

纤维素酶用于中药提取的初步研究

辽宁省药物研究所(沈阳110015) 马田田*

摘要 用黄柏提取小檗碱之前经纤维素酶进行预处理,可提高小檗碱收率,进而可否将纤维素酶用于其它天然产物的提取。

关键词 纤维素酶 酶解 盐酸小檗碱

近年来,纤维素酶在国外的工业化用途已屡见不鲜,例如食品工业、饲料工业、制取各种糖类以及在提取天然产物中的应用,然而我国目前工业化用酶仍是空白(A.怀斯曼 主编.酶技术生物手册.北京:科学出版社,1989.389)。大部分的中药材的细胞壁是由纤维素构成,植物的有效成分往往包裹在细胞壁内。纤维素则是 β -D-葡萄糖以1,4- β 葡萄糖苷键连结,用纤维素酶解可破坏 β -D-葡萄糖键,进而有利于有效成分的提取。根据这一原理,我们选用黄柏提取小檗碱,并与未加酶的提取进行对比实验。

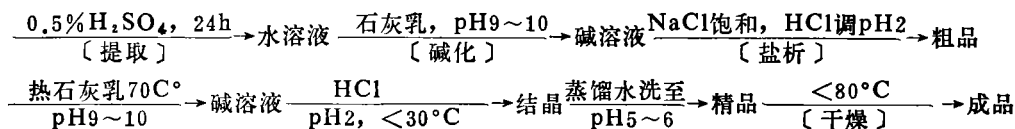
1 实验材料与药品

纤维素酶粗品(活力单位100左右),沈阳农业大学植物生化教研室提供;盐酸小檗碱对照品,中国药品生物制品检定所提供;黄柏为沈阳市药材公司购进。

2 实验方法与结果

2.1 酶解实验:将药材饮片洗净捣碎用5倍量水浸泡,以硫酸调pH4~5,加1%~2%纤维素酶充分搅拌,置32℃恒温箱内保持24h。

2.2 盐酸小檗碱提取工艺(沈阳药学院主编.中草药化学.1977):黄柏原料(酶解)

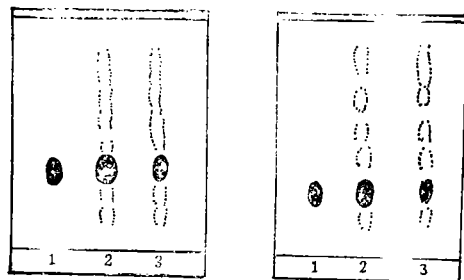


2.3 薄层层析:将加酶与未加酶工艺得到的提取物与盐酸小檗碱对照品于硅胶G薄层板上展开,紫外灯下观察,比较。

展开剂: S₁ 正丁醇-醋酸-水(4:1:5); S₂ 氯仿-丙酮-二乙胺(5:4:1),展距16~18cm。

对照品:盐酸小檗碱(1),样品:加酶提取物(2),未加酶提取物(3)。层析结果见图。

2.4 收率与提取结果的比较:见表1、2。



展开剂S₁

展开剂S₂

图 层析图谱

表 1 加酶与未加酶法提取小檗碱收率

加酶法	小檗碱收率%	未加酶法	小檗碱收率%
I	1.0770	I	0.8342
II	1.2644	II	1.0210
III	1.1370	III	0.8244
IV	1.3416	IV	0.9480
V	0.9569	V	0.7233

(下转第139页)

3 讨论

本实验首先对前胡水煎剂及7种前胡提取物的作用进行定性筛选。发现前胡水煎剂具有明显的舒张肺动脉环作用；7种提取物中只有QH-M对肺动脉呈现显著的舒张作用；而其它提取物如氯仿提取物、乙酸乙酯提取物及乙醇提取物对肺动脉均呈现轻微的收缩作用；其余提取物对肺动脉几无作用。实验结果表明：QH-I和QH-M均有显著的舒张肺动脉作用，且作用相似，强度相近（ $1.6 \times 10^{-5}\%$ QH-M与0.1mlQH-I均相当于含生药0.1g），提示前胡发挥舒张肺动脉作用的有效成分可能为石油醚提取物。此外QH-M对NE收缩肺动脉的剂量反应曲线为非竞争性拮抗，且减弱KCl收缩肺动脉的作用强于减弱NE收缩肺动脉的作用，提示前胡舒张肺动脉平滑肌可能与阻断 Ca^{++} 相关，这一点与饶曼人^[1]等的实验报道“前胡丙素及前胡E的钙拮抗作用及对血管阻力的影响”一致。Kozawa等报道^[3,6]，前胡乙醚提取物具有抑制乙酰胆碱和组胺收缩豚鼠小肠平滑肌的作用及在 K^+ 去极化所致细胞膜通透性亢进时，在细胞外给 Ca^{++} 能自由供给细胞内收缩蛋白的标本中，具有竞争性地抑制 Ca^{++} 所引起的收缩，并用放射 Ca^{++} 进一步证实了前胡乙醚提取物的 Ca^{++} 拮抗作用。尽管本实验所用的是QH-M，与前述的乙醚提取物在成分上尚有一些不同，但主要有效成分均为香豆素类^[6,7]。因此，可初步确定QH-M为前胡发挥舒张肺动脉作用的有效成分，其舒张肺动脉血管的作用可能是拮抗 Ca^{++} 作用的结果。但由于QH-M仍为一混合物，内含多种成分，所以我们今后将进一步深入研究，从石油醚提取物中再提取出具有显著舒张肺动脉作用的单体物质。

