

蜈蚣药材中毒性成分组织胺的含量测定

湖北省中医药研究院(武汉 430074) 方红* 邓芳

摘要 采用薄层色谱扫描法对中药少棘蜈蚣 *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch 和地方用品多棘蜈蚣 *S. multident* Newport、墨江蜈蚣 *S. mojiangica* Zhang et Chi 药材中的毒性成分组织胺进行了薄层色谱分析和含量测定,方法简便,准确,回收率为 96.2%。含量测定结果表明,各种蜈蚣药材中均存在毒性成分组织胺;组织胺主要存在于躯干部;不同产地的少棘蜈蚣组织胺含量差异较大;红足少棘蜈蚣和多棘蜈蚣组织胺含量较高。该研究为中药蜈蚣的毒性和安全用药提供了科学依据。

关键词 组织胺 少棘蜈蚣 多棘蜈蚣 墨江蜈蚣

中药蜈蚣即少棘蜈蚣 *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch 的干燥虫体,辛温,有毒。蜈蚣毒主要来自头部颚肢分泌物,吴刚等曾对活体少棘蜈蚣毒的化学组成和生物活性进行研究,报道蜈蚣毒主要由蛋白质组成,含量为 86%,含有 SER、PRO、ARG 三种游离氨基酸和多种微量元素,具有多种酶活性^[1]。Gomes 从哈氏蜈蚣 *Scolopendra dihaani* Brandt 的颚毒液中分离出一种酸性热不稳定的蛋白质毒素(toxin-S)和组胺样物质^[2,3]。中药蜈蚣毒除颚肢分泌物外是否还存在其它毒性成分是研究蜈蚣毒性所关注的问题。蜈蚣药材中是否存在组胺毒性成分尚无实验报道,为研究蜈蚣的毒性,对少棘蜈蚣药材以及多棘蜈蚣、墨江蜈蚣(地方习用品)药材的组织胺进行了薄层色谱分析,并用薄层扫描法测定了各种药用蜈蚣的组织胺含量,为进一步研究蜈蚣的毒性和安全用药提供科学依据。

1 实验方法与结果

1.1 仪器与试剂:日本岛津 CS-930 双波长薄层扫描仪;定量毛细管(USA);硅胶 G(青岛海洋化工厂);磷酸组胺对照品(中国药品生物制品检定所);实验用试剂均为分析纯;各种蜈蚣药材样品分别于 60℃干燥,研成细粉备用。

1.2 测定方法

1.2.1 对照品溶液配制:取磷酸组胺适量,精密称定,乘以 0.632,即换算出磷酸组胺中组胺的含量^[4],用水溶解定容,配制成 0.1 mg/mL 组织胺对照品溶液。

1.2.2 样品溶液制备:取蜈蚣粉末约 0.5 g,精密称定(同时取适量测定水分),置 25 mL 具塞锥形瓶中,精密加 20 mL 30%乙醇,超声提取 30 min,静置 10 min,将提取液离心 10 min (3000 r/min),精密吸取上清液 10 mL,水浴上挥干,精密加 4 mL 水溶解定容。

1.2.3 薄层层析条件:20cm×20 cm 硅胶 G 薄层板于 105℃活化 1 h,置干燥器中备用。以正丁醇-丙酮-氨水(4:1:0.4)为展开剂;展距 8 cm;试剂 I^[5](20%无水碳酸钠溶液)与试剂 II^[5](5 mL 1%对氨基苯磺酸的 1:9 盐酸溶液,逐滴加入 1 mL 2%亚硝酸钠溶液,临用前放置 3 min)临用前按 2:1 混合,喷雾显色,组织胺呈桔红色斑点,Rf 值 0.58。

1.2.4 薄层色谱扫描条件:测定波长 510 nm,参比波长 620 nm;锯齿扫描;Sx=3,ΔY=0.2 mm。组织胺斑点光谱扫描图及薄层色谱图见图 1、2。

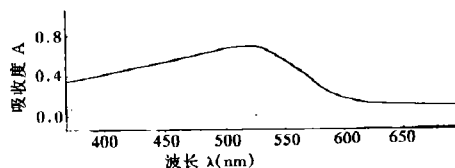


图 1 组织胺斑点光谱图

* Address: Fang Hong, Hubei Institute of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, Wuhan

