

# 中藥研究中色層分離法的應用\*

## (二) 常 山

林啓壽 薛 愚 韓桂秋

(北京醫學院藥學系)

常山即黃常山又名鷄骨常山，爲八仙花科(Hydrangeaceae)植物 *Dichroa febrifuga* Lour<sup>[1]</sup> 的根，其帶葉的枝稍稱爲蜀漆。在我國於二千餘年前已用作抗瘧藥和解熱藥，神農本草經中已有詳細記載，謂常山味寒苦“主傷寒熱寒熱發溫瘧鬼毒胃中痰結等”。而李時珍<sup>[2]</sup>謂“常山蜀漆有劫痰截瘧之功，生用則上行必吐逆”，均足以說明常山在我國古代醫療應用上，已有豐富的經驗，不但確定常山的抗瘧效用，更指出有催吐的副作用。近十餘年來，由於我國學者們的努力，不論在其植物學方面、生藥學方面、化學方面、藥理學方面以及臨床應用方面，都有許多研究的成績，發揚了我國古代寶貴的遺產，而受到世界各國科學家的重視。常山主要產於四川、雲南等省，現於四川金佛山地區已有大量的栽培，但流行於市場而冠有常山爲名的生藥則種類很多，最常見的如<sup>[1]</sup>：

白常山——是茜草科植物 *Mussaenda divaricata* Hutchinson 的乾燥根。

山常山——又名北恒山，是小檗科植物 *Berberis vulgaris* L. 和 *B. chinensis* Poir. 的乾燥根，前者又名醋刺柳。

海州常山——是馬鞭草科植物 *Clerodendron trichotomum* Thunberg 的乾燥根和葉。

和常山——是芸香科植物 *Orixa japonica* Thunberg 的乾燥根。

土常山——是八仙花科植物 *Hydrangea opuloides* Steud. 的乾燥根，其葉似茶具有甜味，俗稱甜茶。以及其他類似的品種。

這些生藥常與真正的常山引起混淆，其中除土常山和甜茶亦具有與黃常山相同的有效成分和抗瘧效外用<sup>[3,4,5]</sup>，其他生藥都與黃常山，不論在植物分類或所含

\* 1954年9月8日收到。

化學成分上均相差甚遠，加以這些生藥在生藥學方面，有的曾被詳細研究過，如海州常山與和常山在形態與組織上已詳加鑑別<sup>[6]</sup>，和黃常山容易區別；而土常山則品種很多，因與黃常山同科在形態和組織上，多有相似的地方，容易混淆；有的是未曾鑑定和區別的，如白常山、山常山等。爲了鑑別常山的真偽，自以由原植物、生藥形態、組織特徵等着手爲合理，但往往因原植物不易得到，生藥形態失去真面目，使工作中增加一些困難，爲此我們應用作者之一前報告的紙上吸附色層分離法<sup>[7]</sup>，製備五種常山類生藥的紙上吸附色層譜，於紫外線（有濾板的石英汞燈）觀察下，能得出顯著的區別，加以方法簡便，是可能有助於生藥學工作者對常山類的鑑別。

關於常山根和葉中全生物鹼含量的問題，報告者雖然很多，但多因所用方法不同，彼此間很有出入，故測定常山中生物鹼的含量，尙有研究的必要。晚近利用離子交換色層分離法，作植物體中生物鹼類的提取和分析，應用很廣，收效亦好。我們曾用自製的磺化煤爲陽離子交換劑，作常山中全生物鹼的含量測定，實驗結果尙稱圓滿。茲報告如下。

## 試 驗

### （一）藉紙上吸附色層譜作常山品種的鑑定：

1. 樣品——供試驗用的樣品有黃常山根和葉、和常山根、土常山根和山常山（*B. vulgaris* L.）的根，後三種係取自我系生藥教研室的標本。黃常山根是從北京市國藥店購得的，由其外形與組織上的特徵<sup>[1]</sup>，確定爲 *Dichroa febrifuga* L.

