

文章编号:1673-1689(2008)06-0053-04

石蒜中生物碱的提取条件优化

王德强

(安徽工业大学 化学化工学院, 安徽 马鞍山 243002)

摘要: 研究了溶剂回流法提取石蒜中的石蒜碱、力可他敏和加兰他敏等生物碱。探讨了回流时间、溶剂量和溶液 pH 值等因素对生物碱提取率的影响, 并且同其他提取法如微波辅助提取法等进行比较。实验结果表明, 在 pH=5、回流温度 95 ℃、回流时间为 1 h 时, 生物碱的提取效果最好。实验表明在所用的材料中活性炭吸附效果最好。

关键词: 石蒜; 加兰他敏; 总生物碱; 活性炭

中图分类号: R 931.6

文献标识码: A

Study on the Extraction of the Total Alkaloids from Lycoris

WANG De-qiang

(School of Chemical and Chemistry, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In this manuscript, solvent circumfluence was adopt to abstract lycorine, homolycorine and galanthamine from Lycoris. And the effect of circumfluence time, solvent quantity and pH value on the alkaloidal extration's rate was checked. And compared with other extration method. The result shows that the effect of abstraction effectiveness was the best choice when the circumfluence temperature is 95 ℃, circumfluence time is 1 hour and pH value is 5. It shows that the activated carbon adsorbent is cuso the best one.

Key words: lycorine; homolycorine; galanthamine

加兰他敏^[1-2]是有效的、具有竞争性和可逆的乙酰胆碱酯酶抑制剂, 在临床中用于治疗轻、中度阿尔茨海默氏症老年性痴呆症, 不良反应少。其分子式为 $C_{17}H_{21}O_3N$, 熔点 127~129 ℃, 结构式见图 1。

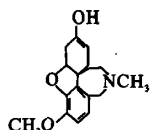


图 1 加兰他敏分子结构

Fig. 1 Chemical structure of galanthamine

粗生物碱加少量丙酮溶解后通溴化氢, 有胶状物析出, 静置后倾出上层澄清液, 沉淀用少量丙酮洗涤。不溶于丙酮的胶状物质加无水乙醇, 加热溶解放置后有白色结晶析出(加兰他敏氢溴酸盐)。石蒜属植物中加兰他敏的含量在植物体内的分布往往集中在某一部位或某一器官, 石蒜的生物碱主要集中于植物的地下鳞茎。石蒜在生长过程中因受自然环境的影响以及人工培养条件的不同, 在不同生长阶段中球茎中所含生物碱的量与种类有较大差异。因此, 可根据植物的生长规律, 在其有效

收稿日期: 2007-09-19.

基金项目: 安徽省教育厅高等学校青年教师科研资助计划(2003jq133).

作者简介: 王德强(1968-), 男, 安徽繁昌人, 工程硕士, 副教授, 主要从事生化工程研究. Email: deqiang@ahut.edu.cn

成分含量最高的生长年限和季节采集其药用部分^[3-6]。加兰他敏的生产工艺根据同种植物中所含生物碱碱性强弱,以及它们在有机溶剂中溶解度的差异,可以对同种植物中含有的多个生物碱进行分离和提取。

1 材料与方法

1.1 试验原料

取自安徽工业大学园林处石蒜圃。

1.2 试验试剂

氢氧化钠,盐酸,氯仿,乙腈,体积分数95%工业酒精,聚酰胺,羧甲基纤维素,活性炭等。

1.3 试验仪器

红外光谱: Fourier 变换红外光谱仪,美国 PerkinElmer 公司产,溴化钾压片;紫外可见分光光度计:北京瑞丽分析仪器公司产,型号 UV1100。

1.4 溶剂回流提取法

称取干燥的石蒜粉末 40.0 g 于 1 000 mL 的圆底烧瓶中,并且加入 200.0 mL 的体积分数 95% 乙醇溶剂,装上回流冷凝管,于 95 ℃ 恒温水浴中回流 60 min。趁热过滤得到淡黄色液体。取一支试管加入 10 mL 淡黄色液体,并且加入 1.0 g 酸化处理的活性炭,在搅拌条件下吸附 12 h 后过滤得到活性炭,并在 100 ℃ 台式干燥箱中干燥之。将得到的干燥活性炭称重后加入到 500 mL 的圆底烧瓶中,并按照每 100 mg 的活性炭加入 5 mL 的氯仿(三氯甲烷)的条件向圆底烧瓶中加入适量的氯仿。在 95 ℃ 恒温水浴锅中回流 10 min,趁热过滤。将滤液于 95 ℃ 恒温水浴中加热至氯仿全部消失,然后向之中加入与前面氯仿体积相同的乙腈溶解,将所得乙腈溶液与乙腈参比溶液在紫外分光光度计下测定吸光度。

将活性炭分别替换成聚酰胺、羧甲基纤维素,采用以上相同的操作过程来同样检测聚酰胺、羧甲基纤维素。考虑到 pH 的影响,提取采用了 pH 1~5 对比实验。

2 结果与讨论

分别以水、甲醇、体积分数 95% 乙醇作为溶剂,研究了不同溶剂对石蒜中石蒜碱、力可拉敏和加兰他敏等生物碱提取率的影响。以水为溶剂回流时,提取液颜色深、粘稠、混浊、杂质多,这可能是石蒜

