

# 青风藤中总生物碱的气相色谱-质谱联用分析

吴振启<sup>1</sup>, 郭剑明<sup>2</sup>, 陈琴华<sup>3</sup>, 李慧峰<sup>1</sup>, 李伟亮<sup>1</sup>, 张菊根<sup>1</sup>, 王国民<sup>2</sup>

(1. 复旦大学附属中山医院青浦分院泌尿外科, 上海 201700; 2. 复旦大学中山医院泌尿外科, 上海 200032; 3. 武汉大学药学院, 430070)

**摘要** 目的 采用索氏提取法对青风藤中总生物碱进行提取分离, 并利用气相-质谱联用(GC-MS)方法, 对其化学成分进行分析。方法 采用 90% 无水乙醇提取, 盐酸酸化后, 氨水碱化后三氯甲烷萃取, 利用 GC-MS 对总生物碱中的化学成分进行分离分析, 并对其中的 15 种化学成分进行鉴定。结果 该方法提取时青藤碱含量高, 达到 80.18%, 安贝灵碱 3.44%, 光千金藤碱 3.05%。采用峰面积归一化法计算各成分相对百分含量, 所鉴定的成分占总流出峰面积的 95.1%。结论 实验结果为进一步开发研究青风藤中生物碱提供依据。

**关键词** 青风藤; 青藤碱; 总生物碱; 气相色谱-质谱联用

中图分类号 R927 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)04-0495-03

## Analysis of Total Alkaloids in *Sinomenium acutum* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

WU Zhen-qi<sup>1</sup>, GUO Jian-ming<sup>2</sup>, CHEN Qin-hua<sup>3</sup>, LI Hui-feng<sup>1</sup>, LI Wei-liang<sup>1</sup>, ZHANG Ju-gen<sup>1</sup>, WANG Guo-min<sup>2</sup> (1. Department of Urinary Surgery, Qingpu Hospital, Qingpu Branch of Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 201700, China; 2. Department of Urinary Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 3. Department of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan 430070, China)

**ABSTRACT Objective** To extract total alkaloids of *Sinomenium acutum* by Soxhlet extractor and analyze them by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** The *Sinomenium acutum* was extracted by 90% alcohol, acidified by hydrochloric acid, alkalinized by ammonia water, and then extracted by chloroform. Fifteen peaks were separated and identified by GC-MS. **Results** The relative content of sinomenine, ambelline and stepharine was up to 80.18%, 3.44% and 3.05%, respectively. The compounds were quantitatively determined by normalization method, and the identified compounds represented 95.1% of total GC peak area. **Conclusion** The results provide important foundation to further study and exploit *Sinomenium acutum*.

**KEY WORDS** *Sinomenium acutum*; Sinomenine; Total alkaloids; Gas chromatography-mass spectrometry

青风藤是防己科植物青藤和毛青藤 [*Sinomenium acutum* (Thunb) Rehd et Wils] 的干燥藤茎<sup>[1]</sup>。青风藤味苦性平, 归肝、脾经, 具有祛风湿、通经络、镇痛、利小便之功效, 用于治疗风湿痹痛、关节肿痛、麻痹瘙痒、水肿、脚气等。文献报道青风藤生物碱具有显著的镇痛、镇静、抗炎、抑制免疫、降血压等作用。研究发现青风藤生物碱总提取物具有很好的对抗纳洛酮引起的戒断作用<sup>[2-3]</sup>。笔者采用索氏提取法提取青风藤中总生物碱, 用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用技术对其成分进行分离鉴定, 为进一步开发利用青风藤资源提供科学的实验依据。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 仪器和试剂 GC-MS-QP2010 气相色谱-质谱联

