

• 实验研究 •

• 特邀稿件 •

## 蔓生百部中特征性成分原百部碱的考察及其质检探讨

陈 蓓<sup>1</sup>, 谭成勇<sup>2</sup>, KONGKIATPAIBOON Sumet<sup>3</sup>, 蔡祥海<sup>2\*</sup>

(1. 蚌埠市中医医院, 安徽 蚌埠 233000; 2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与天然药物  
实验室, 云南 昆明 650201; 3. Drug Discovery and Development Center, Office of  
Advanced Science and Technology, Thammasat University, Pathum Thani 12121, Thailand)

**摘要:** **目的** 考察蔓生百部中特征性成分原百部碱的稳定性, 并分析其在蔓生百部贮存、使用中的变化, 探索百部药材的质量控制方法。 **方法** 以乙腈-水为流动相, 采用 HPLC-DAD、C18 分析柱梯度分析原百部碱在三氯甲烷、丙酮、甲醇等溶剂中的变化情况, 并考察甲醇冷浸提取、水回流提取不同贮存时间的蔓生百部特征成分的变化。 **结果** 原百部碱在三氯甲烷、丙酮等溶剂中不同程度地转变成异原百部碱、狭叶百部碱和异狭叶百部碱, 在甲醇溶剂中转变减少; 随着储存时间的增加, 蔓生百部中原百部碱含量下降, 而狭叶百部碱和异狭叶百部碱含量增加。 **结论** 原百部碱的稳定性较差, 且原百部碱是蔓生百部的主要有效成分之一, 可能导致蔓生百部在贮存和使用过程易于药效的降低, 中药百部尚需制定定量的检测标准。

**关键词:** 蔓生百部; 原百部碱; 稳定性; 质量控制

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2024)04-0041-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2024.04.010

## Investigation and Quality Inspection of Protostemon, a Characteristic Component of *Stemona Japonica*

CHEN Bei<sup>1</sup>, TAN Chengyong<sup>2</sup>, KONGKIATPAIBOON Sumet<sup>3</sup>, CAI Xianghai<sup>2</sup>

(1. Bengbu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Bengbu 233000, China; 2. Key Laboratory of Phytochemistry and  
Natural Medicine, Kunming Institute of Botany, CAS, Kunming 650201, China; 3. Drug Discovery and Development  
Center, Office of Advanced Science and Technology, Thammasat University, Pathum Thani 12121, Thailand)

**ABSTRACT: Objective** Investigate the stability of protostemonine, a characteristic constitution of *Stemona japonica*, and analyze its changes in the storage and use, and explore the quality control of Baibu materials. **Methods** Using acetonitrile-water as mobile phase, gradient analysis on HPLC-DAD coupling C18 column was used to compare the changes of protostemonine in trichloromethane, acetone, methanol and other solvents, and to investigate the changes of the characteristic component of *Stemona japonica* extracted by methanol immersion and water reflux extracts at different storage times. **Results** In the solvents of trichloromethane, acetone, protostemonine was apt to change into isoprotostemonine, maistemonine and isomaistemonine. However, the transformation was greatly reduced in the methanol solvent. It was observed that the content of protostemonine decreased with the increase of storage time, but the content of maistemonine and isomaistemonine increased. **Conclusion** The stability of protostemonin was poor, and it was one of the main active components of *Stemona japonica*, which may lead to the decrease of efficacy of Baibu during storage and use. The quantitative testing standard of Baibu is still needed.

