

· 基础研究 ·

## 博落回和小果博落回不同部位中 生物碱类成分的比较<sup>△</sup>

刘秀斌<sup>1</sup>, 黄嘉璐<sup>1</sup>, 郑亚杰<sup>1\*</sup>, 刘薇<sup>1,2</sup>, 唐昭山<sup>3</sup>, 曾建国<sup>1,2</sup>

(1. 湖南农业大学 兽用中药资源与中兽药创制国家地方联合工程研究中心, 湖南 长沙 410128;  
2. 湖南农业大学 分析测试中心, 湖南 长沙 410128; 3. 湖南美可达生物资源股份有限公司, 湖南 长沙 410005)

**[摘要]** **目的:** 比较博落回属植物博落回和小果博落回不同部位中生物碱随生长期积累的动态量化规律, 为博落回属资源品质评价和合理利用提供依据。**方法:** 采用 HPLC 对不同药用部位中血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱和别隐品碱的含量进行测定, 并对数据进行比较分校。**结果:** 在根、茎、叶和果实不同部位中, 两种植物的果实中生物碱类化合物量均为最多; 茎中积累生物碱的量最少; 根中积累较多的原阿片碱; 生物碱在叶中的积累具有显著的种属特异性; 另外, 小果博落回果实中别隐品碱的量远高于其他生物碱。**结论:** 该研究为博落回属植物资源的综合利用提供了有力的科学依据, 由于生物碱类成分在该属植物中的累积具有种属特异性, 在植物资源利用方面需要综合考虑具体的药用部位及其生物量。

**[关键词]** 博落回; 小果博落回; 生物碱; 药用部位; 高效液相色谱

### Differentiation of Alkaloids in Different Parts between *Macleaya cordata* and *M. microcarpa*

LIU Xiubin<sup>1</sup>, HUANG Jialu<sup>1</sup>, ZHENG Yajie<sup>1\*</sup>, LIU Wei<sup>1,2</sup>, TANG Zhaoshan<sup>3</sup>, ZENG Jianguo<sup>1,2</sup>

(1. National and Local Union Engineering Research Center for the Veterinary Herbal Medicine Resources and Initiative, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;  
2. Center of Analytic Service, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;  
3. Micollta Bioresource Inc, Changsha 410005, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the dynamic accumulation of alkaloids in different parts of *Macleaya cordata* and *M. microcarpa* in the growing period, and provide scientific basis for quality evaluation and rational resources utilization. **Methods:** The contents of sanguinarine, berberine, chelerythrine and allocryptopine in different medicinal parts were determined and compared. **Results:** The accumulation of alkaloids in the fruits of two species were more than that in other parts, and stems accumulated the least alkaloids, and leaves accumulated species-specifically protopine. In addition, allocryptopine in the fruit of *M. microdata* was much more than other alkaloids. **Conclusion:** This study provides a strong scientific basis for comprehensive utilization of *M. cordata*. Due to the specie-specific accumulation of alkaloids, it needs to consider the specific medicinal parts and biomass as utilization of its plants resources.

**[Keywords]** *Macleaya cordata*; *Macleaya microcarpa*; alkaloids; medicinal part; HPLC

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.10.006

博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. 和小果博落回 *M. microcarpa* (Maxim.) Fedde. 是罂粟科博落回属 (*Macleaya* R. Br.) 多年生直立草本植物, 全草入药, 具有杀虫、消肿等功效。生物碱类化学成分,

如血根碱 (Sanguinarine, SAN)、白屈菜红碱 (Chelerythrine, CHE)、原阿片碱 (Protopine, PRO)、别隐品碱 (Allocryptopine, ALL) 等是博落回与小果博落回的主要药效成分, 现代药理研究表明它们具有杀

<sup>△</sup> [基金项目] 国家自然科学基金 (31600238); 湖南省研究生科研创新项目 (CX2014B302); 湖南省自然科学基金 (2016JJ4040); 湖南省教育厅科学研究项目 (16C0769); 湖南省科技重点计划 (2016SK3002)

