

中国乌头的研究

VII. 乌头生物碱的薄层层析*

朱元龙 吕植楨 朱任宏

(中国科学院药物研究所, 上海)

提要 本文选择七种已知结构的生物碱, 用不加粘合剂氧化铝薄层层析法的条件进行了研究, 结果表明此法完全可应用于乌头生物碱的检定。其较好条件是细度小于150号筛孔, 活性IV级碱性氧化铝为吸附剂; 石油醚-乙醚(1:10)为展开剂和以碘蒸气为显色剂。将此薄层层析条件应用到从中国乌头中分出的新生物碱检查时, 亦获得良好的结果。

近来薄层层析法作为新技术应用, 已引起普遍的注意, 并进行深入的研究^[1]。作者在研究乌头生物碱时; 鉴于乌头为祖国医药中重要的药物, 虽在乌头碱化学上已取得进展, 但是对于乌头碱的分析检定却研究不多, 仍缺少合适的方法; 因此我们认为利用薄层层析方法做乌头生物碱的分析检定是有其一定实际应用的意义。

按薄层层析在乌头生物碱方面的工作, 除单独乌头碱在 alumina G 及 kieselgel G 板上的 R_f 值有所报导外^[2], 尚少有人作综合性的比较研究。今作者选用七种已知结构的乌头生物碱即乌头碱(aconitine)、新乌头碱(mesaconitine)、次乌头碱(hypaconitine)、牛扁明碱(delsemine)、甲基原牛扁碱(methyllycaconitine)、牛扁灵碱(delsoline)及翠雀灵(delpheline)。其中前三者为双酯类, 次二者为单酯类, 其他是胺醇。采用不加粘合剂的氧化铝为吸附剂, 对展开剂的选择、氧化铝的细度、酸碱度以及显色剂等重要层析条件作了探讨; 经研究结果表明, 薄层层析完全可以作为乌头生物碱的分析检定方法, 并能够将上述七种不同类型的生物碱一一分离鉴别(参见图1), 其层析较佳的条件是用上海试剂厂出品的氧化铝(以下简称上试氧化铝)作为吸附剂**, 其pH为9.4, 活性IV级, 细度为小于150号筛(其中200—150号筛孔30%, 200号筛孔以下70%)以石油醚-乙醚(1:10)或环己烷-乙酸乙酯(1:1)***和乙醚为展开剂, 均能获得较好结果。至于显色剂采用碘蒸气或改良式 Dragendorff 试剂均可。

我们应用此层析条件对川乌、附子、北乌头、南京草乌及劳氏乌头等中的生物碱作分析检查; 发现其中分别含有乌头碱、新乌头碱及次乌头碱等, 而其含量比例亦可从显色的斑点大小、深浅作粗略的估计。以上的五种乌头中所检出的生物碱, 均已由我们提取、分离并获得纯品证实无误。另外, 对国产的各种乌头中所获得的新生物碱, 如紫草乌碱甲、

本文于1964年7月6日收到。

* 江树发同志参加本文工作。

** 规格为符合部颁暂行标准, 3413-62 二级。

*** 本文所用展开剂的比例均是体积比。

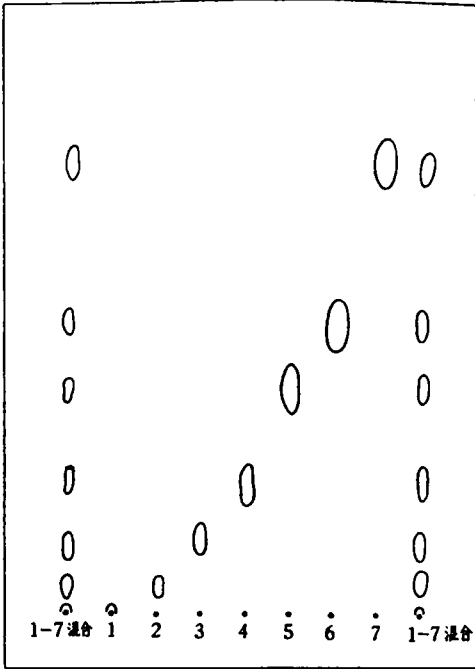


图 1

1. 牛扁明碱; 2. 甲基原牛扁碱; 3. 牛扁灵碱; 4. 新乌头碱; 5. 乌头碱; 6. 翠雀灵; 7. 次乌头碱.