**KEY WORDS:** *Stemona japonica*; protostemonine; stability; quality control

中药百部(*Stemona Radix*)来源于百部科百部属  
植物直立百部(*Stemona sessilifolia*(Miq.)Miq.)、蔓生

百部(*S. japonica*(Bl.)Miq.)或对叶百部(*S. tuberosa*  
Lour.)的干燥块根<sup>[1]</sup>。其中蔓生百部主产于浙江、江

基金项目: Bualuang ASEAN Chair Professor Fund, 泰国

作者简介: 陈 蓓(1977-), 女, 主管中药师, 本科, E-mail: 157661003@qq.com

\* 通信作者: 蔡祥海(1976-), 男, 研究员, 博士, 研究方向: 植物化学, E-mail: xhcai@mail.kib.ac.cn

苏、安徽。蔓生百部野生于向阳山坡和竹林下,天目山等地是该药野生主要产地。在陕西、山东、安徽、江苏、浙江、福建、江西、湖北、湖南、四川等省亦有栽培。蔓生百部是多年生缠绕草本,高60~90 cm,花生于叶脉是该植物显著特点。块根肉质,黄白色,纺锤形,几个或数十个簇生<sup>[2-4]</sup>。

百部作为一味经典的中草药,具有润肺下气止咳、杀虫灭虱,用于新久咳嗽,肺密咳嗽、顿咳,也可外用于头虱、体虱、晓虫病和阴痒。百部使用记录最早可追溯至汉末陶弘景所著《名医别录》,首载百部止咳。根部入药,在民间用于镇咳、驱虫和止痒。根据中医理论,它具有温肺止咳的功效,现代药理研究也证实了其传统药理活性。近年来,研究人员越来越关注百部根中生物碱的药理学研究,在动物身上进行的药理学研究和体外实验表明它们具有治疗肺纤维化、急性肺损伤、哮喘等潜力。百部的应用方剂有治疗咳嗽的百部丸、百部汤、百部饮、百部散、及治疗银屑病的百部膏、益肺止咳胶囊、扶正养阴片、止咳合剂及其他含有百部的中成药等30余个<sup>[5-8]</sup>。

蔓生百部和直立百部也称小百部,其主要成分为生物碱类、二苯乙烯类<sup>[9]</sup>。和大多百部(对叶百部)不同,小百部中生物碱主要是原百部碱类,包括(异)原百部碱[(iso)protostemonine]、(异)狭叶百部碱[(iso)maistemonine]等。Wang等<sup>[10]</sup>和Greger<sup>[11]</sup>对百部中生物碱的生源途径及其分类作了分析,并推测主成分之一的狭叶百部碱可能是由主要成分原百部碱开环、进而在环合而来。另外,云南百部*S. mairei*中成分研究也发现主要成分原百部碱及狭叶百部碱共存的情况<sup>[12-13]</sup>,在研究蔓生百部生物碱过程中,发现原百部碱在三氯甲烷溶剂中,从外观颜色以及TLC层析均表明其发

生变化。进一步分析表明百部生物碱在贮存、使用过程中易转化为其它化合物。根据《中华人民共和国药典》(2020版)<sup>[1]</sup>,中药百部生物碱成分化学鉴别方法为碘化铋钾显色,鉴定时提取溶剂为乙醇和三氯甲烷,提取方法为加热回流提取,蜜百部饮片使用方法为水煎或酒浸,除此之外对中药百部的质量控制没有做出具体要求,也缺乏对中药百部贮存过程中成分控制的监测。

基于笔者对百部生物碱文献查阅以及成分研究过程中的实验现象的关注<sup>[8]</sup>,本研究首先采用HPLC观察不同常用溶剂对原百部碱的影响,进一步检测蔓生百部原百部碱类和狭叶百部碱类成分随着时间的变化<sup>[13]</sup>,以期更好地对百部生物碱质量进行控制。

## 1 仪器与材料

1.1 仪器 Waters 1525-2998 高压液相色谱系统, Waters Sunfire C<sub>18</sub> 分析柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 岛津万分之一的分析天平,海道夫旋转蒸发仪。

1.2 材料 蔓生百部采自浙江莫干山,由陈高博士(中国科学院昆明植物研究所研究员)鉴定;甲醇、乙腈(色谱纯,上海星可高纯溶剂有限公司);丙酮、三氯甲烷(分析纯,麦克林公司)。

