

苦木中生物碱测定方法的研究

罗淑荣 郭 戎* 杨峻山

(中国医学科学院药物研究所, 北京; *南京中医学院中药系)

提要 本文报道了在高效硅胶薄层上用氯仿(水饱和)-甲醇(40:0.5)展开系统, 分离了苦木中三种咔巴林生物碱(I, III, IV)及一种铁尿米酮生物碱(II)。用甲酸处理后, 薄层扫描法测定。本法快速、灵敏, 检出限度可达 1×10^{-8} g, 各生物碱的线性范围为 $0.05 \sim 0.3 \mu\text{g}$, 并用此法测定了十一个不同地区及不同部位的苦木生药中的生物碱含量。

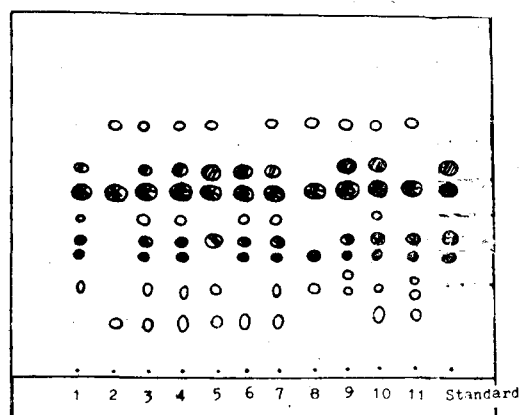
关键词 苦木; 咔巴林生物碱; 高效薄层层析; 薄层扫描法。

苦木 *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn. 苦木科苦木属植物, 民间常用于抗菌消炎, 经临床和药理实验证明, 其总生物碱的制剂对于治疗呼吸系统、消化系统和泌尿系统的感染以及外伤感染等均有疗效。近年来研究表明, 苦木生物碱部分尚具有降血压⁽¹⁾及抗蛇毒⁽²⁾作用。本文采用高效薄层扫描法测定苦木中四种生物碱的含量, 方法快速简便、灵敏度高, 样品用量少。

实验部分

一. 药品与仪器

标准品^(3,4) 苦木碱丙(1-formyl- β -carboline, I) mp 200~202°C, 橙色丛状结晶。苦木碱丁(4,5-dimethoxycanthin-6-one, II) mp 148~149°C, 淡黄色针状结晶。苦木碱庚(1-vinyl-4, 8-dimethoxy- β -carboline, III) mp 158~159°C, 淡黄色方形结晶。苦木碱辛(1-formyl-4-methoxy- β -carboline, IV) mp 209~210°C, 淡黄色针状结晶。均由本所植化室提供。



Compd	Color (365 nm)	Rf
I	Blue	0.62
II	Yellow	0.55
III	Dark yellow	0.46
IV	Dark blue	0.34

Fig 1. Chromatogram of standards and samples, No. 1~11, see tab 2.

仪器 日本岛津 CS-910 型双波长薄层扫描仪; C-EIB 数据处理机; 高效硅胶薄层板 (10×10 cm), 青岛海洋化工厂; 微量注射器(10, 50, 100 μl)上海注射器三厂; 层析缸

(6.5 × 12 × 12 cm)。

试剂均为分析纯；生药样品均由中国医学科学院药用植物资源开发研究所朱兆仪研究员鉴定。

二. 定量分析

(一) 高效薄层分离 用微量注射器吸取上述标准品混合甲醇溶液 2 μl 及不同样品溶液 2~5 μl (0.2~0.5 mg) 点于高效薄层板上，用氯仿(水饱和)-甲醇(40:0.5 v/v)，饱和 30 min 后，上行法二次展开 9 cm，取出，挥尽溶剂。用甲酸处理(将层析板置于层析缸中用甲酸薰 1 h)，取出后用石英玻璃板复盖，并用胶布封闭四周，于紫外灯(254 及 365 nm)下观察荧光，薄层层析图谱见图 1。

