

内蒙草麻黄中生物碱的动态研究

程大敦 郭平 赵俊

(南京药物研究所, 210009)

摘要 应用 HPLC 法研究了内蒙草麻黄主产区5种麻黄生物碱的动态变化。5种麻黄生物碱为: 麻黄碱(E)、伪麻黄碱(PE)、去甲基麻黄碱(NE)、去甲基伪麻黄碱(NPE)和甲基麻黄碱(ME)。研究结果表明: 内蒙东部的草麻黄生长期中 E 占优势, 而在西部 PE 和 E 平行或 PE 高于 E, 总生物碱在7月中旬和9~10月达高峰。因此影响含量的主要因素是物候期、降雨量和湿度。对地理位置、气象情况和退化现象等因素也进行了讨论。

关键词 HPLC 法; 内蒙东部; 内蒙西部; 草麻黄; 动态变化

草麻黄(*Ephedra sinica* Stapf)系野生植物, 为我国特有品种, 现主产于内蒙。主要产区在东部赤峰和哲里木盟辖区, 产区大, 但已严重退化; 西部主要在伊克昭盟辖区伸延到宁夏, 开发迟, 品质佳。除冯志东^[1]曾对北京以西某地的草麻黄总生物碱含量进行过动态研究外, 对这一重要药物资源未见报道。本文在内蒙境内选定5个固定观测点: 东部3个, 中部1个(武川), 西部从地理上已伸延到宁夏(陶乐)。在麻黄生长期每月采样一次, 测定草麻黄生物碱中各组分: 麻黄碱(Ephedrine, E)、伪麻黄碱(Pseudoephedrine, PE)、甲基麻黄碱(Methylephedrine, ME)、去甲基麻黄碱(Norephedrine, NE)和去甲基伪麻黄碱(Norpseudoephedrine, NPE)在生长期的含量, 结合该地区地理、气象资料, 探讨其动态变化的规律, 提出最佳采集期可遵循的原则、品质评价和对策, 供麻黄生产参考。因甲基伪麻黄碱在实际样品中含量极微, 故忽略不计。

1 实验部分

1.1 仪器与药品

高效液相色谱仪, 岛津 LC-6A; 紫外检测器, SPD-2AS; 柱恒温箱, CTO-2AS; 数据处理机, Chromatopac C-R2AX; 色谱柱, Nucleosil ODS

(25 cm×0.46 cm), 中科院大连化物所立新技术开发公司; 乙腈, 光谱纯, 中科院上海脑研究所; 十二烷基硫酸钠, 99.5%, 中科院新疆化学研究所; 对照品: E·HCl, PE·HCl, ME·HCl, NE·HCl, NPE·HCl 和硫酸甲基伪麻黄碱, 均为赤峰制药厂提供, 经重结晶后, 加氢氧化钠液碱化, 用乙醚提取, 减压蒸干; 纯度: E, PE, NE, NPE, ME 溶于流动相中, 进样量超过满标, 无杂质峰。

1.2 实验方法

参考文献^[2]方法改进

色谱条件

流动相: 水-乙腈-十二烷基硫酸钠-磷酸(65:35:0.5:0.1); 柱温50℃; 流速1.5 ml/min; 检测波长: 210 nm; 用标准品重量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线(见图1)。最小检出量(噪音3倍)20 ng, $r=0.999$ 。

样品测定 将干燥麻黄草剪至1 cm 长, 混匀, 精密称定1.0 g, 用剪刀剪成2 mm 左右, 放入铜冲钵中, 加盖捣碎, 全部倾入250 ml 平底回流瓶中, 加入流动相40 ml, 在85℃水浴中回流1 h, 离心(4000 r/min), 吸取上清液于100 ml 容量瓶中, 残渣用流动相洗涤3次(25, 15, 5ml)离心后吸出, 合并于容量瓶中, 用流动相稀

释至刻度,吸取10 μ l 进样,对照品与样品图谱(见图2、图3)