## 2 方法

2.1 色谱条件 流速为1.4 mL/min,柱温箱30℃。I条件(分析对原百部碱稳定性)为0 min:50%水(0.1%氨水)+50%乙腈(0.1%氨水),10 min:35%水(0.1%氨水)+65%乙腈(0.1%氨水)。II条件(对蔓生百部药材成分)为0 min:95%水(0.1%氨水)+5%乙腈(0.1%氨水),60 min:0%水(0.1%氨水)+100%乙腈(0.1%氨水)。

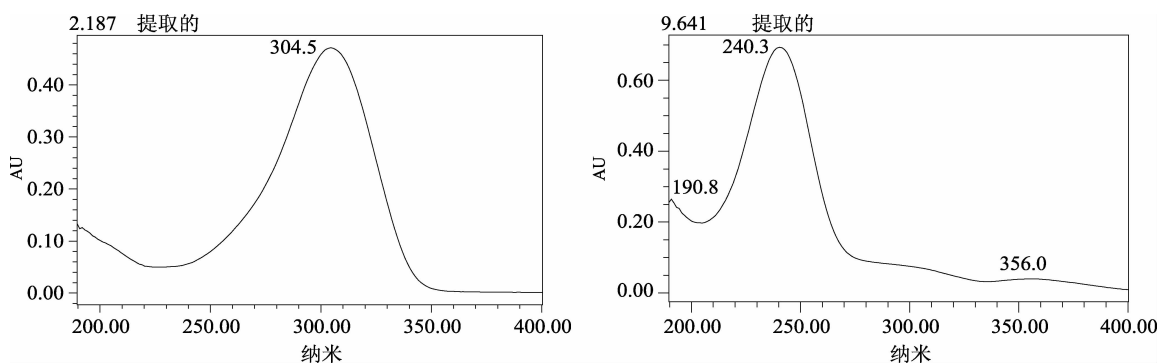


图1 原百部碱(左)和异狭叶百部碱(右)紫外吸收图

2.2 溶剂对原百部碱的影响 5 mg 原百部碱对照品分别溶于 5 mL 甲醇、丙酮、三氯甲烷及三者混合溶剂,放置一周,采用色谱条件 I 在 HPLC-DAD 检测器分析,比较原百部碱变化。

2.3 不同提取过程中对蔓生百部生物碱的影响

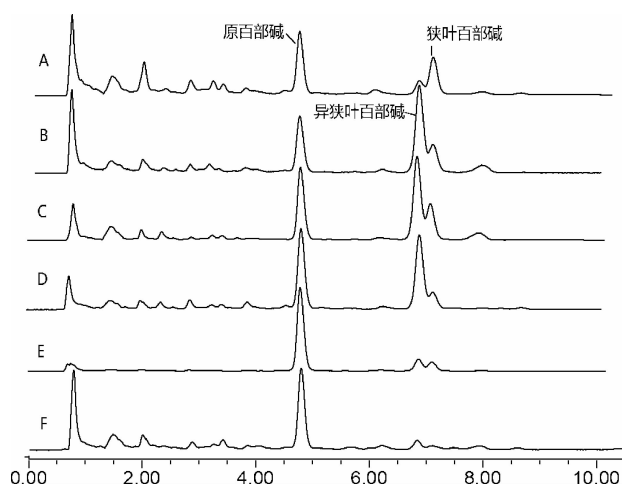
2.3.1 供试品溶液准备 甲醇提取:取蔓生百部(新鲜、储存一年、储存两年)根茎各 1 g,甲醇 20 mL 浸润,超声提取 2 h,抽滤,减压蒸干溶剂,甲醇溶解,过滤,配制成 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  供试品溶液,进样 5  $\mu\text{L}$ 。

2.3.2 水煮提取 取蔓生百部(新鲜、储存 1 年、储存两年)根茎各 1 g,水 20 mL,水煮提取 2 h,抽滤,减压蒸干溶剂,甲醇溶解,过滤,吹干溶剂,配制成 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,进样 5  $\mu\text{L}$ 。