收稿日期 2011-07-05 修回日期 2011-09-14

**作者简介** 吴振启 (1964-), 男, 湖北蕲春人, 博士, 研究方向: 泌尿外科肿瘤。电话: 021-69719190-4313, E-mail: wzcq0719@hotmail.com。

用仪 (日本 Shimadzu 公司); GC-MS solution 色谱工作站和 NIST 质谱数据库 (日本 Shimadzu 公司); DB-5MS 毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 美国 Agilent 公司); 索氏提取器; PHS-3C 酸度计; SHZ-D 循环水式真空泵; RE-52 型旋转蒸发器; 电热恒温干燥箱; 电子天平 AEU-210 (日本岛津); 无水乙醇、三氯甲烷和乙醚 (分析纯, 西安试剂厂); 其他试剂均为分析纯。青风藤药材购自十堰市中药材公司, 经湖北医药学院附属东风医院胡碧波主任中药师鉴定。

**1.2 供试品的制备** 准确称取青风藤 2.0 g, 装入索氏提取器中, 用 90% 无水乙醇 50 mL 进行提取。加热提取 6.0 h 后, 将提取物用纯化水稀释到 100 mL, 然后用 6 mol·L<sup>-1</sup> 的盐酸调节其 pH 为 3.0~3.5, 搅拌均匀后, 抽滤, 再往所得滤液中加入体积分数为 10% 氨水调节其 pH 至 8~9, 用三氯甲烷萃取 2 次, 每次 25 mL。三氯甲烷萃取液蒸馏后所得的液体即为溶有生物碱的粗品。将生物碱粗品溶于纯化水 100 mL 中, 用

6 mol · L<sup>-1</sup> 盐酸溶液调节其 pH 为 3.0 ~ 3.5, 然后用乙醚洗涤 2 次, 每次 5 mL, 弃去乙醚层, 然后在水层用体积分数 10% 氨水调节 pH 约为 10。再用三氯甲烷萃取 2 次, 方法同上。所得三氯甲烷液进行蒸馏即可得总生物碱精品, 将其定容 1.0 mL, GC-MS 分析。

**1.3 GC-MS 分析条件** 以 DB-5MS (30 m × 0.32 mm, 0.25 μm) 石英毛细管柱为分析柱, 高纯氮气为载气; 进样口温度 280 °C, 进样方式为分流进样, 分流比为 30 : 1, 进样量为 1 μL, 流速 2.0 mL · min<sup>-1</sup>; 程序升温: 起始温度 200 °C, 保持 2 min, 以 20 °C · min<sup>-1</sup> 速率升温至 280 °C, 保持 5 min。质谱接口温度 280 °C, EI 源温度 200 °C, 电子轰击能量为 70 eV, 扫描范围 m/z 40 ~ 500 amu, 全离子扫描, 采集延时 3.0 min。归一化法计算含量。

**2 结果**

取青风藤提取物适量, 用乙酸乙酯溶解, 即得样品

溶液。精密吸取 1 μL, 注入 GC/MS 仪分析, 总离子流图见图 1。经气相色谱-质谱联用仪的计算机软件 NIST 谱图库自动检索, 并查阅相关文献<sup>[2]</sup> 与标准图谱对照分析, 得出相应的化学成分。结果见表 1。

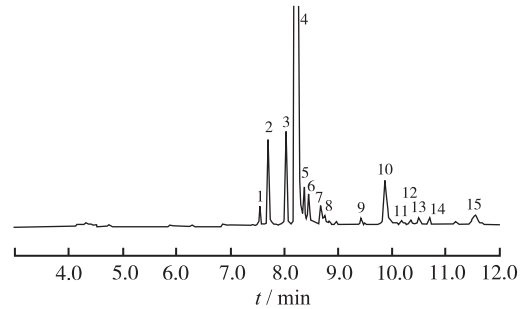


图 1 青风藤中总生物碱的 GC-MS 总离子流图

Fig. 1 The GC/MS total ion-current chromatogram of Total Alkaloids in *Sinomenium acutum*

表 1 青风藤提取物的化学成分及相对含量

Tab. 1 The constituents and relative contents in the essential oil of *Sinomenium acutum*

