

# 植物藥中一些主要成分測定方法的研究

## I. 总生物碱的測定

章育中 周同惠 沙世炎 王慕邹

徐礼燊 陈兰英 袁硯青

(中国医学科学院藥物研究所分析室)

### 前 言

在研究和整理植物性中藥以及寻找植物藥新品种时,常常需要測定其中某些化学成分的含量。但是由于这些植物藥的化学研究还很不彻底,許多成分都是未知,單純的成分更尚未分出,因此用化学分析方法來评价植物藥存在着一定困难。

为了解决上述問題,我們在1960年开始对植物藥中一些比較常見的、生理作用比較显著的成分(如生物碱、強心甙、葱醌、皂甙、黃碱素、香豆素、固醇、树脂、鞣质等)的測定方法进行了研究。选择文献中我們認為比較适用的方法,对含以上成分的几种植物藥进行試驗,必要时摸索一些条件,或作些改进,从而初步确定了測定这些成分时可供参考采用的方法,希望这些方法对植物藥或中藥的分析工作有所帮助。

植物藥中总生物碱的測定,文献中已有不少方法<sup>[1-12]</sup>,但是一般研究多仅仅着眼于某种植物藥的分析,而对方法本身还缺少系統的比較。

为了寻找一个适用范围較广的、測定植物藥中总生物碱的方法,我們选择了文献中已有的、認為适应性較大的一些方法,試用于几种植物藥中总生物碱的含量分析。希望通过对这些藥物的研究,能摸索出对一个新的植物藥可能采取的一般方法。

研究的植物藥是粉防己(*Stephania tetrandra* S. Moore)、貝母(*Fritillaria thunbergii* Miq.)、益母草(*Leonurus heterophyllus* Sweet)、百部(*Stemona tuberosa* Lour.)、苦参(*Sophora flavescens* Ait.)、石蒜(*Lycoris radiata* Herb.)和鸡骨草(*Abrus contoniensis* Hance)等。这些植物藥的化学研究,除鸡骨草外,均已做了不少工作,并知道所含的主要成分全是生物碱。但是对它們的含量測定方法还未見过任何报导。在这些植物藥中,有的是常用中藥,有的将收載入我国新藥典中,因此有必要对这些植物藥所含生物碱的含量測定方法加以研究。

植物藥中总生物碱的含量測定方法,一般可分为提取、淨化和測定三个步驟。对上述每种植物藥均选择进行了以下各項工作:

1. 比較了不同提取溶剂、不同提取方法的提取效果;

2. 比較了植物藥提取液用氧化鋁吸附柱和經典的分液漏斗振搖法, 淨化除去雜質的效果, 或不經任何淨化而直接測定的效果;

3. 酸鹼滴定或硅鎢酸滴定生物鹼含量。

根據以上研究工作, 從而確立了每種植物藥的分析方法。

## 儀 器 藥 品

0.02 N 標準硫酸溶液。

0.02 N 標準氫氧化鈉溶液。

孔雀綠試液: 0.1 克孔雀綠溶于 15 毫升 6 N 鹽酸中。

0.01 M 標準硅鎢酸溶液<sup>[4-6]</sup>: 取硅鎢酸(分析純) 15 克溶于 500 毫升水中, 若不清, 即用濾紙過濾, 並參照文獻[6]標定其濃度後備用。

氧化鋁: Riedel-de Haën A. G. 中性層離用氧化鋁。

其他有機溶劑及藥品的規格均為化學純或分析純。

層離管: 內徑 10 毫米, 長 300 毫米, 頂端為漏斗形。

沙氏提取器: 60 毫升、125 毫升及 250 毫升三種。

## 實驗方法和結果

### 植物藥樣品來源

粉防己、貝母、益母草、百部、苦參均購自北京市藥材公司; 雞骨草購自廣州市藥材公司; 石蒜為本所藥物種植場栽培品。品種均經我所植物室鑑定。樣品在 50°C 烘乾後, 磨成 40—60 號篩細粉備用。

### 實驗方法

每種藥物均進行了以下各項工作:

(一) 提取方法<sup>[1]</sup>: 試驗了不同溶劑、不同方法的提取效果。

1. 提取溶劑: 比較了下述三類溶劑系統: (1) 樣品先用 10% 氨水鹼化, 然後用乙醚或氯仿提取; (2) 乙醇提取; (3) 混合溶劑, 乙醚-氯仿-乙醇-10% 氨水 (25:8:2.5:1) 提取。

