

苦豆子中氧化槐果碱的逆三相膜循环萃取分离

喀日耶姆·艾海提¹, 米尔扎提·麦麦提², 艾尔肯·依不拉音^{1,3*}

1. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

2. 新疆医科大学公共卫生学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

3. 新疆医科大学 中心实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: **目的** 建立氧化槐果碱(OSC)的HPLC测定方法及苦豆子中OSC的逆三相膜循环萃取分离工艺。**方法** 在单因素试验的基础上, 采用正交试验考察水相和有机相(氯仿)体积比、盐酸浓度、氢氧化钠浓度和提取时间对OSC提取工艺的影响, 确定最佳提取工艺。**结果** HPLC测定条件: Shim-pack VP-ODS色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液(7:93), 梯度洗脱, 体积流量1 mL/min, 进样量5 μL, 柱温30 ℃, 检测波长221 nm, OSC在0.01~0.7 mg/mL时线性关系良好, $r^2=0.9978$, 平均回收率为97.47%, RSD为1.95%。萃取纯化工艺参数: 水相和有机相体积比为1:1, 盐酸浓度为0.3 mol/L, 氢氧化钠浓度为0.75 mol/L, 循环泵体积流量6 mL/min, 循环时间60 min; 最佳条件下OSC溶液在60 min内萃取率达到98.21%。**结论** 该提取工艺操作简单, 有机溶剂消耗量低, 可用于生物碱的萃取。

关键词: 逆三相膜循环萃取分离; 氧化槐果碱; 逆三相膜; 紫外-可见分光光度法; HPLC; 正交试验

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)04-0686-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.04.012

Extraction and separation of oxysophocarpine from *Sophora alopecuroides* by inverse three-phase membrane cycle method

Kariyemu·AIHAITI¹, Mirzat·MAIMAITI², Arkin·IBURAIM^{1,3}

1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

2. School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

3. Central Laboratory of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract: Objective To establish the HPLC method for determination of oxysophocarpine (OSC) and optimize the extraction and purification technology of OSC from *Sophora alopecuroides* by inverse phase membrane. **Methods** Based on single-factor test, the influence of aqueous phase and organic phase volume ratio, the concentration of sodium hydroxide and hydrochloric acid, and the extraction cycle time were investigated using orthogonal design method. **Results** OSC was determined by Shim-pack VP-ODS chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), mobile phase was methanol-0.2% phosphoric acid aqueous solution (7:93), gradient elution, flow rate was 1 mL/min, column temperature was 30 ℃, and detection wavelength was 221 nm. The ratio of aqueous phase and organic phase volume was 1:1, hydrochloric acid concentration was 0.03 mol/L, sodium hydroxide concentration was 0.5 mol/L, water pump flow rate was 6 mL/min, and cycle time was 60 min. The extraction rate of OSC 98.21% in 60 min was under the best experimental conditions. OSC had good linearity relationship within the range of 0.01—0.7 mg/mL, $r^2 = 0.9978$, and the respective average recovery rate was 97.47%, RSD = 1.95%. **Conclusion** This extraction technology is simple operation, with low organic solvent consumption, and can be used for alkaloids extraction.

Key words: reverse phase membrane extraction; oxysophocarpine; inverse three-phase membrane; ultra-violet spectrophotometry; HPLC; orthogonal design

收稿日期: 2016-09-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21162030)

作者简介: 喀日耶姆·艾海提, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为药物分析。E-mail: 979361713@qq.com

*通信作者 艾尔肯·依不拉音(1959—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为在线光纤传感检测技术在药物及食品检测中的应用、新疆特色植物抗氧化活性成分的研究及开发。Tel: (0991)4365034 E-mail: arkinxyd@sina.com

氧化槐果碱 (oxysophocarpine, OSC) 为苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 种子中提取分离的生物碱^[1-2]。近年研究证明, OSC 能升高白细胞数、增强机体免疫力, 从而起到抗痢疾杆菌、皮肤真菌、阿米巴原虫、滴虫等感染的作用, 并有利尿、平喘、抗心律失常等作用^[3]。苦豆子含有 20 余种喹诺里西啶 (quinolizidine) 类生物碱^[4-6], OSC 的量较高, 在一定条件下可与槐果碱相互转化^[7]。