序号	保留时间/min	化合物	符合度/%	分子式	相对分子质量	相对含量/%
1	7.544	3-(氮-乙酰基-氮-甲基)-20-氨基-孕甾烷	62	C <sub>24</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub> O	374	0.53
2	7.702	光千金藤碱	81	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	297	3.05
3	8.029	安贝灵碱	72	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>5</sub>	331	3.44
4	8.255	青藤碱	90	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	329	80.18
5	8.358	(-)-6-甲基-氮-牛心果碱	56	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	329	1.28
6	8.443	3-甲氧基-氮-可待因	52	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO	271	1.01
7	8.670	7-甲基-4-苯基氨基-苄酮	56	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	270	0.92
8	8.749	6α-3-甲氧基-6,17-二甲基-左吗南-6-醇	51	C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub>	301	0.31
9	9.424	7,8-二羟基-3,7-二甲氧基-氮-甲基-左吗南-4-醇-6-酮	70	C <sub>19</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	329	0.28
10	9.863	4-(6-甲基-3-环己烯羧基)-吗啉	57	C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>2</sub>	209	2.14
11	10.176	L-防己碱	72	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	339	0.10
12	10.345	葱-9-羧酸癸酯	45	C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	362	0.24
13	10.492	5-苄基-2,3-二-(4-甲氧苯基)-1,4-二甲基胡椒嗪	77	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	416	0.42
14	10.705	(+/-)-3,10-二甲氧基-小檗因-2,9-二醇	73	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	327	0.37
15	11.559	4-[[4-[2-(4-甲氧苯基)乙烯基]苯基]偶氮]苯基]苯基-甲酮	48	C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	418	0.83

实验结果表明, 由该提取方法提取得青风藤总生物碱中活性生物碱青藤碱的含量较高, 占鉴定总化合物的 80.18%, 其次经 GC-MS 鉴定的生物碱为安贝灵碱、光千金藤碱、4-(6-甲基-3-环己烯羧基)-吗啉、(-)-6-甲基-氮-牛心果碱和 3-甲氧基-氮-可待因分别占鉴定总化合物的 3.44%, 3.05%, 2.14%, 1.28% 和 1.01%, 该 6 种生物碱占鉴定总化合物的 91.1%。采用峰面积归一化法计算各成分相对百分含量, 所鉴定的成分占总流出峰面积的 95.1%。

**3 讨论**

笔者在本研究建立了 GC-MS 测定中草药青风藤中总生物碱的化学成分的方法, 依据 GC-MS 软件谱库, 根据相关参考文献、保留时间、化合物相似度, 鉴定 15 种化合物。由结果可以看出在青风藤总生物碱中成分中大多为吗啡类、吲哚类、吡啶酮类、吡喃酮类和氨基化合物, 其次为脂类、醇和稠环化合物。实验结果为建立青风藤的指纹图谱、质量标准以及合理开发青风藤资源奠定了一定的基础。

## 参考文献

- [1] 吴宗群. 中药青风藤的药理作用及临床应用[J]. 中国药师, 2006, 9(9): 857-858.
- [2] 李海滨. 青藤生物碱成分的研究[J]. 贵阳医学院学报, 2006, 31(4): 344-345.
- [3] 宋永彬, 程维明, 曲戈霞, 等. 青风藤化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(2): 79-81.
- DOI 10.3870/yydb.2012.04.031

# 气相色谱法测定檀香通脉胶囊中冰片与薄荷脑含量

刘宇<sup>1</sup>, 程璐<sup>2</sup>

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部, 武汉 430030; 2. 武汉市第一医院药剂科, 430022)

