

References

[1] Fu Y H, Han W D, Xu H X. Simultaneous determination of strychnine and brucine in *Semen Strychni* by HPLC [J]. *J Chin Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1998, 29(4): 281-283.

[2] Xu L H, Lu J. Determination of strychnine and brucine in *Semen Strychni* and preparations by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1998, 18(6): 383-385.

[3] Zhang Z Q, Sha M, Yuan C L, *et al.* Determination of strychnine and brucine in *Semen Strychni* and Shangke Qiwei Tablets by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(4): 236-237.

[4] Lu Y X, Cui J, Liu Y. Determination of strychnine and brucine in Qulidan Capsule by RP-HPLC [J]. *Chin Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2001, 21(8): 474-475.

[5] Li S L, Chen B Y. Simultaneous determination of strychnine and brucine in Maqianzi Powder by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1998, 33(3): 168-169.

荷叶中荷叶碱提取工艺的研究

赵 骏,王洪章,齐喜红,高敏燕,高 钊*
(天津中医学院,天津 300193)

荷叶为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的干燥叶,具有清热利湿,升发清阳,降脂减肥,止血散瘀等作用。《本草纲目》载:“荷叶服之,令人瘦劣,单服可以消阳水浮肿之气。”今用荷叶配方生产降脂减肥茶者颇多。据报道,将荷叶用乙醇回流提取后制成浸膏片具有良好的调血脂作用。国外尤其是日本关于荷叶化学成分的研究报道较多,主要是生物碱类、黄酮类、鞣质类成分。我国的荷叶资源丰富,价廉易得,为可开发的天然药用植物资源。本实验以荷叶生物碱为指标,利用不同的溶媒采用加热回流法和超声提取,大孔吸附树脂纯化来优化提取工艺。

1 仪器、试剂和材料

DU-530紫外可见分光光度计(美国 Beckman公司),电子天平(上海天平仪器厂)。试剂均为分析纯。荷叶购于天津中医学院门诊部,经本院药用植物教研室鉴定为睡莲科植物莲 *N. nucifera* Gaertn. 的干燥叶片。荷叶碱对照品(山东医学科学院药物研究所提供)。

2 实验方法

2.1 提取荷叶中总生物碱的正交设计:对不同溶媒加热回流和不同提取方法的影响因素及水平见表1,2。

2.2 荷叶总生物碱的提取与纯化:称取荷叶100g,加入表1中的溶剂2000mL浸泡,按表2方法提取。滤过,合并滤液,回收溶剂至100mL,有机溶剂提取液拌入适当的树脂,挥去乙醇,再将拌有样品的树脂加到预先填好的大孔吸附树脂柱(药材与树脂

的比例为1∶2~1∶3)上;酸水提取液经0.5%氢氧化钠溶液调pH9~11,直接上柱。先水洗去杂质,再用乙醇-水洗脱,减压回收乙醇,挥干得总生物碱。

表 1 不同溶媒加热回流提取因素水平表

水平	因 素		
	A 溶剂	B 回流时间/h	C 提取次数
1	93% 乙醇	1.5	1
2	甲醇	2.0	2
3	0.5 盐酸	2.5	3

表 2 不同提取方法因素水平表

Table 2 Factors and levels by different extracting methods			
水平	因 素		
	A 溶剂	B 提取方法	C 提取时间/h
1	0.5% 盐酸	超声	1.5
2	0.5% 醋酸	回流	2.0

2.3 对照品溶液的配制:精密称取减压干燥至恒重的荷叶碱对照品4.5mg,氯仿定容至10mL。精密吸取4mL,加入20mL氯仿及4mL溴甲酚绿缓冲液于分液漏斗中萃取,取20mL氯仿层于试管中,加0.01mol/L氢氧化钾溶液、无水乙醇各5mL摇匀,精密吸取上层溶液6mL于10mL量瓶中定容,即得。

2.4 标准曲线的制备:分别精密吸取荷叶碱对照品溶液0.1,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,5.0mL置于干燥具塞试管中,加氢氧化钾溶液及无水乙醇的混合液至5mL,摇匀。以氢氧化钾溶液和无水乙醇的混合

* 收稿日期: 2002-10-12

液为空白,按分光光度法在 622 nm 处测定吸光度,得回归方程 $A=0.0568+0.5159C$, $r=0.999$

2.5 提取物中生物碱的含量测定:取样品称重,用氯仿配成一定浓度的溶液,精密吸取样品提取液 1 mL,加入 5 mL 氯仿及 1 mL 溴甲酚绿缓冲液于分液漏斗中,振摇,静置。分取氯仿层 4 mL 于刻度试管中,加入 0.01 mol/L 氢氧化钾溶液。无水乙醇各 3 mL,摇匀,静置,取上层蓝色溶液测定 A 值并计算生物碱含量。

