

博落回生物碱提取工艺初步研究*

毛 鹏,周 乐*,冉晓雅,元 超,王永学

(西北农林科技大学生命科学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 分别以氯仿、甲醇和工业乙醇为溶剂,对博落回全草中的生物碱进行超声萃取,然后采用 3 种不同的萃取工艺对各粗提取物中的生物碱进行初步分离。通过对各粗提物和萃取物的提取率与生物碱的比较分析,确定出博落回总碱的最佳提取和分离工艺。其最佳工艺为:工业乙醇超声提取,浸膏溶于正丁醇/水(V/V 1:1)的混合溶液,并用正丁醇萃取。然后将正丁醇浸膏溶于氯仿/水(V/V 1:1)混合溶液,调 pH 至 10~11,再用氯仿萃取脂溶性总碱。此后,将水相调 pH 至中性再用正丁醇萃取水溶性总碱,总生物碱提取率可达 3.1%。

关键词: 博落回;生物碱;提取工艺;超声波

中图分类号: Q946.887

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2004)02-097-04

Preliminary Study on Extraction Technology of Alkaloids in *Macleaya cordata*

M AO Peng, ZHO U Le, RAN Xiao-ya, YU AN Chao, W AN G Yong-xue

(College of Life Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Three methods were used to extract the Alkaloids in *Macleaya cordata*. By extraction rate and thin layer chromatography(TLC) we selected the best way. The results were as follows: The sample was extracted with ethanol and was dissolved in n-butyl alcohol-water[(V/V) 1:1]. Then it was extracted in n-butyl alcohol and was solvated in chloroform-water[(V/V) 1:1]. This solvent was extracted by chloroform under condition of pH 10-11. The part of chloroform is the fat-solventing alkaloids and the part of water continually extracted by n-butyl alcohol under condition of pH 6.5-7.0. This part is the water-solventing alkaloids. The total alkaloids were 3.1 percent.

Key words *Macleaya cordata*; Alkaloids; Extraction technology; Ultrasonic

博落回 [*Macleaya Cordata* (Willd) R. Br.] 系罂粟科博落回属植物,在我国分布广泛,资源丰富。其性寒,味辛,苦涩,有清热解毒,抗菌消炎,杀虫止痒等功效^[4],临床上早有应用并引起广泛关注,含 30 多种生物碱,目前分离并鉴定的有 10 余种^[4],全面开发研究博落回中的生物碱意义深远。虽然对博落回中含量较高的血根碱和白屈菜红碱的提取工艺文献有少量报道^[1],但对博落回中总生物碱的提取工艺却未见报道。本研究通过反复摸索实验,对博落回总生物碱的提取工艺不断完

善,使其总碱提取率得到了明显提高,为全面开发利用博落回中的生物碱奠定了一定的理论基础。

1 材料与方 法

1.1 试材与仪器

供试样于 2002 年 7 月~ 8 月采自陕西杨凌渭河滩,经生命科学院植物学教研室苗芳博士鉴定为博落回 [*Macleaya Cordata* (Willd) R. Br.],将药材地上部分风干,粉碎成粗粉备用。

隆达 HF-100B 超声波循环提取器(北京弘祥

* 收稿日期: 2003-11-20 修回日期: 2003-12-29

作者简介: 毛 鹏 (1977-),男,陕西勉县人,硕士研究生,主要从事植物资源化学及开发方面研究。电话: 029-87095727 通讯联系人。Correspondence to: ZHO U LE

隆生物技术开发有限公司),旋转蒸发器 RE-52AA(上海亚荣生化仪器厂),ZF-C型紫外分析仪(上海康禾光电仪器有限公司),JA3003型电子天平,SHB-III(A)型循环水式多用真空泵(河南太康县科教仪器厂),薄层层析硅胶 GF254(化学纯,青岛海洋化工有限公司),薄层层析板(0.7% 聚乙烯醇铺板,110℃活化 30 min)

