

莲心总碱的提取工艺初探

李静平, 潘 聿

(云南中医学院, 云南昆明 650500)

摘要: **目的** 优选莲子心总生物碱的提取工艺条件。**方法** 以莲子心总生物碱浸膏得膏率为考察指标,采用正交实验法对莲子心总生物碱提取工艺进行优选。**结果** 所考察的因素中,莲子心总生物碱提取工艺影响程度为:提取方法>萃取试剂>萃取流程。**结论** 莲子心总生物碱提取最佳条件为:A1B2C。优选出的提取工艺操作简单、科学合理,可以有效地提取莲子心中的生物碱。

关键词: 莲子心;生物碱;正交实验法

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2013)04-0021-03

莲子心为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Geartn.的成熟种子中的干燥幼叶及胚根^[1]。其作为我国一种具悠久历史中药,作用早在《本草纲目》就有记载。在对莲子心研究中,莲心生物碱功能被探究得最为明确,经大量研究证实,莲心碱(liensinine)、异莲心碱(isoliensinine)、甲基莲心碱(neferine)等为莲子心生物碱主要活性成分,具有各种药理作用。

莲子心是药食两用的常见中药,中医学认为其性味苦寒,入心、肺、肾三经,具有清心安神、交通心肾、涩精止血之功效。主治热入心包、神昏谵语,心肾不交、失眠遗精,血热吐血;亦可用来治疗心烦、口渴、吐血、遗精、口舌生疮、目赤肿痛等症。莲子心为睡莲科植物莲的成熟种子中的干燥幼叶及胚根,又名称薏、苦薏、莲薏、莲心等。

现代研究表明,莲子心生物碱类成分具有显著的抗心律失常、抗心肌缺血、抗抑郁、降压等药理活性,这与中医药学中认为莲子心具有“清心除烦”功效,能有效用治高热、心烦、失眠、心律失常、高血压等疾病的理论相一致。

莲子心主要含莲心碱等多种生物碱、莲心多糖、木犀草素、芦丁等黄酮类化合物,生物碱为其最主要的活性成分。莲子心含有多种生物碱成分,分为非酚性生物碱和酚性生物碱。迄今为止,从莲子心中分离出生物碱类化合物已多达20个之多,且均为异喹啉生物碱。其中,莲心碱(liensinine)、甲基莲心碱(neferine)、异莲心碱(isoliensinine)属于双苄

基异喹啉类生物碱,且为酚性生物碱,在总生物碱中含量最多;莲心季铵碱 $C_{18}H_{24}O_3N^+$ (Lotusine) 为单苄基异喹啉类生物碱,该化合物是各单体成分分离提取过程的中间品,也是莲子心中具有药理作用的主要有效部分莲心生物碱被认为是莲子心中含量较多、且最具广泛药理活性的有效部位,故其化学成分、药理作用、制剂研究等已成为近年来莲子心研究的热点^[2]。

我国莲子心资源丰富,尽管莲子心富有保健、医药价值,但迄今为尚未充分利用和有效开发。因此,对其药理作用、作用机理及物质基础的深入探析,无论对食品还是药品,安全、高效地开发利用莲子心都具有积极意义。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

恒温水浴锅,型号:HH-6,国华电器有限公司;旋转蒸发仪,EYELA,型号:N-1001,上海爱朗仪器有限公司;循环式真空泵,型号:SH2-III型,巩义予华仪器有限责任公司;低温冷却液循环泵,SH2-III型,巩义予华仪器有限责任公司;(0.000001g),Mettler toledo,瑞典。

1.2 试剂

薄层色谱硅胶G:青岛海洋化工厂分厂生产;三氯甲烷:分析纯,20110820,云南汕滇化学试剂有限公司;乙酸乙酯:分析纯,20100128,天津致远化学试剂有限公司;石油醚:分析纯,20101002,天津

收稿日期:2013-05-03 修回日期:2013-05-22

作者简介:李静平(1979~),女,云南昆明人,讲师,研究方向:临床中药学。

风船化学试剂有限公司;乙醚:分析纯,20100313,成都市科龙化工试剂厂;莲心碱高氯酸盐对照品:上海同田生物技术股份有限公司。

2 植物来源

实验所用莲子心,采购自菊花村药品批发市场,并由云南中医学院中药鉴定教研室鉴定,鉴定结果为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Geartn 的成熟种子中的干燥幼叶及胚根。