### 3 结果与讨论

采用色谱条件 I 在 HPLC-DAD 检测器 240 nm 处同时监测原百部碱、狭叶百部碱含量变化。如图 2 所示,不同溶剂对原百部碱的影响不同:在氯仿中,原百部碱转变出狭叶百部碱和异狭叶百部碱,其中狭叶百部碱含量高于异狭叶百部碱;在丙酮、丙酮/甲醇、氯仿/甲醇中与之相反,生成的狭叶百部碱远低于异狭叶百部碱;而在甲醇、氯仿/丙酮溶剂中,仅监测到微量的狭叶百部碱和异狭叶百部碱生成,提示狭叶百部碱和异狭叶百部碱可能由原百部碱在溶剂中转变而来。

采用色谱条件 II 色谱系统在 240、305 nm 下分别监测狭叶百部碱、原百部碱相对含量变化。图 3 显

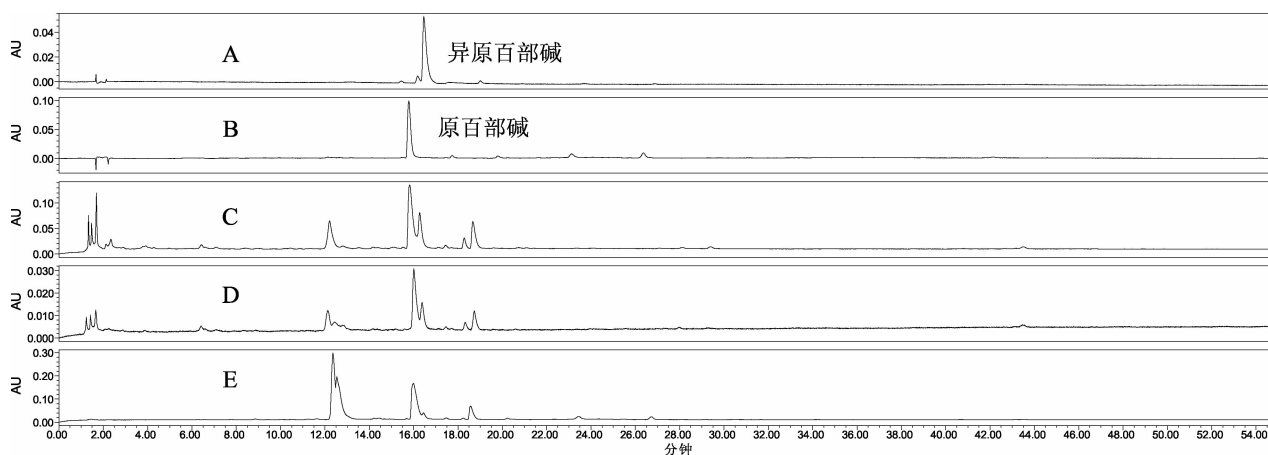


注:(原百部碱( $R_t=4.9$  min));异狭叶百部碱( $R_t=6.8$  min);狭叶百部碱( $R_t=7.2$  min))。A. 原百部碱/氯仿;B. 原百部碱/丙酮;C. 原百部碱/丙酮-甲醇(1:1);D. 原百部碱/甲醇-氯仿(1:1);E. 原百部碱/甲醇;F. 原百部碱/氯仿-丙酮(1:1)