乙醇,甲醇为工业品,碘化钾,次硝酸铋,盐酸,氢氧化钠,氯仿,正丁醇均为分析纯

1.2 提取方法

超声提取条件参考前期大量实验确定,各工艺每次超声提取条件相同而溶剂和精制工艺不同。

1.2.1 工艺I 采用氯仿为溶剂,按料液比(W/V)1:10对博落回粉样进行超声提取,频率:1200 Hz,每次超声 2 min,工作间歇:0.2 s,全程时间:45 min,温度:40℃,重复提取两次,共计 90 min。减压蒸除氯仿,将所得浸膏溶于少量氯仿中,用 1% 的盐酸调 pH 至 3~4,用氯仿对酸液连续反复萃取 4 次,每次氯仿的用量为酸水液体积的 3 倍,合并氯仿相得酸水萃取液(A₁)。次后,再用 1% 的 NaOH 调节酸性水相 pH 值至 10~11,采用与上述同样的方法进行氯仿萃取,分别得碱水氯仿萃取液(A₂)和残余碱水液(A₃)。

1.2.2 工艺II 采用甲醇为溶剂,对博落回粉样进行提取,方法同 1.2.1,用少量甲醇溶解提取浸膏,按照 1.3.1 的方法先用 1% 的盐酸调 pH 至 3~4 后,用氯仿萃取。次后用 1% 的 NaOH 调节酸性水相 pH 值至 10~11,再依次采用氯仿和正丁醇分别萃取。合并相同的萃取液,分别得酸水氯仿萃取液(B₁),碱水氯仿萃取液(B₂)和碱水正丁醇萃取液(B₃)及残余碱水液(B₄)。其中 B₂ 为脂溶性总生物碱, B₃ 为水溶性总生物碱。

1.2.3 工艺III 采用工业乙醇为溶剂,对博落回粉样进行提取,方法同 1.2.1 和 1.2.2。在加热搅拌的情况下,将所得浸膏溶于适量正丁醇/水(W/V)1:1,正丁醇萃取 4 次,每次正丁醇用量为样液的 3 倍,水相(C₁)保存。在加热搅拌的情况下,将正丁醇浸膏溶于适量氯仿/水(V/V)1:1 中,依照 1.2.1 方法调 pH 至 10~11,氯仿萃取,得碱水氯仿萃取液(C₂)。再将碱性水 pH 值调至 6.5~7.0,用正丁醇萃取,得中性正丁醇萃取液(C₃)和残余水液(C₄)。其中 C₂ 为脂溶性总碱, C₃ 为水溶性总碱。

1.3 提取效果评价方法

总碱提取效果采用以下三种方法进行综合考察:

(1)总生物碱的定性分析:采用试管检测法和薄层色谱法(TLC)进行。试管法依据原材料量相等的原则,根据各萃取液的体积比,按比例在各试管中分别加入一定量体积的萃取液,各管滴加相同量的改良碘化铋钾试剂。采用目视法观察生成沉淀的量,根据沉淀量的多少评判各萃取液中生物碱的含量和分布情况。TLC法按照相似的原理,按比例在薄层板不同位置分别点上一定量体积的萃取液,然后喷洒改良碘化铋钾,根据橘红色斑点的颜色深浅评判各萃取液中生物碱的含量。

(2)生物碱的种类分析:采用 TLC 法进行。分别以石油醚/乙酸乙酯(V/V 10:1~2:1),乙酸乙酯/甲醇(V/V 2:1)和氯仿/乙醇(V/V 4:6)为展开剂对各萃取液进行 TLC 分析,然后喷洒改良碘化铋钾,以显示明显橘红色斑点者为阳性,以橘红色斑点的个数为考察指标。

(3)提取率分析:以总粗提取物和生物碱的提取率为指标,评价各提取工艺的优劣。提取率的计算方法如下:

$$\text{总提取率}\% = (\text{总提取物质量} / \text{药材干重}) \times 100$$

$$\text{生物碱提取率}\% = (\text{生物碱质量} / \text{药材干重}) \times 100$$

2 结果与分析

2.1 不同萃取物中生物碱的定性分析

按照 1.3(1)的方法对各萃取液中的生物碱含量进行分析,结果如表 1 所示。

由表 1 可知,酸水氯仿液(A₁, B₁, C₁)中均不含生物碱,主要含有植物色素等杂质,与一般生物碱的性质一致。生物碱主要集中在氯仿碱水提取液(A₂, B₂, C₂)中,说明博落回总碱主要以脂溶性生物碱为主。根据 B₂ 和 C₂ 中存在较丰富的生物碱,可以肯定博落回中亦含有较大极性的生物碱,因此如果仅用氯仿萃取是不完全的,这一点亦可由 A₃ 显示生物碱阳性反应看出。比较 B₄ 和 C₄ 的检测结果可以看出,工艺III的萃取较为完全,说明在用正丁醇提取大极性生物碱时宜在中性环境下进行,这可能是因为在碱性条件容易产生乳化而导致分层困难和不彻底所致。