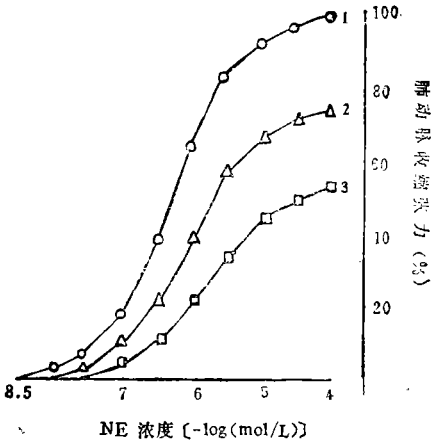


图3 QH-M对NE收缩肺动脉量效曲线的影响

1-对照组 2- $1.6 \times 10^{-5}\%$ QH-M预处理组
3- $8.0 \times 10^{-5}\%$ QH-M预处理组

参考文献

1 饶曼人,等.中国药理通讯,1984(1):156
2 Rao M R, et al. Eur J Pharmacol, 1981 (155): 293
3 Kozawa T, et al. J Pharm Pharmacol, 1981(33): 317
4 Suzuki T, et al. J Pharmacobio-dyn, 1985(8): 257
5 Petsor, et al. Comp Med East West, 1979(6): 129
6 Chen Z X, et al. Acta Pharm Sin, 1979 (14): 486
7 刘训红,等.中草药,1989,20(1): 6
(1993-03-05收稿)

(上接第123页)

表2 2种不同工艺提取结果的比较

	加酶法		未加酶法		t值	P值
	x_1	S_1	x_1	S_1		
提取率	1.156	0.152	0.870	0.116	3.29	<0.05

$t_{0.05}(8) = 2.306$

3 小结与讨论

从对低活性纤维素酶的实验研究中，初步看出在纤维素酶的作用下，提高了小檗碱的收率，P值小于0.05，2种方法对比，有显著性差异。能否将其用于其它天然产物的提取，需考虑酶的浓度、底物的浓度、温度、酸碱度、抑制剂和激动剂等对提取物有何影响，有待进一步深入研究。

(1993-11-30收稿)

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on the Chemical Components of Veined *Rabdosia*

(*Rabdosia nervosa*)

Wang Xianrong, Wang Suqing, et al

Neorabdosin (I), odonicin (II), effusanin A (III), nervosanin A (IV) and effusanin E (V) were isolated from *Rabdosia nervosa*, IV proved to be a new natural compound.

(Original article on page 115)

Studies on the Chemical Components of Hainanruimu

(*Kopsia hainanensis*)

I. Isolation and Identification of Monomeric Indole Alkaloids from Its Root

Yun Wenhui, Chen Yuwu and Feng Xiaozhang

From the total alkaloids of the root of *Kopsia hainanensis* Tsiang, eight compounds were isolated and identified as coronaridine (I), heyneanine (II), tabersonine (III), 11-methoxytabersonine (IV), scandine (V), N-methoxycarbonyl-11, 12-methylenedioxykopsinaline (VI), kopsinine (VII) and N-methoxycarbonyl-12-methoxykopsinaline (VIII) by means of physical constants and spectral analysis.

(Original article on page 118)

Preliminary Study of Extracting Chinese Traditional Medicine with Cellulase

Ma Tiantian

The yield of berberine can be increased by pre-treating *Phellodendron amurense* with cellulase before extracting. It is suggested that the use of cellulase for the extraction of other natural products may be worth consideration.

(Original article on page 123)

A New Method for the Extraction of Tea-Polyphenols

Ge Yizhang and Jin Hong

A new method for the extraction of tea-polyphenols (TP) from tea using $AlCl_3$ as precipitating agents was proposed. Compared with the traditional extraction method using organic solvents, it is shown that the new method is simple and can be operated easily. The extraction rate of TP by the new method could reach 10.5% and the content of the effective ingredients of TP could reach over 99.5%.

(Original article on page 124)