图 2 原百部碱储存在不同溶剂中 240 nm 色谱图

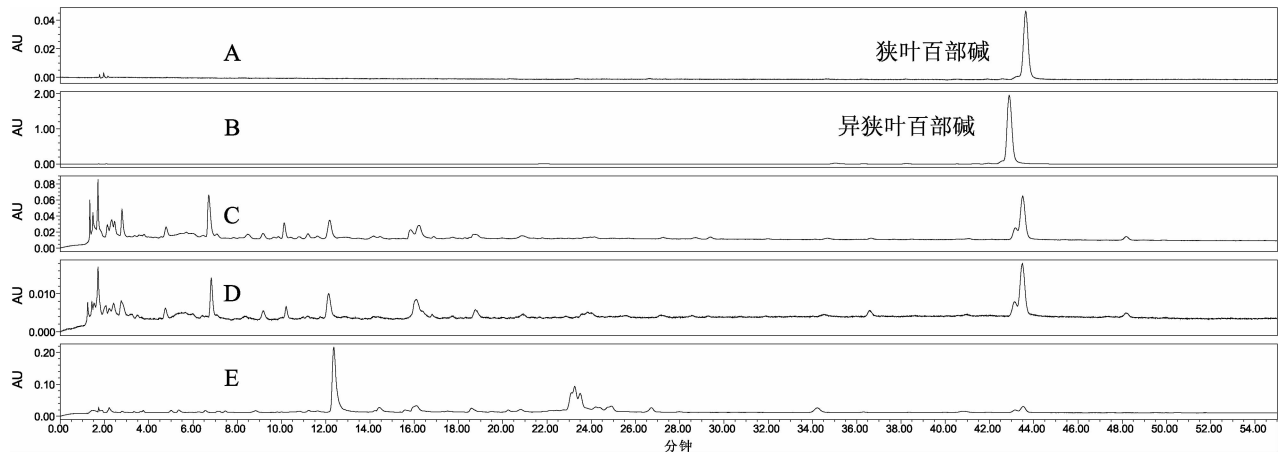
示与新鲜样品相比,存储一年、两年后药材中原百部碱相对含量显著下降;同时异原百部碱、狭叶百部碱和异狭叶百部碱显著上升(图 3、4)。

分析发现蔓生百部水回流提取和甲醇冷浸相比,原百部碱变化的规律同样(图 5),但是在甲醇提取实验 240 nm 波长分析发现(图 4)几乎无狭叶百部碱,而且发现新鲜的百部中也出现明显的狭叶百部碱、异狭叶百部碱吸收峰(图 6),说明高温会利于它们的原百部碱/异原百部碱向狭叶百部碱/异狭叶百部碱转化。



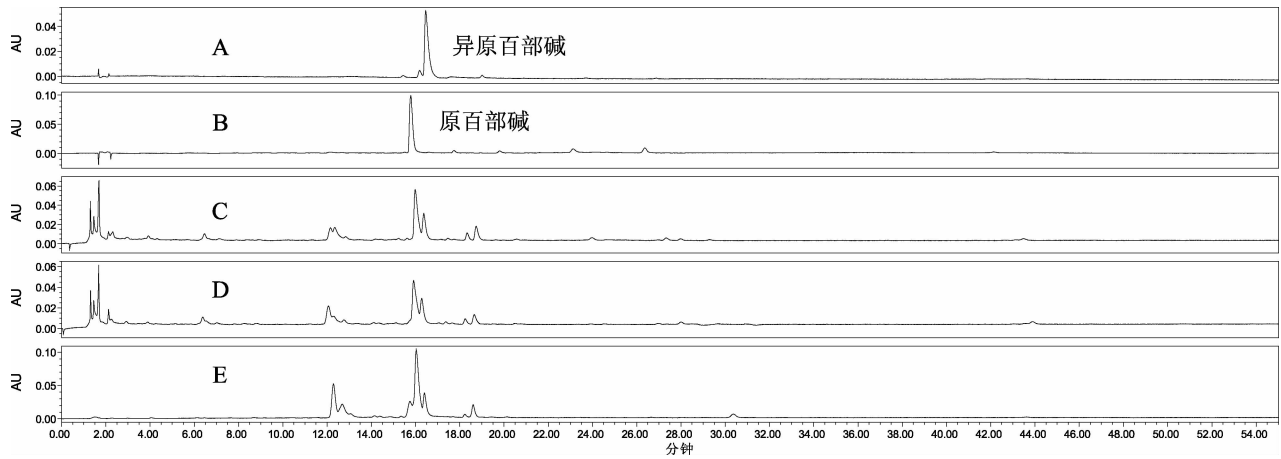
注:A. 异原百部碱( $R_t=16.6$  min);B. 原百部碱( $R_t=16.0$  min);C. 贮存时间 2 年蔓生百部干样品;D. 贮存时间 1 年蔓生百部干样品;E. 新鲜蔓生百部样品