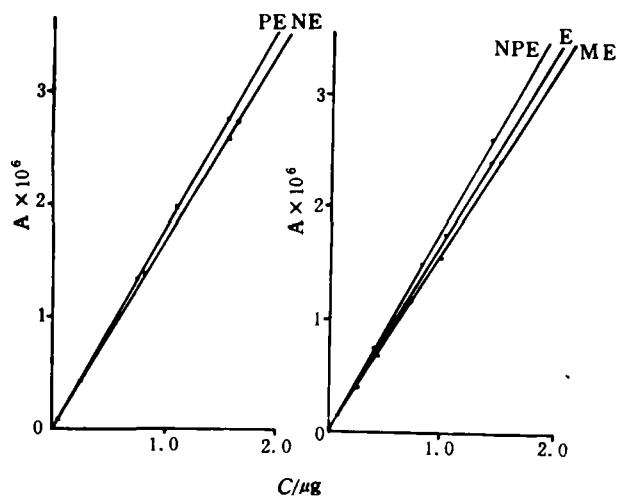


Fig 1. Calibration curves of ephedra alkaloids

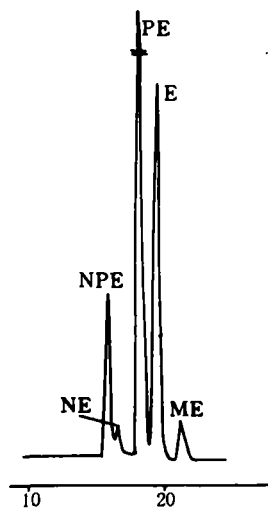


Fig 2. HPLC of ephedra alkaloids

回收率 将标准品加入样品,依上法提取,加入量接近存在样品中的量。E, PE 10 mg 左右, ME, NE, NPE, 在0.3~1 mg 之间。测得回收率分别为 E: 95.0% ($n=3$, $CV=0.84\%$); PE: 97.1% ($n=3$, $CV=0.5\%$); NE: 99.47% ($n=3$, $CV=1.40\%$); NPE: 103.13% ($n=3$, $CV=1.3\%$); ME: 96% ($n=3$, $CV=1.5\%$)。

单植株测定含量变化较大,只有将样品剪短后混匀,再称取1.0mg样品,含量变化在1%

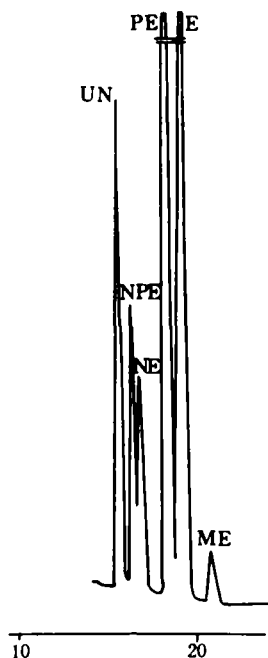


Fig 3. HPLC of alkaloids in Ephedra herba

以内,重现性好,每个样品测定3次,取其均值(见表2)。

1.3 供试品

均采自选定的固定观测点,范围5 m²以内,气象资料来自最靠近采样区的气象站。草麻黄经中国药科大学何宏贤副教授鉴定,固定观测点的地理位置和气象资料见表1。

2 结果与讨论

2.1 结果

不同时期采集的样品中5种麻黄生物碱的含量见表2;含量与降雨量,光照和气温的关系见图4。

2.2 讨论

2.2.1 干旱、光照和一定温度是生长草麻黄的必备条件:东部草区北有大兴安岭阻挡,常年以西北季风为主,东南和西南受到太平洋、印度洋的夏季风,进入该区已很弱,西部草区(包括宁夏陶乐)深居内陆,西部有贺蓝山,北有狼山,阴山等重重阻挡,东接鄂尔多斯高原,虽纬度较低,但海拔较高,是内陆的腹地,故其年平均温度较之东部略高;中部的武川,因海拔高,受北

Tab 1. General geography and climate

Collecting place	East longitude	North latitude	Altitude, m	Landform	Mean temp. /Year, C	Monsoon	Precipitation, mm	Sun shine, h	Note, year
哲盟开鲁	121°17'	43°36'	241	plane	7.1	W-N in all year	171.4	3181.9	1988
南关南沼						S in summer			
哲盟开鲁	121°17'	43°36'	241	plane	7.0	W-N in all year	300	3106.2	1989
南关南沼						S in summer			
阿鲁科尔沁旗道德苏木	120°30'	43°70'	378	hill south slope	5.5	W-N in all year	280	3039.1	1989
巴林右旗宝日勿苏苏木	119°50'	43°70'	402	hill south slope	4.9	S-E and S-W in summer			
日勿苏苏木						W-N in all year	300	3106.2	1989
武川东土城尔扣不浪	111°27'	41°06'	1596.7	hill south slope	3.7	S-E and S-W in summer	366.2	2987.9	1990
宁夏陶乐头道墩	106°50'	38°72'	1300	hill south slope	8.7	N in all year	187.5	2990	1989
						S in summer			
						W-N in all year			
						S-E in summer			

Tab 2. Contents of compounds E, PE, NE, NPE, ME and total alkaloid in the stem of *Ephedra sinica* collected in different area and ontogenetics stages.