\* [通信作者] 郑亚杰, 高级工程师, 研究方向: 药用植物中功能成分分析及发现; Tel: (0731) 84618103, E-mail: zhengyj4@126.com

菌、杀虫、消炎、抗病毒和抗肿瘤等作用<sup>[14]</sup>。作为同属植物,两者外在形态具有明显差异,比如博落回的果实呈倒卵形,而小果博落回的果实呈近圆形,博落回叶片的裂要深于小果博落回。由于生物碱类化学成分分布具有组织特异性,不同部位中所含的生物碱类成分有所不同,博落回根、茎、叶和果实不同时期所含生物碱的种类和含量不同<sup>[5-7]</sup>,小果博落回的根、茎、叶和果实中生物碱种类和所累积的含量也存在很大的差异<sup>[8-9]</sup>。博落回和小果博落回叶中生物碱含量进行比较研究,发现前者所含原阿片碱与别隐品碱较高,后者中白屈菜红碱与血根碱含量较高<sup>[10]</sup>,而它们的根中富集量最高的是别隐品碱<sup>[11]</sup>。前期研究表明小果博落回与博落回中的主要生物碱(原阿片碱、别隐品碱、白屈菜红碱、血根碱)的积累分布具有明显的组织特异性<sup>[12]</sup>。博落回的果荚和小果博落回的叶片中主要积累血根碱和白屈菜红碱,而博落回叶片、根和小果博落回果荚中主要积累原阿片碱和别隐品碱,两者的茎主要作为运输器官,积累着少量的4个生物碱。植物体内次生代谢物随着生长期呈动态变化,系统地开展博落回属植物不同部位中生物碱类成分随生长时间变化的研究,对全面了解该属植物的生物碱分布情况及资源利用尤为重要。

为了更全面地了解博落回属不同植物生物碱类成分在不同器官的分布,本研究在前期工作基础上对博落回和小果博落回不同部位中4个生物碱(SAN、CHE、PRO和ALL)随生长时间的变化进行研究,为该属植物系统的品质评价及植物资源的合理利用提供充分的科学依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);电子分析天平[梅特勒-托利多(上海)仪器有限公司];超声波清洗仪(昆山市超声波仪器有限公司);Milli-Q 纯化水系统(美国 Millipore)。

### 1.2 材料与试剂

博落回不同部位样品于2011年采自安徽六安,小果博落回不同部位样品于2011年采自河南洛阳。

盐酸血根碱(纯度:99.3%)、白屈菜红碱(纯度:80.5%)、原阿片碱(纯度:99.7%)购自中国食品药品检定研究院。别隐品碱(纯度:98%)由实

验室分离纯化所得。甲醇、乙腈(美国 TEDIA, 色谱纯),超纯水由实验室 Milli-Q 纯化水系统自制,磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司,分析纯)。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

月旭 XBridge C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水(B),梯度洗脱见表1,流速为1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量为5 μL,柱温35℃,检测波长为284 nm。

表1 梯度洗脱色谱条件

| t/min | 流动相 A(%) | 流动相 B(%) |
|-------|----------|----------|
| 0~11  | 25~25    | 75~75    |
| 11~27 | 25~60    | 75~40    |
| 27~29 | 60~25    | 40~75    |
| 29~35 | 25~25    | 75~75    |

### 2.2 样品预处理

所采收的各部位样品采收后进行晒干处理。

### 2.3 供试品溶液

取约1.0 g,精密称定,分别置于250 mL的具塞锥形瓶中,加入甲醇-1%盐酸水溶液(50:50)100 mL,称定重量,超声提取1 h(超声温度为35℃,功率为33 kHz)后取出放冷至室温,补足失重,离心,取上清液用0.45 μm 滤膜过滤,备用。

### 2.4 对照品溶液的制备

分别称取盐酸血根碱、CHE、PRO和ALL适量,置于50 mL容量瓶中,加少量甲醇超声溶解,冷却后以甲醇定容,配成质量浓度约为0.5 mg·mL<sup>-1</sup>的SAN、CHE、PRO、ALL的储备液,冰箱冷藏保存。