提取 OSC 的传统方法^[8-14]有离子交换萃取法、溶剂萃取法、回流法和水蒸气蒸馏法等。现代方法有超临界流体萃取法、连续逆流液液萃取法、超声提取法^[15-18]等。膜萃取为近年来发展迅速的一种萃取方法, 包括支撑液膜萃取、微乳液膜萃取、中空纤维膜萃取^[19-22]。逆三相膜循环分离萃取是中空纤维膜萃取的分支^[23], 膜分离萃取和溶剂萃取过程具有较多相似之处, 萃取原理基本相同, 都由萃取与反萃取 2 步组成。但是, 溶剂萃取中萃取与反萃取是分步进行的, 之间的耦合是通过外部设备 (循环泵与管线等) 实现的, 液膜过程的萃取与反萃取则分别发生在膜的两侧界面。而逆三相膜循环萃取分离^[24-26]利用聚四氟乙烯膜固定酸碱相界面, 酸相和碱相分别在膜的两侧搅拌, 有机相在循环泵的作用下在酸碱相之间不停地循环。逆三相膜循环分离萃取与其他方法相比, 具有溶剂消耗量低、萃取时间短、成本低、操作简单等优势。

为保证提取物的纯度, 本实验利用紫外-可见分光光度法对 OSC 进行了理化鉴别和定量测定, 并采用 HPLC 法^[27-29]测定萃取后 OSC 的质量分数, 为建立萃取物质量标准提供依据。为了提高 OSC 的萃取率, 本实验以 OSC 的提取率为指标, 考察逆三相膜循环萃取提取工艺, 采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验对 OSC 的提取工艺进行探讨, 从而确定最佳提取工艺。

1 仪器与试药

Agilent 1200-DAD 高效液相色谱仪, 安捷伦科技公司, 包括 DAD-G1315C 检测器、G1312B 脱气机、G1367C 自动进样器、G1316B-TCC/SL 柱温箱、G1322A 二元输液泵; Shim-pack VP-ODS 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); UV-2550 紫外-可见分光光度计、PRR-2A 循环泵, 日本岛津公司; JJ-1 增力电动搅拌器, 金坛市医疗机械厂; KQ-250B 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 聚四氟乙烯膜, PTFE 膜 (聚四氟乙烯膜, 是一种膜材料, 膜的一种类型), 厚度 1.2 μ m, 九江奥泰橡塑有限公司; 分液漏斗; 三口瓶。

对照品 OSC, 批号 JZ20140508, 质量分数 99%, 购自南京景生物科技有限公司; 苦豆子药材采自新疆吐鲁番市鄯善县鲁克沁乡, 经新疆医科大学药学院帕丽达教授鉴定为豆科槐属植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 的干燥成熟种子; 氢氧化钠, 天津永晟精细化工有限公司; 硫酸, 西安化学试剂厂; 盐酸、硝酸, 四川西陇化工有限公司; 磷酸, 天津市盛奥化学试剂有限公司; 氯仿、石油醚、正丁醇、醋酸乙酯、冰乙酸, 均为分析纯; 甲醇, 色谱纯; 实验用水为 2 次蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 提取物中 OSC 的定量测定

2.1.1 色谱条件 Shim-pack VP-ODS 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液 (7:93), 梯度洗脱, 体积流量 1 mg/mL, 进样量 5 μ L, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 检测波长 221 nm。OSC 提取液、OSC 对照品溶液和苦豆子供试品溶液的色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取 OSC 对照品 50 mg, 0.5 mol/L 氢氧化钠水溶液溶解后移入 50 mL