Collecting place	Collecting time	Ontogenetic stage	Content, %					Total alkaloid
			E	PE	NE	NPE	ME	
	1988							
哲盟开鲁 南关南沼	29 May.	Flowering	0.6197	0.0462	0.2444	0.0177	0.0081	0.9361
	14 Jun.	Flowering	0.6067	0.0402	0.1080	0.0266	0.0200	0.8015
	18 Jul.	Deciduous flower	0.8403	0.0680			0.0680	1.0832
	15 Aug.	Fruit stage	0.6203	0.1204			0.0520	0.8730
	13 Sept.	Fruit stage	1.0198	0.1163	0.0299	0.0525	0.1957	1.4185
	7 Oct.	Fruit stage	0.9492	0.0937		0.0143	0.1130	1.1702
	17 Oct.	Deciduous fruit	0.7230	0.3296		0.0441	0.0834	1.1800
	1989							
哲盟开鲁 南关南沼	15 Sept.	Fruit stage	0.9151	0.4614			0.0482	1.4247
	1 Oct.	Fruit stage	0.6309	0.1039	0.0092	0.0339	0.0774	0.8553
	10 Oct.	Deciduous fruit	0.7796	0.0176	0.0182	0.0294	0.0549	0.8997
	20 Oct.		0.7958	0.0991	0.0531	0.0354	0.0626	1.046
	30 Oct.		0.5750	0.0409	0.0233	0.0336	0.0424	0.7152
	15 Nov.	Withering	0.7500	0.0561	0.0342	0.0266	0.0549	0.9218
	1989							
阿鲁科尔沁旗道德苏木	23 Jun.	Flowering	0.6106	0.1589	0.0731	0.1761	0.0201	1.0388
	17 Jul.	Deciduous flower	0.9748	0.0382	0.0457	0.0593	0.0198	1.1377
	17 Aug.	Fruit stage	0.7717	0.2582		0.0468	0.1038	1.0805
	17 Sept.	Fruit stage	0.7521	0.0331	0.0352	0.0760	0.0412	0.9376
	17 Oct.	Deciduous fruit	1.1591	0.0760	0.0639	0.0518	0.0598	1.4106
	17 Nov.	Withering	0.9523	0.1532	0.0126	0.0275	0.1176	1.2632
	1989							
巴林右旗 宝日勿苏苏木	20 Jun.	Flowering	0.5972	0.0314	0.0776	0.0804	0.0067	0.7933
	20 Jul.	Deciduous flower	1.0810	0.1938	0.0275	0.1212	0.0774	1.5009
	20 Aug.	Fruit stage	0.4919	0.2890		0.2338	0.0355	1.0497
	20 Sept.	Fruit stage	0.4274	0.2937		0.2382	0.0222	0.9815
	20 Oct.	Fruit stage	1.2300	0.0366	0.0789	0.0175	0.0942	1.4572
	11 Nov.	Withering	0.6318	0.3409		0.2100	0.1357	1.3179
	1990							
武川东土城尔扣不浪	24 Jul.	Fruit stage	0.2219	0.6854		0.4160	0.0091	1.3324
	20 Aug.	Fruit stage	0.2361	0.7185		0.4138	0.0114	1.3798
	20 Sept.	Fruit stage	0.5717	0.5878	0.0449	0.2911	0.0339	1.5294
	30 Oct.	Withering	0.5557	0.3705	0.0773	0.0943	0.0263	1.1241
	1989							
宁夏陶乐头道墩	17 Jun.	Flowering	0.7189	1.5610		0.3203	0.0509	2.6520
	20 Jul.	Deciduous flower	0.8783	1.6196	0.0525	0.1885	0.0906	2.8500
	12 Aug.	Fruit stage	0.4105	1.2724	0.0584	0.0761	0.1044	1.9218
	14 Sept.	Fruit stage	0.7751	1.4440	0.1883	0.1414	0.0843	2.6331
	14 Oct.	Fruit stage	1.1844	0.9164	0.0408	0.0794	0.1539	2.3750
	13 Nov.	Withering	0.6427	1.4456	0.0488	0.0893	0.1251	2.3515