常山葉是由四川地方國營南川藥廠寄贈的，（1953年冬寄到），爲碎片狀態，由其外形和組織的特徵<sup>[1]</sup>，斷定樣品確爲黃常山葉。

2. 吸附紙的製備——將 100 平方毫米的淳化宣紙在 10% 硫酸鋁溶液中浸漬 2 分鐘，取出後瀝去多餘的硫酸鋁溶液，立即浸置於 2*N* 氨水中，約 2 分鐘後取出，以清水洗滌一次，平舖於清潔的磁板上，於 70—80°C 間烘乾。乾燥後取下製成的紙，置於架上務使紙面保持水平。

3. 生藥的提取——取各種不同的樣品粉末 2 克，分別置錐形瓶中，加入 95% 酒精 10 毫升，混合均勻，密塞，放置 24 小時並不時搖混，然後過濾，濾液供用。

4. 色層譜的形成——取上得的濾液 1 滴，滴於吸附紙的中心，待乾後，用滴管滴加 95% 酒精到原液滴處，進行沖洗，每加一滴酒精俟全部滲入紙纖維後，再加另一滴，如此共用酒精約 25 滴，則常山的成分因吸附和擴散而成不同顏色的同心圓

狀色層譜，乾後並在同心圓的相反方向以小刷刷入 Dragendorff 氏試劑和 Mayer 氏試劑，置紫外線（有濾板的石英汞燈）下觀察，各種不同品種的常山乃現各特有的色層譜，能藉以相互區別，結果如圖 1。（加 Dragendorff 氏試劑的色層譜部份所顯的顏色較加 Mayer 氏試劑部份為深，但放置日久，則有改變。）

## （二）黃常山中全生物鹼含量的測定：

（1）磺化煤的製備——按孫世豐氏方法<sup>[8]</sup>取烟煤經二次磺化操作，並使轉為氫離子型供用。

（2）磺化煤離子交換容量的測定——稱取製得的磺化煤 3 克置小燒杯中加蒸餾水 10 毫升使磺化煤濕潤，經 15 分鐘以使充分膨脹，然後裝入 10 毫米×200 毫米的玻璃筒中，玻璃筒下端塞有軟木塞，其上插一支毛細管，作為液體出口，磺化煤與軟木塞接觸處置一層玻璃棉，磺化煤上部加一小塊玻璃棉，是為離子交換筒。用 0.5% 氫氧化鈉溶液通過如上製得的離子交換筒，流速為每分鐘 40—50 滴，至洗出液呈顯著的鹼性並繼續流過 3 分鐘，再用蒸餾水洗滌磺化煤，至洗出液對石蕊試紙不呈鹼性為止。然後用 0.5% 硫酸流過磺化煤，至洗出液呈顯著酸性並繼續流過 3 分鐘，再用蒸餾水洗滌，至洗液對石蕊試紙不呈酸性反應為止。反覆操作三次。

另精密稱取硫酸番木鱉鹼 1.1085 克，加蒸餾水配成 100 毫升溶液，以量液管量取此溶液 1 毫升，加入經如上處理後的離子交換筒，至生物鹼溶液將流畢後，再加生物鹼溶液，流速為每分鐘 30—40 滴，同時收集筒下流出的濾液，以 Dragendorff 氏試劑試驗，以觀察有無生物鹼反應，如此繼續操作，至加到 43 毫升時，濾液始對 Dragendorff 氏試劑呈陽性反應，說明 3 克磺化煤（氫離子型）能與硫酸番木鱉鹼溶液 42 毫升進行離子交換反應而達飽和狀態，即磺化煤的離子交換容量為 15.50% 以硫酸番木鱉鹼計算。

（3）藉磺化煤自黃常山根中提取生物鹼的初步試驗——取常山根粉約 1050 克，加 0.1N 鹽酸 1000 毫升濕潤後，放置 2 小時，裝入滲漉筒中，以 0.1N 鹽酸為溶劑，按滲漉法提取生物鹼，至滲漉液按生物鹼識別法，以 Dragendorff 氏試劑試驗至不再呈陽性反應時，合併滲漉液共 4300 毫升供離子交換用。

取氫離子型磺化煤 120 克，分裝四個離子交換筒中（20 毫米×300 毫米），如前述各以 0.5% 氫氧化鈉溶液及 0.5% 鹽酸先後洗滌共循環三次，然後分別加入常山的滲漉液，流速為每分鐘 50—60 滴，流出液按生物鹼試驗法以 Dragendorff 氏試劑

