

披针叶黄华中生物碱的 GC-MS 分析

李勇, 李生虎, 张学礼, 赵晓瑞 (宁夏职业技术学院动物科学系, 宁夏银川 750002)

摘要 [目的] 用气相色谱-质谱联用法(GC-MS法)分析披针叶黄华中生物碱。[方法] 采用醇类溶剂提取法, 提出披针叶黄华总浸膏, 经酸溶、碱化处理, 再用氯仿萃取出总生物碱, 利用 GC-MS 法对其化学成分进行分析鉴定。[结果] 共鉴定出 14 个组分, 其中有 5 种属于已有文献记载的生物碱, 即 *d*-鹰爪豆碱, 金雀花碱, 臭豆碱, 羽扇豆碱, 黄华碱。[结论] 揭示了披针叶黄华的生物碱种类, 为披针叶黄华的药用开发和毒性研究提供理论依据。

关键词 披针叶黄华; 生物碱; GC-MS 法

中图分类号 O652 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)21-10070-03

Analysis of Alkaloid from *Thermopsis lanceolata* Based on GC-MS

LI-Yong et al (Department of Animal Science, Ningxia Institute of Vocational and Technical, Yinchuan, Ningxia 750002)

Abstract [Objective] The research aimed to analyze the alkaloid from *Thermopsis lanceolata* based on the gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). [Method] Alcohol solvent extraction method was used to extract the total extract of *Thermopsis lanceolata*, and it was treated by acid-soluble and alkalinization. Then chloroform was used to extract the total alkaloids. Finally, GC-MS was used to analyze and identify the chemical composition. [Result] Fourteen components were identified, of which 5 composition were already documented, *d*-alkali Sparteine, Cytisine, stinky bean base, Lupanine, *d*-Thermopsin respectively. [Conclusion] The study showed the kinds of alkaloid from *Thermopsis lanceolata*, and provided the theoretical basis for its medicinal exploitation and toxicity study.

Key words *Thermopsis lanceolata*; Alkaloids; GC-MS

披针叶黄华(*Thermopsis lanceolata*), 别名牧马豆, 属豆科(Leguminosae)野决明属(*Thermopsis*)植物, 为多年生草本, 花期 6~7 月, 果期 8~9 月。披针叶黄华抗寒性强, 在碱化、盐渍化土壤中也能生长, 有良好的保持水土作用, 在我国的青海、宁夏、四川、甘肃等省区生长茂盛, 有大面积的分布。据资料记载, 本种为有毒植物, 种子和全草可引起牲畜中毒, 但是有名的药用植物, 具有兴奋呼吸、抗辐射及祛痰止咳等功效^[1]。为此, 笔者对披针叶黄华总生物碱的提取、薄层层析检查和气质联用进行分析, 揭示披针叶黄华的生物碱种类, 旨在为披针叶黄华的药用开发和毒性研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 披针叶黄华。2005 年 8 月采自宁夏盐池县, 晒干, 粉碎备用。植物标本由盐池县草原站鉴定。

1.1.2 主要试剂。薄层层析用硅胶 GF254, 由青岛海洋化工有限公司生产; 氯仿(AR), 批号 20030615, 由天津市凯通化学试剂有限公司生产; 甲醇(AR), 批号 20030703, 由天津市化学试剂三厂生产; 乙醇; 其余试剂均为国产分析纯。金雀花碱、臭豆碱、黄华碱标准品, 由宁夏大学化工能源重点实验室提供。

1.1.3 主要仪器。RE-52A 旋转蒸发器, 由上海亚荣生化仪器厂生产; XDS-IB 型倒置显微镜, 由重庆光电仪器有限公司生产; SHB-B 型循环水式多用真空泵, 由郑州长城科工贸有限公司生产; AR1140 电子天平, 由美国制造; 2573 短波紫外线分析仪, 由上海顾村电光仪器场生产; HW·SY21-K 电热恒温水浴锅, 由北京市长风仪器仪表公司生产; KQ-500DE 型数控超声波清洗器, 由昆山市超声仪器有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 披针叶黄华总生物碱的提取。采用醇类溶剂提取

法, 先用醇类溶剂提出总浸膏, 再经酸溶、碱化处理, 然后用氯仿萃取出总生物碱^[2]。将披针叶黄华全草阴干后碾碎, 以 95% 乙醇热提, 提出液减压回收乙醇, 剩余物以 1% 盐酸水溶液反复处理至残渣中检测不到生物碱。酸水液以浓氨水碱化至 pH=9~10, 以氯仿萃取至水溶液中检测不到生物碱, 减压回收氯仿后得粗生物碱。

