

鄂州市四峰山地区野生夏天无中原阿片碱定性、定量分析

唐启明¹ 马晨宇¹ 陈林月¹ 黄明浩¹ 王伊晗²

1. 武汉东湖学院生命科学与化学学院, 中国·湖北 武汉 430212

2. 湖北第二师范学院建筑与材料工程学院, 中国·湖北 武汉 430205

【摘要】对湖北省鄂州市的野生夏天无中的原阿片碱进行了定性、定量分析; 采用紫外荧光法鉴别夏天无, 薄层色谱法鉴别其中的原阿片碱, 高效液相色谱法测定其中的原阿片碱含量, 结果表明该地区的夏天无中原阿片碱含量高于文献报道值。因此湖北省内该地区的野生夏天无资源具有开发利用的价值。

【关键词】夏天无; 原阿片碱; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

引言

夏天无别名: 伏地延胡索、一粒金丹、野延胡、洞里神仙、落水珠, 为罂粟科植物伏生紫堇 *Corydalis decumbens* (Thunb.) Pers. 的干燥块茎, 呈类球形、长圆形或不规则块状, 气微, 味苦。春季或初夏出苗后采挖, 在中国分布于安徽、浙江、江西、福建、河南、湖北、湖南等地^[1]。生长于海拔 80-300 米左右的山坡或路边。夏天无味苦、微辛, 性温, 有舒筋活络、活血止痛、祛风除湿的功能, 对风湿关节痛、中风偏瘫、跌打损伤、腰肌劳损和高血压有明显的治疗作用。有研究表明, 夏天无的主要活性成分为生物碱, 具有抗炎、抗心律失常、改善视力、镇痛等作用, 临床上对脑梗塞、风湿性关节炎、坐骨神经痛等有确切疗效^[2]。目前江西一些地区已经大规模种植夏天无^[4], 笔者通过薄层色谱法和高效液相色谱法对湖北省鄂州市汀祖镇四峰山上采集的夏天无样品其中的原阿片碱^[3]进行了定性、定量分析, 以确定该地区的野生夏天无资源是否具有开发利用的价值。

1 实验材料

1.1 仪器

硅胶 G 薄层板 (青岛海洋化工厂)、Waters e2695 型高效液相色谱仪、KQ-100DE 超声波清洗机 (昆山市超声仪器有限公司)、分析天平 (梅特勒-托利多)、手持式紫外分析仪 (北京君意东方电泳设备有限公司)。

1.2 试剂

原阿片碱 (成都埃法生物公司), 甲醇、盐酸、二甲苯、氯仿、氨水、三乙胺、磷酸等试剂均为国产分析纯。

1.3 材料

夏天无于 2021 年 2 月采集自湖北省鄂州市汀祖镇四峰山, 经鉴定为罂粟科植物伏生紫堇 *Corydalis decumbens* (Thunb.) Pers.



图1 四峰山的野生伏生紫堇 *Corydalis decumbens* (Thunb.) Pers.

的干燥块茎。

2 方法

2.1 薄层色谱法鉴定夏天无中的原阿片碱

2.1.1 夏天无供试品溶液的制备。取 0.5000g 粉碎过 50 目筛的夏天无粉末, 加甲醇: 1% 盐酸水溶液 (1:1) 50 mL, 超声处理 1 h, 过滤, 滤液作为供试品溶液。

2.1.2 标准品溶液的制备。取原阿片碱对照品, 加甲醇: 1% 盐酸水溶液 (1:1) 制成 1mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.3 薄层色谱。参考文献 [5] 中的方法, 取原阿片碱对照品溶液以及供试品溶液 2L, 点于用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以甲苯: 丙酮 (9: 2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 碘化铯钾试剂显色。

2.1.4 紫外可见分光光度法鉴别。参考文献 [6] 中的方法, 取夏天无样品断面置紫外灯下 (365nm) 检视。

2.2 高效液相色谱法测定夏天无中的原阿片碱含量

2.2.1 色谱条件。色谱柱: Waters Symmetry C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: A 相为乙腈, B 相为 0.5% 三乙胺缓冲溶液 (PH=2.5, 用磷酸调节 pH); 线性洗脱浓度: 0min~14min, B 相保持 75%; 14min~27min, B 相 75%~40%; 27min~29min, B 相 40%~75%; 29min~35min, B 相保持 75%; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 270 nm; 柱温: 35°C; 进样体积: 5 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备。参考文献 [6], 精确取原阿片碱 3.6mg, 加入 10mL 容量瓶中, 用甲醇-1% 盐酸 (50: 50) 溶液定容到 10mL。

2.2.3 试样品的制备。取夏天无粉末过筛 (60 目) 0.5g, 塞入锥形瓶中, 精密加入甲醇-1% 盐酸 (50: 50) 溶液 50ml, 室温

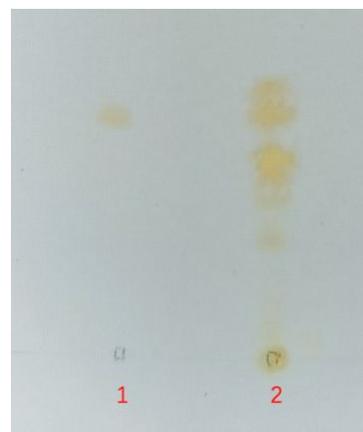


图2 TLC法鉴定夏天无样品中的原阿片碱 (1:原阿片碱 2:夏天无样品提取液)