### 2.5 样品测定

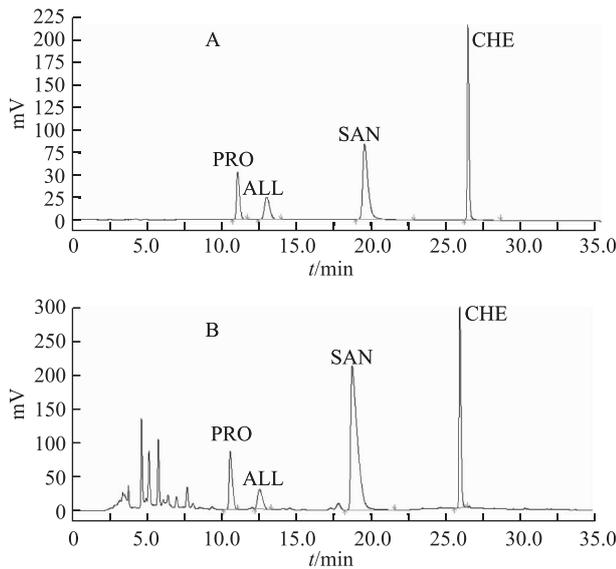
将配制好的供试品和对照品溶液,按照2.1方法进行检测,将上述各对照品对应的峰面积值代入各自的标准曲线方程,计算出供试品溶液的质量浓度值,结合稀释倍数和样品称样量,计算各指标成分在样品中的量(mg·g<sup>-1</sup>)。将不同样品中所含各指标成分求和,计算总生物碱量(mg·g<sup>-1</sup>)。

## 3 结果与分析

### 3.1 检测方法

参照湖南省地方标准中博落回4个生物碱的

HPLC 检测方法<sup>[13]</sup>, 色谱图见图1。



注: A. 对照品; B. 博落回果实。

图1 博落回果实及对照品 HPLC 图

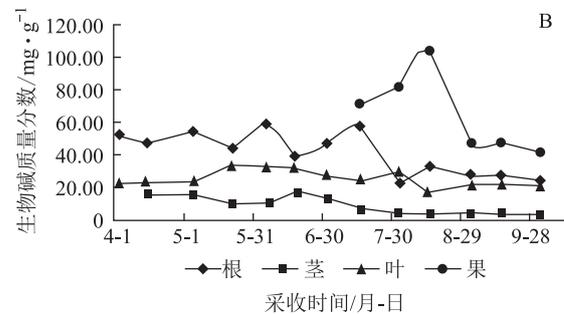
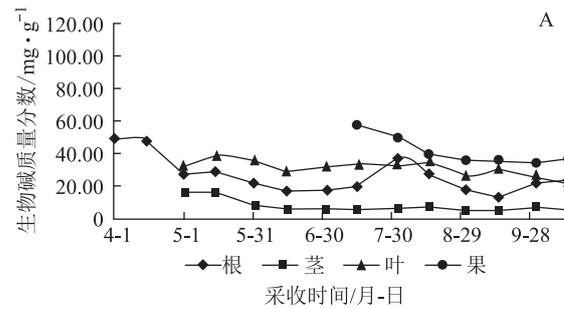
### 3.2 标准曲线及范围

精密吸取 2.4 配制的储备液 5、2、1、0.5、0.2 mL, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。按上述 2.1 色谱条件测定峰面积, 以峰面积 ( $Y$ ) 为纵坐标, 原阿片碱、别隐品碱、血根碱和白屈菜红碱质量浓度 ( $X$ ) 为横坐标绘制标准曲线, 计算回归方程: 原阿片碱  $Y = 6\,734\,305X - 33\,278$ ,  $r = 0.999\,7$ ; 别隐品碱  $Y = 5\,421\,540X - 16\,806$ ,  $r = 0.999\,9$ ; 血根碱  $Y = 5\,421\,540X - 16\,806$ ,  $r = 1.000$ ; 白屈菜红碱  $Y = 29\,237\,979X - 195\,609$ ,  $r = 0.999\,9$ 。结果表明原阿片碱在  $0.010\,3 \sim 0.515\,0\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、别隐品碱在  $0.010\,2 \sim 0.511\,0\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、血根碱在  $0.010\,2 \sim 0.511\,0\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、白屈菜红碱在  $0.010\,5 \sim 0.525\,0\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  均具有良好的线性关系。