2. 提取方法:

(1) 冷浸法: 精密稱取樣品粉末 2—10 克(視生物鹼含量而定), 置玻塞三角瓶中, 加入定量的各種溶劑浸泡提取。溶劑用量為樣品的 10 倍 ( $V/W$ ), 浸泡時間為 24—48 小時, 並不時加以振搖。若為第一類溶劑, 則樣品先加有機溶劑濕潤 5 分鐘, 再加 10% 氨水振搖後浸泡。氨水用量與樣品比例為 1:1。

浸泡完畢, 用棉花快速濾取一部分濾液, 由溶液體積折算相當的樣品量。

(2) 滲漉法: 精密稱取 2—10 克樣品粉末, 加少量溶劑濕潤。若為第一類溶劑, 則再加氨水, 攪勻後裝入滲漉筒, 用溶劑浸泡過夜, 然後滲漉至生物鹼提盡。調整滲漉液至一定體積。

滲漉完全與否的檢查方法: 取 4 毫升滲漉液蒸乾, 殘渣溶于 0.5 毫升 0.5 N 酸中, 加生物鹼沉淀試劑(碘化鉀鉍、碘化鉀汞或硅鎢酸試劑), 若不生沉淀即為提盡。

(3) 热回流提取：精密称取样品粉末 2—10 克，装在滤纸筒中，滤纸筒放入沙氏提取器用溶剂回流提取。

若用第一类溶剂，样品先放在小烧杯中加适量 10% 氨水搅拌成糊状（氨水用量仍尽可能按 1:1），然后定量地移入滤纸筒，放沙氏提取器中回流提尽生物碱。调整提取液至一定体积。

从沙氏提取器的提取管中吸取溶液 1 毫升，蒸干后按前法检查生物碱已否提尽。

(二) 淨化方法：植物提取液中常有干扰杂质存在，必须先除去再行测定，以免引起干扰。

1. 氧化铝吸附柱<sup>[7,9]</sup>：提取液通过活性氧化铝吸附柱，以 70% 乙醇洗脱，一般生物碱均可被定量冲出柱外，而有些杂质则被吸附留在柱上而除去（常形成灰褐色环）。叶绿素虽然也被冲出，但并不干扰终点的观察。

氧化铝柱按一般层离柱装，柱直径为 10 毫米，氧化铝用量视植物中杂质多少而定，一般不超过 25 克。因普通氧化铝具有一定碱性，所以最后测定方法若为酸碱滴定，则必须用中性氧化铝，而且还要做空白实验以校正结果。对氧化铝性能的要求，已有专门的报告<sup>[9,10]</sup>。

具体方法是取定量提取液浓缩至 5 毫升左右，加到氧化铝柱顶，俟溶液将流尽时，以 70% 乙醇洗脱至生物碱全部冲出柱外。

2. 分液漏斗振摇法<sup>[11,12]</sup>：取定量提取液浓缩至适当体积，在分液漏斗中用酸提出生物碱。酸液碱化，再以有机溶剂如氯仿、乙醚等提出生物碱。将有机溶剂蒸干，残渣即可直接滴定。

3. 不经淨化手續，直接将提取液蒸干后测定。

### (三) 测定方法：

1. 酸碱滴定：将經淨化或未經淨化的提取液在水浴上蒸干，若提取时曾用氨，则残渣用少量氯仿溶解，再行蒸干，使氨充分除淨。残渣加 10 毫升乙醚溶解，然后加入定量 0.02 N 标准硫酸溶液，在水浴上小心赶去醚，加入 15 毫升新煮沸后冷却的蒸馏水，用甲基红作指示剂，以 0.02 N 标准氢氧化钠回滴。

