

超声提取优选研究多叶棘豆各药用部位盐酸小檗碱的分布

海平¹, 苏雅乐其其格² (1. 内蒙古民族大学化学化工学院, 内蒙古通辽 028000; 2. 内蒙古民族大学农学院, 内蒙古通辽 028000)

摘要 [目的]比较2种超声提取工艺研究多叶棘豆茎、叶、根、种子中盐酸小檗碱分布的不同。[方法]采用2种超声提取工艺对蒙药多叶棘豆茎、叶、根、种子中盐酸小檗碱进行提取并优选(方法Ⅰ是先将蒙药进行超声提取后放置24 h, 方法Ⅱ是将蒙药先室温放置24 h再进行超声提取)。在波长426 nm处用分光光度法测定, 计算盐酸小檗碱的含量和回收率。[结果]多叶棘豆茎中盐酸小檗碱分布最多, 叶、根、种子盐酸小檗碱分布明显减少, 而2种提取工艺中方法Ⅱ优于方法Ⅰ, 加样回收率在92.58%~110.00%, RSD在0.7823%~0.9749%。[结论]多叶棘豆各药用部位盐酸小檗碱分布不均, 茎中分布明显多, 2种不同超声提取工艺中方法Ⅱ优于方法Ⅰ。

关键词 超声提取; 优选; 多叶棘豆; 不同药用部位; 盐酸小檗碱

中图分类号 S567 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)36-0119-02

Study on the Distribution of Berberine Hydrochloride in Various Medicinal Parts of *Oxytropis myriophy* by Ultrasonic Extraction Optimization

HAI Ping¹, Suyaleqiqige² (1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028000; 2. College of Agronomy, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028000)

Abstract [Objective] The research aimed to compare the distribution of berberine hydrochloride in the stem, leaf, root and seed of *Oxytropis myriophy* by two different ultrasonic extraction techniques. [Method] Two kinds of ultrasonic extraction process were used to extract and optimize the berberine hydrochloride in the stems, leaves, roots and seeds of *Oxytropis myriophy* (The first technology was to extract the Mongolian medicine first by ultrasonic extraction and then placed 24 h, and the second technology was to put the Mongolian medicine at room temperature for 24 h before ultrasonic extraction). And calculated the content of berberine hydrochloride and recovery in 426 nm wavelength spectrophotometry. [Result] The content of berberine hydrochloride was the most in the stalk of *Oxytropis myriophy*, the distribution of berberine hydrochloride in leaves, roots and seeds was obviously reduced, and the second technology of extraction process was better than the first technology, the recovery rate was 92.58% - 110.00%, the relative standard deviation (RSD) was 0.7823% - 0.9749%. [Conclusion] The distribution of berberine hydrochloride is not equal in the medicinal parts of *Oxytropis myriophy*, and the distribution in the stems is much more significantly, and the second technology is better than the first in the two different ultrasonic extraction techniques.

Key words Ultrasonic extraction; Optimization; *Oxytropis myriophy*; Different medical parts; Berberine hydrochloride

多叶棘豆, 蒙古名为娜布其尔哈格-敖日道扎、查干-达可沙、达林-敖日道扎。为豆科植物多叶棘豆 [*Oxytropis myriophy* (Pall.) DC.] 的干燥全草, 是常用蒙药, 具有杀粘、清热、燥黄水、愈伤、生肌、合脉止血、消肿、软便之功效^[1]。国内外文献调研发现, 对多叶棘豆的相关研究较少, 已报道的化学成分主要有黄酮类^[2]、木脂素类^[3]、酚苷类^[4]、三萜皂苷类^[5]、生物碱类^[6]以及多糖^[7], 化合物种类和数量极为有限, 药理活性及其相关活性物质基础研究鲜见报道。盐酸小檗碱主要用于抗炎、抗菌和解热, 其不仅可以增强白细胞作用, 还对肿瘤(胃癌 MGC803、肾癌 7860 和肝癌 HepG2 等)有较好的抑制作用^[8-9]。该试验通过2种不同超声提取工艺提取并测定多叶棘豆叶、茎、根、种子中盐酸小檗碱, 研究多叶棘豆中盐酸小檗碱在各药用部位的分布, 为寻找其活性物质提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器。FA 2004 型电子天平(上海天平仪器厂); HH-S28S型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 722S 型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.1.2 试剂。无水乙醇(沈阳市东兴试剂厂); 甲醇(沈阳市东兴试剂厂); 浓盐酸(长春市化学试剂厂); 盐酸小檗碱(中国药品生物制品鉴定所); 以上试剂均为分析纯。