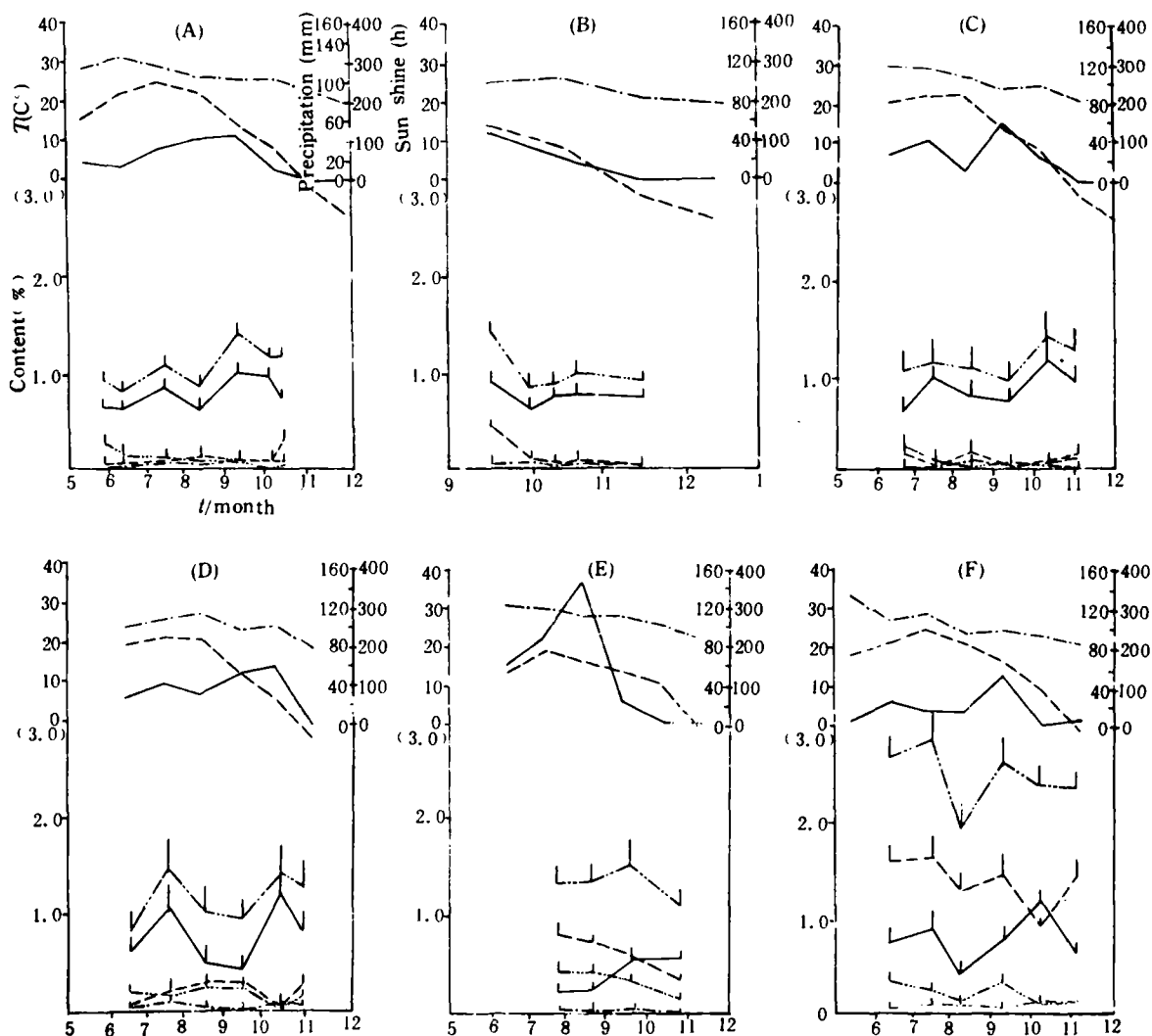


Fig 4. Relation between contents of ephedra alkaloids and time (upperhalf showed the climatogram of the collecting place)

A: 内蒙开鲁南关村南沼(1988年); B: 内蒙开鲁南关村南沼(1989年); C: 内蒙阿鲁科尔沁旗道德苏木(1989年); D: 内蒙巴林右旗宝日勿苏扬家園子东30公里(1989年); E: 内蒙武川东土城尔扣不浪(1990年); F: 宁夏陶乐头道墩(1989年)

upper half: ---- temperature; — precipitation; ···· sun shine;
under half: ---- total alkaloid; — E; - - - PE; - · - ME; - - - - NPE+NE