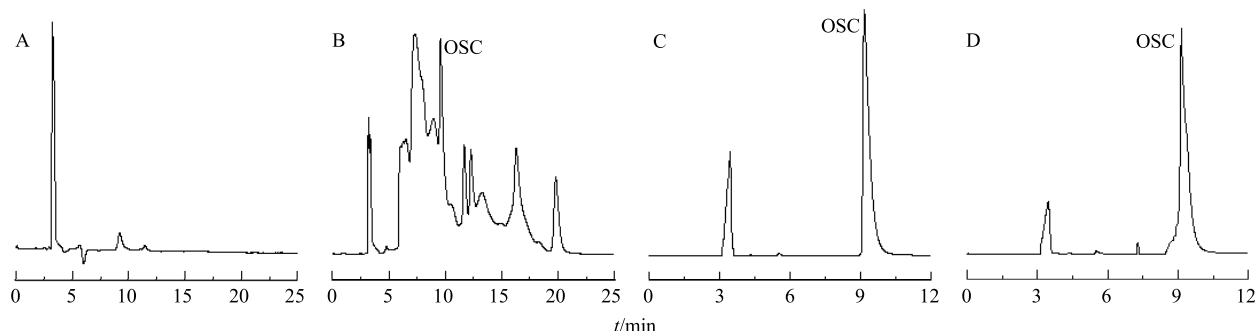


图 1 空白 (A)、苦豆子供试品 (B)、OSC 对照品 (C) 和 OSC 提取液 (D) 的 HPLC

Fig. 1 HPLC of blank (A), *S. alopecuroides* samples (B), oxysophocarpine reference substance (C), and oxysophocarpine extracts (D)

量瓶内,定容至刻度,摇匀,制成 1 mg/mL 的对照品溶液,备用。

2.1.3 OSC 提取物溶液的制备 取苦豆子种子粉末(过 40 目筛,孔径 0.4 mm) 0.2 g,置于 250 mL 三口瓶中,加入 0.3 mol/L 盐酸水溶液 75 mL 和氯仿 75 mL,在碱相放氢氧化钠溶液 75 mL 和氯仿 75 mL 搅拌循环 60 min。精密移取提取液,滤过,取续滤液作为 OSC 提取物的供试品溶液。

2.1.4 苦豆子供试品溶液的制备 苦豆子粉碎(过 40 目筛),称取 1 g,加甲醇 10 mL,称定质量,超声提取 30 min,补足减失的质量,上清液过 0.45 μ m 膜,即为苦豆子供试品溶液。

2.1.5 线性关系考察 精密量取 OSC 对照品溶液 0.05、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50 mL,分别置于 5 mL 棕色量瓶中,以未加 OSC 为空白对照,以峰面积值为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),得线性回归方程为 $Y=1\ 610.90 X-190.06$, $r=0.997\ 8$,结果表明 OSC 在 0.01~0.7 mg/mL 线性关系良好。

2.1.6 精密度试验 精密配制 0.005、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05 mg/L 对照品溶液,每个样品重复进样 6 次,测得吸光度(A)值,计算 RSD 为 0.93%,表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 精密吸取 OSC 提取物溶液(-4 $^{\circ}$ C 保存),分别在 0、2、4、6、8、9 h 进样分析,分别测定色谱峰峰面积。计算 RSD 为 0.88%,表明 OSC 在 9 h 内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 称取同一批苦豆子药材 3 份,按“2.1.3”项下方法制备 OSC 提取物溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录 HPLC 色谱图,测得 OSC 平均 RSD 为 1.88%,表明方法重复性良好。

2.1.9 回收率试验 精密称取苦豆子种子粉末 1.00 g(40 目),按“2.1.3”项下制备 OSC 提取物溶液,分别精密加入 0.05、0.1、0.3 mg/mL 的对照品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,计算平均回收率为 97.47%,RSD 为 1.95%。

2.2 逆三相膜循环萃取分离 OSC 的理论分析

OSC 由于分子结构中氮原子上有 1 对未共用电子,并且处于并合环之间,立体效应的影响比较小,所以碱性较强,在植物内以盐的形式存在。在酸相中 OSC 和其他成分都被盐酸萃取出来。在酸相中分子状态的 OSC 和 H^+ 接触时,OSC 给出 1 个 OH^- 而变成游离状态的 OSC,见图 2。