1.1.3 药品。多叶棘豆于2016年7月采集于兴安盟五叉沟, 室温晾干, 保存。

1.2 方法

1.2.1 样品的预处理。将干燥的多叶棘豆样品进行茎、叶、根、种子分开处理, 再将多叶棘豆的根清洗干净, 放入烘箱中烘干, 最后用碾碎机将多叶棘豆的茎、叶、根、种子全部粉碎成样品粉末, 分别用电子天平称取样品 5.00 g。

1.2.2 标准品溶液的配制。精密称取 10 mg 盐酸小檗碱对照品, 置于 100 mL 容量瓶中, 加入 85 mL 无水乙醇, 充分搅拌, 待其完全溶解, 再加无水乙醇至刻度, 摇匀, 此溶液浓度为 0.1 mg/mL。

1.2.3 标准曲线的建立。分别用移液管移取盐酸小檗碱标准品溶液 1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL 置于 5 mL 的比色管中, 标记为 1~5 号, 加入无水乙醇至刻度, 充分摇匀, 波长为 426 nm 处以无水乙醇为空白对照, 测定吸光度, 以浓度 (mg/mL) 为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线(图 1), 得线性方程为 $y = 12.233x - 0.0389$ ($r = 0.9989$)。

1.2.4 盐酸小檗碱的提取。

1.2.4.1 方法Ⅰ。分别精密称取多叶棘豆茎、叶、根、种子样品粉末 5.00 g 置于 50 mL 容量瓶中, 加盐酸-甲醇约 45 mL (盐酸与甲醇体积比 1:100), 60 °C 水浴加热 15 min, 取出, 先超声 30 min, 然后室温放置 24 h。用甲醇定容至刻度,

基金项目 内蒙古民族大学国家级培育项目(NMDGP1504); 内蒙古民族大学天然产物化学及功能分子合成自治区重点实验室开放课题(MDK2016017)。

作者简介 海平(1967-), 男, 蒙古族, 内蒙古通辽市人, 教授, 硕士, 从事天然产物化学及有机合成化学研究。

收稿日期 2017-11-15

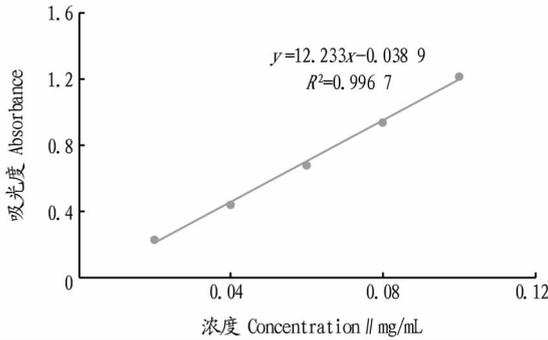


图1 盐酸小檗碱标准曲线

Fig. 1 Standard curve of berberine hydrochloride

抽取滤液为供试液^[10]。

1.2.4.2 方法 II。分别精密称取多叶棘豆茎、叶、根、种子样品粉末 5.00 g,置于 50 mL 容量瓶中,加盐酸-甲醇约 45 mL(盐酸与甲醇体积比 1:100),先室温放置 24 h,然后 60 °C 水浴加热 15 min,取出超声 30 min。用甲醇定容至刻度,抽取滤液为供试液^[10]。

1.2.5 盐酸小檗碱的含量测定。精确量取多叶棘豆茎、叶、

根、种子 2 种方法的供试液各 5 份(每份 1 mL),分别置于 5.00 mL 的比色管中,加无水乙醇至刻度线,充分摇匀,以无水乙醇为空白对照,在波长为 426 nm 处测定吸光度^[10-11]。

1.2.6 回收率试验。精确量取 3 份一定量(每份 2 mL)的多叶棘豆茎、叶、根、种的 2 种供试品溶液,各加 0.50 mL 盐酸小檗碱对照品,以无水乙醇为空白对照,在波长为 426 nm 处测定吸光度。

2 结果与分析

2.1 各药用部位盐酸小檗碱含量 由表 1 可知,2 种不同超声工艺提取的蒙药多叶棘豆茎、叶、根、种子的盐酸小檗碱含量明显不同,其中茎的盐酸小檗碱含量最多,分别达 1.827 2 和 1.854 2 mg/g,其余均较少,且方法 I 和方法 II 所测出的含量略有差异,方法 II 均优于方法 I。

