碱具有抑制炎症、清除自由基、保护肝脏、免疫调节、神经保护等药理作用<sup>[4-5]</sup>, 还可直接抗乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒<sup>[6]</sup>, 其注射剂被认为是治疗慢性乙型肝炎的安全有效药物<sup>[7-9]</sup>。

络合萃取是可逆的化学萃取过程, 可高效、高选择性地分离有机物稀溶液<sup>[10-11]</sup>, 近年来化工领域已实现其工业化应用, 主要用于处理废水<sup>[12-14]</sup>, 并能用于分离甘草中的有效成分, 效果较好<sup>[15-17]</sup>。生物碱分子中带有负氧化态的氮原子, 可提供与质子结合的未共用电子对而显碱性, 并能与酸性含磷类萃取剂发生络合反应进入萃取剂中, 再利用络合萃取的可逆性将氧化苦参碱从萃取剂中反萃取出来<sup>[18]</sup>。本实验将合萃取-反萃取工艺用于苦参超滤液中氧化苦参碱的分离, 采用稀酸溶液改变络合萃取体系 pH 而使其逆向进行, 再将氧化苦参碱反萃到稀酸溶液中, 从而实现萃取剂的重复利用。

## 1 材料

CL5 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); Waters e2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); SCI-RD-Pro 数控旋转混匀仪(上海斯澜仪器制造有限公司)。氧化苦参碱对照品(纯度≥97.3%, 批号 200462-210402z, 江苏永健医药科技有限公司); 二(2-乙基己基)磷酸酯(P204, 上海麦克林生化科技股份有限公司); 碘化煤油

(260#, 茂名市正茂石化有限公司)。苦参购自兰州市黄河中药材专业市场, 经甘肃中医药大学药学院魏舒畅教授鉴定为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根。乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

2.1 超滤液制备 取苦参 5 kg, 加 18 倍量 0.2% 盐酸回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液静置后取上清液, 在 0.1 MPa 下用 10 nm 陶瓷超滤膜超滤, 即得。

### 2.2 氧化苦参碱含量测定

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取氧化苦参碱对照品适量, 甲醇溶解, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 即得(该成分质量浓度为 0.454 mg/mL)。

2.2.2 供试品溶液制备 精密吸取苦参超滤液、络合萃取萃余液、反萃取液各 1 mL, 置于 5 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摆匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.2.3 色谱条件 Waters Symmetry-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相 0.01 mol/L 乙酸铵溶液(浓氨水调 pH 至 8.1)(A)-乙腈(B), 梯度洗脱(0~20 min, 10%~30% B; 20~24 min, 30%~10% B); 体积流量 1.0 mL/mL; 柱温 30 °C; 检测波长 210 nm; 进样量 10 μL。理论塔板数大于 4 000。色谱图见图 1。

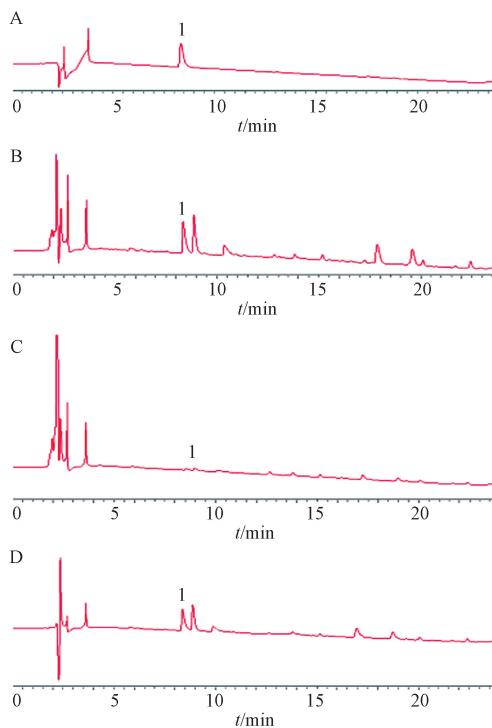
2.2.4 线性关系考察 将“2.2.1”项下对照品溶液用甲醇稀释至系列质量浓度, 在“2.2.3”项色谱条件下进样测定。以氧化苦参碱质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y)进行回归, 得方程为 Y=1 629.6X+6.224 7 (*r*=0.999 6), 在 0.022 7~0.454 mg/mL 范围内线性关系良好。