3 实验方法

3.1 预实验^[3-6]

通过文献检索及对相关文献的分析整理,将文献中提取莲子心总生物碱的提取方法等进行整合,拟定出与实际条件相适应的提取方法及萃取试剂进行预实验。

3.2 正交试验方法设计

通过预实验,发现用水提取莲子心总生物碱效果不理想,而用 75%乙醇提取得膏率相对较好,故正交实验选 75%乙醇作为溶媒。第一步萃取用石油醚萃取 3 次,每次 100 mL 为最佳,经 TLC 鉴别,分别用硫酸乙醇和碘化铋钾作为显色剂,杂质及生物碱相对较少;采用 $L_4(2^3)$ 正交实验表安排莲子心的提取及萃取实验,以莲子心总生物碱浸膏得膏率和薄层色谱法为评价指标,选择提取方法、第 2 步萃取试剂、第 2 步萃取流程 3 个因素,每个因素设计 2 个水平。因素水平见表 1,正交设计及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 因素水平

水平	A 提取方法	B 第二步萃取试剂	C 第二步萃取用量
1	75%乙醇回流提取	三氯甲烷	100mL×3
2	冷浸+超声	乙醚	250mL×1+50mL×1

表 2 $L_4(2^3)$ 正交实验设计方案及结果

试验号	A	B	C	浸膏得率/%
1	1	1	1	1.93
2	1	2	2	5.03
3	2	1	2	1.06
4	2	2	1	1.47
K1	6.96	2.99	3.4	
K2	2.53	6.5	6.09	
k1	3.48	1.495	1.70	
k2	1.265	3.250	3.045	
R	2.215	1.755	1.345	

表 3 方差分析

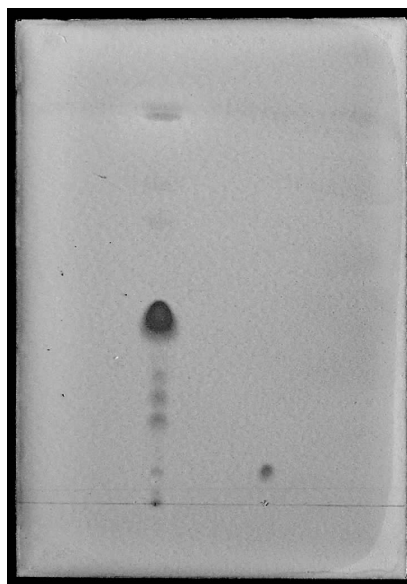
方差来源	偏差平方和/SS	自由度/df	方差/s	F 值	P 值
A	4.906	1	32.326	15.03	0.0308
B	3.080	1	28.675	9.43	0.0403
C	1.809	1	26.133	5.54	0.0511

3.3 浸膏得率测定

取莲子心药材粉末 25g,按表 2 设计的实验进行提取,趁热滤过,并合并滤液,用旋转蒸发仪浓缩并定容至 250mL。用 HCl 调节 pH 值至 4~5,用石油醚萃取 3 次,每次 100mL。弃石油醚层,酸水层用 NaOH 调节 pH 值至 9~10,用表 2 所述相应试剂及流程萃取,弃碱水层,有机层回收溶剂,挥干,称浸膏重量,计算得膏率。浸膏得率=浸膏重/样品重×100%。

3.4 莲子心总生物碱的检识^[7]

取莲子心总碱浸膏 1g,加甲醇使之溶解,作为供试品溶液。精密称取莲心碱高氯酸盐对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验,吸取供试品溶液 4~6μL、对照品溶液 4μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-二乙胺(5:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以碘化铋钾试液显色,观察供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上是否显相同颜色的斑点。见图 1。



1:莲子心总生物碱浸膏(样品)
2:高氯酸莲心碱(标准品)(1、2 在图中标注)

