

蚕粪制取叶绿素衍生物及其 在医药上的应用

(综述)

黄 自 然

(蚕桑系)

提 要

蚕粪是提取叶绿素的良好原料，含量达1%（干物）。用丙酮抽提后回收溶剂可得到糊状叶绿素，得率约5%。加碱皂化后，在酸性条件下与硫酸铜作用生成叶绿素铜酸，再与氢氧化钠反应成为叶绿素铜酸钠盐。可用于治疗慢性、迁延性肝炎，胃、十二指肠溃疡及外用，又可作食用色素。

蚕粪还可提取类胡萝卜素，植物醇和正三十烷醇。植物醇供作合成维生素E及K₁的原料，正三十烷醇是植物生长刺激素，能促进水稻秧苗及白菜的生长。

1959年以来，开展蚕粪综合利用的试研工作。经与工厂、医药及科研部门的协作，取得一定的成效，使蚕粪从少用变为多用，向资源的深度和广度进军，为人民创造更多的财富。近年来先后建成并投产的叶绿素工厂（车间），年产糊状叶绿素可达二百吨，其中部分供出口，部分供作医药原料。叶绿素铜酸钠盐在1961年用作治疗传染性肝炎有一定疗效^{〔8〕}。近年已由药厂制成“肝宝”及“胃甘绿”，供治疗慢性、迁延性肝炎及胃、十二指肠溃疡之用。此外，还可用作食用色素。现已由有关部门拟定叶绿素铜酸钠盐的质量标准，使产品的质量进一步提高。现将有关资料综述如下。

一、蚕粪制取糊状叶绿素

1959年杨宗万、陈宝丝先应用蚕粪提取叶绿素成功^{〔1〕}。以后经过笔者等的努力^{〔2-4, 6-7〕}，于1972年建立工厂作为出口产品及供制取医药原料之用^{〔6-8〕}。

蚕粪提取糊状叶绿素的流程是：蚕粪（风干）风选去杂，加水软化，用丙酮或酒精萃取，过滤得叶绿素液，回收溶剂后即为学生产品。每吨蚕粪约得糊状叶绿素60公斤。

蚕粪的质量直接影响到产品的品质及得率。以收集本地的新鲜蚕粪及时风干贮藏者

为佳。例如河北周口的蚕粪中含叶绿素量为0.9—1.79%，广东的蚕沙亦达0.84—1.20%^[1]。但一些地区的蚕粪较差，叶绿素的含量仅0.3—0.5%，这样势必造成产品低劣而成本增高。造成这些差异的原因很多，一般来说春蚕粪较秋蚕粪好，收集时处理不当而发霉或贮藏时间过长（两年）等，都会降低蚕粪的质量。

蚕粪提取糊状叶绿素的工艺流程似乎很简单，但如掌握不好亦很难获得优质的产品。据顺德县沙滘公社乐从化工厂多年的经验^[1]，认为蚕粪软化后第一次抽提时，调节丙酮浓度十分重要。必须掌握好叶绿素抽提液的丙酮度在82—83%为适（酒精计表示），第二、三次抽提时浸出液控制在85—88%。这样做主要是提高叶绿素的萃取效率而尽量减少非叶绿素的脂溶性杂质的溶解。

将以上浸出液混合后，回收溶剂。要注意控制好混合液的共沸点，临近终点时温度不宜超过85°C30分钟。这样对产品的质量有保证，而且回收的丙酮的浓度亦较高。

目前，糊状叶绿素的质量指标是含叶绿素（按叶绿素铜钠盐计）10%，消光比（ $E_{4050\text{\AA}}/E_{6300\text{\AA}}$ ）为3.2—4.0，热减量不超过25%。

二、蚕粪制备叶绿素铜钠盐

叶绿素铜钠盐是水溶性叶绿素衍生物（Chlorophyllin）。多年来不断改进其工艺，产品质量已逐步提高。目前研试的工艺线路有两种：一是由中国科学院上海植物生理研究所、广州第四制药厂、顺德县先锋食品厂等研制的；另一为广州第九中药厂研制的，它们各有特点。

第一种工艺是由蚕粪直接制备，用酒精饱和的汽油萃取叶绿素，然后加碱皂化，得到植物醇及水溶性叶绿素衍生物。过滤，滤液用盐酸调整为pH 2—3，同时加入硫酸铜，在酸性条件下形成叶绿素铜酸。析出叶绿素铜酸后，用稀酒精，汽油，稀碱洗涤去杂，再加酸调制而得到精制的铜酸。最后用丙酮或酒精溶解，加入足量的氢氧化钠，调到pH 11，烘干后即成为叶绿素铜钠盐。