1.2.2 薄层层析(TLC)检查。硅胶 GF254 板制备: 将硅胶 GF254 与 0.5% CMCNa 水溶液按 1:3 的比例研匀, 均匀涂铺于不同规格的玻璃板上, 置室温风干 1~2 d, 而后储存于干燥箱中备用。

展开剂: ①氯仿: 甲醇=2:1; ②乙酸乙酯: 甲醇=8:5; ③丙酮: 甲醇=3:1; ④乙酸乙酯: 甲醇=3:2; ⑤乙酸乙酯: 乙醇=2:1^[3]。

显色剂: 改良碘化铋钾试剂(Improved dra-gendoff reagent)。甲液: 称取 0.85 g 次硝酸铋溶于 10 ml 冰醋酸, 加蒸馏水 40 ml 将其溶解; 乙液: 称取 8 g KI 溶于 20 ml 蒸馏水中。甲乙 2 液混合后, 每升混合液中加入 2 ml 冰醋酸和 10 ml 蒸馏水, 混合后备用^[4]。

层析方法: 取总生物碱, 用甲醇溶解, 然后用毛细管点样于预先制备好的硅胶 GF254 板, 置展开缸中饱和 5~10 min, 上行法展开。当展开剂跑至距硅胶板前沿 1~2 cm 处时取出, 挥干溶剂。先在 254 nm 紫外灯下观察荧光, 然后用改良碘化铋钾试剂喷雾显色, 分别计算 *R_f* 值^[5], 同时用标准品作对照。

1.2.3 气相色谱-质谱联用分析(GC-MS 分析)。进样: 总生物碱用甲醇溶解后直接注入气相色谱-质谱联用仪, 进样量 1~2 μl。

色谱条件: 气质分析采用岛津 GC-MSQP2010 气质联用分析仪, GC-MS 接口温度 280 °C, 检索谱库为 DB-5MS。

GC 条件: 色谱柱 HP-SE-54 石英玻璃毛细管柱(甲基硅氧烷, 0.25 mm×30 m), 载气 N₂, 分流比 20:1, 柱温 80~260 °C, 程序升温 4 °C/min, 进样口温度 250 °C, 用峰面积归一化

作者简介 李勇(1980-), 男, 宁夏银川人, 硕士, 讲师, 从事动物营养和中毒病方面的研究。

收稿日期 2009-04-07

法计算各化合物的相对百分含量。

MS 条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 °C, 倍增器电压 1.6 kV, 质量扫描范围 10 ~ 425 U, 扫描周期 1 s。用计算机 NIST98.L 质谱数据库自动检索总生物碱各组分的质谱数据, 对机检结果与有关保留时间及标准图谱进行

核对, 鉴定各组分的化学结构。

2 结果与分析

2.1 披针叶黄华生物碱的提取结果 从表 1 可以看出, 披针叶黄华中生物碱平均含量为 1.99% (以干重计)。

表 1 披针叶黄华生物碱提取结果

Table 1 The extraction results of alkaloid from *Thermopsis lanceolata*

序号 No.	样品质量//g Sample weight	乙醇提取浸膏//g Extract with ethanol	提取率//% Extraction rate	总生物碱//g Total alkaloid	生物碱含量//% Content of alkaloid
1	200	43.65	21.83	3.78	1.89
2	200	45.50	22.75	4.20	2.10
3	200	42.25	21.13	4.15	2.08
4	200	43.10	21.55	3.90	1.95
5	200	48.56	24.28	3.88	1.94

2.2 TLC 检查结果 从表 2、图 1 可以看出, 5 种溶剂系统展开效果中氯仿: 甲醇、乙酸乙酯: 甲醇、丙酮: 甲醇系统优于

乙酸乙酯: 乙醇系统, 总生物碱中至少含有 4 种生物碱, 与标准品对照, 其中 3 种分别为黄华碱、臭豆碱和金雀花碱。

表 2 薄层层析检查结果 (Rf 值)

Table 2 The examination results by TLC (Rf value)

样品 Samples	氯仿: 甲醇 (2:1) Chloroform: Methanol	丙酮: 甲醇 (3:1) Acetone: Methanol	乙酸乙酯: 乙醇 (2:1) Acetic ether: Ethanol	乙酸乙酯: 甲醇 Acetic ether: Methanol	
				8:5	3:2
总生物碱 Total alkaloid	0.26, 0.78, 0.87	0.23, 0.35, 0.65 0.69	0.24, 0.34, 0.51, 0.92	0.23, 0.39, 0.54, 0.65	0.30, 0.59, 0.65
黄华碱 Thermopsin	0.89	0.70	0.93	0.65	0.67
臭豆碱 Anagryne	0.89	0.48	0.93	0.53	0.55
金雀花碱 Cytisin	0.11	0.20	0.58	0.20	0.28