### 3.3 样品测定

3.3.1 总生物碱在博落回和小果博落回不同部位的含量差异 博落回和小果博落回同为罂粟科博落回属植物, 从图2中可以看出总生物碱在两种植物体内的分布, 均以果实中含量最高, 茎中含量最低。在博落回植物中, 不同部位中所含总生物碱的量由高到低依次为果实 > 叶 > 根 > 茎(见图2A), 小果博落回(见图2B)中总生物碱在不同部位的分布由高到低依次为果实 > 根 > 叶 > 茎。

3.3.2 根中4个生物碱的含量比较 根是博落回属植物生物碱类化学成分的主要合成器官<sup>[12]</sup>, 在植物生长周期内持续不断地合成生物碱类次生代谢产物,



注: A. 博落回; B. 小果博落回。

图2 博落回和小果博落回不同部位中总生物碱变化图

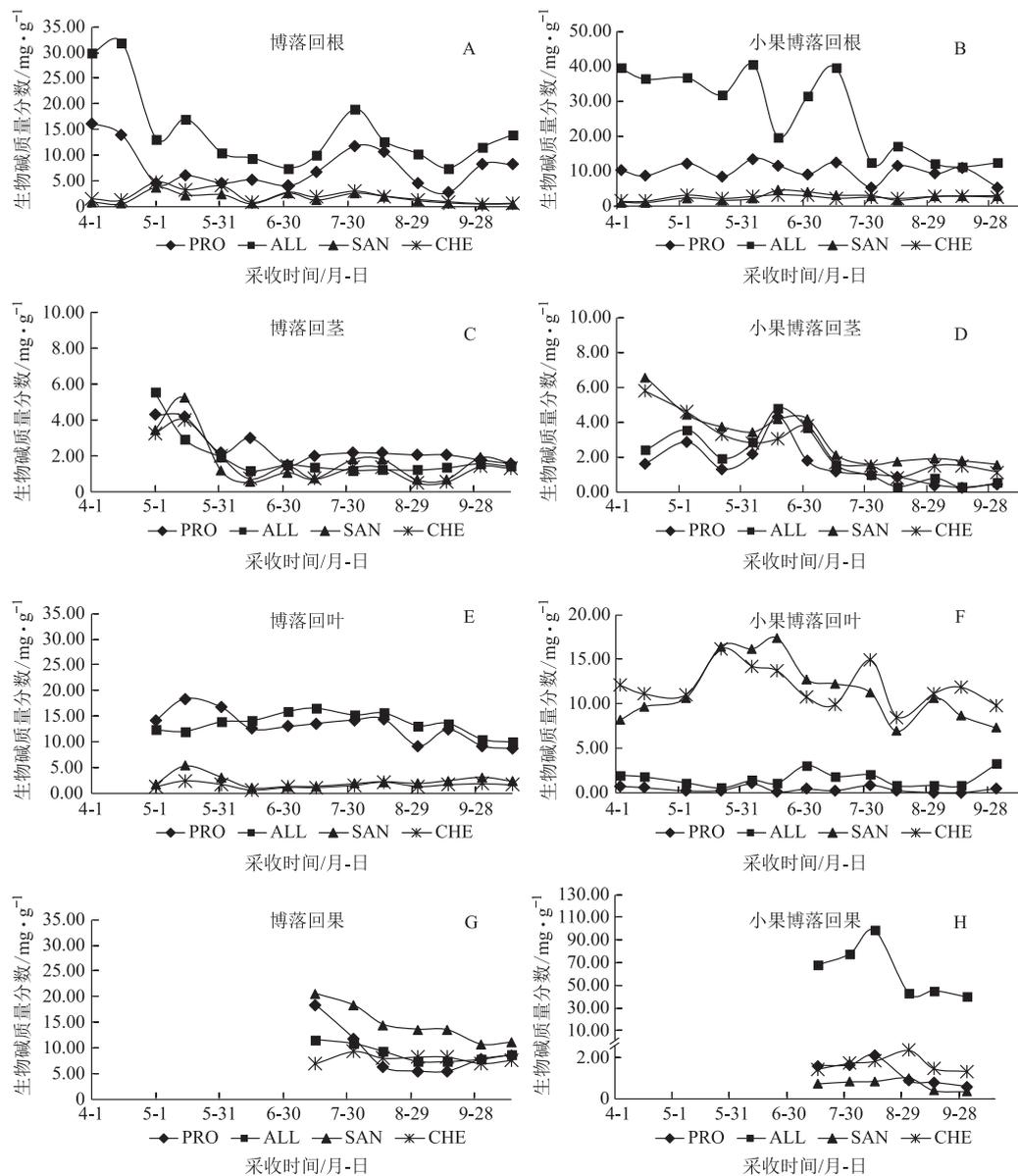
并输送到其他器官组织中以抵御病虫害的侵蚀或食草动物的啃食。通过图3A和3B的比较发现, 在博落回和小果博落回根中自春天叶子长出(4月)开始至地上部分干枯(10月), 尽管4个生物碱成分均呈现出不同的动态变化趋势, 但是4个生物碱在两种植物根部的积累趋势确存在一定的相似性, 比如所积累的  $ALL > PRO > CHE \approx SAN$ , 并且积累的 ALL 和 PRO 的量均高于 SAN 和 CHE 的量, 在6月和7月份各生物碱量都达到峰值, 该研究结果所反映出根中对生物碱的积累趋势与文献报道一致<sup>[11]</sup>。