方冷空气影响,生长季节短,年平均温度只有3.7℃;故东南方向的夏季风进入西部已呈强弩之末,东西部十年平均降雨量分别为350 mm和270 mm,干旱是共同主要条件,年平均气温多数在4~9℃之间,光照时数在3000 小时/年左右,在有些植物园里栽种麻黄,不能满足这些要求,生物碱含量很低,没有药用价值。

2.2.2 形成双峰是物候期与气象因素所形成:
从图4可以看出从6月下旬至7月中旬(花后期),

此时光照,气温均处于最佳期,生物碱累积加速,形成第1个高峰。随着种子形成而下降,在种子后期(约在8,9月)又开始回升,形成第2个高峰;当种子大批成熟,生长停止时又开始下降,由物候期所造成的影响,比较稳定。

7,8月雨季的雨量不大,一般为50 mm/月,麻黄生长是靠深入湿土层的根系吸取水分,小的降雨量并不足将干燥的地表与湿土层相衔接,也不致于大量溶解麻黄生物碱(曾将1.5%

草麻黄,放在至少有60 mm降雨量的雨中,其损失量只有10%左右);但在7,8月间空气湿度明显增高,损失将会接近100%,但不一定下雨。Tang^[3]曾将含总碱量为1.22%麻黄草暴露于潮湿的空气中,1个月后已测不出生物碱,我们认为第1个高峰后生物碱下降是由于物候期与降雨量(含湿度)之和所造成,降雨量(含湿度)决定了下降的幅度。如位于中部的武川,7,8月连续降雨,雨量均较大,看不见第1个高峰,仅呈第2个峰(见图4,图中丢失6月样品),因年平均气温很低,5月中旬才发芽,估计从发芽到7月不大可能形成高峰,只有1个单峰。相反,如果7月中下旬降大雨,8月份降雨量不大,双峰仍然很明显,下降幅度达总碱的1/3^[4]。陶乐地区位于黄河边,降雨量不大,但湿度很大,其下降幅度也很大(见图4)。

2.2.3 经度、纬度、海拔、年平均温度和各地采收时间的影响:纬度、海拔和年平均温度是影响生长期和采收期的重要因素。经度过去很少有人提及,但对我国西部而言,大陆性气候更强,降雨量更少,植物生态学认为^[5]:纬度每增加1°,年平均温度下降0.5℃;海拔每升高100 m,气温下降0.5~0.6℃,虽这些产区相隔太远,可变因素很多,不能严格按此推算,但同一地区,其总原则是可用的。采收期:各地均有经验性的采收时间。东部基本上沿用赤峰药厂经验,在霜降前后(10月下旬)采收,对阿旗,右旗(图4)基本上是正确的,如遇干旱还可提前几天,对开鲁(图4)偏后了一个多月;按经验公式算,开鲁比阿旗年平均温度应高1℃,气象记录为高1.5℃,为此,89年再度在同一地区收获期密集采样,仍然证明9月下旬的含量比10月份高(图4)。由此推理,如奈曼、敖汉等旗纬度更低,其采收期如何掌握呢?内蒙西部产草区提早了1个节气——寒露采收,基本适合于鄂托克、乌审等旗;但陶乐地区,年平均气温高达8.7℃,实验结果显示在9月中旬为高(见图4)。正确的采集期与经济效益密切相关,这有待于当地药厂与气象部门合作才能解决。