表 1 不同萃取液中总生物碱定性分析结果

Table 1 The results of qualitative analysis of alkaloids in different extractions

检测方法 Assay method	萃取液 Extraction section											
	工艺I Technology I			工艺II Technology II				工艺III Technology III				
	A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	
试管检验法 Tube test	—	+++	+	—	+++	+++	+	—	+++	+++	—	
薄层色谱法 TLC	—	+++	—	—	+++	+++	—	—	+++	+++	—	

注:“—”表示生物碱反应为阴性;“+”表示生物碱反应为阳性,但含生物碱较少;“+++”表示生物碱反应为阳性,且含生物碱较多。

Note “—” Means alkaloid anteiso - as the feminine gender; “+” Means alkaloid anteiso - as the masculine gender, but include the less of alkaloid; “+++” Means alkaloid anteiso - as the masculine gender, and include the alkaloid more

种工艺中富含生物碱的萃取液进行生物碱种类分析,结果如表 2 所示。

2.2 不同提取液中的生物碱种类分析

根据 2.1 的研究结果,按照 1.3(2)的方法对三

表 2 不同萃取液中生物碱的 TLC 分析结果

Table 2 TLC analysis of alkaloids in different extractions

展开剂 Developing system	斑点数目 Number of spots				
	工艺I Technology I		工艺II Technology II		工艺III Technology III
	A ₃	B ₂	B ₃	C ₂	C ₃
Ligarine-Ethyl acetate (10:1-2:1)	3	5	—	7	—
Ethyl acetate-methanol (2:1)	2	3	—	4	—
Trichloromethane-ethanol(4:6)	—	—	2	—	4

表 2 显示,在任何一种展开体系中,三种碱水氯仿萃取液中的生物碱斑点数目的多少总是符合下列顺序: C₂ > B₂ > A₂, 同时 C₃ 中的生物碱较 B₃ 丰富。这说明三种溶剂的生物碱提取效果是不同

的,其优劣顺序为工业乙醇 > 甲醇 > 氯仿。

2.3 不同工艺的提取率的分析

按照 1.3(3)的方法对三种工艺的提取率进行计算,结果如表 3 所示。

表 3 不同工艺的提取率分析

Table 2 Extraction rates of different technology

工艺 Technology	提取溶剂 Solvent	总提取率 Total extraction rate (%)	脂溶性碱提取率 Fat-solventing alkaloids (%)	水溶性碱提取率 Water-solventing alkaloids (%)	总碱提取率 Total alkaloids (%)
I	Chloroform	6.10	0.30	—	0.30
II	Methanol	9.50	0.92	0.28	1.20
III	Ethanol	8.20	2.10	1.00	3.10

由表 3 的粗提率可以看出,甲醇的提取率最高,乙醇次之,而氯仿最低。但从总碱提取率来分析,可以看出工业乙醇的提取率最高,甲醇次之,而氯仿最低,其中工业乙醇的提取率远远超过甲醇和氯仿,非常接近文献报道的博落回地上部分总生物碱的含量^[4]。以上结果说明,采用工业乙醇为溶剂,虽然粗提率不是特别高,但对博落回中的生物碱提取却具有很高的选择性,而且提取完全。由此可见,工业乙醇是提取博落回总碱的理想溶剂,这不仅因为其提取效果好,还在于其廉价和环

保等因素

综合评价认为工艺 III 的方法最佳,即采用工业乙醇为溶剂,正丁醇/水混合溶剂溶解浸膏,然后用氯仿萃取碱水中的脂溶性生物碱,用正丁醇在中性条件萃取水溶性生物碱

3 讨论

曾有文献^[1]报道博落回总碱的最佳提取条件是料液比 1:18, 85% 乙醇回流提取 3 次,每次 1h 与之相比,本实验采用超声波辅助提取,具有溶剂

用量少,提取温度低,提取时间短和次数少等显著优点。因此,笔者认为超声波辅助提取是一种非常值得推广的提取方法。其次,实验中发现如何在萃取之前将博落回粗提物全部溶解在水或水与其它溶剂的混合溶液中,将会直接影响生物碱的萃取效果。如果有部分粗提取因溶解完全将直接导致部分生物碱的丢失。研究结果证明本实验工艺III是解决这一问题的有效方法,而且笔者认为这一方法对于解决类似的问题具有的通用价值。