测定结果以植物药中主要生物碱的百分含量表示。

$$\text{百分含量} = \frac{N \times V}{W} \times A \times 100.$$

$N$ ——标准硫酸溶液的当量浓度；

$V$ ——淨耗标准硫酸溶液的毫升数；

$W$ ——样品克数；

$A$ ——主要生物碱的毫克当量。

若植物药中所含为未知生物碱，则结果以每 100 克样品中，生物碱所消耗酸的毫克当量数表示。

$$\text{毫克当量数/100 克样品} = \frac{N \times V}{W} \times 100$$

2. 硅钨酸滴定：若植物药提取液经过上述淨化手續后，仍不能用酸碱滴定，则可用硅

鎢酸滴定,用孔雀綠作外指示剂确定終点。

硅鎢酸能够和多数生物碱生成組成一定的沉淀,一分子硅鎢酸可以和四分子含一个碱性氮原子或二分子含二个碱性氮原子的生物碱結合<sup>[4,5]</sup>。

具体方法是:取定量提取液在水浴上蒸干,殘渣用 50 毫升 0.6 N 盐酸溶解。以 0.01 M 标准硅鎢酸溶液滴定,孔雀綠作外指示剂。操作同硅鎢酸的标定方法。

測定結果由下式計算:

$$\text{百分含量} = \frac{M \times V}{W} \times A \times \frac{4}{B} \times 100$$

$M$ ——标准硅鎢酸溶液的克分子浓度;

$V$ ——消耗标准硅鎢酸溶液的毫升数;

$W$ ——样品克数;

$A$ ——主要生物碱的毫克分子量;

$B$ ——主要生物碱中所含碱性氮原子的个数。

若所含生物碱为未知,則以每 100 克样品中,生物碱所消耗硅鎢酸的毫克分子数表示。

$$\text{毫克分子数/100 克样品} = \frac{M \times V}{W} \times 100$$

### 实验研究的程序

研究每种植物药中生物碱含量測定方法所經過的程序是:

1. 先用三种不同类型的溶剂用冷浸法提取样品。

2. 若提取液顏色很浅,可以試驗不經淨化,直接用酸碱滴定的方法測定生物碱含量。

若提取液顏色較深,无法观察終点时指示剂的变色,則試用氧化铝吸附法或分液漏斗振搖法淨化,以除去杂质,再行酸碱滴定。

若淨化后溶液顏色仍較深,或生物碱碱性太弱,終点仍不明显,或植物药中有其他酸性物质存在也一并提出而影响酸碱用量,則用硅鎢酸滴定法測定生物碱含量,并試驗氧化铝吸附法淨化步驟对測定結果有无影响。若氧化铝处理后得到較低而且稳定的測定数据,則认为淨化处理是必須的。

3. 經過上述实验,确定了植物药的淨化和測定步驟以后,再用提得率最高的溶剂,比較冷浸、渗漉或热回流提取法的提取效果。

渗漉法不用加热,而且提取完全,应该是比較可靠的提取方法。但渗漉耗費溶剂,同时操作較麻煩,所以我們以渗漉法所得結果为标准,用其他二种方法与之比較,若冷浸結果与之一致,則用冷浸法提取;若热回流提取与之一致,則用热提;若只有渗漉法最高,則用渗漉法。

### 結果

每种植物药經過上述系統的实验后,确定了最好的測定方法(見表 1)。

## 討 論

从以上实验結果可以看出:

表 1 七种植物藥的生物碱的測定方法及測定結果

植物藥	提取方法		淨化方法	測定方法	測定結果 %	備 注
	溶 劑	方 法				
貝 母	氨水-乙醚	熱回流提取	直接滴定或 氧化鋁吸附	酸鹼滴定	0.108	(1) 含量以浙貝母碱(peimine $C_{22}H_{43}O_3N$ ) 計算; (2) 用分液漏斗振搖法淨化, 測得含量為 0.082%
百 部	混合溶劑	冷 浸	直接滴定或 氧化鋁吸附	酸鹼滴定	0.815	(1) 含量以對葉百部碱(tuber- ostemonine $C_{17}H_{29}O_4N$ ) 計算; (2) 用分液漏斗振搖法淨化, 自碱化後的酸液中, 用乙 醚不能提淨生物碱
粉 防 己	混合溶劑	熱回流提取	直接滴定	酸鹼滴定	2.02	含量以漢防己碱(tetrandrine $C_{28}H_{42}O_6N_2$ ) 計算
鴉 骨 草	氨水-甲醇	熱回流提取	氧化鋁吸附	酸鹼滴定	3.09毫克當量數 100克	用各種溶劑提取, 效果均不 够理想, 以氨-甲醇較好
苦 參	氨水-氯仿	滲 漉	直接滴定或 氧化鋁吸附	硅鎢酸滴定	1.89	含量以苦參碱(matrine $C_{15}H_{24}O_4N_2$ ) 計算
益 母 草	乙 醇	滲 漉	直接滴定或 氧化鋁吸附	硅鎢酸滴定	0.400	含量以益母草碱(leconurine $C_{18}H_{19}O_4N_4$ ) 計算
石 蒜	乙 醇	熱回流提取	氧化鋁吸附	硅鎢酸滴定	0.80	含量以石蒜碱(lycorine $C_{16}H_{17}O_4N$ ) 計算; 用石蒜碱純品作對照