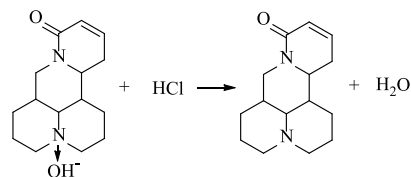


图 2 OSC 和酸相中 H^+ 的化学反应

Fig. 2 Reaction of OSC with H^+ in acid phase

OSC 中 N 原子的未对称电子和氯仿中的 H^+ 形成氢键,OSC 在氯仿中溶解度增加,促进游离态 OSC 从酸相转移到有机相。萃取 OSC 的同时也被萃取出来的蛋白质、果胶、纤维素和半纤维素类化合物不能通过 PTFE 膜,是因为 PTFE 膜只能通过分子,而不能通过离子。

氯仿在循环泵的作用下循环到碱相,接触碱相的 OH^- 时,OSC 和 OH^- 发生缔合反应,反应速度快,而且离子状态的 OSC 不能通过 PTFE 膜,所以 OSC 在碱相中富集,见图 3。碱相中的氯仿在循环泵的作用下循环回酸相,在酸碱相中不停地循环而达到富集 OSC 的目的。

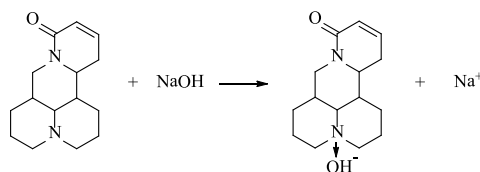


图 3 OSC 和碱相中 OH^- 的化学反应

Fig. 3 Reaction of OSC with OH^- in acid phase

2.3 逆三相 PTFE 膜循环萃取分离过程

在 B 瓶中加入 OSC、盐酸溶液和 75 mL 氯仿的混合溶液。在 A 瓶中加入氢氧化钠溶液和氯仿各 75 mL。A、B 瓶同时搅拌 5 min,使水相和氯仿充分混匀。将分离膜装置插入到 A、B 瓶中,开始同时搅拌并同步启动循环泵循环氯仿(体积流量 6 mL/min),OSC 从 B 瓶中萃取到有机相,有机相通过分离膜和循环泵循环到 A 瓶。循环一定时间后,B 瓶中 OSC 全部转移至 A 瓶,碱相中的氯仿在循环泵的作用下循环回到酸相,同时在酸碱相中 OSC 不停地循环萃取,A、B 瓶达到新的萃取平衡。逆三相膜萃取系统示意图见图 4。

2.4 单因素考察实验

2.4.1 水相和有机相体积比对 OSC 萃取率的影响 在 B 瓶中加入 OSC、0.5 mol/L 硫酸和氯仿的混合溶液。在 A 瓶中加入 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液和氯仿的混合溶液。A、B 瓶同时搅拌 5 min,使水相和

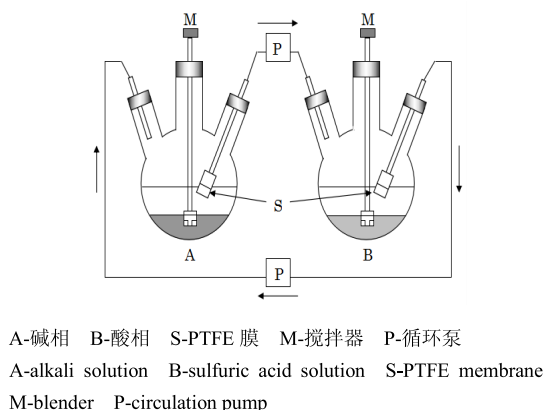


图 4 逆三相膜萃取系统

Fig. 4 Inverse phase membrane extraction system

氯仿充分混匀，体积流量 6 mL/min 下循环 35 min (考察循环时间之前，将循环时间设为 35 min)。

水相和有机相体积比为 0.5 : 1、1 : 1、1.5 : 1、2 : 1、2.5 : 1、3 : 1、4 : 1 时，OSC 的平均萃取率分别为 36.65%、57.05%、52.56%、42.90%、41.19%、28.57%、20.49% ($n=3$)。酸碱相和氯仿体积比 0.5 : 1 时 OSC 提取率为 37.97%。水相溶液越多，细胞内外的浓度差越大，传质推动力也越大，内扩散的速度也越大，有利于 OSC 的溶出。体积比增大到 1 : 1 时萃取率达到 57.05%，超过此比例后，OSC 的萃取率逐渐下降，是由于水相溶液的增大导致杂质溶出量增多，而且有机相加入量过低，水相提取液不能与有机相充分接触，引起萃取物不能完全溶解。综合考虑各因素，将体积比 1 : 1 作为萃取 OSC 的最佳实验条件。