注: 吸附剂为硅胶 GF254; 展开剂为乙酸乙酯: 甲醇 (8:5); 显色剂为改良碘化铋钾试剂 (Improved dra-gendoff reagent); 点样顺序为左侧 4 个点为披针叶黄华氯仿部分, 右侧 1 个橘黄色点为金雀花碱标准品。

Note: Silica gel GF254 was taken as sorbent, the mixture of acetic ether and methanol (with the ratio of 8:5) was taken as developer, Improved bismuth-potassium iodide reagent was taken as chromogenic reagent; The four points on the left were samples of *T. lanceolata* with chloroform; The saffron yellow point was standard substance of cytosine.

图 1 披针叶黄华生物碱 TLC 显色结果

Fig. 1 The colour reaction results of alkaloid from *T. lanceolata* by TLC

仪条件测得 14 个单体, 总离子流色谱图见图 2, 质谱鉴定结果见表 3。从表 3 可以看出, 14 个单体经质谱数据库鉴定出 14 种化合物中, 但试验样品中只有 5 种化合物经气质联用分析鉴定出属于已有文献记载的生物碱化合物。

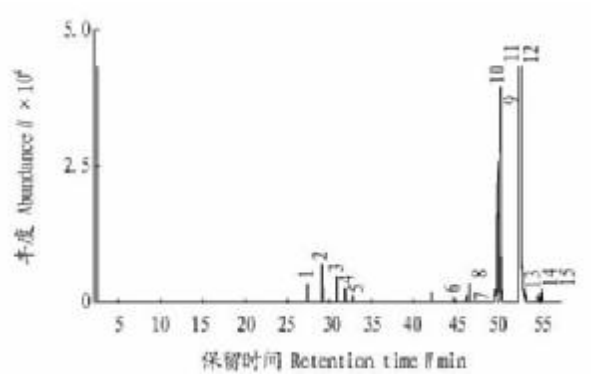


图 2 披针叶黄华总生物碱总离子流色谱图

Fig. 2 GC spectrum of total alkaloid from *Thermopsis lanceolata*

表 3 披针叶黄华总生物碱 GC-MS 分析鉴定结果

Table 3 The analysis results of total alkaloid in *Thermopsis lanceolata* by GC-MS

峰号 Peak No.	保留时间//min Retention time	化合物名称 Name of compounds	分子式 Molecular formula	峰面积比//% Peak area ratio	峰高 Peak height
7	38.134	d-鹰爪豆碱	C ₁₅ H ₂₆ N ₂	55.61	471 953
9	44.002	金雀花碱	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	1.65	22 254
10	47.929	臭豆碱	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O	0.26	4 378
11	48.832	羽扇豆碱	C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O	0.82	10 798
13	52.530	黄华碱	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O	28.66	339 096

2.3 GC-MS 分析结果 披针叶黄华总生物碱按气质联用

3 结论与讨论

植物样品中生物碱的提取受很多因素的影响,如溶剂选择、回流时间、回流温度、回流次数、酸化程度、萃取次数、是否乳化等。目前,在试验中一般通过增加回流次数、控制温度、提高酸化时的研磨程度、增加萃取次数、减少乳化发生等措施来提高生物碱的提取率。在酸化时,通过增加研磨次数,使浸膏研细并均匀分散于酸液中,这有利于生物碱充分形成生物碱盐直到剩余物酸溶解完全,经反复处理至生物碱试管沉淀反应为阴性。在萃取过程中,尽可能地把杂质萃取完全。碱化后,萃取直到最后一次萃取液检验无生物碱为止(经改良碘化铋钾试剂喷雾不显色)^[6]。

披针叶黄华生物碱中含有大、中、小极性不同的生物碱。对披针叶黄华萃取粗碱的 TLC 检查表明,氯仿萃取部分生物碱种类较多,各萃取段总共含有至少 5 种生物碱成分,经与黄华碱、臭豆碱、金雀花碱标准品对照,披针叶黄华萃取部分均含有与标准品相似的斑点。

GC-MS 连用技术的工作原理是:一方面利用色谱柱作为高效分离手段,分离的纯的或比较纯的流出物,送进质谱仪中;另一方面利用质谱的高分辨定性鉴定手段,一一检测出流出物是何种化合物^[7]。由于披针叶黄华生物碱的氯仿部分分量太少,要分离得到单体化合物相对困难,而且时间有限,因此披针叶黄华的这部分粗碱适于气相色谱检测的极

