

野罂粟不同产地不同部位中生物碱类成分的比较研究

李慧芳^{1,2,3}, 庄丽^{1,2,4}, 董又溧^{1,2}, 阿如汗^{1,2,5}, 闫国跃^{1,2}, 刘辰^{1,2}, 周文斌^{1,2}, 刘金欣³, 阿里穆斯^{1,2*}

1. “中国少数民族传统医学”国家民委-教育部重点实验室, 北京 100081
2. 中央民族大学药学院, 北京 100081
3. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193
4. 日照市中医医院, 山东 日照 262300
5. 内蒙古师范大学地理科学学院, 内蒙古 呼和浩特 010020

摘要: 目的 对不同居群野罂粟 *Papaver nudicaule* 的全草及不同部位(根、茎、叶、花、果)总生物碱及 3 种主要生物碱(野罂粟碱、黑龙辛甲醚、瑞芬热米定)进行测定, 为野罂粟药材的科学利用与质量评价提供科学依据。方法 采用 HPLC-MS-IT-TOF 法对野罂粟全草进行定性分析, 分别采用溴甲酚绿酸性染料比色法和 UPLC-MS 法对野罂粟的总生物碱及 3 种主要生物碱进行定量测定。结果 通过定性分析, 初步得到 13 个生物碱成分, 基本确定了其中 6 个主要生物碱成分; 定量分析结果表明, 各成分的量均表现出较大的变异性, 其中以乌兰布统、黄岗梁和多伦地区的综合品质较好, 其中乌兰布统的野罂粟品质最佳; 并且其全草和花中所含有的生物碱类成分最高。结论 评价野罂粟品质特征时建议以总生物碱和野罂粟碱为主要参考指标; 建议选择乌兰布统、黄岗梁和多伦开展野罂粟优良品种选育和药材质量标准制定及道地产地规划等研究, 而最佳采收期应选在 7 月下旬至 8 月上旬为宜, 采收部位应选择花和全草。

关键词: 野罂粟; UPLC-MS; 全草; 野罂粟碱; 黑龙辛甲醚; 瑞芬热米定; 总生物碱

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)23-4986-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.23.026

Content determination of alkaloids in different parts of *Papaver nudicaule* from different populations

LI Hui-fang^{1,2,3}, ZHUANG Li^{1,2,4}, DONG You-li^{1,2}, Aruhan^{1,2,5}, YAN Guo-yue^{1,2}, LIU Chen^{1,2}, ZHOU Wen-bin^{1,2}, LIU Jin-xin³, BORJIGIDAI Almaz^{1,2}

1. Key Laboratory of Minority Traditional Medicine (Minzu University of China), Ministry of Education, Beijing 100081, China
2. College of Pharmacy, Minzu University of China, Beijing 100081, China
3. Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China
4. Rizhao Hospital of TCM, Rizhao 262300, China
5. College of Geographical Science, Inner Mongolia Normal University, Huhhot 010020, China

Abstract: Objective To determine the qualities *Papaver nudicaule* from different populations, a total alkaloid and three main kinds of alkaloids (reframidine, nudicauline, and amurensinine) from different parts, in order to provide a scientific basis for rational utilization and quality evaluation of *P. nudicaule*. **Methods** The qualitative and quantitative analysis of *P. nudicaule* has been conducted based on the method of LCMS-IT-TOF, Bromocresol green acid dye colorimetry and UPLC-MS, respectively. **Results** From the quantitative analysis, 13 kinds of alkaloids have been analyzed, in which eight kinds of chemical structures have been identified, and the results of quantitative analysis showed that there were greater variabilities in total alkaloid and three main kinds of alkaloids. Comprehensively, the plants grown in WLBT, HGL, and DL were better than other populations, in which the plants grown in WLBT were the best. In addition, the contents of total alkaloid and three

收稿日期: 2017-04-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573535); 北京市自然科学基金资助项目(5132013); 北京市科技新星交叉课题(XXJC201604); 国家科技支撑计划(2013BAC09B03-4); 教育部长江学者—创新团队计划(IRT_13R63)

作者简介: 李慧芳(1985—), 女, 蒙古族, 内蒙古人, 硕士研究生, 主要从事中药及民族药研发工作。Tel: 18600500881 E-mail: aylg2007@126.com