**摘要** 目的 建立气相色谱法同时测定檀香通脉胶囊中冰片、薄荷脑两组分的含量。方法 以萘为内标物质, 乙酸乙酯作为溶剂, 岛津 CBP-M25-025 (25 m×0.22 mm, 0.25 μm) 为色谱柱; 载气氮气, 柱温 130 ℃, 进样口和检测器温度均为 180 ℃, 氢火焰离子化检测器, 进样量 1 μL。结果 测定各组分达到良好分离, 冰片的线性范围为 0.26 ~ 2.55 mg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 9$ ), 薄荷脑的线性范围为 0.26 ~ 2.62 mg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 8$ ); 冰片的平均回收率为 97.5% (RSD=1.77%), 薄荷脑的回收率为 96.8% (RSD=1.28%)。结论 该方法灵敏、快速、简便、可用于檀香通脉胶囊的质量控制。

**关键词** 檀香通脉胶囊; 冰片; 薄荷脑; 色谱法, 气相

中图分类号 R286; R927.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)04-0497-03

## Simultaneous Determination of Borneol and Menthol in *Tanxiang Tongmai Capsule* by Gas Chromatography

LIU Yu<sup>1</sup>, CHENG Lu<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacy, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2. Department of Pharmacy, the First Hospital of Wuhan City, Wuhan 430022, China)

**ABSTRACT Objective** To establish gas chromatography (GC) method for separating and determining both borneol and menthol in *tanxiang tongmai* capsule. **Methods** Naphthalene served as an internal standard, acetic ether as a solvent, 10% PEG-20M as separation, nitrogen as the carrier gas. Column temperature was set at 130 ℃, and injector and detector temperature was 180 ℃. Sample size was 1 μL by using flame ionization detector. **Results** The linear ranges of borneol and menthol were 0.26-2.55 mg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 9$ ) and 0.26 - 2.62 mg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 8$ ), respectively. Recovery rates of borneol and menthol were 97.5% (RSD=1.77%) and 96.81% (RSD=1.28%), respectively. **Conclusion** This method is convenient, rapid, accurate and reproducible, and can be used for quality control of *tanxiang tongmai* capsule.

**KEY WORDS** *Tanxiang tongmai* capsule; Borneol; Menthol; Gas chromatography

檀香通脉胶囊(批准文号:鄂药制字 Z20082996)

由檀香、延胡索、冰片、薄荷脑等成分组成, 主要功效为活血化淤。临床上用于治疗冠心病、心绞痛。冰片可以通过改善组织的血氧供应, 进而改善该区域的能量代谢, 对抗急性心肌缺血, 增加冠脉流量, 减慢心率<sup>[1]</sup>; 薄荷脑内服可缓解局部炎症, 并有健胃、驱风的作用<sup>[2]</sup>。檀香通脉胶囊中冰片和薄荷脑的含量均为 80 mg·g<sup>-1</sup>, 原标准中仅有薄层色谱鉴别。为更好控制产品质量, 笔者建立毛细管气相色谱法测定檀香通脉胶囊中冰片和薄荷脑的含量。

### 1 仪器与试剂

气相色谱仪(日本岛津 GC-14C), 浙大 N2000 色谱工作站; 电子天平(德国 Sartorius ME215S,  $d = 0.01\text{ mg}$ ); 冰片对照品(中国食品药品检定研究院, 含量测定用, 批号:110743-200504); 薄荷脑对照品(中国食品药品检定研究院, 批号:110728-200506); 萘(中国食品药品检定研究院, 批号:111673-200602); 檀香通脉胶囊(武汉市第一医院生产, 批号 100520, 100711, 101124); 试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: 岛津 CBP-M25-025 (25 m×0.22 mm, 0.25 μm); 载气: 氮气; 流速: 45 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 130 ℃; 进样口温度: 180 ℃; 检测器温度: 180 ℃; 氢气: 30 mL·min<sup>-1</sup>; 空气: 400 mL·min<sup>-1</sup>; 氢

收稿日期 2011-09-15 修回日期 2011-10-25

**作者简介** 刘宇(1980-), 男, 江苏连云港人, 主管药师, 硕士, 主要从事药动学研究及医院药学工作。电话: 027-83665464, E-mail: liuyu\_tj2004@126.com。