△ 本文为国家中医药管理局八五科技攻关课题“常用中药材品种整理和质量研究蜈蚣专题”的部分研究内容。

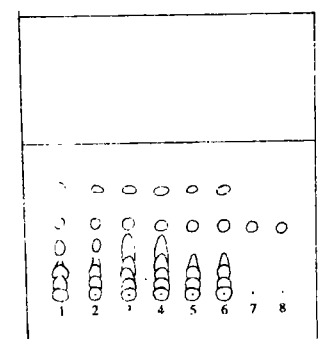


图2 蜈蚣组织胺薄层图

1、2-少棘蜈蚣 3、4-多棘蜈蚣
5、6-墨江蜈蚣 7、8-组织胺

1.3 组织胺斑点稳定性试验:取0.1 μg/mL组织胺对照品溶液4 μL点样,展开,显色后每隔1 h测定一次组织胺斑点峰面积,结果见表1。在0.5~5.0 h内斑点峰面积较稳定。

表1 斑点稳定性试验结果

时间(h)	0	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
峰面积	100919	104491	116930	118424	113906	108711	112398

1.4 标准曲线的绘制:分别取0.1 mg/mL组织胺对照品溶液0.5、1、2、4、5、8 μL,点于同一块20 cm×20 cm硅胶G板上,按以上薄层层析条件层析,显色,扫描。以组织胺点样量为横坐标,相应峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为 $Y=126001X+1800$ ($r=0.9985$),线性范围为0.05~0.8 μg。

1.5 回收试验:精密称取已知组织胺浓度的少棘蜈蚣细粉末约0.5 g,一式5份,分别精密加入组织胺标准溶液(82 μg/mL)2 mL。按样品溶液制备项下操作,按以上实验条件层析,显色,扫描,用外标二点法计算,回收率结果为96.2%,RSD=2.2% ($n=5$)。

表2 不同种蜈蚣组织胺含量测定结果

种名	产地及采捉时间	组织胺含量 μg/g*
少棘蜈蚣	湖北应山 1993 年	379.5
	湖北京山 1995 年	96.0
多棘蜈蚣	广西都安 1993 年	232.0
	广西都安 1995 年	502.0
墨江蜈蚣	云南墨江 1993 年	170.4

*为3~6次测定平均值,下同

1.6 样品测定:取样品试液10 μL,组织胺

对照品溶液0.5和4 μL分别点于同一块20 cm×20 cm硅胶G板上,层析展开,晾干,显色,薄层扫描,用外标二点法计算含量,结果见表2,表3,表4。

表3 不同产地少棘蜈蚣组织胺含量测定结果

序号	产地与采捉时间	组织胺含量 μg/g*	备注
1	湖北宜昌 1993 年	488.2	红足
2	湖北京山 1995 年	1068.2	红足
3	湖北应山 1993 年	379.5	黄足
4	湖北京山 1994 年秋	286.2	黄足
5	湖北京山 1994 年秋	94.4	黄足
6	浙江岱山 1995 年	243.4	红足
7	浙江岱山 1995 年	190.5	黄足

表4 少棘蜈蚣不同部位组织胺含量

部位	组织胺含量 μg/g
头部	29.3
躯干部	212.0

2 讨论

2.1 本实验结果证实少棘蜈蚣体内含有毒性成分组织胺,其含量为94~1068 μg/g,各地采捉的少棘蜈蚣组织胺含量差异很大,红足少棘蜈蚣较黄足的高。其它种的蜈蚣——多棘蜈蚣、墨江蜈蚣也均含有组织胺,其中多棘蜈蚣的含量较高。该实验结果为进一步研究蜈蚣毒性和安全用药提供了科学依据。

2.2 少棘蜈蚣采捉时多将毒颚肢摘除,但也有不摘除者。毒颚肢完整的头部与躯干部组织胺含量比较实验结果表明两部位均存在组织胺,且躯干部较头部含量高约7倍,说明组织胺存在部位主要在躯干部。

2.3 蜈蚣粉末的提取液经离心除蛋白和残渣后,挥干溶剂,仍有少许絮状蛋白质析出,用水溶解定容时,供试液呈乳浊状,薄层层析中供试液中的蛋白质成分大多滞留在原点和Rf值0.1~0.2的位置,不影响组织胺的检出。

参考文献

- 1 吴刚,等.生物化学杂志,1992,8(2):144
- 2 Gomes A, et al. Indian J Exp Biol, 1983, 21(4): 203
- 3 Gomes A, et al. Indian J Med Res, 1982, 76(Dec.): 888
- 4 王瑛,等.药物分析杂志,1994,14(5): 58
- 5 胡乃钊主编.新编毒物分析化学.北京:群众出版社, 1986. 557

(1996-10-03 收稿)