超声提取 60min, 放冷至室温, 用 0.45 微米的微孔滤膜过滤, 滤液转移至 50 ml 的容量瓶中, 用精密加入甲醇-1%盐酸 (50:50) 溶液定容至刻度。

2.2.4 对照品以及样品色谱图。取 2.2.2、2.2.3 制备的对照品溶液和样品溶液分别取 5 μL 进样, 并计算相应生物碱峰面积以及含量。

3 结果及分析

3.1 薄层色谱结果

结果如图 2, 夏天无供试品溶液在原阿片碱相同的位置显相同颜色的斑点, 说明鄂州四峰山的夏天无中含有原阿片碱。

3.2 紫外荧光法鉴别结果

取夏天无样品断面置 365nm 紫外灯下检查^[5]可以观察到夏天无切面中间显金黄色, 外围显蓝紫色。



图3 紫外可见分光光度法鉴别夏天无断面

3.3 高效液相色谱结果

根据标准曲线图可知, 原阿片碱在浓度为 0~0.36mg/mL 时线性关系良好。

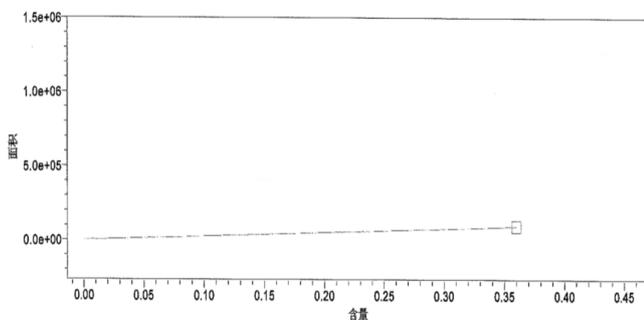


图4 原阿片碱标准曲线图

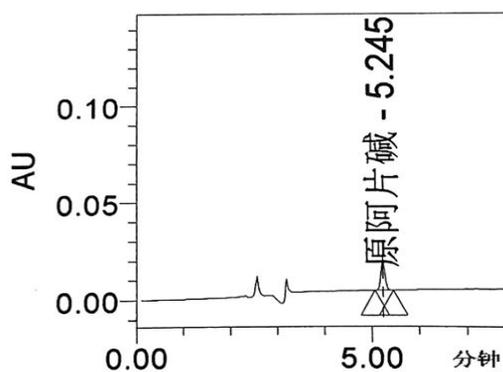


图5 原阿片碱标准品液相色谱图

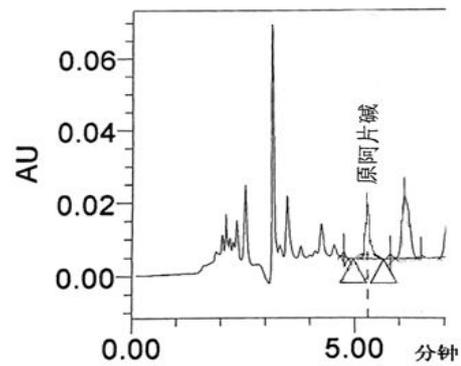


图6 夏天无样品液相色谱图

3.4 样品中生物碱含量分析及分析

可能由于夏天无样品采集时间处于早春, 导致所采集块茎较小、难以研磨单个块茎, 故笔者合并所有采得的块茎为一份样品, 仅测此份样品中的原阿片碱含量。最终测得样品中原阿片碱峰面积为 10508 μV*s, 标准品面积为 92446 μV*s, 计算可知样品中原阿片碱含量为 0.4%, 高于《中国药典》2020 规定的 0.3%^[7]。

4 结论

根据薄层色谱的结果可知, 取自湖北省鄂州市四峰山的野生夏天无供试品溶液均含有原阿片碱。根据液相色谱检测结果可知, 原阿片碱含量高于标准^[7]规定值。说明湖北省内野生夏天无资源具有开发利用的价值。

参考文献:

- [1] 黄启龙, 张皖晋, 李彦, 等. 夏天无中生物碱类化学成分的研究[J]. 中国药科大学学报, 2017(05): 65-69.
- [2] 胡亚坤. 夏天无的应用研究概述[J]. 辽宁中医药大学学报, 2007, 9(003): 221-222.
- [3] 张金生, 徐任生, 陈仲良, 等. 夏天无化学成分的研究——白毛茛碱宁等的分离和结构[J]. 中草药, 1987(1): 8-8.
- [4] 张为. 江西国家地理标志保护产品余江夏天无[J]. 质量探索, 2012(08): 18.
- [5] 于春艳, 邱世鑫, 包晗, 等. 延胡索与常见伪品的快速鉴别方法[J]. 甘肃医药, 2018(10): 932-933.
- [6] 周利贤. HPLC法测定夏天无注射液中原阿片碱的含量[J]. 中国药师, 2010, 13(010): 1454-1455.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 版本(第一版不著录). 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 291-292.

作者简介:

唐启明(2000-), 男, 湖南津市市人, 本科生, 研究方向: 天然产物提取。

通信作者:

黄明浩(2003-), 男, 湖北鄂州人, 本科生, 研究方向: 天然产物提取。