性段用于 GC-MS 分析,结果共检测出 14 种化合物。

在检测出的 14 种生物碱中没有赵宝玉等所分离出的野决明胺碱、菱叶野决明碱、高野决明碱、阿金廷碱^[3]。其原因可能有 2 个:一是该研究所用披针叶黄华原料太少,加上操作过程中的损失,从而使这些碱未能检测出来;二是在进行 GC-MS 分析时,由于先前的溶剂已挥干,检测者用甲醇作为溶剂来溶解被检样品,而部分碱等主要溶于氯仿中,由此导致一些生物碱不能通过 GC-MS 检测出来。此外,GC-MS 本身也存在误差,加之一些生物碱在图谱库中不存在也会造成检测不出的结果。

参考文献

- [1] 郭思加,刘彩霞,赵爱桃,等.宁夏天然草地的有毒有害植物[J].草业科学,1997(6):40-43.
- [2] 中国科学院上海药物研究所.中草药有效成分提取与分离[M].上海:上海科学技术出版社,1983:83-85,95-99.
- [3] 赵宝玉,阮娜,何生虎,等.牧马豆中生物碱的提取分离及鉴定[J].动物医学进展,2003,24(4):87-89.
- [4] 中国医学科学院药物研究所.中草药有效成分的研究(第一分册)[M].北京:人民卫生出版社,1972:9-24.
- [5] 郝乃斌,戈巧英.中国植物杀虫剂的研制与应用[J].植物学报,1999,16(5):495-503.
- [6] 姚新生.天然药物化学[M].北京:人民卫生出版社,2002:171-172.
- [7] BRAUN K,ROMERO J,LIDDELL C,et al. Production of swainsonine by fungal endophytes of locoweed[J]. Mycol Res,2003,107:980-988.

(上接第 10062 页)

察尔汗和东盐湖等氯化物盐型盐湖样本水化学特征影响较大。化学组成指标变量 CO_3^{2-} 和 HCO_3^- 孤立散落在图 1 中椭圆之外,与所有的盐湖样本距离较远,表明它们与盐湖的水化学特征关联度不大。以上揭示的柴达木盆地盐湖与其化学组成、分布地之间的相关关系与这些盐湖的实际情况相符。

(4) 柴达木盆地盐湖化学特征解释。柴达木盆地硫酸镁亚型盐湖主要与 Na^+ 、 K^+ 和 SO_4^{2-} 3 个化学组成相关,它们正是形成硫酸盐型盐湖的显示和条件;而柴达木盆地氯化物盐型盐湖主要与 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 3 个化学组成相关,同样也是形成氯化物盐型盐湖的显示和条件,而且显示柴达木盆地氯化物盐型盐湖是以高含量 Mg 为其特征的;化学组成 CO_3^{2-} 和 HCO_3^- 与其盐湖化学特征关联度不大,表明柴达木盆地盐湖发育程度较深,没有碳酸盐类型的水化学特征存在^[10]。这些结论与实际情况相符。

3 结语

采用对应分析研究盐湖化学特征,可以把指标变量化学组成和盐湖样本联系起来。在找出样本来源与指标变量

之间内在联系的基础上,可以揭示柴达木盆地盐湖与其化学组成、分布地之间的相关关系,为合理解释柴达木盆地盐湖化学特征提供科学依据。

参考文献

- [1] 廖奇志,陆晓华.山丹湖环境水化学特征的主因子分析[J].华中理工大学学报,1998,26(11):65-67.
- [2] 李磊,吴启勋,宋萍.盐湖化学类型的判别分析研究[J].盐湖研究,2004,12(1):46-50.
- [3] 朱小娟,普智晓.星湖水环境化学特征的主因子分析[J].海洋湖沼通报,2005(1):6-10.
- [4] 陈志军,张晶.艾比湖水化学特征的因子分析研究[J].盐湖研究,2008,16(2):19-21.
- [5] DAVIDM M, CAMPIGLIO C, DRLING R. Progress in R-and Q- mode analysis orrespondence analysis and its application to the study of geological processes[J]. J. Earth Sci,1974, 11:131.
- [6] GREENACRE M J. Theory and application of correspondence analysis [M]. London: Academic Press,1984.
- [7] TAO F M, XIA L X. Stepwise correspondence analysis and study of physical characteristics of Chinese ethnic groups [J]. Journal of Bion Athan Atics,2003,18(2): 139.
- [8] 张彭熹.柴达木盆地盐湖[M].北京:科学出版社,1987:81-91.
- [9] 国家食品药品监督管理局.中药注射剂色谱指纹图谱研究操作规程指南(试行)[J].中成药,2000,22(10):671-675.
- [10] 陈忠,马海洲,张西营,等.尕斯库勒湖 DG03 孔碳酸盐含量及其环境意义[J].盐湖研究,2007,15(2):6-7.