(二) 仪器测定参数 将上述薄层板置于 CS-930 型薄层扫描仪的工作台上，用笔型汞灯定位。以单波长直线扫描测得四种生物碱的紫外吸收曲线，见图 2。由此确定苦木碱丙、丁、辛的最大吸收波长(λ_1)为 290 nm，苦木碱庚的最大吸收波长(λ_1)为 275 nm，参比波长(λ_2)均为 210 nm。在以后的含量测定中，改用 CS-910 型薄层扫描仪，因其操作简便，测定速度快。测定参数如下：扫描方式双波长反射法直线扫描；扫描速度及纸速 20:20 mm/min；灵敏度 × 1；狭缝 6 × 0.5 mm。

(三) 标准曲线的制备 精密称取各标准品 1.0~2.3 mg，分别置于 2 ml 容量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度。准确吸取各标准溶液 40~60 μl，配制成混合标准溶液，取不同量点在高效薄层板上，按薄层分离项下的方法展开，测定。以标准品量及斑点面积积分值绘制标准曲线，见图 3。确定苦木碱丙、丁、辛的线性范围为 0.05~0.27 μg，苦木碱庚为 0.05~0.30 μg。

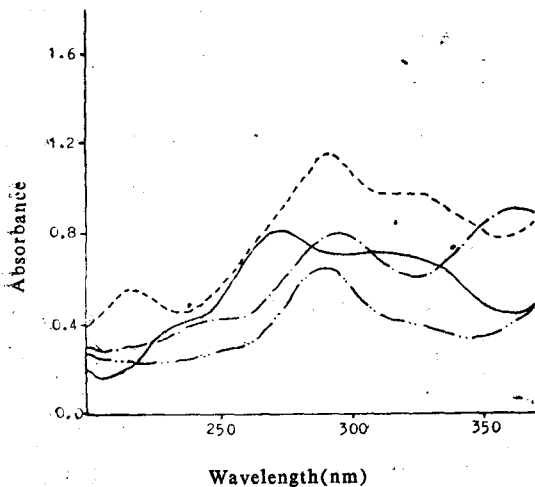


Fig 2. Absorption spectrum of alkaloids. ---Compound I; -·-·-Compound II; —Compound III; ·····Compound IV.

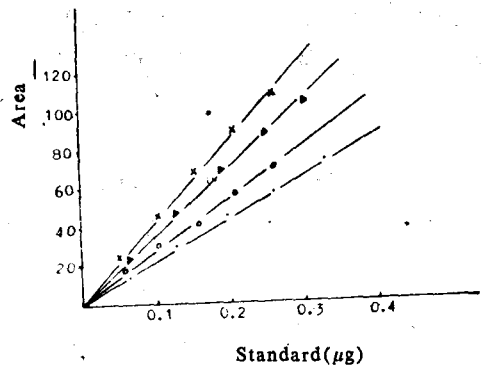


Fig 3. Standard curves. Δ--Δ Compound I; ×--× Compound II; ---Compound III; ·-·-Compound IV.

(四) 回收率实验 精密称取生药粉(40目)2份，每份约 0.1 g 置 5 ml 具塞离心管中，各加入 1 mol/L 盐酸-甲醇(1:199)溶液 1 ml，其中一份加混合标准溶液 50 μl，超声 30 min，离心后，取上清液 0.5 ml，置水浴上蒸干，冷却后加入甲醇溶液 0.2 ml，使残渣溶解，点样，展开测定。回收率分别为苦木碱丙 96.79%，丁 103.33%，庚 100.11%，辛 99.46%。测定数据见表 1。

Tab 1. Recoveries of alkaloids

Compound	Recovery(%)			Average(%)
I	94.80	95.15	100.44	96.79
II	99.10	104.18	106.38	103.22
III	95.36	98.58	106.39	100.11
IV	95.98	100.82	101.59	99.46

Tab 2. Analysis of samples(n=6)