图 3 蔓生百部甲醇提取 305 nm 吸收处液相色谱图



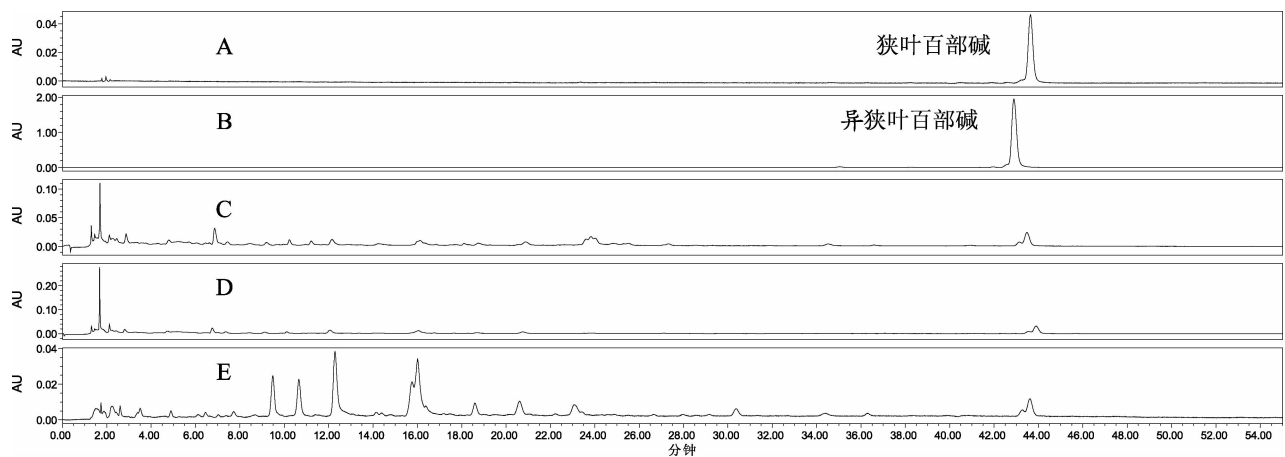
注:A. 狭叶百部碱( $R_t = 43.8$  min); B. 异狭叶百部碱( $R_t = 43.1$  min); C. 贮存 2 年蔓生百部; D. 贮存 1 年蔓生百部; E. 新鲜蔓生百部样品

图 4 蔓生百部甲醇提取 240 nm 吸收处液相色谱图



注:A. 异原百部碱( $R_t = 16.6$  min); B. 原百部碱( $R_t = 16.0$  min); C. 贮存时间 2 年蔓生百部干样品; D. 贮存时间 1 年蔓生百部干样品; E. 新鲜蔓生百部样品

图 5 蔓生百部水煮 305 nm 处液相色谱



注:A. 狭叶百部碱( $R_t = 43.8$  min); B. 异狭叶百部碱( $R_t = 43.1$  min); C. 贮存 2 年蔓生百部; D. 贮存 1 年蔓生百部; E. 新鲜蔓生百部样品