2.4.2 酸相萃取剂 在 B 瓶中加入 OSC、不同的酸溶液和氯仿的混合溶液。在 A 瓶中加入 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液和氯仿各 75 mL。A、B 瓶同时搅拌 5 min，使水相和氯仿充分混匀，体积流量 6 mL/min 下循环 35 min。0.50 mol/L 盐酸、0.25 mol/L 硫酸、0.50 mol/L 硝酸溶液的平均萃取率分别为 63.17%、57.48%、53.49%，结果见表 1。用 0.50 mol/L 盐酸时萃取率最高，因为 0.50 mol/L 盐酸对植物细胞的穿透能力强，更有利于生物碱的溶解。0.25 mol/L 硫酸和 0.50 mol/L 硝酸的萃取率比盐酸低，可能因为硫酸、硝酸对植物细胞的穿透能力以及和 OSC 形成氢键的强弱不如盐酸强。所以将 0.50 mol/L 盐酸溶液作为最佳酸相萃取剂。

2.4.3 盐酸浓度 在 B 瓶中加入 OSC、不同浓度的盐酸和氯仿的混合溶液。在 A 瓶中加入 0.5 mol/L

表 1 酸相萃取剂种类对 OSC 萃取率的影响 ($n=3$)

Table 1 Effect of different stripping agents on extraction rate of OSC ($n=3$)

萃取剂	萃取率/%			
	5 min	15 min	25 min	35 min
0.25 mol·L ⁻¹ 硫酸	19.20	27.17	52.39	57.48
0.50 mol·L ⁻¹ 盐酸	7.09	15.15	51.12	63.17
0.50 mol·L ⁻¹ 硝酸	5.16	23.17	31.16	53.49

氢氧化钠溶液和氯仿各 75 mL。A、B 瓶同时搅拌 5 min，使水相和氯仿充分混匀，体积流量 6 mL/min 下循环 35 min。盐酸浓度为 0.01、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70、0.80、0.90 mol/L 时，OSC 的平均萃取率分别为 29.07%、42.13%、59.75%、72.95%、68.03%、60.11%、49.73%、42.84%、31.58%、20.28% ($n=3$)。盐酸浓度在 0.01~0.30 mol/L 时，盐酸 H⁺和生物碱变成游离状态的生物碱，增大了其在有机相中的溶解度，所以提取率较高，0.30 mol/L 时萃取率为 72.95%。随着盐酸浓度的继续增加，有机相和生物碱的结合能力不断减弱，OSC 在酸相中的溶解度也不断降低。实际选定盐酸浓度在 0.30 mol/L。

2.4.4 氢氧化钠浓度 在 B 瓶中加入 OSC、0.3 mol/L 盐酸和氯仿的混合溶液。在 A 瓶中加入不同浓度氢氧化钠溶液和氯仿各 75 mL。A、B 瓶同时搅拌 5 min，使水相和氯仿充分混匀，体积流量 6 mL/min 下循环 35 min。OSC 在碱相中的萃取率随着 OH⁻浓度增加而增高，氢氧化钠浓度为 0.125、0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 mol/L 时，平均萃取率分别为 29.66%、44.68%、64.13%、84.29%、68.29%、51.66%。氢氧化钠浓度在 0.75 mol/L 时萃取率达到 84.29%，OH⁻浓度再增加时，OSC 趋向于成盐状态，在氯仿中的溶解度和萃取率逐渐降低，可能在 0.75 mol/L 时细胞内外生物碱已达平衡，如果继续增加 OH⁻浓度，提取液中的生物碱浓度会降低，不利于后续分离操作。

2.4.5 循环时间 在 B 瓶中加入 OSC、0.30 mol/L 盐酸和氯仿的混合溶液。在 A 瓶中加入 0.75 mol/L 氢氧化钠溶液和氯仿各 75 mL。A、B 瓶同时搅拌 5 min，使水相和氯仿充分混匀，体积流量 6 mL/min 下循环一定时间。随提取时间的增加，生物碱的提取率逐渐增加，15、30、45、60、90、120 min 的平均萃取率分别为 51.83%、84.23%、93.89%、98.97%、97.04%、96.87%。60 min 后生物碱的提取