图 1 莲子心总生物碱的检识

3.5 实验结果

3.5.1 直观分析

经直观分析,由表2得知, $RA > RB > RC$,即可得出A(提取方法)为影响莲子心总生物碱提取率的主要因素,其次B(第2步萃取试剂)也对莲子心总生物碱提取率有很大的影响,而C(第2步萃取流程)对莲子心总生物碱提取率的影响相对较小;再根据 K_1, K_2 值的大小确定其水平,可得出依次为 A_1, B_2, C_2 ,故可初步确定莲子心总生物碱的最佳提取工艺为: $A_1B_2C_2$ 。

3.5.2 方差分析

直观分析所得的莲子心总生物碱的最佳提取工艺,需经过单因素方差分析再次确认才能最终定论最佳的提取工艺。由表3数据可知,A,B因素具有显著的差异,对莲子心总生物碱的提取率有较大的影响。根据单因素方差分析 t 检验,则可进一步得出结论为影响莲子心总生物碱提取率的关键因素是A、B,即:提取方法应选择回流提取,第2步萃取生物碱的试剂应选择乙醚。

综上所述,可最终确定莲子心总生物碱的最佳提取工艺为: $A_1B_2C_2$,即:莲子心药材用75%乙醇回流提取,最后乙醚萃取2次,第1次250mL,第2次50mL。

3.5.3 验证试验

称取药材粉末25g,按 $A_1B_2C_2$ 进行验证试验,结果与正交试验结果吻合,说明工艺可行。见表4。

表4 验证试验

	1	2	3	平均值
浸膏得率/%	4.90	5.12	5.22	5.08

4 讨论

莲子心生物总碱分为酚性和非酚性2大类,莲心碱属于含量较高的酚性生物碱^[8]。根据2010版

《中国药典》规定,故选择高氯酸莲心碱作为标准品,用薄层色谱法进行定性检识。

为合理选择正交各水平,对提取方法、提取试剂(水和乙醇)、第2步萃取试剂(三氯甲烷、乙醚、乙酸乙酯)、提取次数等进行预试。结果发现75%乙醇回流提取的得膏率相对较高,故在正交实验设计中采用75%乙醇作为溶媒。

由于设备和时间问题,本实验未采用更深入的定量检测方法,仅用浸膏得膏率和薄层色谱法为评价指标,建议本课题今后可以采用紫外分光光度法,用紫外吸收光度作为考察指标。或者采用高效液相色谱法(HPLC)对其进行含量测定。

本实验是对莲子心中总生物碱提取工艺的初步筛选,若要用于指导生产,还有一定不足,如能对提取时间,溶剂量及pH值等因素进行更完善的考察,从而确定最终提取方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 256.
- [2] 廖立, 舒展, 李笑然, 等. 莲类药材的化学成分和药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(12): 82.
- [3] 朱春林, 杨洪. 莲子心提取工艺的优选[J]. 海峡药学, 2010, 22(8): 19-21.
- [4] 建伟, 熊学敏, 吴锦忠. 正交实验法优选莲子心总生物碱的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1615.
- [5] 雷鹏, 刘韶, 李新中, 等. 正交实验优选莲子心提取工艺[J]. 中国医学工程, 2005, 13(3): 255-256.
- [6] 林文津, 徐榕青, 张亚敏, 等. 正交试验法优选莲子心提取物制备工艺[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(6): 401-403.
- [7] 吴继洲, 阮汉利, 王嘉陵. 莲心碱的波谱分析[J]. 中草药, 1998, 29(6): 364.
- [8] 张弦, 潘扬. 植物莲中生物碱类成分的研究概况[J]. 南京中医药大学学报(自然科学版), 2002, 18(6): 382.

(编辑:迟越)

Orthogonal Test for Preliminary Research of Optimizing Extraction Process of Alkaloids from *Plumula nelumbinis*

LI Jing-ping, PAN Yu

(Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** To optimize the extraction technology condition for alkaloids from *Plumula nelumbinis*. **Methods** The optimizing extraction condition on basis of extractive yield were determinate by orthogonal test. **Results** The order of factors which affected the flavonoid extraction was extraction method > extraction solvent > extraction process. **Conclusion** The optimum extractions are $A_1B_2C_2$. The extraction technology condition was simple to operate stable and reseasonable.

KEY WORDS: *Plumula nelumbinis*; alkaloids; orthogonal test