***通信作者** 阿里穆斯(1974—), 男, 蒙古族, 内蒙古人, 教授, 主要从事民族医药资源保护研究。Tel: 13260061918 E-mail: almaz.b@hotmail.com

main kinds of alkaloids were highly existed in the entire plants and flowers. **Conclusion** Based on the evaluation of the quality characteristics of *P. nudicaule*, it is suggested that total alkaloid and nudicauline can be seen as main reference indexes. Additionally, the result suggests that WLBT, HGL, and DL can be chosen to select and breed excellent quality of *P. nudicaule*, develop the quality standard and make layout of source area. The best harvest time should be chosen in late July to early August, and harvest site should be chosen flowers and whole plants.

Key words: *Papaver nudicaule* L.; UPLC-MS; whole plants; nudicauline; amurensinine; reframidine; total alkaloid

野罂粟 *Papaver nudicaule* L. 是罂粟科罂粟属多年生草本植物, 其果实及全草入中药; 花入蒙药, 收载于蒙药大师占布拉·道尔吉的《蒙药正典》, 蒙药名为哲日力格-阿木 (Jirilig-amu), 作为我国北方民族常用药材沿用已久, 主要用于治疗久咳、喘息和久泻^[1]。但是, 建国以来有关野罂粟的研究长期受到限制, 直至 1987 年 8 月, 卫生部下发“关于罂粟碱、烯丙吗啡和阿朴吗啡不再列入麻醉药品管理范围的通知”为罂粟科植物的研究与开发提供了政策保障与有利条件^[2-3]。野罂粟的有效成分为生物碱类^[4-6], 能显著抑制胃肠蠕动, 降低十二指肠张力, 有明显的止泻作用, 能迅速缓解甚至消除腹泻与腹痛症状且不具成瘾性。与同类药物比较, 在不改变胃肠菌群环境而发挥抗腹泻作用方面具有明显的优势, 可作为先导化合物通过人工合成进入临床, 是一种极具开发前景的天然民族药物。近年来更是作为吗啡类药物的替代品备受瞩目, 并作为“咳欣康”“咳喘宁”等中药的主要成分被广泛熟知和大量开发^[7-10]。

中药资源领域认为“诸药所生, 皆有其境”, 即生态环境因子对药材品质的形成具有重要影响^[11-13]。即便是同种药材, 由于气候、土壤、地形地貌、群落生态等因素在不同地区存在不均一性和空间异质

性, 这些影响因素增加了对药材品质的科学评价和质量控制的不确定性。此外, 大量研究表明, 药材产地、采收期及采收部位不同, 其化学成分及量也有明显差异, 这些因素将直接影响药材的临床疗效^[14-16]。

野罂粟在内蒙古境内主要分布于兴安岭北部、岭西、岭东、兴安南部、燕山北部、呼-锡高原、阴山等区域^[17-18]。本研究在不同生境条件下选择 12 个野罂粟野生居群作为研究对象, 通过 HPLC-MS-IT-TOF 法对其全草进行定性分析, 同时采用溴甲酚绿酸性染料比色法测定全草及不同部位 (根、茎、叶、花、果) 的总生物碱 (TAPN) 量; 采用 UPLC-MS 法分别测定全草及不同部位中野罂粟碱、黑龙辛甲醚和瑞苳热米定量, 为野罂粟药材的科学利用与质量评价提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

2015 年 6~7 月, 野罂粟样品和土壤样品分别采集于 12 个不同野生居群 (表 1), 每个居群采集 15 株左右, 共计 208 株, 将健康幼嫩的叶片采用硅胶干燥处理后密封保存。所有药材均经中央民族大学少数民族传统医学研究院阿里穆斯教授鉴定为罂粟科植物野罂粟 *Papaver nudicaule* L.。