3.3.3 茎中4个生物碱的含量比较 通常茎具有输导营养物质和水分, 以及支撑叶、花和果实在一定空间的生长作用。从图3C和3D中发现, 两种植物茎中所含4个生物碱的量差异不大。纵观图1, 在相同植物物种的根、茎、叶和果等不同器官中, 4个生物碱在茎中的分布最少, 每克干物质中所含单个生物碱类成分最高不超过  $8\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 在茎质地较幼嫩的营养生长期各生物碱含量相对较高, 在进入花期之后略有下降。

3.3.4 叶片中4个生物碱的含量比较 叶片是植物进行光合作用、制造养料、进行气体交换和水分蒸腾的重要器官, 同时也是博落回属植物合成生物碱类次生代谢产物的器官之一<sup>[12]</sup>。通过比较图3E和3F, 发现博落回叶积累的4个生物碱含量由高到低为  $ALL \geq PRO > SAN \approx CHE$ , 小果博落回叶所积累的4个生物碱含量由高到低为  $SAN \geq CHE > ALL \approx$

PRO。有趣的是博落回和小果博落回叶中富集的生物碱含量高低次序相反,即在博落回叶中 ALL 和 PRO 含量高于 SAN 和 CHE,而小果博落回叶中 SAN 和 CHE 含量高于 ALL 和 PRO,表明生物碱的积累具有种属差异,该研究结果与郭宇鸽等的研究结果相一致<sup>[10]</sup>。研究中发现6月中旬后博落回和小果博落回下部叶片部分变枯脱落,博落回和小果博落回叶在5月中旬6月初时生物量最大,博落回叶中此时 PRO 和 ALL 含量总量较高,适用于作为生产 ALL4 和 PRO4 的原料;小果博落回叶此时 SAN 和 CHE 含量总量最高,适用生产 SAN 和 CHE 的原料。

3.3.5 果实中4个生物碱的含量比较 从图1中已知果实中特异性地富集了更多的生物碱类化合物,但是两种植物果实中生物碱类别还存在很大的差异。比较图3G和3H,发现小果博落回中所含 PRO 远高于其他3个生物碱;博落回果实中差异相对较小,在7月初幼果期博落回果实中 SAN 和 CHE 含量最高,但此时生物量最少,不适合采摘,7月底博落回果实成熟后 SAN 和 CHE 总量高于原阿片碱和别隐品碱的总量,且生物量最大,因此7月底8月初的博落回果实适合用于生产 SAN 和 CHE 的原料。