中淀粉和糖类含量较高发生融涨所致,固液分离困难,研究中曾尝试改变溶液的 pH 值来避免这种情况,但效果不大。甲醇的沸点比乙醇低,极性比乙醇大,而且甲醇的损耗因子比乙醇的大,对生物碱类的溶解性能也比乙醇好。但是考虑到甲醇的毒性,以及操作成本,乙醇尽管提取率略低于甲醇,但无毒、污染小、价格低,故选择体积分数 95% 乙醇作为提取溶剂。

2.1 溶剂量对吸附效果的影响

取 4 份 40 g 石蒜,放入 4 个 1 000 mL 的圆底烧瓶中,分别加入 100 mL、150 mL、200 mL、250 mL 体积分数 95% 的乙醇,进行提取纯化,在 232 nm 左右测定吸光度 A 。由结果可知,随着溶剂量的增加,生物碱的吸光度 A 有所增加。这可能是由于溶剂量大造成细胞内外有较大的浓度梯度,使得生物碱易于从细胞内向细胞外扩散。但是过大的溶剂量会使得后续操作复杂,分离困难,成本加大。故使用溶剂量为 200 mL 的体积分数 95% 乙醇。见图 2。

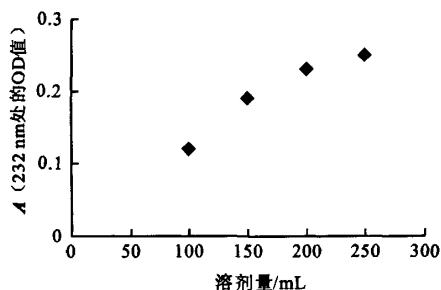


图2 溶剂量对吸附效果的影响

Fig.2 Effects of solvents volume on Galanthamine absorption

2.2 不同 pH 值对吸附效果的影响

取 6 份 40 g 石蒜,放入 6 个 1 000 mL 的圆底烧瓶中,分别加入 200 mL pH 值为 1、2、3、4、5、6 的体积分数 95% 乙醇,进行提取纯化,在 232 nm 左右测定其吸光度 A 。

溶液 pH 值对吸附的影响,要与活性炭和吸附质(溶质)的影响综合考虑。溶液 pH 值控制了酸性或碱性化合物的离解度,当 pH 值达到某个范围时,这些化合物就要离解,影响对这些化合物的吸附。溶液的 pH 值还会影响吸附质(溶质)的溶解度,以及影响胶体物质吸附质(溶质)的带电情况。由于活性炭能吸附水中氢、氧离子,因此影响对其他离子的吸附。活性炭从水中吸附有机物质的效果,一般随溶液 pH 值的增加而降低,pH 值高于 9.0 时,不易吸附,pH 值越低时效果越好。在实际应用中,

通过试验确定最佳 pH 值范围。石蒜中多数生物碱含有胺基和羟基,主要以盐的形式存在于细胞中,因此选择极性溶剂有利于生物碱的提取。选择 pH=5。见图 3。

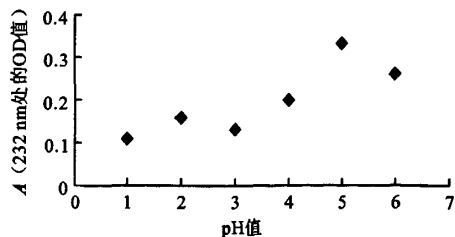


图3 不同 pH 值对吸附效果的影响

Fig. 3 Effects of different pH on Galanthamine extraction

2.3 提取时间对提取效果的影响

取 4 份 40 g 原料,放入 4 个 1 000 mL 的圆底烧瓶中,分别加入 200 mL 体积分数 95%乙醇,进行提取。在 232.0 nm 左右测定溶液吸光度 A。结果见图 4。

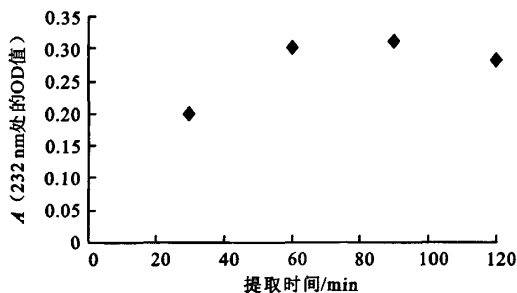


图4 时间对提取效果的影响

Fig. 4 Effects of extraction time on Galanthamine extraction

从上面图 4 可知,当提取温度为 95 ℃时,生物碱的吸光度 A 随着时间的增加而提高,说明时间长对于生物碱的提取有利。但是这并不意味着时间越长对生物碱提取越有利。长时间的提取可以使石蒜中的生物碱得到充分的扩散,这样提高了提取率。在霍茵、汪军霞等的报道中,石蒜的颗粒度对一定温度下的提取时间也是有影响的,随着颗粒的减小,整个基体被溶剂浸润所需的时间缩短,因此提取率提高。但当颗粒继续减小时,样品颗粒间空隙过小增强了扩散阻力,且颗粒度过小,过滤时易造成提取物的损失,这些因素都使得提取率降低。在范华均等的研究中,生物碱的提取率起初随提取时间的增加而增加,但是当时间超过一定的范围时,生物碱的提取率反而下降,这可能是由于石蒜中含有较多的淀粉类物质,在提取过程中逐渐溶