2.2 回收率试验 由表 2 可知,多叶棘豆不同药用部位茎、叶、根、种子的回收率明显不一样,其中叶的回收率最高,茎的回收率最低,方法 II 的平均回收率明显高于方法 I,所以蒙药多叶棘豆茎、叶、根、种的回收率试验的 2 种方法中方法 II 优于方法 I。

表 1 多叶棘豆茎、叶、根、种子中盐酸小檗碱含量 (n=5)

Table 1 The content of berberine hydrochloride in stems, leaves, roots and seeds of *Oxytropis myriophy*

药用部位 Medicinal parts	提取方法 Extraction method	盐酸小檗碱含量 Berberine hydrochloride content // mg/g					平均 Average	RSD %
		1	2	3	4	5		
茎 Stem	方法 I	1.832	1.825	1.840	1.812	1.827	1.827 2	0.919 6
	方法 II	1.845	1.842	1.861	1.867	1.856	1.854 2	0.945 3
叶 Leaf	方法 I	0.549	0.536	0.538	0.522	0.541	0.537 2	0.879 5
	方法 II	1.204	1.194	1.195	1.185	1.207	1.197 0	0.782 3
根 Root	方法 I	0.742	0.747	0.726	0.729	0.734	0.735 6	0.786 4
	方法 II	0.776	0.782	0.786	0.768	0.764	0.775 2	0.825 6
种 Seed	方法 I	0.708	0.712	0.688	0.690	0.694	0.698 4	0.974 9
	方法 II	0.768	0.773	0.790	0.791	0.775	0.779 4	0.935 1

表 2 多叶棘豆茎、叶、根、种回收率试验 (n=3)

Table 2 Recovery test of stems, leaves, roots and seeds of *Oxytropis myriophy*

药用部位 Medicinal parts	提取方法 Extraction method	加标量 Adding standard matter amount // mg	吸光度 Absorbance	回收率 Recovery rate // %	平均回收率 Average recovery rate // %	
						茎 Stem
		0.05	2.757	93.18		
		0.05	2.816	99.10		
	方法 II	0.05	2.782	92.98	99.23	
		0.05	2.952	110.00		
		0.05	2.799	94.69		
叶 Leaf	方法 I	0.05	1.566	103.10	101.43	
		0.05	1.549	101.40		
		0.05	1.553	101.80		
	方法 II	0.05	2.285	109.14	108.24	
		0.05	2.276	108.14		
		0.05	2.269	107.44		
根 Root	方法 I	0.05	1.786	105.57	99.62	
		0.05	1.698	96.45		
		0.05	1.702	96.85		
	方法 II	0.05	1.826	105.31	105.01	
		0.05	1.832	105.91		
		0.05	1.811	103.81		
种 Seed	方法 I	0.05	1.674	97.78	97.91	
		0.05	1.695	99.88		
		0.05	1.657	96.07		
		方法 II	0.05	1.881	110.00	108.53
			0.05	1.863	108.60	
			0.05	1.847	106.99	

值与其他处理相比均稍高,均价也稍高,其次是 T1、T3、T6 ~ T8,但差异不显著,T1、T6、T7 的上等烟比例较高,T10 的中等烟比例较高。T13 ~ T23 中,T18、T19、T23 的产量、产值、上等烟比例均较高,均价稍高,T15 的中等烟比例较高。

3 结论与讨论

试验结果表明,T1 ~ T12 的青枯病发病率低于 T13 ~

T23,说明拮抗菌对青枯病起到了拮抗作用,T13 ~ T23 的黑胫病发病率低于 T1 ~ T12,说明拮抗菌黑胫病起到了拮抗作用。其中,青枯病拮抗菌表现以 T10 ~ T12 较明显,黑胫病拮抗菌以 T18 和 T22 表现较明显,结合经济性状来看,T12 和 T18 表现较优,但具体拮抗机理还需进一步研究。