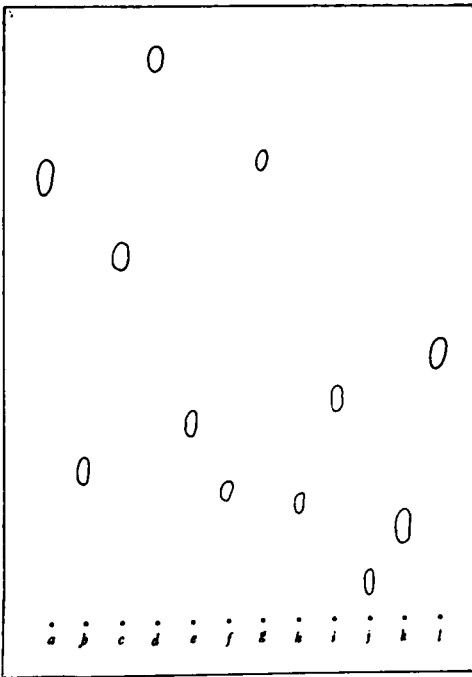


图 2

a. 紫草乌碱甲; b. 紫草乌碱乙; c. 黄草乌碱甲; d. 黄草乌碱乙; e. 黄草乌碱丙; f. 川乌甲素; g. 雪上一枝蒿甲素; h. 雪上一枝蒿乙素; i. 雪上一枝蒿丙素; j. 雪上一枝蒿丁素; k. 藤乌甲素; l. 藤乌乙素.

乙^[4], 黄草乌碱甲、乙、丙^[3], 雪上一枝蒿甲、乙、丙、丁^[5], 以及川乌甲素^[3]等十二种, 均获得良好的结果(参见图2). 另将乌头生物碱水解后的胺醇及其乙酰化物共十二种应用此条件层析都显出较圆整的层析斑点(参见图3). 因此初步认为上述的薄层层析条件可应用于乌头生物碱的检定, 并且亦可用于乌头生物碱纯度的检查以及水解反应条件的选择等.

实 验 部 分

(一) 仪器药品及操作方法

仪器 带有磨砂玻璃盖的玻璃缸作为层析槽, 缸直径 27 厘米, 高 8 厘米, 玻璃板的大小为 24 × 10 厘米².

药品 乌头碱、新乌头碱及次乌头碱为

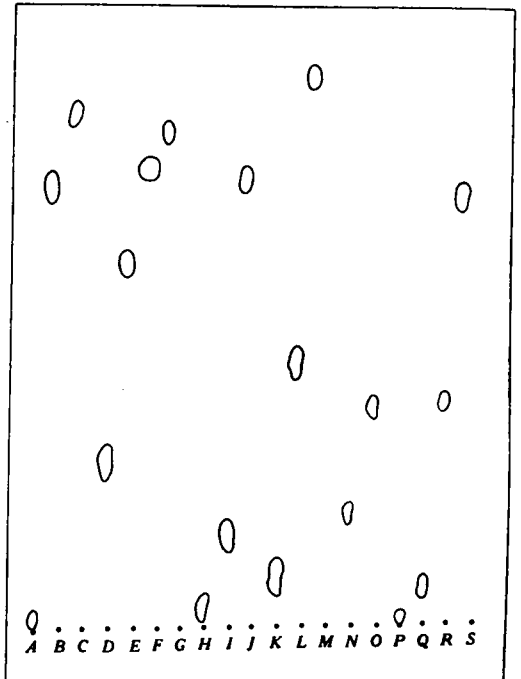


图 3

A. 紫草乌碱甲次碱; B. 紫草乌碱甲; C. 紫草乌碱甲次碱乙酰化物; D. 黄草乌碱甲次碱; E. 黄草乌碱甲; F. 黄草乌碱甲次碱乙酰化物; G. 黄草乌碱甲乙酰化物; H. 藤乌甲素次碱; I. 藤乌甲素; J. 藤乌甲素乙酰化物; K. 藤乌乙素次碱; L. 藤乌乙素; M. 藤乌乙素乙酰化物; N. 雪上一枝蒿乙素; O. 雪上一枝蒿丙素; P. 乌头碱次碱; Q. 去乙酰乌头碱; R. 乌头碱; S. 乌头碱乙酰化物.