試驗，知不含生物鹼，至每筒約流過 1000 毫升後，流出液中才出現生物鹼的反應，說明筒中磺化煤交換容量達飽和，停止滲液液的通過，廢即用蒸餾水洗滌，每筒約用蒸餾水 400 毫升，洗出液初呈微黃色並顯渾濁，繼則無色而澄清，初洗出的對石蕊試紙顯微酸性反應，至蒸餾水用量達 400 毫升後始不呈酸性反應，然後使通過 2% 氨水，流速為每分鐘 50 滴，初流出液呈棕黃色不顯鹼性反應，以後漸呈無色並呈鹼性反應，每筒各用氨水 600 毫升，此步為銨離子取代與磺化煤結合的生物鹼，而使生物鹼游離分出，以其不溶或難溶於冷水<sup>[11]</sup>，仍遺留在交換筒中，而磺化煤則轉為銨離子型，繼復以蒸餾水洗滌交換筒，流速為每分鐘 50—60 滴，洗液初呈黃棕色，漸為無色，至流出液不呈鹼性時為止，以上三步的洗出液，經試驗知均不含生物鹼。然後使酒精(95%)通過各交換筒，流速為每分鐘 50—60 滴，最初流出的洗液無色，可能為水和酒精的混合液，待流出約 5 毫升時漸呈黃色，當洗出液約為 40 毫升時，取洗液 5 滴置白磁皿中，蒸乾後，加稀鹽酸 2 滴及 Dragendorff 氏試劑 1 滴，有橙黃色沉澱生成，證明生物鹼被酒精洗出，至洗出液達 150—200 毫升時，洗出液已無色，再如上法以 Dragendorff 氏試劑試驗呈陰性反應，說明生物鹼已洗盡。

交換筒中的磺化煤以稀酸再生，並經如前述以酸鹼先後洗滌的循環操作，凡三次，可供再用。

合併洗出的酒精溶液，於減壓低溫(46°—48°C)下蒸餾回收酒精，至剩約 100 毫升時，放冷後，並放置過夜，黃棕色的溶液中出現少數發亮細小針狀的晶體，以 Dragendorff 氏試劑試驗呈顯著的陽性反應。即按一般提取生物鹼的原則，加碳酸鈉鹼化後，用氯仿提取，再自氯仿液中用稀鹽酸提取，反復操作，最後的產品仍為棕黃色無定形粉末，不能達到精製的目的。再採用 Koepfli<sup>[9]</sup> 氏的色層分離法，可能因所用氧化鋁性質不同，亦不能收到與 Koepfli 氏所報告的結果，因之乃進行以自製的活性氧化鋁為吸附劑的液狀色層分離操作，氯仿為溶劑，甲醇為淘汰劑，經多次試驗，以下法結果較佳。

取前得濃酒精溶液(相當於 500 克生藥)，低溫(25—30°C)蒸乾，溶所剩棕黃色殘渣於 50 毫升氯仿中，使流經裝有 25 克活性氧化鋁(按文獻<sup>[7]</sup>製備的)的吸附筒(10 毫米×200 毫米)，吸附劑先以氯仿濕潤，然後用甲醇沖洗，所得的色層譜情況如圖 2。

最初用甲醇沖洗所得到的淘汰液經 Dragendorff 氏試劑試驗，不呈生物鹼反應，當淘汰至玫瑰紫色層，淘汰液呈顯著的生物鹼反應，繼續沖洗，至玫瑰紫色層淘汰完畢後，再洗出的淘汰液，又不呈生物鹼反應，說明生物鹼集中在玫瑰紫色層中，惜此色層的淘汰液仍呈棕黃色，雖經再次分離，結果亦同。收集此層的淘汰液，於常溫下蒸乾得黃色粉末，於顯微鏡下觀察，有許多無色方晶存在，一部分晶體已現破碎狀態，熔點為  $105-110^{\circ}\text{C}$ ，對 Dragendorff 氏試劑呈陽性反應，是為常山中水不溶性的全生物鹼，含有不易去掉的棕黃色色素類雜質。

(4) 磺化煤對常山生物鹼類回收率的測定——取上得的水不溶性生物鹼，加入已知量  $0.1N$  鹽酸使生物鹼全部溶解並微有過量，再加蒸餾水稀釋至 100 毫升，量取所得的溶液 10 毫升，加甲基紅為指示劑，用  $0.1N$  氫氧化鈉溶液回滴多餘的鹽酸，測出 10 毫升溶液中所含生物鹼消毫的鹽酸量。