参考文献:

- [1] 安彩贤,海松,符军梅,等.用正交试验法优选小果博落回生物碱提取工艺[J].中成药,2001,23(11):824-825.
- [2] 郁建生,杨冰.博落回注射液生产工艺及质量研究[J].中兽医药杂志,1998,17(6):11-13.
- [3] 董娟娥,马柏林.超声波提取杜仲叶有效成分工艺研究[J].西北林学院学报,2003,18(3):66-68.
- [4] 肖培根,连文琰.中药植物原色图鉴[M].北京:中国农业出版社,1999.133-134.
- [5] 曾建国,张胜.不同生长期博落回果实中血根碱与白屈菜红碱的含量[J].中药材,1999,22(5):229.

(上接第93页)

未给出品质评分的亚基,如20²、10²、1⁴、10¹以及新亚基⁵和⁶等,除亚基20外,其品质效应还有待考证。对高分子量谷蛋白基因测序表明,与7亚基相比,20亚基缺少了两个在形成小麦面筋网络二硫键的至关重要的半胱氨酸。它很可能是一个烘烤品质非常差的亚基^[9]。因此,我们将采用近等基因系或基因测序对西藏普通小麦中发现的新亚基进行深入研究,进一步评价其品质效应。

参考文献:

- [1] Payne P I, Harris P A, Law C N, *et al.* The High molecular-weight subunits of glutenin: Structure, genetics and relationship to bread-making quality[J]. *Annl Technol Argi*, 1980, 29: 309-320.
- [2] Payne P I, Law C N, Mudd E E. Control by homologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 1980, 58: 113-120.
- [3] Payne P I, Holt L M, Krettiger, *et al.* Relationships between seed quality and HMW glutenin subunit composition determined using wheats grown in Sprain[J]. *J Cereal Sci.*, 1988, 7: 229-235.
- [4] Payne P I, Lawrence G J. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, and *Glu-D1* which code for high molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat[J]. *Cereal Research Communications*, 1983, 11: 29-35.

- [5] Payne P I, Nightingale M A, Krattiger A F. The relationship between HMW glutenin subunit compositions and the bread-making quality of British-grown wheat variety[J]. *Journal Sci Food Agri.*, 1987, 40: 51-65.
- [6] Payne P I. Genetics of wheat storage protein and the effect of allelic variation in bread making quality[J]. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 1987, 38: 141-153.
- [7] 张正斌.小麦遗传学[M].北京:中国农业出版社,2001.222-234.
- [8] 王瑞.小麦胚乳贮藏蛋白的组成、遗传特性及其与面包品质的关系[J].国外农学—麦类作物,1995,(4):34-37.
- [9] Shewry P R, Gilbert S M, Savage A W, *et al.* Sequence and properties of HMW subunit 1Bx20 from Pasta Wheat (*Triticum durum*) which is associated with poor end use properties[J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2002, 106(4): 744-750.
- [10] 陈庆富.中国特有小麦起源探讨[J].贵州农业科学,1999,27(1):20-25.
- [11] 黄亨履.西藏山南地区的小麦资源[J].作物品种资源,1983(4):9-15.
- [12] 邵启全,李长森,巴桑次仁.西藏半野生小麦[J].遗传学报,1980,7(2):149-156.
- [13] 粟站稳.小麦主要贮藏蛋白在我国种质资源中的分布[J].北京农业科学,1995,13(6):21-24.
- [14] 张学勇,庞斌双,游光霞,等.中国小麦品种资源 *Glu-1* 位点组成概况及遗传多样性[J].中国农业科学,2002,35(11):1302-1310.
- [15] 程爱华,王乐凯,赵乃新,等.高分子量麦谷蛋白亚基评分系统的改进及应用[J].麦类作物学报,2002,22(1):19-22.