收稿日期: 2023-12-21

基金项目: 国家自然科学基金(82060721)

作者简介: 乩 蕾(1997—), 女, 硕士生, 从事中药制剂工艺研究。Tel: 17393190583, E-mail: 17393190583@163.com

\*通信作者: 魏舒畅(1969—), 男, 硕士, 教授, 从事中药制剂工艺研究。Tel: 13893467387, E-mail: wshch006@163.com



注: A 为对照品溶液, B 为苦参超滤液, C 为络合萃取余液, D 为络合萃取反萃液。

### 1. 氧化苦参碱

**图 1 氧化苦参碱 HPLC 色谱图**

## 2.3 方法学考察

**2.3.1 精密度试验** 取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 在“2.2.3”项色谱条件下进样测定 6 次, 测得氧化苦参碱峰面积 RSD 为 1.98%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.2 稳定性试验** 取“2.2.2”项下供试品溶液适量, 于 1、2、4、6、8、12、24 h 在“2.2.3”项色谱条件下进样测定, 测得氧化苦参碱峰面积 RSD 为 2.46%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.3 重复性试验** 取超滤液适量, 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.2.3”项色谱条件下进样测定, 测得氧化苦参碱峰面积 RSD 为 1.86%, 表明该方法重复性良好。

**2.3.4 加样回收率试验** 取氧化苦参碱含量已知的超滤液 9 份, 分为 3 组, 每组分别按 50%、100%、150% 水平精密加入对照品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2.3”项色谱条件下进样测定, 计算回收率。结果, 氧化苦参碱平均加样回收率为 97.01%, RSD 为 1.30%。

**2.4 络合萃取-反萃取法** 参考课题组前期报道<sup>[15-17]</sup>对苦参超滤液中氧化苦参碱进行分离, 计算萃取率及反萃取率, 公式分别为萃取率 = [(超滤液中质量浓度 - 萃余液中质量浓度) / 超滤液中质量浓度] × 100%、反萃取率 = [反萃取液中质量浓度 / (超滤液中质量浓度 - 萃余液中质量浓度)] × 100%。

**2.5 络合萃取工艺优化** 采用单因素试验。

**2.5.1 稀释剂种类** 本实验选择 P204 作为络合剂, 它为酸性磷类物质, 对碱性化合物具有络合萃取作用<sup>[19]</sup>, 但其黏度大, 流动性小, 易发生乳化, 而加入一定量稀释剂可解决上述问题, 还能增强络合物的溶解性, 进而提高其萃取效率。参照文献[15-17]报道, 在 25 r/min 下萃取 10 h, 分别以正辛醇、碘化煤油、石油醚为稀释剂测定氧化苦参碱萃取率, 结果见表 1, 可知依次为碘化煤油>石油醚>正辛醇, 故确定为碘化煤油。

**表 1 稀释剂种类对氧化苦参碱萃取率的影响**

萃取剂	氧化苦参碱质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )		萃取率/%
	超滤液中	萃余液中	
20% P204+80% 石油醚	0.328 6	0.214 3	34.78
20% P204+80% 碘化煤油	0.328 6	0.204 8	37.68
20% P204+80% 正辛醇	0.328 6	0.305 6	7.00

**2.5.2 超滤液 pH** 本实验以浓氨水分别调节超滤液 pH 至 4、6、9、10、11, 以 20% P204+80% 碘化煤油为萃取剂测定萃取率, 结果见表 2。由此可知, 随着 pH 增加氧化苦参碱萃取率升高, 而为 11 时开始降低, 故确定为 10。

**表 2 超滤液 pH 对氧化苦参碱萃取率的影响**

pH	氧化苦参碱质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )		氧化苦参碱萃取率/%
	超滤液中	萃余液中	
4	0.328 6	0.211 3	35.70
6	0.328 6	0.209 2	36.35
9	0.328 6	0.109 0	66.84
10	0.328 6	0.037 7	88.54
11	0.328 6	0.179 6	45.35