另取磺化煤 12 克，分裝成四個離子交換筒（10 毫米  $\times$  200 毫米），每筒均如前述以鹼及酸循環處理三次，然後於每筒中加入上得生物鹼溶液，次以蒸餾水洗盡各筒中的鹽酸，再加入 0.5% 氨水，至洗出液呈顯著而持久的鹼性，復以蒸餾水洗滌交換筒至呈中性，然後加中性無水酒精，洗出游離在筒中的生物鹼，至洗盡生物鹼（其中有一個交換筒供測驗生物鹼洗出的情況，以作其他三個離子交換筒的對照）為止，加入已知過量  $0.1N$  氫氧化鈉溶液，用甲基紅為指示劑，用  $0.1N$  鹽酸滴定，以測出每 10 毫升生物鹼溶液經過磺化煤後，其中生物鹼所消毫的鹽酸量，藉與未經磺化煤前所需鹽酸量相比較，即能算出磺化煤對常山生物鹼的回收率，結果為 92.08%；91.73%，和 91.90%，平均為 91.90%。

(5) 常山（根和葉）中生物鹼的含量測定——稱取在硫酸乾燥器內乾至恒重的粉末狀樣品約 25 克，按滲漉法以 0.5% 鹽酸提盡生物鹼。（收集滲漉液約 150 毫升即可）。加滲漉液裝入有 3 克磺化煤（10 毫米  $\times$  200 毫米）的離子交換筒中，磺化煤曾經如前述的循環處理，流速為每分鐘 40—50 滴，流畢後以蒸餾水洗滌，至洗液不呈酸性反應後，加入 2% 氫氧化銨溶液，保持原有的流速，至洗出液呈鹼性反應為止，復以蒸餾水洗滌，以除去磺化煤交換筒中多餘的氨水，至洗液呈中性反應，然後加入中性的無水酒精，仍以每分鐘 40—50 滴的流速通過交換筒，時濾出的酒精溶液已幾無色，至生物鹼洗盡後（約用酒精 75 毫升），收集酒精溶液，加入甲基紅為指示劑及過量  $0.01N$  的鹽酸，再以  $0.01N$  氫氧化鈉溶液回滴，消毫的鹽酸按磺化煤回收率改正後，計算得全生物鹼量的百分率如下：（曾以中性的無水酒精作空白試驗，

知不消毫鹽酸)

1 毫升, 0.01N HCl ⇌ 3.01 毫克  $C_{16}H_{19}O_3N_3$

黃常山根含全生物鹼量: 0.1047%; 0.1107%; 0.1180%

平均量: 0.1111%

黃常山葉含全生物鹼量: 0.4688%; 0.4670%

平均量: 0.4679%

## 討 論

(1) 各種常山樣品的紙上吸附色層譜, 在紫外線下觀察有顯著的區別, 例如屬小蘗科的山常山, 已知其中含有小蘗鹼, 因之其色層譜在紫外線下, 顯美麗的黃色螢光, 與黃連的色層譜<sup>[7]</sup>極其類似, 說明此種紙上色層譜能指示某些成分的特性。而黃常山的根和葉, 亦顯不同色層譜, 以葉的色層譜中有一圈顯著的紅色層, 當由於葉中含有色素是根中所沒有, 但中心部分則頗相似。和常山與土常山的色層譜則與黃常山不同, 特別是土常山雖含有和黃常山相同的成分, 並無相似之處, 亦可能藉以顯示常山生物鹼在此種吸附紙上色層譜中的特性與小蘗鹼的性質不同。

(2) 藉離子交換劑自黃常山中提取生物鹼, 是比較方便的, 雖然本實驗未能獲得純生物鹼, 但不能否定離子交換劑的應用價值, 因為作者等對磺化煤的製造方法未做深入的研究。按孫世豐氏的方法所製造的磺化煤, 在操作過程中, 尚發現一些缺點, 特別是以鹼處理時, 顯有變性的情況, 我們所提出的生物鹼中含有不易去掉的色質, 可能就是由於磺化煤的變性而產生的。加以磺化煤對常山生物鹼的回收率只能達到 92%, 均有待於改進, 不過藉以作常山中生物鹼的含量測定, 還是能收到較圓滿的結果。