第二种工艺是以丙酮提取的糊状叶绿素为原料，用酒精溶解后加入硫酸铜，使形成叶绿素铜的络合物，加酸调整到pH 3而析出。经洗涤及离心除去杂质。用碱溶解并加热皂化，得到植物醇及叶绿素铜钠盐。用汽油除尽不皂化物，再经净化而得到成品。

从蚕粪中提取的叶绿素及其衍生物的成分是相当复杂的^[5,6]，主要是绿素 e_0 及 e_4 （Chlorin e_4 、 e_0 ）。皂化后使形成去镁叶绿素酸钠。在酸性条件下，易与铜离子络合形成对热、光稳定的叶绿素铜酸。但皂化时容易使叶绿素破坏，此其不足之处。第二种工艺路线则在提取叶绿素液中先加入硫酸铜，使形成铜代叶绿素，亦比较稳定。但皂化时部分络合铜受碱作用而脱失，因此产品中络合铜的含量较低而游离铜则会偏高。这两种工艺仍有待生产实践中加以改善。

三、叶绿素铜钠盐的质量检定

过去，叶绿素铜钠盐的质量检定是按美国《新药集成》（N. N. R.）及日本食品检验方法进行的。目前，已初步拟出适合我省的标准。

叶绿素铜钠盐质量标准 (暂定)

pH (1 % 水溶液)	9.0—10.7
含量 (干物计)	不少于90%
干燥减量	≤ 4 %
硫酸灰分	≤36%
总铜量 (Cu)	4—6 %
游离铜 (Cu ⁺⁺)	≤500 ppm
砷 (As)	≤ 2 ppm
重金属 (以Pb计)	≤15 ppm
消光比值 (E _{4050 Å} / E _{6330 Å})	3.2—4.0

关于叶绿素铜钠盐的含量标准的测定依据,是按1954年《药物标准》(Drug Standard) 的协定值,测定4050 Å 的特殊消光值 $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 565$ 为准,但实际上往往超过理论值100%。因此,1977年世界卫生组织拟修改之,提出 $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 700, (700/565) \times 100 = 123\%$ 作标准。但此数据仍有待验证。

“标准”中的总铜量似稍低而游离铜则嫌高,砷及重金属的含量等指标仍需在生产中不断改进。

四、叶绿素衍生物的应用

叶绿素铜钠盐在医药上的应用在国外早已报道,且有广泛的用途。我们经过多方面的临床应用已积累了不少的资料。

胃甘绿是佛山制药厂的产品,除叶绿素铜钠盐外还含有甘草酸单胺、无水氢氧化铝、氧化镁及解痉剂等,治疗胃、十二指肠溃疡有较好的效果。经136例临床试验,疗效达53.4%,无副作用及过敏反应,已进行生产。

叶绿素铜钠盐治疗传染性的慢性迁延性肝炎有一定疗效。1961年华南农学院与中山医学院等临床试验1182例,痊愈率32.7%,好转率59.2%,无变化者为8.1%;1978—1979年由广州第四制药厂制的肝宝供临床试验,每胶囊含叶绿素铜钠20毫克,每日口服两次,疗程25天或适当延长。共观察358例,总有效率最高89.47%,最低52.83%;又由顺德县先锋食品厂提供叶绿素铜钠盐作临床试验的295例,痊愈率40.4%,好转率29.8%,合计有效率70.2%。此外,叶绿素铜钠盐还可供外用、灼伤及治疗急性胰腺炎、肾炎及心血疾患者等。

除医药应用以外,可作为食用色素及日用化工产品中作染料,有护肤、除臭和抑菌作用。

五、蚕粪中不皂化物的利用

蚕粪的丙酮抽提液中有脂肪、蜡及类胡萝卜素,叶绿素皂化后又分离出植物醇等。蚕粪中的不皂化物的利用是大有发展前途的。

胡萝卜素占蚕粪0.14—0.16%,其中β-胡萝卜素占0.014—0.028%。将叶绿素抽

提液中的不皂化物(黄色腊状)用石油醚溶解,经活性氧化铝柱层析,可被吸附。再用石油醚:丙酮按8:2(体积)混合液冲洗,可将胡萝卜素洗脱,回收溶剂后在苯-甲醇中结晶。 β -胡萝卜素是维生素A原,加入食用油中可提高其营养价值。