率趋于稳定,说明此时细胞内外生物碱已经达到溶解平衡,随提取时间的延长,其他杂质在提取液中的溶出量也会增加,为了减少提取液中其他杂质的溶出量,减轻后续分离工艺的负担,不宜继续延长提取时间,所以将提取时间确定为 60 min。

2.5 正交试验优化提取工艺

根据以上单因素试验结果,提取次数为 3 次,采用正交试验设计,选取盐酸浓度(A)、氢氧化钠浓度(B)、提取时间(C)、体积比(D)4个因素,

设计每个因素选取 4 个水平,因素水平见表 2。以 OSC 萃取率为评价指标,采用 $L_{16}(4^5)$ 正交试验表安排试验,并对试验结果进行单因素方差分析,结果见表 3。由直观分析可知,各因素对提取效果的影响为 $A>B>C>D$,以盐酸浓度影响最大。每个因素 4 个水平之间的趋势为 $A_2>A_3>A_1>A_4$ 、 $B_3>B_4>B_2>B_1$ 、 $C_4>C_2>C_3>C_1$ 、 $D_1>D_4>D_2>D_3$ 。经方差分析结果(表 6)可知,A、B 因素对 OSC 的提取效果有极显著性影响($P<0.01$),C 和 D 因

表 2 $L_{16}(4^5)$ 正交试验设计及结果

Table 2 Design and results of $L_{16}(4^5)$ orthogonal test

试验号	A/(mol·L ⁻¹)	B/(mol·L ⁻¹)	C/min	D	E(空白)	萃取率/%
1	0.1 (1)	0.25 (1)	15 (1)	1 : 1 (1)	(1)	50.86
2	0.1 (1)	0.50 (2)	30 (2)	2 : 1 (2)	(2)	68.01
3	0.1 (1)	0.75 (3)	45 (3)	3 : 1 (3)	(3)	65.15
4	0.1 (1)	1.00 (4)	60 (4)	4 : 1 (4)	(4)	77.86
5	0.3 (2)	0.25 (1)	30 (2)	3 : 1 (3)	(4)	65.18
6	0.3 (2)	0.50 (2)	15 (1)	4 : 1 (4)	(3)	83.06
7	0.3 (2)	0.75 (3)	60 (4)	1 : 1 (1)	(2)	98.81
8	0.3 (2)	1.00 (4)	45 (3)	2 : 1 (2)	(1)	85.82
9	0.5 (3)	0.25 (1)	45 (3)	4 : 1 (4)	(2)	70.12
10	0.5 (3)	0.50 (2)	60 (4)	3 : 1 (3)	(1)	83.62
11	0.5 (3)	0.75 (3)	15 (1)	2 : 1 (2)	(4)	85.71
12	0.5 (3)	1.00 (4)	30 (2)	1 : 1 (1)	(3)	91.16
13	0.7 (4)	0.25 (1)	60 (4)	2 : 1 (2)	(3)	58.22
14	0.7 (4)	0.50 (2)	45 (3)	1 : 1 (1)	(4)	61.06
15	0.7 (4)	0.75 (3)	30 (2)	4 : 1 (4)	(1)	69.52
16	0.7 (4)	1.00 (4)	15 (1)	3 : 1 (3)	(2)	49.72
K_1	261.88	244.38	269.35	301.89	289.52	
K_2	332.57	295.75	293.87	297.46	286.66	
K_3	330.61	319.19	281.85	263.67	297.59	
K_4	238.52	304.26	318.51	300.56	289.81	
R	94.05	74.81	49.16	38.22	10.93	

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	P 值	显著性
A	1 724.774	3	104.805	0.002	极显著
B	791.612	3	48.102	0.005	极显著
C	329.359	3	20.013	0.017	显著
D	249.651	3	15.170	0.025	显著
E(误差)	16.457	3			

$$F_{0.05}(3, 3) = 9.280 \quad F_{0.01}(3, 3) = 29.500$$

素对 OSC 的提取效果有显著性影响($P<0.05$),因此,从大工业生产和降低成本、节省工时等方面综合考虑,确定最佳萃取工艺为 $A_2B_3C_4D_1$,即盐酸浓度为 0.30 mol/L、氢氧化钠浓度为 0.75 mol/L、提取时间为 60 min、体积比为 1 : 1。