胀,体积逐渐增大,提取时间过长容易使被提取出来的物质又被吸附,导致提取率降低;也有可能是时间过长而使生物碱分子分解。出于对效率和成本的要求,选择 1 h 作为提取回流时间。

2.4 温度对提取效果的影响

取 4 份 40 g 石蒜,放入 5 个 1 000 mL 的圆底烧瓶中,分别加入 200 mL 的体积分数 95%乙醇,在 75、85、95、105 ℃下分别进行提取,提取时间为 1 h,然后在 232.0 nm 左右测定吸光度 A。见图 5。

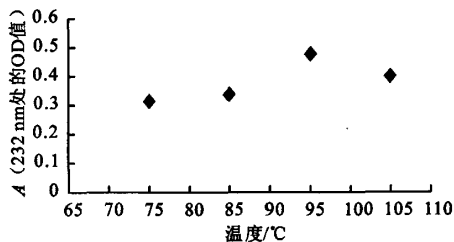


图5 温度对提取效果的影响

Fig. 5 Effects of temperature on Galanthamine extraction

据试验结果,当提取时间为 60 min 时,生物碱的吸光度 A,随着温度的增加而提高。这表明温度高有利于生物碱从石蒜中提取出来。这可能是因为加热温度的提高使细胞壁破裂,打破了平衡,使细胞内的生物碱得到了快速的扩散。在范华均的研究中这个增加是有条件的,当温度超过一定值时,随着温度的增加,生物碱的提取率反而下降。这可能是高温破坏了生物碱,使生物碱分解,致使其含量下降。

3 结 语

1) 生物碱的提取率受提取时间的影响。提取时间越久,提取率越高,但是超过一定范围,提取率会降低,可能是由于时间过长生物碱分子分解所造成的。故选择提取时间为 1 h。

2) 试验表明,生物碱的提取率随温度的提高而增加,高温利于生物碱的析出。但是过高的温度会使生物碱分解,提取率反而下降,所以本实验的提取温度为 95 ℃。

3) 不同吸附剂的自身性质各有特点,故其吸附效果和脱附效果有所不同。比较了聚酰胺、羧甲基纤维素、活性炭 3 种吸附剂对于生物碱的吸附和脱附效果,发现活性炭效果最好。

4) 吸附剂在不同的 pH 值下表现不同的吸附和脱附效果,比较了不同 pH 后,发现 pH=5 时吸附

剂的吸附和脱附效果最好。

参考文献(References):

[1] 刘涛,钱超. 外消旋加兰他敏全合成研究[J]. 浙江大学学报:工学版,2006,40(3):520—524.
LIU Tao, QIAN Chao. Research on total synthesis of racemic galanthamine[J]. Journal of Zhejiang University:Engineering Science, 2006,40(3):520—524. (in Chinese)

[2] 范华均, 栾伟. 微波辅助提取/HPLC 分析石蒜中的生物碱[J]. 分析测试学报,2006,25(3):27—30.
FAN Hua-jun, LUAN Wei. Determination of alkaloids in lycoris radiata with microwave-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography[J]. Journal of Instrumental analysis, 2006,25(3):27—30. (in Chinese)

[3] 王德强,王晓玲. 银杏细胞的悬浮培养研究[J]. 食品与生物技术学报,2005,24(3):27—31.
WANG De-qiang, WANG Xiao-ling. Callus suspension culture of ginkgo biloba[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2005,24(3):27—31. (in Chinese)

[4] 颜流水,赵基源. 抗痴呆症药中加兰他敏对映异构体的毛细管电泳分离及药物质量控制[J]. 高等学校化学学报,2004,25(2):256—260.
YAN Liu-shui, ZHAO Ji-yuan. Enantiomeric separation of galantamine in drug for alzheimer's disease and its quality control by capillary electrophoresis[J]. Chemical Research In Chinese Universities, 2004,25(2):256—260. (in Chinese)

[5] 杨建红,陶媛媛. 药用植物中乙酰胆碱酯酶抑制剂研究进展[J]. 云南化工, 2006,33(6):78—82.
YANG Jian-hong, TAO Yuan-yuan. Advance on acetylcholinesterase inhibitors from medicinal plants[J]. Yunnan Chemical Technology, 2006,33(6):78—82. (in Chinese)

(责任编辑:秦和平,朱明)

《食品与生物技术学报》
广 告 费 收 费 标 准

彩色广告

封面	15000 元/期
封二	8000 元/期
封三	6000 元/期
封底	10000 元/期
内页	5000 元/期

黑白广告

整版内页	2000 元/期
补白	800 元/期

地址:江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号 江南
大学杂志社
邮编:214122
联系电话:0510—85913526

《食品与生物技术学报》广告部