**2.5.3 络合剂体积分数** 本实验分别考察在 4%、6%、8%、10%、12%、14%、16%、20% P204 下氧化苦参碱萃取率<sup>[20]</sup>, 结果见表 3。由此可知, 随着 P204 体积分数增加氧化苦参碱萃取率升高, 这与络合剂结合的溶质变多有关, 而大于 12% 后降低, 表明萃取达到饱和, 故确定为 12%。

**表 3 络合剂体积分数对氧化苦参碱萃取率的影响**

萃取剂	氧化苦参碱质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )		氧化苦参碱萃取率/%
	超滤液中	萃余液中	
4% P204+96% 碘化煤油	0.328 6	0.281 8	14.23
6% P204+94% 碘化煤油	0.328 6	0.280 4	14.66
8% P204+92% 碘化煤油	0.328 6	0.253 8	22.77
10% P204+90% 碘化煤油	0.328 6	0.033 9	89.68
12% P204+88% 碘化煤油	0.328 6	0.032 4	90.15
14% P204+86% 碘化煤油	0.328 6	0.033 7	89.74
16% P204+84% 碘化煤油	0.328 6	0.037 2	88.69
20% P204+80% 碘化煤油	0.328 6	0.037 7	88.54

**2.5.4 萃取时间** 本实验分别萃取 1、2、4、6、8 h 时氧化苦参碱萃取率, 结果见表 4。由此可知, 随着萃取时间延长氧化苦参碱萃取率升高, 但程度不明显, 由于萃取过久会导致生产效率低下, 故确定为 4 h。

**2.6 反萃取工艺优化** 采用正交试验。

表4 萃取时间对氧化苦参碱萃取率的影响

萃取时间/h	氧化苦参碱质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )		氧化苦参碱萃取率/%
	超滤液中	萃余液中	
1	0.328 6	0.036 6	88.85
2	0.328 6	0.032 4	90.13
4	0.328 6	0.032 2	90.20
6	0.328 6	0.032 1	90.24
8	0.328 6	0.032 0	90.26

2.6.1 反萃取剂种类 本实验分别以1%甲酸、1%乙酸和1%盐酸为反萃取剂, 测得氧化苦参碱反萃取率, 结果见表5。由此可知, 以1%甲酸或1%乙酸为反萃取剂时, 氧化苦参碱反萃取率均较低; 以1%盐酸为反萃取剂时, 该成分萃取率较高, 可达90%左右, 故确定为1%盐酸。

表5 反萃取剂种类对氧化苦参碱反萃取率的影响

反萃取剂	氧化苦参碱质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )		氧化苦参碱反萃取率/%
	萃取剂中	反萃取剂中	
1%甲酸	0.296 4	0.193 8	65.38
1%乙酸	0.296 4	0.119 2	40.22
1%盐酸	0.296 4	0.278 5	93.96

2.6.2 优化过程 以盐酸体积分数(A)、反萃取时间(B)、反萃取转速(C)为影响因素, 氧化苦参碱反萃取率(Y)为评价指标, 设计L<sub>0</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验, 因素水平见表6, 结果见表7, 方差分析见表8。由此可知, 各因素影响程度依次为B>A>C; 因素A、B有显著或极显著影响( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), C无显著影响( $P>0.05$ )。最终确定, 最优工艺为A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>, 即盐酸体积分数1%, 反萃取时间4 h, 转速35 r/min。

表6 正交试验因素水平

水平	因素		
	A 盐酸体积分数/%	B 反萃取时间/h	C 转速/(r·min <sup>-1</sup> )
1	0.5	2	15
2	1	4	25
3	1.5	6	35

表7 正交试验设计与结果

试验号	A 盐酸体积分数/%	B 反萃取时间/h	C 转速/(r·min <sup>-1</sup> )	Y 氧化苦参碱反萃取率/%	
				D(空白)	Y 氧化苦参碱反萃取率/%
1	0.5	2	15	1	46.50
2	0.5	4	25	2	47.50
3	0.5	6	35	3	47.98
4	1	2	25	3	89.87
5	1	4	35	1	93.86
6	1	6	15	2	92.77
7	1.5	2	35	2	82.91
8	1.5	4	15	3	86.04
9	1.5	6	25	1	82.83
K <sub>1</sub>	140.68	217.98	223.91	—	—
K <sub>2</sub>	276.4	320.07	220.2	—	—
K <sub>3</sub>	251.78	130.81	224.75	—	—
R	45.24	63.09	1.24	—	—