图 6 蔓生百部水煮 240 nm 处液相色谱图

采用色谱峰积分的方法, 各色谱峰峰面积在 305 或 240 nm 处波长下的面积百分比作为相对含量, 得

出蔓生百部甲醇提取和水回流提取实验中, (异)原百部碱和狭叶百部碱的相对含量变化趋势图(图 7)。

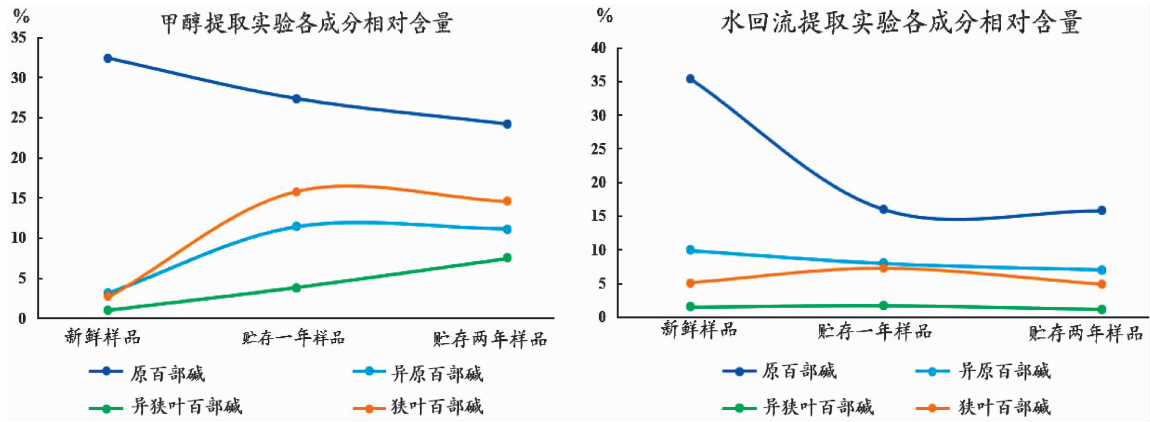


图 7 蔓生百部甲醇/水回流提取各成分相对含量变化图

在蔓生百部甲醇提取实验中, 原百部碱相对含量随时间下降, 异原百部碱、(异)狭叶百部碱相对含量随时间增加。贮存时间 2 年的样品中, 与原百部碱的相对含量接近。新鲜样品中几乎检测不到狭叶百部碱和异狭叶百部碱。这与前面实验一致, 证实狭叶百部碱、异狭叶百部碱为氧化产物。同样, 在水回流提取实验中, 原百部碱相对含量随时间急剧下降; 贮存时间 1、2 年样品中异原百部碱、(异)狭叶百部碱含量与原百部碱含量接近; 水回流提取导致新样品少量狭叶百部碱生成, 但干样品中狭叶百部碱相对含量低于甲醇提取。

结果均证实, 原百部碱在百部样品贮存过程中会转化为异原百部碱、(异)狭叶百部碱, 且不同提取方式会导致这几种标志性百部生物碱的相对含量不同。基于此, 我们推测了一条由原百部碱转变成狭叶百部碱等的可能途径(图 8)。原百部碱可以发生双键异构生产异原百部碱; 这两个碱都进一步水解开环、氧化、加成产生羟基狭叶百部碱、最后脱水生产(异)狭叶百部碱<sup>[9, 11, 15-21]</sup>。

本研究发现蔓生百部及其主要特征成分原百部碱的稳定性问题。目前, 尚未报道原百部碱、异原百部碱、狭叶百部碱和异狭叶百部碱能支撑百部传统的止咳、杀虫的功能, 因此不便将成分的变化等同于药材的药效降低; 但是尽量保持药材原有成分的稳定为妥。目前市场上百部储存不规范、成分差异很大, 单纯依靠形态的鉴别较难区别大、小百部, 百部药材特征成分的鉴别乃至定量的控制较为必要。本文仅抛砖引玉, 希望更多的专家关注、制定百部科学控制方案。