本所存有;牛扁明碱、甲基原牛扁碱、牛扁灵碱及翠雀灵为标准品。

层析用溶剂除乙醚、石油醚(沸程为 60—90°C)、乙酸乙酯为试剂二級外,其他均为试剂三級。

方法 取氧化铝在玻璃板上鋪成厚約 0.5 毫米的薄层;在距一端 2 厘米处以細綫印一条浅痕作为起始綫,用毛細管分別吸取各生物碱氯仿溶液,含量約 10 微克滴加在起始綫上,样品之間距离各为 1 厘米。将板置于层析槽中,将另一端用玻璃小板垫起,使板与槽底成約 10° 角,然后再加入适量溶剂在密閉条件下展开。以上操作在 5 分鐘左右完毕;待溶剂推进到 22 厘米处,即可取出;并在溶剂前綫划出前綫綫。用碘蒸气显色。

(二) 展开溶剂的选择

为了使七种烏头生物碱的 R_f 值差別尽可能大些,而层析点要求圓整,溶剂系統要簡單;同时考虑到烏头生物碱在各种溶剂的溶解度以及溶剂的极性大小,乃选择了下列十二种不同溶剂系統作展开剂。用上試氧化铝作吸附剂,結果見表 1。

由表 1 可知,以乙醚-石油醚(10:1)系統最佳;环己烷-乙酸乙酯(1:1)、乙醚亦可得較

表 1*

展开溶剂系统	生物碱的 R_f 值						
	1	2	3	4	5	6	7
乙醚-石油醚 10:1	0.00	0.04	0.15	0.21	0.37	0.48	0.74
乙醚-石油醚 9:1	0.00	0.04	0.17	0.23	0.41	+	0.74
乙醚-氯仿 9:1	0.00	0.10	+	0.41	+	0.61	+
氯仿	0.03	0.29	0.47	0.41	0.41	0.61	0.58
氯仿-苯 1:1	0.00	0.02	0.13	+	+	0.20	+
苯-甲醇 99:1	0.00	+	+	+	+	+	+
环己烷-乙酸乙酯 1:1	0.00	0.13	0.22	0.29	0.46	0.61	0.75
乙醚	0.00	0.13	0.25	0.41	0.59	0.66	0.87
1,4-环氧六烷	++	++	++	++	++	++	++
苯-乙醚 2:3	0.00	0.05	0.14	0.23	0.40	0.42	0.65
乙酸乙酯	0.00	0.68	0.65	+	+	+	++
氯仿-环己烷-二乙胺 3:7:0.05	0.00	0.00	0.01	0.00	+	0.1	0.11

* 表 1—3 中生物碱 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 分別表示牛扁明碱、甲基原牛扁碱、牛扁灵碱、新乌头碱、乌头碱、翠雀灵及次乌头碱。

+ 表示拖尾; ++ 表示严重拖尾。

好結果。

(三) 氧化铝的选择

1. 氧化铝酸碱性对层析的影响 吸附剂的酸碱性对不同性质的化合物的层析效果有很大影响,取活度、細度比均相同唯酸碱性不同的三种上試氧化铝,比較其对烏头生物碱层析的影响,結果表明酸性氧化铝不适用做吸附剂,而碱性氧化铝結果最好(参見表 2)。

表 2

[展开剂: 乙醚-石油醚(10:1)]

氧化铝规格*	活度	氧化铝酸碱性	生物碱的 R_f 值						
			1	2	3	4	5	6	7
上試 试剂二级	IV	9.4	0.00	0.04	0.15	0.21	0.37	0.48	0.74
上試 中性	IV	6.7	0.00	0.03	+	0.30	0.44	0.61	0.60
上試 酸性	IV	5.4	0.00	0.02	0.12	+	+	0.53	+

* 将上試试剂二级氧化铝,加 1N HCl 冷浸 24 小时后,过滤,以蒸馏水洗滌至洗液不呈酸性反应;在 120°C 活化 12 小时此即为酸性氧化铝。

将上試试剂二级氧化铝以 5% 醋酸同上法处理在 400°C 活化 8 小时即得中性氧化铝。
活度可加水调节至所需要的级别。

2. 氧化铝細度对层析效果的影响 一般来讲氧化铝的細度小,展开時間則长,而分离能力高,层析斑点拖尾亦可減少。我們用上試氧化铝,按照 <100 号、150—200 号、<150 号及 <200 号篩孔四种不同細度作比較以石油醚-乙醚(1:10)为展开剂,見表 3。

表 3

颗粒細度篩孔	活度	生物碱的 R_f 值						
		1	2	3	4	5	6	7
小于 100 号	IV	0.00	0.02	+	++	++	0.45	+
100—150 号	IV	0.00	+	++	++	++	++	++
小于 150 号	IV	0.00	0.04	0.15	0.21	0.37	0.48	0.74
150—200 号	IV	0.00	0.04	++	0.21	++	++	0.75
小于 200 号	IV	0.00	0.05	0.16	0.22	0.37	0.44	0.69