三十烷醇[Triacontanol-1, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{28}\text{CH}_2\text{OH}$]是一种植物生长调节剂。可将黄色腊状物用95%酒精溶解,加入足量的氢氧化钠补充皂化。然后加入苯使之分层,用水洗尽余碱,放冷即有结晶状物析出。过滤,将固形物用95%酒精溶解,加入盐酸共沸,再加入苯使之分层,用水洗去余酸,放冷,过滤,得到粗醇。在苯-乙醇中重结晶,得到较纯的三十烷醇,熔点 86°C 。配成乳浊液施于水稻、玉米及白菜均可以增产。

植物醇($\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{OH}$)是高级不饱和醇。将黄色腊状物在5 mm Hg气压下真空蒸馏,收集 $120-190^\circ\text{C}$ 馏分,再将粗馏分在0.5 mm Hg气压下精馏,收集 $156-162^\circ\text{C}$ 馏分,即为精制的植物醇。 $\eta_4^{20} = 1.4590-1.4650$ 。每吨蚕粪可提取约2公斤植物醇。可作为合成维生素E及 K_1 的原料。

参 考 文 献

- [1] 杨宗万、陈宝丝: 1959, 从蚕粪中提取叶绿素的初步试验。《华南农学院学报》(旧刊), 1: 93。
- [2] 黄自然、杨宗万: 1960, 蚕沙提取叶绿素诱导体之鉴定。《广东蚕丝通讯》, 2(4) 1—6。
- [3] 黄自然: 1961, 蚕沙提取胡萝卜素之研究。《广东蚕丝通讯》, 3(5—6) 3—10。
- [4] 黄自然: 1964, 蚕沙中叶绿素及胡萝卜素的抽提及其药用价值之研究。《广东蚕丝通讯》, 6(1—2) 12—20。
- [5] 黄自然: 1964, 桑叶叶绿体色素的色层分离之研究。《广东植物学会论文集》, 22—27。
- [6] 广东农林学院蚕桑系: 1972, 《叶绿素的提取、精制、鉴定及其用途资料集》, (一) 1—26。
- [7] 广东农林学院蚕桑系: 1973, 稳定提高蚕沙提取叶绿素的质量。(三) 1—25。
- [8] 广东农林学院蚕桑系: 1973, 叶绿素及其衍生物在医药上的应用。(二) 1—26。
- [9] 广东农林学院蚕桑系、广州第四制药厂、顺德县先锋食品厂编译: 1977, 叶绿素及其衍生物在医药上的应用。(七) 1—26。
- [10] 广东农林学院蚕桑系、广州第四制药厂、顺德县先锋食品厂合编: 1978, 叶绿素铜钠盐的生产及其应用。(八) 1—112。
- [11] 广东农林学院蚕桑系: 1978, 蚕粪的综合利用。《化学通报》, (6) 28—30。
- [12] 黄自然: 1979, 蚕、桑副产物的综合利用。《蚕桑通报》, (3) 30—36。

A Study on the Chlorophyll and its Derivatives Extracted from Silkworm Feces and Used as Medecines

Wong Ze-Ran

(Department of Sericulture)

Abstract

The feces of silkworm was found containing extracted chlorlphyll 0.8—1.0% and carotenoid about 0.15%.

The feces of silkworm was extracted with acetone, the concentration of acetone had to be controlled at the range of 83—85%. During the removing of the solvent, the temperature of the liquid should be controlled not to exceed 85°C. The crude extract was about 5—6% of the feces of silkworm.

Two methods of manufacturing sodium copper chlorophyllin from the crude chloltphyll were used. The crude extracts were saponified and then extracted with gasoline to remove the nonsaponifiable fraction. The soap was acidified to pH 3 and the copper chlorophyllic acid was obtained by treating it with copper sulfate, then filtered. The residue was dissloved in acetone and convererted into alkali salt by treating with sodium hydroxide. The product, when dry, is known as sodium copper chlorophyllin. Another method was to treat with copper sulfate after saponification.

Sodium copper chlorophyllin can be used as medicine for gastric uloeer, burna, chronic persistent hepatitis and peptic ulcer.

The nonsaponifiable fraction was found containing phytol, triacontanl and carotenoid. The phytol can be used as an intermediate for the manufacture of vitamine E and K₁; the triacontanl is a plant growth regulator and can increase the rice yield by spraying on the leaves.