表8 方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F值	P值
A	3 485.475	2	1 742.737	5 166.047	<0.001
B	14.928	2	7.464	22.126	0.043
C	3.908	2	1.954	5.792	0.147
D(误差)	0.675	2	0.337	—	—

2.7 验证试验 取苦参超滤液3份, 按“2.5”项下优化工艺进行络合萃取, “2.6”项下优化工艺进行反萃取, 结果见表9。由此可知, 氧化苦参碱平均萃取率为90.05%, RSD为0.13%; 平均反萃取率为93.87%, RSD为0.28%, 说明上述工艺稳定可靠, 重复性良好。

表9 验证试验结果(n=3)

超滤液体积/mL	氧化苦参碱质量浓度/(mg·mL <sup>-1</sup> )		萃取率/%	反萃取率/%
	超滤液中	萃取剂中		
15	0.328 6	0.295 5	89.93	94.11
15	0.328 6	0.296 3	90.17	93.59
15	0.328 6	0.295 9	90.05	93.91

### 3 讨论与结论

紫外光谱扫描显示, 氧化苦参碱吸收属于末端吸收, 在210~240 nm波长之间, 并且随着波长增加其紫外吸收呈逐渐减弱的趋势。考虑到本实验中萃余液所含氧化苦参碱含量较低, 故选择210 nm作为检测波长, 可有效提高方法的灵敏度。

络合萃取法首要之处是络合剂、稀释剂的选择。氧化苦参碱属于生物碱类, 分子中带有负氧化态氮原子, 可提供未共用电子与质子结合而显碱性, 与属于Lewis酸的P2O4形成络合物, 易溶于萃取相, 并且加入稀释剂后可使络合萃取体系黏度减小、流动性变大, 促使萃合物向萃取相中转移<sup>[21]</sup>。本实验分别考察了碘化煤油、正辛醇、石油醚作为稀释剂对氧化苦参碱萃取率的影响, 发现碘化煤油稀释时氧化苦参碱萃取率较高。

苦参超滤液是通过调节pH至碱性来将氧化苦参碱萃取到萃取剂中。因此, 本实验以盐酸为反萃取剂, 通过改变其体积分数使络合反应高效逆向进行, 并采用正交试验优化上述工艺, 将氧化苦参碱成功反萃到盐酸中。

综上所述, 本实验所得优化工艺不仅能分离得到苦参中的氧化苦参碱, 而且在分离过程中萃取剂可反复循环利用, 无溶剂残留, 具有操作简单、环境污染小、生产成本低等优点。

### 参考文献:

- [1] 曹建, 魏润杰, 邓茹芸, 等. 苦参碱及氧化苦参碱抑制肿瘤作用机制研究进展及展望[J]. 中草药, 2019, 50(3): 753-760.
- [2] 杨守研, 刘瑛琦. 苦参的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2024, 30(1): 80-83.
- [3] 计曼艳, 曾琨, 王华. HPLC-DAD法同时测定中药苦参中苦参碱、氧化苦参碱、苦参碱-碘化煤油络合物的含量[J]. 中草药, 2023, 54(18): 4371-4376.