2.2.4 各草区的品质评价和对策:从生物碱累积的总碱可以看出:陶乐地区品质远高于东部,但一般文献认为东部(赤峰和哲里木盟)质量好,这与开发迟早有关,也与内部含量组分有关,东部草区以E为主,早在1937前已开发,现草质已严重退化。50年代在大垛上随便采样分析,总碱约在1.5%,60年代已降至1~1.2%;目前已降至0.7~0.8%左右,哲里木盟有些地区开发较晚,目前约在1.2%。据报道^[6]美国曾种植中国草麻黄,4年后麻黄碱约相当于野生的80%;第2年在节部生长新枝,其重量可增加66%,含量也有所增加,几年中还可获得种子供栽培用,这是一个经济而实惠的办法。因此东部草区应采用轮封草区,隔几年再采收的方法。西部的草中PE含量与E持平或更高,过去认为PE没有药用价值,除少量运出供外地提取外,开发较迟。近20年来,PE不但载入英、美药典,其重要性远远超过E^[7]。由于需求量增加,生产厂家增多,但我国内蒙西部草麻黄的总资源仅为1万多吨,势必导致争夺资源、大片草区遭破坏。近年来的西北地区某些城镇风沙增大与“麻黄热”有一定的关系。这应引起有关部门重视。草麻黄在一般年成会形成双峰,国外文献中也提出绿色嫩枝(green twig)质量好,这是指夏末第1个高峰所采收,在中西部草区生长过程中PE占优势(图4);NE和NPE之和含量也较高(即英、美药典中的苯丙醇胺),应将其分离出来做为另一药物;秋后许多草样均有E上升,PE下降的现象,其交叉点附近,就是采收期;另一种情况是E和PE接近平行增长或下降,采收期两者也差不多。这些现象与工厂收率是吻合的。该草区几个工厂的生产情况也反映出E和PE收率差不多。

参考文献

- 1 冯志东,伊博恩. A comparison of *Ephedra equisetina* and *E. sinica* and their seasonal content of Ephedrine. Further assays of Chinese ephedras. *Chinese Jour Physiol*, 1928; 1(1):78. 1928; 1(4):337
- 2 Sagara H, Oshima T and Misaki T. A simultaneous determination of norephedrine, pseudoephedrine, ephedrine and methy-

- lephedrine in ephedra herba and oriental pharmaceutical preparation by ion-pair HPLC. *Chem Pharm Bull*, 1983; 31(7): 2359
- 3 Tang TH and Weng CW. Influence of heat and humidity on ephedrine content of the Chinese drug plant Ma-Huang. *Jour Pharm Soc China*, 1943; 1(1): 27, CA 1945; 2843
- 4 程大敦, 郭平, 赵俊. 内蒙西部草麻黄中生物碱的动态研究. *中国药物化学杂志*, 1992; (待发表)
- 5 云南大学生物系. 植物生态学. 人民教育出版社, 1980; 45
- 6 Christensen BV and Hiner LD. Cultivation of *Ephedra sinica* in South Dakota. *Jour Am Pharm Assoc*, 1939; 28: 199
- 7 程大敦. 右旋麻黄碱应充分利用. *药学通报*, 1986; 21(6): 365

Studies of Seasonal Variation of Alkaloids Contained in *Ephedra sinica* Herba in Inner Mongolia

Cheng Dadun, Guo Ping and Zhao Jun

Nanjing Institute of Materia Medica, Nanjing 210009

The seasonal variation of 5 active alkaloids, namely: Ephedrine E, Pseudoephedrine PE, Norephedrine NE, Norpseudoephedrine NPE and Methylephedrine ME contained in *Ephedra sinica* Herba were determined by HPLC. All of specimens were collected from 5 fixed observation areas in inner Mongolia where the plants were known to grow plentifully, and which send regular supplies to the factory at present time. In the east inner Mongolia E was predominant in all growing period, and in west, PE and E was nearly parallel or PE higher than that of E. The total alkaloid reaches their maximum in middle July and in September to October. The Authors suggested that the active factors affecting the content were ontogenetic stage, precipitation and relative humidity. The other active factors-geography, climate and degenerate phenomenon were discussed.

Key words HPLC; East inner Mongolia; West inner Mongolia; *Ephedra sinica*; Seasonal variation

【文摘015】泽泻对谷氨酸钠肥胖大鼠的影响 戴

岳, 杭秉茜. 中成药, 1992; 14(2): 28-9

幼年大鼠sc大剂量谷氨酸钠,造成大量实验性肥胖,观察中药泽泻对肥胖大鼠的影响。结果发现注射谷氨酸钠10 wk后,大鼠体重增加, Lee指数值明显高于对照组,体内大量脂肪蓄积,血清甘油三酯含量显著升高;泽泻降低肥胖大鼠的 Lee指数,子宫及睾丸周围脂肪指数及血清甘油三酯含量。提示泽泻可能具有一定的减肥

作用。

【文摘016】气质联用研究麻黄及其炮制品中挥发油

曾 诤, 刘成基, 楼冠峰等. 中国中药杂志, 1992; 17(2): 83-7

对麻黄炮制前后挥发油含量及其油中化学成分的变化进行了研究。结果表明:低沸点物质增多,含量也增高;高沸点物质减少,含量也降低。以炒黄麻黄变化尤为明显。