表 3 結果表明,烏头生物碱层析对氧化铝的細度关系亦符合于細度小分离好的一般規律,但只要小于 150 号篩孔即可达到很好的分离效果。

(四) 显色剂的选择

生物碱的薄层层析显色剂有用改良式 Dragendorff 試剂、含碘化鉀的氯鉍酸以及碘蒸气等。根据我們对烏头生物碱的試驗,发现含碘化鉀的氯鉍酸并不理想,而改良式 Dragendorff 試剂较为合适。若所用样品純粹是生物碱时,則用碘蒸气最为方便。

(五) 薄层层析在烏头生物碱中的应用

1. 在各种烏头植物中烏头生物碱的檢定 取各种烏头磨成粉后,分別加 10% 碳酸鈉湿潤研匀,加苯冷浸一周;滤取苯液并用 2% 盐酸抽出苯液中的生物碱;于酸水中加浓氨水,則生物碱沉淀析出;过滤取出或乙醚抽取得总生物碱;然后用上述薄层层析条件进行

检查,并与已知样品对照,结果见表 4.

表 4

样 品	乌 头 碱 (aconitine)	新 乌 头 碱 (mesaconitine)	次 乌 头 碱 (hypoaconitine)
川乌 (<i>Aconitum carmichaeli</i>)	有	有	较多
附子 (<i>A. carmichaeli</i>)	有	较多	有
北乌头 (<i>A. kusnezoffii</i>)	有	较多	有
南京草乌 (<i>A. chinensis</i>)	有	有	较多
劳氏乌头 (<i>A. negarum</i>)	有	无	较多

根据上述检定结果,并且由分离提取获得结晶纯品证实. 分离工作将有专文报告.

2. 在乌头新生物碱上的应用 取从云南大理紫草乌中分得的紫草乌碱甲、乙;雪上一枝蒿中的甲、乙、丙、丁素;黄草乌中的黄草乌碱甲、乙、丙素;藤乌中的藤乌甲、乙素;川乌中的甲素共十二种新生物碱以及一些生物碱的胺醇及乙酰化物,按上述条件进行薄层层析,均可获得较好的圆整斑点,其 R_f 值见表 5、表 6.

表 5

名 称	R_f 值		
	石油醚-乙醚 1:10	环己烷-乙酸乙酯 1:1	乙 醚
紫草乌碱甲	0.73	0.72	0.87
紫草乌碱乙	0.25	0.40	0.54
黄草乌碱甲	0.60	0.59	0.78
黄草乌碱乙	0.92	0.82	0.95
黄草乌碱丙	0.30	0.18	0.28
川 乌 甲 素	0.21	0.12	0.14
雪上一枝蒿甲素	0.75	0.73	0.88
雪上一枝蒿乙素	0.19	0.19	0.24
雪上一枝蒿丙素	0.36	0.57	0.84
雪上一枝蒿丁素	0.09	0.18	0.28
藤 乌 甲 素	0.15	0.19	0.34
藤 乌 乙 素	0.44	0.57	0.68

3. 乌头碱纯度的检查 取 E. Merck 出品的纯乌头碱,测定其熔点为 199°C ,元素分析亦符合于乌头碱分子式为 $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{NO}_{11}$,其氢溴酸盐熔点为 $215-216^{\circ}\text{C}$ 亦与文献记载相同;但将此样品用薄层层析检查发现除乌头碱外,尚有另一生物碱斑点(R_f 0.80). 由此可见本法对乌头生物碱纯度检查的灵敏度是较高的.

4. 乌头碱水解条件与时间的控制 取少量乌头碱两份,均加 5% 氢氧化钾甲醇溶液;其一份加热回流进行水解,并且每 1 分钟取样一次. 另一份则在室温 17°C 放置静待水解,每 10 分钟取样一次;然后将取出样品作薄层层析检查. 当乌头碱层析斑点消失,另出现新斑点时表示水解完毕. 结果发现在室温放置 30 分钟或回流 3 分钟都可达到完全水解的目的.