- 参中七种生物碱成分的含量[J]. 中国药师, 2017, 20(1): 60-63.
- [4] 高佩佩, 王珍, 刘静, 等. 氧化苦参碱的药代动力学、毒理学及药理作用[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(7): 898-902.
- [5] 郭健, 曾华婷, 陈彦. 氧化苦参碱药理作用及其新型给药系统的研究进展[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2022, 24(12): 4633-4643.
- [6] Lu L G, Zeng M D, Mao Y M, et al. Inhibitory effect of oxymatrine on serum hepatitis B virus DNA in HBV transgenic mice[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(8): 1176-1179.
- [7] 张景正, 严宝飞. 氧化苦参碱的药理作用研究进展[J]. 广东化工, 2019, 46(16): 119-120; 91.
- [8] 高丹. 氧化苦参碱联合拉米夫定对慢性乙型肝炎患者血清IL-2、IL-4、IL-10水平的影响[J]. 中国现代医生, 2016, 54(24): 1-3; 7.
- [9] 张明发, 沈雅琴. 氧化苦参碱治疗慢性乙型肝炎的临床评价研究进展[J]. 药物评价研究, 2019, 42(9): 1871-1880.
- [10] 陈怀涛. 酚类废水的络合萃取预处理研究[J]. 世界农药, 2022, 44(4): 41-44.
- [11] 宋永会, 魏健, 马印臣, 等. 络合萃取法处理金刚烷胺制药废水[J]. 环境科学研究, 2014, 27(12): 1513-1518.
- [12] 王秋, 查振兴, 李影, 等. 2, 4-二氯苯氧乙酸生产废水中氯酚的络合萃取处理[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2020, 43(1): 49-54.
- [13] 屈泽鹏, 孙东明, 安路阳, 等. 络合萃取法处理高浓度含酚兰炭废水[J]. 工业用水与废水, 2020, 51(5): 9-13.
- [14] Xie F, Wang W. Recovery of copper and cyanide from waste cyanide solutions using emulsion liquid membrane with LIX 7950 as the carrier[J]. Environ Technol, 2017, 38(15): 1961-1968.
- [15] 周博, 蒲红利, 王继龙, 等. 甘草超滤液中甘草苷的络合萃取研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(6): 645-649.
- [16] 石盘棋, 魏舒畅, 周博, 等. 络合萃取甘草超滤液中甘草素的工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(6): 1281-1283.
- [17] 刘媛媛, 冯晓莉, 刘晓霞, 等. 络合萃取-反萃取制备甘草超滤液中芹糖甘草苷的工艺研究[J]. 中草药, 2022, 53(14): 4317-4322.
- [18] 韩海滨, 段泽敏, 王贤萍, 等. 络合萃取技术及其在生物碱分离中的应用[J]. 中国农学通报, 2009, 25(2): 39-42.
- [19] 苏海佳, 徐丽莲, 戴猷元. 有机胺类稀溶液的络合萃取[J]. 化工学报, 1997(6): 713-720.
- [20] 万玲娟, 刘媛媛, 冯晓莉, 等. 甘草超滤液中总黄酮络合萃取-反萃取工艺优化[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3422-3425.
- [21] 蒲红利, 周博, 魏舒畅, 等. 甘草超滤液中甘草酸的络合萃取研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(6): 157-160; 166.

## 通乳络膏方提取工艺优化

刘胜春<sup>1,3</sup>, 赵学刚<sup>2\*</sup>, 陈迎春<sup>1,3</sup>, 陈金花<sup>1,3</sup>

(1. 河北省中医院药学部, 河北 石家庄 050011; 2. 河北嘉迈医药科技有限公司, 河北 石家庄 050000;  
3. 河北省中药制剂产业研究院, 河北 石家庄 050011)

**摘要:** 目的 优化通乳络膏方提取工艺。方法 在单因素试验基础上, 以料液比、提取时间为影响因素, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷、阿魏酸、橙皮苷提取率及出膏率的综合评分为评价指标, 析因设计结合 Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。结果 最佳条件为料液比 1:8, 浸泡时间 8 h, 提取时间 1.5 h, 提取次数 3 次, 综合评分为 96.2 分。结论 该方法科学合理, 可用于提取通乳络膏方。

**关键词:** 通乳络膏方; 提取工艺; 析因设计; Box-Behnken 响应面法

**中图分类号:** R284.2

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2025)02-0568-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.034

随着社会竞争加剧, 压力过大、睡眠不足等导致气血虚弱、肝郁气滞, 使得产妇产后缺乳的现象多见, 西医对

本病的疗效并不理想, 而中医在此方面具有明显优势。目前, 市场上中药增乳制剂中大多含有国家一级保护动物穿

收稿日期: 2023-12-23

基金项目: 河北省中药管理局科研计划项目(2022328)

作者简介: 刘胜春(1975—), 女, 副主任中药师, 从事通乳药物研究。Tel: 13833467718

\*通信作者: 赵学刚(1977—), 男, 硕士, 高级工程师, 从事药学工艺及其质量研究。Tel: 15533959048