为验证上述结果的正确性,保证提取工艺的合理可行,按上述最佳工艺条件,精密吸取“2.1.3”项下提取的 OSC 提取液,对优选的最佳工艺进行验证,照“2.1.1”项下色谱条件测定提取液中 OSC 的

质量浓度, 计算其萃取率。在最佳提取工艺条件下平行进行 3 组试验, 结果 OSC 萃取率分别为 97.41%、98.96%、98.26%, 平均萃取率是 98.21%。结果表明, 该工艺稳定、合理、可靠, 可为工业生产提供理论依据。

3 讨论

本研究通过单因素试验考察了各提取因素对提取 OSC 的影响规律。通过正交设计试验得到 OSC 的最佳提取工艺为水相和有机相溶剂体积比 1:1、盐酸浓度 0.30 mol/L、氢氧化钠浓度 0.75 mol/L、提取时间为 60 min、提取次数 3 次。按该条件验证试验 3 次, 得到 OSC 平均萃取率为 98.21%。综上所述, 本研究优化的提取工艺设计合理, 具有一定的重复性和重现性, 可作为 OSC 提取的生产工艺。

在试验因素的考察上, 本实验仅选择了盐酸浓度、氢氧化钠浓度和提取时间, 尚有溶剂体积比、酸相萃取剂等因素可供选择, 其完整的优化工艺有待进一步研究。

对 OSC 对照品溶液进行紫外扫描, 溶剂不同, 测出来的最大吸收波长也不同, 根据逆三相膜循环萃取分离原理, 用氢氧化钠溶液作为溶剂时得到的最大吸收波长 215 nm, 浓度 0.50 mol/L 时最大吸收波长为 221 nm。为了能在尽量短的时间内获得指标成分的完全分离, 本实验比较了甲醇-0.2%磷酸水溶液和甲醇-水的洗脱效果。结果表明使用甲醇-0.2%磷酸水溶液, 样品峰可得到完全分离, 且峰形良好。预试验发现 OSC 在实验过程中较不稳定, 冰箱冷藏过夜后易变质, 无法定量测定。因此, 稳定性实验表明样品需在 9 h 内完成测定。

参考文献

[1] 钱利武, 戴五好, 王丽丽, 等. 槐果碱及氧化槐果碱对小鼠的急性毒性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 256-258.

[2] Zhou Y, Wei Y H, Liu H X, *et al.* Preparation and *in vitro* evaluation of ethosomal total alkaloids of *Sophora alopecuroides* loaded by a transmembrane pH-gradient method [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(3): 1350-1358.

[3] 刘 静. 苦豆子总碱提取与注射液制备及药效学研究 [D]. 银川: 宁夏大学, 2012.

[4] 冷晓红, 陈海燕, 郭鸿雁, 等. 不同提取方法对苦豆子中氧化槐果碱与槐果碱含量的影响 [J]. 西北药学杂志, 2013, 28(5): 457-458.

[5] 杨清娥, 张宏利, 韩崇选, 等. 氧化槐果碱的提取分离

工艺及其毒性研究 [J]. 西北林学院学报, 2006, 21(3): 111-113.

[6] 李 莉, 张文学, 张顺利. 苦豆子生物碱的免疫调节作用及其作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(4): 附 7-附 8.

[7] 余永婷. 苦豆子生物碱提取分离纯化及抑菌性研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007.

[8] 秦学功. 苦豆子生物碱分离纯化与生物活性研究 [D]. 天津: 天津大学, 2002.

[9] Rui G, Nannan C, Yan W, *et al.* Optimized extraction and molecular characterization of polysaccharides from *Sophora alopecuroides* seeds [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 82(1): 231-242.

[10] Chang A H, Zhen C, Zhi H W, *et al.* Extraction and isolation of alkaloids of *Sophora Alopecuroides* and their anti-tumor effects in H₂₂ tumor-bearing mice [J]. *Afr J Tradit Complem*, 2014, 11(2): 245-248.