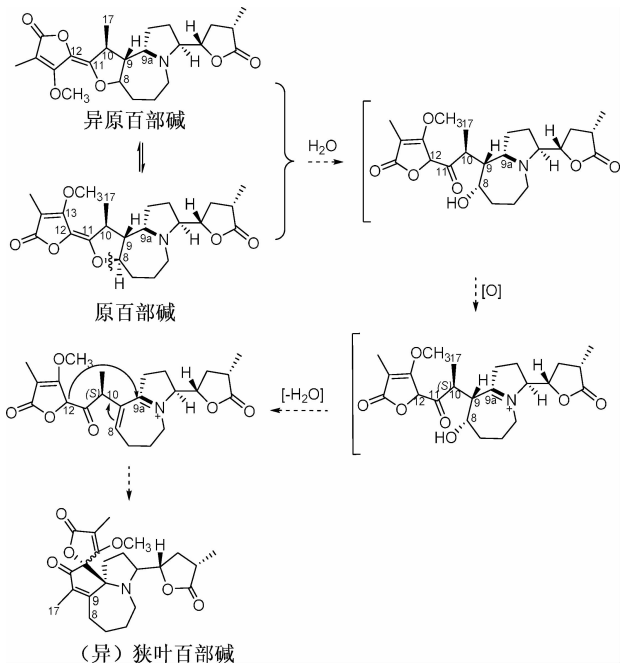


图 8 原百部碱到异原百部碱、(异)狭叶百部碱变化过程

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 138.  
 [2] 岳勇. 对叶百部化学成分的研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.  
 [3] 崔国静, 黄蕊, 贺蕾. 百部与蜜炙百部[J]. 首都医药, 2011, 18 (17): 47.  
 [4] 陈玉菡, 金江群, 刘旭, 等. 重庆地区野生大百部资源调

- 查[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(11): 4-9.
- [5] 胡君萍, 张囡, 毛一卿, 等. 《中国药典》3种百部的止咳作用比较[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 3096-3104.
- [6] 唐丹. 对叶百部内含物含量差异性初步研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020.
- [7] 杨诗博. 百部提取物杀螨活性及其对植物生长影响的研究[D]. 沈阳: 沈阳大学, 2020.
- [8] 张亚中, 袁杰, 班永生, 等. 蔓生百部质量标准研究[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(10): 1856-1860.
- [9] WANG L, WU H, LIU C, et al. A review of the botany, traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Stemona Radix* [J]. *Phytochem Rev*, 2022, 21(3): 835-862.
- [10] WANG F P, CHEN Q H. *Stemona* alkaloids: biosynthesis, classification, and biogenetic relationships [J]. *Nat Prod Commun*, 2014, 9(12): 1809-1822.
- [11] GREGER H. Structural classification and biological activities of *Stemona* alkaloids [J]. *Phytochem Rev*, 2019, 18(2): 463-493.
- [12] LIN W H, YE Y, XU R S, et al. Studies on new alkaloids of *Stemona mairei* [J]. *Chin Chem Lett*, 1991, 2(5): 369-370.
- [13] SHI B B, KONGKIATPAIBOON S, CHEN G, et al. Nematocidal alkaloids from the roots of *Stemona mairei* (H.L'ev.) K. Krause and identification of their pharmacophoric moiety [J]. *Bioorg Chem*, 2023, 130: 106239.
- [14] 吴思宇, 杨丹丹, 傅静, 等. 基于UV法和UPLC-Q-TOF/MS技术分析对叶百部加工前后生物碱的变化研究[J]. 现代中药研究与实践, 2019, 33(2): 9-12.
- [15] GREGER H. Structural relationships, distribution and biological activities of *Stemona* alkaloids [J]. *Planta Med*, 2006, 72(2): 99-113.
- [16] GREGER H. The Diversity of *Stemona* stilbenoids as a result of storage and fungal infection [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(12): 2261-2268.
- [17] LIU Y, SHEN Y, TENG L, et al. The traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Stemona* species: a review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 265: 113112.
- [18] PILLI R A, DE OLIVEIRA M. Recent progress in the chemistry of the *Stemona* alkaloids [J]. *Nat Prod Rep*, 2000, 17(1): 117-127.
- [19] PILLI R A, ROSSO G B, FERREIRA DE O M D C. The chemistry of *Stemona* alkaloids: an update [J]. *Nat Prod Rep*, 2010, 27(12): 1908-1937.
- [20] QIN G W, XU R S. Recent advances on bioactive natural products from Chinese medicinal plants [J]. *Med Res Rev*, 1998, 18(6): 375-382.
- [21] SHI T, WANG X, CHEN J, et al. Recent advances in the transformations of different types of *Stemona* alkaloids [J]. *Org Chem Front*, 2022, 9(16): 4478-4489.

(收稿日期: 2024-06-19)