表 6

名 称*	类 型	R_f 值		
		石油醚:乙醚 (1:10)	环己烷:乙酸乙酯 (1:1)	乙 醚
紫草乌碱甲次碱	胺 醇	0.01	0.13	0.19
紫 草 乌 碱 甲	单 酯	0.73	0.72	0.87
紫草乌碱甲次碱乙酰化物	三 酯	0.85	0.79	0.88
黄草乌碱甲次碱	胺 醇	0.28	0.30	0.35
黄 草 乌 碱 甲	单 酯	0.60	0.59	0.78
黄草乌碱甲次碱乙酰化物	多 酯	0.76	0.77	0.87
黄草乌碱甲乙酰化物	多 酯	0.82	0.82	0.89
藤乌甲素次碱	胺 醇	0.03	0.03	0.05
藤 乌 甲 素	单 酯	0.15	0.19	0.34
藤乌甲素乙酰化物	多 酯	0.74	0.83	0.90
藤乌乙素次碱	胺 醇	0.09	0.11	0.03
藤 乌 乙 素	单 酯	0.44	0.57	0.68
藤乌乙素乙酰化物	多 酯	0.91	0.85	0.93
雪上一枝蒿乙素	胺 醇	0.19	0.19	0.24
雪上一枝蒿丙素	单 酯	0.36	0.57	0.84
乌 头 次 碱	胺 醇	0.00	0.01	0.02
去乙酰乌头碱	单 酯	0.06	0.07	0.25
乌 头 碱	双 酯	0.37	0.46	0.59
乌头碱乙酰化物	多 酯	0.69	0.76	0.94

* 表中酯类生物碱水解后所得的胺醇,均暂称为次碱。

讨 论

(1) 从乌头生物碱的薄层层析数据(表1—5)看来,氧化铝吸附剂应该采用活度较低(IV级左右),同时展开剂用极性较小的,不论是七种已知的或十二种新生物碱及其胺醇和乙酰化物十二种,均可获得较好的层析效果。

(2) 从上述已知或未知的乌头生物碱的实验结果看来,有一个共同现象;即在同一生物碱中,胺醇比其含有酯基者 R_f 值较小;而乙酰化后,酯基团数目增加,则 R_f 值亦随之增加。因此初步认为乌头生物碱含有酯基团否和数目多少都对于 R_f 值起着主要作用。其 R_f 值大小是胺醇 < 单酯 < 双酯 < 多酯(参见表6及图3)。

(3) 能影响薄层层析的因素很多,在乌头生物碱中亦不例外,即使在相同条件下,几次重复薄层层析所得的 R_f 值,有时亦稍有差异,但是各种生物碱的相对位置不变,因此,当检定一个化合物时应有已知样品作对照。

致谢 徐任生同志提供牛扁明碱、甲基原牛扁碱、牛扁灵碱及翠雀灵标准样品,特此表示谢意。

参 考 文 献

- [1] Kurt Randerach: Thin-layer Chromatography Translated by Libman, D. D., 1963, Verlag Chemie G. m. b. H., Weinheim/Bergstrasse, Academic Press New York and London.
- [2] Waldi D., Schnacker K., Munter F.: Eine Systematische Analyse von Alkaloiden auf Dünnschicht Platten, *J. chromatog.*, 1961, 6, 61.

- [3] 朱元龙、朱任宏：中国乌头的研究 VIII. 黄草乌根中的生物碱，药学报，1965，**12**，167.
- [4] 朱任宏：中国乌头之研究 紫草乌中的植物碱，化学学报，1955，**21**，332.
朱任宏、洪山梅、周颖丽：中国乌头之研究 II. 紫草乌根中的植物碱，化学学报，1957，**23**，130.
- [5] 朱任宏、方圣鼎、黄伟光：中国乌头之研究 V. 雪上一枝蒿中的生物碱，化学学报，1964，**30**，140.
- [6] 朱任宏、周颖丽、杨保津、黄维垣：中国乌头之研究 IV. 紫草乌碱甲及其胺醇的示性式，化学学报，1959，**25**，321.

THE ALKALOIDS OF THE CHINESE DRUGS, *ACONITINUM* SPP.

VII. THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY FOR ACONITE ALKALOIDS

CHU YUAN-LUNG, LU CHIEH-CHEN AND CHU JEN-HUNG

(*Institute of Materia Medica, Academia Sinica, Shanghai*)

ABSTRACT

Seven known alkaloids, aconitine, mesaconitine, hypaconitine, delphline, delcosine, methyllycaconitine, and delsemine, were employed for the study of thin-layer chromatographic separation and identification of aconite alkaloids. It was found that basic alumina of activity IV with particle size smaller than 150 mesh was a suitable absorbent, and a mixture of petroleum ether and ether (1:10) was a suitable developing agent. The results in the present work indicated that thin-layer chromatography was a satisfactory method for rapid identification of alkaloids of aconite including Chinese aconites.