注: A. 博落回根; B. 小果博落回根; C. 博落回茎; D. 小果博落回茎; E. 博落回叶; F. 小果博落回叶; G. 博落回果; H. 小果博落回果。

图3 博落回和小果博落回不同部位中不同生物碱随生长时间的变化趋势图

#### 4 讨论

博落回和小果博落回为同属不同种植物,在不同药用部位和不同生长期两者所含生物碱种类和含量存在较为显著的差异,尤其是叶和果实。因此在药材资源利用时需要结合采收时间和药用部位的具体情况做出决定。

生物碱类次生代谢产物在植物体内随生长时间呈现动态变化,在不同的生长时期所在不同药用部位中富集的生物碱量会有所不同。博落回和小果博落回均为全草入药,但从总生物碱含量来看,果实中特异性地富集了更多生物碱。这提示在药材种植过程中,6月后博落回和小果博落回叶片会有部分脱落造成资源的浪费,为了充分利用药材资源,建议从6月开始采收部分博落回和小果博落回叶片,在7月底至8月初果实成熟时,再进行全草采收或分不同药用部位进行采收。

果实是博落回和小果博落回植物中生物碱成分的主要富集器官,但是该部位在整株植物的生物量中占比很小,如果仅利用果实作为有效成分提取原料,必然会造成植物资源的巨大浪费。但实际生产中,从不同药用部位或全草中提取有效成分的生产工艺和生产成本也存在很大不同,所以大生产过程中需要根据原料的采收期和采收部位选择不同生产工艺。

#### 参考文献

- [1] 汪学军, 闵长莉, 韩彭垒. 博落回不同部位提取物对大肠菌群的抑菌作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(2): 247-250.
- [2] Li C M, Yang X Y, Zhong Y R, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil from the leaves of *Macleaya cordata* (Willd) R. B [J]. Nat Prod Res, 2016, 30(4): 438-442.
- [3] 邹惠亮, 李红玉, 余绍福, 等. 博落回的生物碱成分及细胞毒活性研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 458-462.
- [4] Opletal L, Locarek M, Frankova A, et al. Antimicrobial activity of extracts and isoquinoline alkaloids of selected papaveraceae plants [J]. Nat Prod Commun, 2014, 9(12): 1709-1712.
- [5] 吴周威, 程辟, 刘秀斌, 等. 博落回药材采收及初加工工艺研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(10): 860-864.
- [6] 张炯炯, 李功华, 李跃军, 等. 博落回植株地上部分各器官生物碱含量的研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(7): 1428-1430.
- [7] 钟明, 黄可龙, 曾建国, 等. 采用 UPLC-ESI-MS 快速测定博落回各器官中主要生物碱的含量[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2011, 42(7): 1899-1905.
- [8] 李晓蒙, 程力惠, 刘慧琼. HPLC 法测定博落回药材不同器官白屈菜红碱含量[J]. 亚热带植物科学, 2008, 37(2): 41-43.
- [9] 罗忠勇, 曾建国, 黄敬, 等. RP-HPLC 法测定小果博落回中 7 种异喹啉类生物碱[J]. 中草药, 2010, 41(7): 1188-1190.
- [10] 郭宇鸽, 曾建国, 谈满良, 等. 博落回叶与小果博落回叶中 4 种生物碱的含量比较[J]. 中南药学, 2011, 9(11): 829-832.
- [11] Suchomelova J, Bochorakova H, Paulova H, et al. HPLC quantification of seven quaternary benzo[c]phenanthridine alkaloids in six species of the family Papaveraceae [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 44(1): 283-287.
- [12] Zeng J, Liu Y, Liu W, et al. Integration of transcriptome, proteome and metabolism data reveals the alkaloids biosynthesis in *Macleaya cordata* and *Macleaya microcarpa* [J]. PloS one, 2013, 8(1): e53409.
- [13] 湖南省质量技术监督局. 博落回果: DB43/T497 [S]. 2009: 8-9.

(收稿日期 2017-02-20)