No.	Habitat	Plant part	Content(%)				Total content (%)	CV(%)
			I	II	III	IV		
1	Guangdong Chengjiang	Stem	0.60	1.20	0.67	1.70	4.20	1.83
2		Bark	—	0.23	—	—	0.23	3.09
3	Guangdong	Stem(White)	0.06	0.33	0.21	0.13	0.73	4.29
4		Stem (Yellow)	0.62	1.40	2.40	1.10	5.52	2.86
5	Ruyuan	Bark	0.028	0.39	1.65	—	2.07	3.85
6	Guangdong Shaoguan	Stem (White)	0.045	0.11	0.19	0.066	0.41	2.74
7		Stem (Yellow)	0.86	1.30	0.76	2.60	5.52	2.54
8	Guangdong Yangshan	Stem (White)	—	0.11	—	0.26	0.37	5.27
9	Shandong	Stem	0.30	0.80	0.58	0.92	2.60	3.34
10		Stem (white and yellow)	0.10	0.30	0.52	0.49	1.41	4.67
11	Guangdong Wuzhishan	Stem (white and yellow)	—	1.15	2.72	1.00	4.87	4.76

(五) 样品测定 精密称取生药粉 0.2 g, 置 10 ml 具塞离心管中, 加入 1 mol/L 盐酸—甲醇(1:199)溶液 2 ml, 同上测定, 结果见表 2。

结果与讨论

一. 提取溶剂曾选用乙醇、氯仿和加入少量盐酸的甲醇, 结果表明, 后者提取含量较高。提取方法曾选用加热提取、冷浸提取和超声提取, 结果表明, 用超声提取时间短, 含量高。

二. 用甲酸处理可使各斑点的最大吸收波长趋于一致, 便于测定。曾比较了处理时间的长短, 薰 1 h 后, 斑点面积值趋于稳定。薰至 2 h 取出, 每隔 10 min 测定一次, 连续测定达 2 h, 斑点面积值除苦木碱丙略有下降外, 其余在处理 2 h 之内基本稳定。

三. 样品测定结果显示了不同产地及不同部位苦木的生物碱含量, 为收购药材及临床用药、控制质量提供了依据。

参考文献

1. 杜志德, 等. 苦木总生物碱的降压作用及毒性研究. 药学通报 1981; 16: 325.
2. 梁文法. 苦木的抗蛇毒研究. 中药通报 1987; 12: 54.
3. 杨峻山, 等. 苦木生物碱的化学研究. 药理学报 1979; 14: 167.
4. 杨峻山, 等. 自苦木中分离得到两个新的 β -咔巴啉生物碱——苦木碱辛和苦木碱壬. 化学学报 1984; 42: 679.

STUDIES ON THE DETERMINATION OF ALKALOIDS IN *PICRAMMA QUASSIOIDES* (D.DON) BENN.

SR Luo, R Guo* and JS Yang

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing; *Department of Chinese Drugs, Nanjing College of Traditional Chinese Medicine, Nanjing)

ABSTRACT A simple, sensitive and accurate method for separation and determination of the alkaloids, 1-formyl- β -carboline (I), 4,5-dimethoxycanthin-6-one (II), 1-vinyl-4,8-dimethoxy- β -carboline (III) and 1-formyl-4-methoxy- β -carboline (IV), in Ku-Mu [*Picrasma quassioides* (D. Don) Benn.] is described.

Sample solution was applied at a point 1 cm from the bottom edge of the HPTLC silica gel plate (10×10cm). Chloroform (water saturated)—methanol (40:0.5) was used as the developing solvent. The plate was saturated for 30 min and then developed twice for 9 cm using ascending technique. The plate was fumigated with formic acid for 1 h at room temperature to intensify the spot color. The spots were scanned with a Shimadzu CS-910 TLC scanner. The content of four alkaloids in Ku-Mu was calculated by comparison with standards spotted on the same plate.

The standard curve was linear in the range of the 0.05~0.30 μ g for the four alkaloids. The method has been applied to the analysis of different samples. This method can be used for the quality control of Ku-Mu preparations for clinical use.

Key words *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn.; Carboline alkaloids; High performance thin layer chromatography; TLC scanning