[注] 1. 植物藥中所含主要成分, 均查自中藥志, 中國醫學科學院等編, 1—3 卷。

2. 生物碱含量均為 3—5 次測定的平均值, 平均誤差在 2% 以下。

1. 植物藥中生物碱的提取方法(包括所用溶劑和提取方式), 因不同植物藥而異。所以在測定一個未知植物藥時, 應該通過實驗來確定可靠的提取方法。植物藥本身的組織結構狀況(組織致密程度、結構情況)以及所含生物碱的物理化學性質和存在狀態(結合或游离)對於植物藥的粉碎程度和提取溶劑的選擇等均有關係, 此在文獻上早有報導<sup>[13]</sup>, 可資參考。

2. 淨化步驟在很大程度上取決於測定所用的方法。淨化的目的是除去對測定有干擾的雜質, 如對酸鹼滴定有妨礙的色素、有機酸等; 對硅鎢酸滴定有妨礙的, 則是除生物碱以外也能和硅鎢酸產生沉淀的一些物質。但是干擾酸鹼滴定的物質却並不一定干擾硅鎢酸滴定, 如色素和有機酸就沒有什麼妨礙。所以不同的測定方法對淨化程度的要求也不一樣, 測定中就要根據要求考慮淨化方法。若植物藥中不含干擾雜質, 象貝母和百部不含干擾酸鹼滴定的雜質, 苦參和益母草不含干擾硅鎢酸滴定的雜質, 則不需淨化。

用經典的分液漏斗振搖法淨化, 操作比較麻煩, 另外還容易損失, 水溶性較大的生物碱更是很難用有機溶劑提淨, 所以我們認為並不是一個很好的淨化方法, 雖然現在還經常使用。

氧化鋁吸附柱法是比較好的淨化方法, 適用範圍廣, 操作簡便, 而且生物碱也不易損失。我們除了曾試用于上述植物藥外, 還曾將氧化鋁吸附柱法試用于一些已有測定方法的植物藥<sup>[8]</sup>, 包括顛茄、秦艽、黃連、茶葉等, 也均獲得成功。氧化鋁法和其他測定方法測得結果比較, 除顛茄偏高 25% 左右以外, 其他完全一致。顛茄之所以偏高, 是因為與之比

較的方法是用振搖法淨化，生物碱有損失<sup>[7]</sup>。从本報告中所研究的七种植物药实验結果看，有的植物药如鸡骨草、石蒜等一定需要氧化鋁淨化后才能測定；有的植物药如貝母、百部、苦参和益母草等，則淨化与否对結果沒有影响。所以氧化鋁吸附法在測定植物药中总生物碱含量时，是很有价值的一种淨化方法。但此法不能除去提取液中的酸性物質。

3. 在两种測定方法中，酸碱滴定法比較簡易；但干扰杂质比較多，而且碱性太弱的生物碱就不能滴定。

硅鎢酸滴定的最大优点是干扰杂质較少，适用范围較广。硅鎢酸能够和很多生物碱生成組成一定的沉淀，即使測定一个未知植物药中的生物碱含量，若将实验条件控制一定，重現性还是很好。但本法确定終点的操作比較麻煩，尙待設法改进。

若測定的植物药所含的是未知生物碱，則測定結果可以用每100克药物中生物碱所消耗标准酸的毫克当量数(酸碱滴定)或毫克分子数(硅鎢酸滴定)表示，作为相对的比较，仍有其参考价值。假如需要用百分含量表示，則还可以根据植物药所属科属，推測可能含有的生物碱，以某种可能含有的已知生物碱作为标准計算百分含量，也是一个过渡办法。