3 实验结果

3.1 不同溶媒加热回流的结果:见表 3 方差分析见表 4 根据方差分析,其影响因素的顺序为 A>C>B,即依溶剂种类、提取次数、回流时间的顺序减弱。回流时间对试验影响差异不具有显著性。综合生产中的节能、节时原则,加热回流提取的最佳工艺是用 0.5% 盐酸提取 2.0 h,提取次数为 2 次。

表 3 不同溶媒加热回流提取的测定结果
Table 3 Extracting results by heating and refluxing with different resolvers

编号	A	B	C	D (误差)	生物碱量 /mg
1	1	1	1	1	8.71
2	1	2	2	2	16.97
3	1	3	3	3	37.40
4	2	1	2	3	21.28
5	2	2	3	1	32.70
6	2	3	1	2	16.72
7	3	1	3	2	46.88
8	3	2	1	3	26.08
9	3	3	2	1	52.32

表 4 不同溶媒加热回流提取的方差分析
Table 4 Variance analysis by heating and refluxing extraction with different resolvers

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	767.32	2	383.66	25.47	$P<0.05$
B	201.94	2	100.97	6.70	
C	723.28	2	361.64	24.01	$P<0.05$
D(误差 e)	30.13	2	15.065		

$F_{0.05}(2,2)=19.00$ $F_{0.01}(2,2)=99.00$
3.2 不同提取方法的结果:见表 5 方差分析见表 6 从方差分析,加热回流比超声提取产量高,而醋酸比盐酸提取的生物碱总量高,但相对含量较低,因此,综合考虑其最佳提取工艺仍为 5% 盐酸加热回流 2.0 h,回流 2 次。

从以上可见,采用加热回流提取法产量明显高

于超声提取法,且用酸水提取 2.0 h 时生物碱量较高,而且 95% 乙醇提取物纯度较高。综合两者来考虑荷叶生物碱的提取工艺,其最佳工艺为:采用 0.5% 盐酸,加热回流 2.0 h,提取 2 次。

表 5 不同提取方法生物碱的测定结果
Table 5 Results by different extracting methods

编号	A	B	C	D (误差)	生物碱量 /mg
1	1	1	1	1	20.82
2	1	1	1	2	21.08
3	1	2	2	1	52.21
4	1	2	2	2	51.97
5	2	1	2	1	21.68
6	2	1	2	2	22.48
7	2	2	1	1	42.09
8	2	2	1	2	40.96

表 6 不同提取方法的方差分析
Table 6 Variance analysis by different extracting methods

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	44.51	1	44.51	3709.17	$P<0.05$
B	1279.42	1	1279.42	106618.33	$P<0.01$
C	68.39	1	68.39	5699.17	$P<0.01$
D(误差 e)	0.012	1	0.012		

$F_{0.05}(1,1)=161.4$ $F_{0.01}(1,1)=4052$

4 讨论

4.1 用乙醇提取荷叶总生物碱,其纯度较高,为了探讨醇度对提取工艺的影响,本试验采用不同浓度的乙醇即 95%、80%、70%、50% 乙醇提取,结果显示浓度越低提取量越少。

4.2 为了探讨酸度对提取工艺的影响,本实验采用不同浓度的盐酸即 1%、0.5%、0.3%、0.1% 盐酸提取。结果表明随着酸的浓度的减少,总生物碱的提取量也减少。虽然 1% 盐酸的提取量稍大,但在浓缩时酸的浓度高,对空气的污染较大,因此认为 0.3% 盐酸提取为最佳工艺。

4.3 提取荷叶生物碱时,由于荷叶轻,易上浮,所以溶剂不能充分浸泡荷叶,这可能会对提取效果有一定影响。若将荷叶研成碎片,产量或许会增加。

References

[1] Kunitomo J, Yoshikawa Y, Tanaka S. Alkaloids of *Nelumbo nucifera* [J]. *Phytochemistry*, 1973 (12): 699.
[2] Xu L Y, Liu Y G, Ye Z X, et al. Development and research of effect on lowering hyperlipemia of *Nelumbo nucifera* leaves [J]. *Hubei J Tradit Chin Med* (湖北中医杂志), 1996, 18 (1): 42-43.
[3] Li Z C, Zuo C X, Yang S J, et al. Study on chemical constituents of *Nelumbo nucifera* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27 (Suppl): 50-52.