(3) 關於我國產的黃常山根中含全生物鹼含量的報告很多, 例如 Koepfli 等氏<sup>[10]</sup>謂約為 0.1%, 二年後氏等<sup>[9]</sup>又有相同的報告, 謂得自我國的常山根中含全生物鹼量為 0.08—0.1%, 其中 55% 為 Febrifugine 和 Isofebrifugine。傅豐永等氏<sup>[11]</sup>在提取的過程中得到全生物鹼量約達 0.1%, 而趙承嘏、謝毓元二氏<sup>[12]</sup>則謂黃常山葉中含全生物鹼量約為 0.2% (實際上只 0.18 左右), 而根的含量只有葉的  $\frac{1}{10}$ , 即根中含全生物鹼量僅及 0.02% 左右。本實驗所得的結果, 根中含量亦在 0.1% 以上, 葉則為 0.46% 左右, 根中含量與 Koepfli 及傅豐永氏的報告相符合, 較趙、謝二氏高達 5

倍，即葉中生物鹼含量亦比趙、謝二氏的結果高出一倍以上，這可能由於樣品的來源不同和方法不同的結果，但我們所用的常山葉係由南川藥廠寄贈，與趙、謝二氏的樣品來源同出一處，是否因時間不同，南川藥廠的產品品質業已提高，尙待繼續研究。

(4) 按趙、謝二氏報告黃常山葉中更含有三甲胺，鹽酸三甲胺亦能與磺化煤起離子交換的反應，惟以氨水置換後並以蒸餾水洗滌，游離的三甲胺易溶於水，當已被洗去而無疑問，所以本試驗所得的常山葉中全生物鹼含量中，是不包含三甲胺的。

## 總 結

(1) 本文報告了四種不同品種和二種不同藥用部份的常山的紙上吸附色層譜，能供這些生藥的識別用。

(2) 以自製的磺化煤試由黃常山根中提取生物鹼並藉液狀色層分離法以精製粗製生物鹼，結果由於含雜色質的影響未能得到純品。

(3) 報告了藉磺化煤測定黃常山根和葉中水不溶性的全生物鹼的方法，操作尙稱簡便易行。

(4) 北京市售的黃常山根中含全生物鹼量為 0.1111%，南川藥廠寄贈的黃常山葉含全生物鹼量為 0.4679%，均以  $C_{16}H_{19}O_3N_3$  計算。

本試驗所用黃常山葉由四川地方國營南川藥廠寄贈，特此誌謝。

## 參 考 文 獻

- [1] 樓之岑，藥學學報，1953，1,111.
- [2] 李時珍，本草綱目，17卷，明張鼎思重刻本。
- [3] 傅豐永，張昌紹，*Science and Technology in China*, 1948, 1, 56.
- [4] 王進英，醫藥學，1950, 3, 255.
- [5] Williams *et al.* *J. Org. Chem.* 1952, 17, 14.
- [6] 本村康一，島田玄彌，*J. Pharm. Soc. Japan*, 1928, 48, 896.
- [7] 林啓壽，張如意，胡素瑜，藥學學報，1954, 2, 39.
- [8] 孫世豐，東北科學通訊，1951, 1, 620.
- [9] Koepfli *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, 71, 1048.
- [10] Koepfli *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* 1947, 69, 1837.
- [11] 傅豐永，張昌紹，西南藥刊，1951, 1, 23.
- [12] 趙承暇，謝毓元，中國科學，1951, 2, 455.

# THE APPLICATIONS OF CHROMATOGRAPHY IN THE STUDY OF CHINESE DRUGS

Part II, Chang-Shan

LING CHI-SHAU, HSEHYÜ AND HAN KUAI-CHIOU

(School of Pharmacy, Peking Medical College)

## ABSTRACT

(1) Paper adsorption chromatograms are given for the roots and leaves of *Dichroa febrifuga* Lour., roots of *Hydrangea opuloides* Steud., *Berberis vulgaris* L. and *Orixa japonica* Thunberg.

(2) The method of isolation of total alkaloids from the roots of *Dichroa febrifuga* Lour., by means of cation ion exchanger—sulfonated coal and the purification of crude alkaloids so isolated by means of liquid chromatography is presented.

(3) The ion exchange chromatographic method for the determination of total alkaloids in the roots and leaves of *Dichroa febrifuga* Lour., is reported. The average contents of total alkaloids calculated as dichroine in the roots and leaves of *D. febrifuga* Lour., were found to be 0.111% and 0.4679% respectively.