## 总 結

1. 本文报导了粉防己、貝母、百部、益母草、苦参、石蒜和鸡骨草等七种植物药中总生物碱的含量測定方法。

2. 通过本研究工作，本文提供了对一个新的植物药进行总生物碱測定时可能适用的一般参考方法。但是，由于植物药中生物碱的定量方法(包括提取、淨化和測定)因不同植物而异，故仍应通过实验来确定不同植物的具体分析方法。

## 参 考 文 献

- [1] Jenkins, G. L., Christian, J. E. and Hager, G. P., *Quantitative Pharmaceutical Chemistry*, Mc-Graw Hill, New York, 4th Ed., 1953, p. 322.
- [2] Brochmann-Hanssen, E., *Assay of Alkaloid Crude Drugs I. Cinchona and Nux-vomica; II. Ipecac*, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1956, **45**, 74; 344.
- [3] Snell, F. D. and Snell, C. T., *Colorimetric Methods of Analysis*, Van Nostrand Co., 3rd Ed., 1954, Vol. IV, p. 427.
- [4] North, E. O. and Beal, G. D., *The Preparation, Properties and Uses of Silicoduodecitungstic Acid II. The Use of the Acid as a Volumetric Reagent for Alkaloids*, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1924, **13**, 1001—1009.
- [5] Graf, E. and Fiedler, E., *Adsorptionstirationen von Salzen organischer Basen mittels Silicowolframsäure*, *Arch. Pharm.*, 1953, **286**, 401—406.
- [6] 章育中、王慕邹，中藥秦艽中总生物碱的含量測定，*藥学学报*，1962，**9**，71.
- [7] Rubin, M. and Harris, L. E., *Comparative Methods of Drying and Assay of Datura Stramonium L.*, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1950, **39**, 477—478.
- [8] 章育中、王慕邹、袁視青，用氧化鋁吸附柱法測定几种植物药中总生物碱的含量，未发表，本所資料。
- [9] Reimers, F., Gottlieb, K. R. and Christensen, V. A., *On the Chromatographic Analysis of Alkaloidal Salts and on Aluminium Oxide for Quantitative Chromatographic Analysis*, *Quart. J. Pharm. Pharmacol.*, 1947, **20**, 99—109.
- [10] Os, D. von, *Aluminum Oxide for Quantitative Chromatographic Analysis*, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1949, **22**, 300—301.
- [11] Beal, G. D. and Lewis, H. F., *Studies on the Quantitative Estimation of Alkaloids by Means of Immiscible Solvents*, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1916, **5**, 812—836.
- [12] Beal, G. D. and Hamilton, T. S., *Shaking-out Method for the Quantitative Estimation of Alkaloids*

II. *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 1920, **9**, 9—15.

[13] Martin, E. W. and Cook, E. F., *Remington's Practice of Pharmacy*, The Mack Publishing Co., Easton, Pa., U.S.A., 11th Ed., 1956, p. 248, p. 1265.

## STUDIES ON THE DETERMINATION OF CERTAIN MAJOR CONSTITUENTS OF PLANT DRUGS

### I. DETERMINATION OF TOTAL ALKALOIDS

CHANG YU-CHUNG, CHOW TUNG-WHEI, SHA SHIH-YEN, WANG MU-ZOU,

XU LI-XIN, CHEN LAN-YING AND YUAN YAN-QING

(Laboratory of Analytical Chemistry, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences)

#### ABSTRACT

Several plant drugs, including *Stephania tetrandra* S. Moore (roots), *Fritillaria thunbergii* Miq. (bulbs), *Leonurus heterophyllus* Sweet (herb), *Stemona tuberosa* Lour. (roots), *Sophora flavescens* Ait. (roots), *Lycoris radiata* Herb (bulbs) and *Abrus contoniensis* Hance (herb) have been studied for their analytical methods, in order to find some general rules for the determination of the alkaloid content of plant drugs.

The analytical method of alkaloidal plant drugs consisted of three operations, i.e., extraction, purification and determination. The three operations were studied for each drug as follows:

1. Extraction with different solvents and in different ways (maceration, percolation and reflux).
2. Purification of the alkaloid extract by alumina adsorption column, by extraction in separatory funnel, or with no purification at all.
3. Titration with standard acid or silicotungstic acid solution.

From these results, the analytical procedure for each drug was worked out.