表 4 各处理经济性状

Table 4 Economic characters of treatments

处理 Treatment	产量 Yield kg/hm ²	产值 Output 元/hm ²	均价 Average price//元/kg	上等烟比例 First grade leaf proportion//%	中等烟比例 Secondary grade leaf proportion//%
T1	1 618.35	42 951.00	26.54	58.46	41.54
T2	1 597.50	40 672.35	25.46	56.45	43.55
T3	1 633.50	43 206.15	26.45	55.23	44.77
T4	1 611.75	40 777.35	25.30	54.45	45.55
T5	1 603.50	40 296.00	25.13	57.58	42.42
T6	1 630.50	43 159.35	26.47	59.45	40.55
T7	1 628.10	42 542.25	26.13	58.70	41.30
T8	1 633.50	43 042.80	26.35	56.42	43.58
T9	1 613.40	40 560.90	25.14	56.32	43.68
T10	1 598.70	40 335.15	25.23	52.43	47.57
T11	1 596.00	40 761.90	25.54	54.20	45.80
T12	1 643.40	43 517.25	26.48	55.80	44.20
T13	1 567.50	37 839.45	24.14	45.60	54.40
T14	1 548.75	37 727.55	24.36	46.80	53.20
T15	1 537.50	37 053.75	24.10	43.63	56.37
T16	1 565.40	38 399.25	24.53	51.20	48.80
T17	1 552.50	38 331.30	24.69	52.36	47.64
T18	1 597.50	40 720.35	25.49	56.50	43.50
T19	1 581.45	41 275.80	26.10	54.50	45.50
T20	1 570.50	39 733.65	25.30	48.90	51.10
T21	1 518.45	38 568.60	25.40	47.81	52.19
T22	1 503.45	36 383.55	24.20	46.90	53.10
T23	1 581.00	40 631.70	25.70	55.60	44.40

参考文献

[1] 浙江农业大学. 农业植物病理学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1978.
 [2] 陈瑞泰,宋贤朝,王智发,等. 全国 16 个主产烟省(区)烟草侵染性病害调研报告[J]. 中国烟草科学,1997,18(4):1-7.
 [3] 匡传富,何志明,汤若云,等. 烟草青枯病土壤微生物数量及生理群的测定[J]. 中国烟草科学,2003,24(1):43-45.

[4] 蔡燕飞,廖宗文,董春,等. 番茄青枯病的土壤微生态防治研究[J]. 农业环境保护,2002,21(5):417-420.
 [5] 随学超. 无土栽培系统中番茄青枯病流行因素及微生态防治途径初探[D]. 南京:南京农业大学,2007.
 [6] 刘亮. 连续施用有机肥对土壤微生物多样性及青枯病的影响[D]. 广州:华南农业大学,2010.

(上接第 120 页)

3 小结

采用 2 种不同超声提取工艺对多叶棘豆不同药用部位茎、叶、根、种子的盐酸小檗碱含量分布进行了比较研究,结果表明,多叶棘豆的茎、叶、根、种子中盐酸小檗碱的含量明显不同,其中茎的含量最多,叶、根、种子的含量相对较少。说明茎中盐酸小檗碱分布相对多,其他部位分布相对少。多叶棘豆不同药用部位茎、叶、根、种子的回收率也明显不一样,其中叶的回收率最高,茎的回收率最低,并且方法 I 的回收率低于方法 II 的回收率。

参考文献

[1] 蒙医学编辑委员会. 中国医学百科全书·蒙医学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1992:212.
 [2] SHE G M,SUN F F,LIU B. Three new flavonoid glycosides from *Oxytropis myriophylla*[J]. Journal of natural medicines,2012,66(1):208-212.
 [3] OKAWA M,YAMAGUCHI R,DELGER H,et al. Five triterpene glycosides from *Oxytropis myriophylla*[J]. Chemical & pharmaceutical bulletin,2002,

50(8):1097-1099.
 [4] KOJIMA K,PUREVSUREN S,NARANTUYA S,et al. Alkaloids from *Oxytropis myriophylla* (Pall) DC[J]. Scientia pharmaceutica,2001,69(4):383-388.
 [5] 白清云. 中国医学百科全书[M]. 赤峰:内蒙古科学技术出版社,1986:322.
 [6] 伊希巴拉珠尔. 蒙医甘露四部. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:404.
 [7] 苏雅乐其其格,海平. 多叶棘豆不同部位多糖体外抗氧化活性比较研究[J]. 辽宁中医杂志,2016,10(43):2168-2169.
 [8] GHOSH R,GRAHAM H,RIVAS P,et al. Phellodendron amurense and its major alkaloid compound,berberine ameliorates scopolamine-induced neuronal impairment and memory dysfunction in rats[J]. Anticancer Res,2010,30:857-866.
 [9] JAMES M A,FU H,LIU Y,et al. Dietary administration of berberine or *Phellodendron amurense* extract inhibits cell cycle progression and Lung tumorigenesis[J]. Mol Carcinog,2011,50(1):1-7.
 [10] 程华,余龙江,胡琼月,等. 分光光度法测定岩黄连不同部位总生物碱的含量[J]. 时珍国医国药,2006,17(3):364-365.
 [11] 海平,苏雅乐,王秀兰. 手参及其炮制品盐酸小檗碱含量的测定[J]. 中国民族医药杂志,2009,15(3):62-64.