[11] 李生虎, 张永康, 李 勇. 苦豆子植物生物碱的提取及 TLC 分析 [J]. 山东畜牧兽医, 2015, 36(6): 12-14.

[12] Lu X, Lin B, Tang J G, *et al.* Study on the inhibitory effect of total alkaloids of *Sophora alopecuroides* on osteosarcoma cell growth [J]. *Afr J Tradit Complem*, 2014, 11(1): 172-175.

[13] Zheng K B, Li C H, Shan X S, *et al.* A study on isolation of chemical from *Sophora flavescens* Ait and their anti-glioma effects [J]. *Afr J Tradit Complem*, 2014, 11(1): 156-160.

[14] Mousavi S H, Motaez M, Zamiri-Akhlaghi A, *et al.* *In-vitro* evaluation of cytotoxic and apoptogenic properties of *Sophora pachycarpa* [J]. *Iran J Pharm Res*, 2014, 13(2): 665-673.

[15] 郭鸿雁, 冷晓红, 陈海燕, 等. 苦豆子籽总生物碱分离纯化工艺研究 [J]. 西部中医药, 2015, 28(10): 48-52.

[16] 李 军, 郝彩琴, 马小兰, 等. 正交试验法优化苦豆子总生物碱的超声提取工艺 [J]. 中国民族民间医药, 2014, 24(8): 24-27.

[17] 余永婷. 超声波提取苦豆子生物碱的工艺研究 [J]. 中国食品添加剂, 2008, 69(3): 69-73.

[18] Yu H G, Wang Z W, Wu Z C, *et al.* Dynamic membrane formation in anaerobic dynamic membrane bioreactors: role of extracellular polymeric substances [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): 17-23.

[19] 刘 涛, 伍利华, 李鹏程, 等. 清脑复神液精制工艺再评价研究 [J]. 中草药, 2015, 46(16): 2407-2412.

[20] Björkegren S, Karimi R F, Martinelli A, *et al.* A new emulsion liquid membrane based on a palm oil for the extraction of heavy metals [J]. *Membranes*, 2015, 5(2): 168-179.

- [21] Stetter F W, Cwiklik L, Jungwirth P, *et al.* Single lipid extraction: the anchoring strength of cholesterol in liquid-ordered and liquid-disordered phases [J]. *Biophys J*, 2014, 107(5): 1167-1175.
- [22] 刘双双, 刘丽芳, 朱华旭, 等. 超滤膜技术用于脉络宁注射液废弃物中多糖分离及其活性筛选研究 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2288-2293.
- [23] 米尔扎提·麦麦提, 尔西丁·买买提, 喀日耶姆·艾海提, 等. 正交试验优化逆三相膜萃取烟碱的工艺研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2016, 39(11): 1436-1439.
- [24] Brockmeyer B, Kraus U R, Theobald N. Accelerated solvent extraction (ASE) for purification and extraction of silicone passive samplers used for the monitoring of organic pollutants [J]. *Environ Sci Pollut R*, 2015, 22(24): 19887-19895.
- [25] Björkegren S, Karimi R F, Martinelli A, *et al.* A new emulsion liquid membrane based on a palm oil for the extraction of heavy metals [J]. *Membranes*, 2015, 5(2): 168-179.
- [26] Liu J, Li W J. Supported liquid membrane extraction technology and its application in detection of meat security [J]. *Meat Res*, 2010(7): 86-89.
- [27] 王晓萍, 石会丽, 李富贤, 等. HPLC 法同时测定苦刺花中氧化槐果碱、槐果碱、氧化槐果碱和氧化槐果碱的含量 [J]. 陕西中医, 2014, 35(9): 1247-1249.
- [28] 吴志娇, 赵红, 薛英, 等. HPLC 法同时测定氧化槐果碱、槐定碱和氧化槐果碱水 [J]. 中国科学院研究生院学报, 2011, 28(3): 398-402.
- [29] 古丽娜·沙比尔, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 石明辉, 等. HPLC 同时测定苦豆子中槐定碱、氧化槐果碱和氧化槐果碱的含量 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(24): 2619-2622.