表 1 野罂粟样品采集地概况

Table 1 General situation of sampling sites for *P. nudicaule*

编码	采样地点	生境条件	经度/(°)	纬度/(°)	海拔/m
ERGN	额尔古纳	草甸	120.25	50.31	577
HLE	海拉尔	林下草甸	119.69	49.41	630
EWK	鄂温克	草地	119.74	49.17	685
AES	阿尔山	林下草甸	119.92	47.22	969
HS	罕山	山坡草地	120.02	45.12	940
HGL	黄冈梁	草甸	117.61	43.56	1 560
WLBT	乌兰布统	草甸	117.32	42.58	2 126
DL1	多伦 1	山坡草地	116.77	42.45	1 402
DL2	多伦 2	草地	116.78	42.43	1 390
HHG2	黄花沟 2	砾质山坡	112.57	41.19	2 053
HHG1	黄花沟 1	草地	112.59	41.09	2 015
XJG	小井沟	山坡	111.80	41.03	1 643

1.2 仪器及试剂

FZ102 型微型植物试样粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); KQ-500E 超声清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); TU-1901 双光束紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); XP205 精密分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); Sartorius PB-10 型 pH 计 (贝斯达仪器有限公司); HPLC-MS-IT-TOF 离子阱-飞行时间液质联用仪 (日本 Shimadzu 公司); ACQUITY UPLC-TQD 超高效液相三重四级杆质谱 (美国 Waters 公司); RE-52A 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)。

因目前在市面上无法购买到野罂粟碱、黑龙辛甲醚与瑞芙热米定 3 种单体生物碱的对照品, 本研究在参照本课题组前期工作基础上^[2,4-6,19], 依据《中国药典》2015 年版选择结构上与上述生物碱相似的青藤碱作为对照品, 对其进行了相对测定。对照品青藤碱 (批号 110774-200507) 购于中国食品药品检定研究院, 质量分数大于 98%; 氯仿、醋酸钠、醋酸、溴甲酚绿等均为分析纯 (购自北京化工厂), 水为超纯水 (Heal Force 超纯水系统制得)。

2 方法与结果

2.1 生物碱定性分析 LC-MS 条件

2.1.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水 (A)-乙腈 (B) (35:65), 体积流量 1 mL/min, 柱温 25 °C; 经 3 通阀分流, 进样量 1 μL

2.1.2 质谱条件 离子源: ESI, 正离子扫描; 扫描范围 m/z 100~1 200; 加热模块温度 200 °C; CDL 温度 200 °C; 雾化气体体积流量 1.5 L/min; 干燥气体压力 103.0 kPa; 离子源电压 4.5 kV; 检测器电压 1.57 kV。

按照上述条件对野罂粟全草进行定性分析, 得到野罂粟全草中的生物碱成分的 HPLC-MS 总离子流图 (图 1)。根据野罂粟样品的质谱总离子流色谱图给出的质谱信息, 结合已有文献资料^[4-6,20-21], 初步推测总离子流图中的 1、5、8、10、11、12 号共计 6 个峰进行了归属, 其质谱信息见表 2。

采用 HPLC-MS-IT-TOF 对野罂粟全草中的生物碱成分进行定性分析, 初步发现了 13 个成分, 初步推测了其中 6 个生物碱成分, 分别为罂粟碱、(-)-8,14-dihydroflavinantine、(+)-amuronine、野罂粟碱、黑龙辛甲醚与瑞芙热米定。

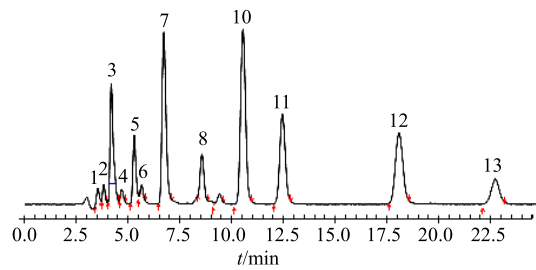


图 1 野罂粟全草的生物碱成分 HPLC-MS 总离子流图

Fig. 1 HPLC-MS chromatographs of alkaloid of *P. nudicaule*

表 2 采用 HPLC-MS-IT-TOF 得到的野罂粟主要化合物

Table 2 Results of speculative compounds in *P. nudicaule* by HPLC-MS-IT-TOF

峰号	[M+H] ⁺	分子式	误差/(×10 ⁻⁶)	化合物
1	340.150	2C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	1.0	罂粟碱
5	330.165	3C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	-1.2	(-)-8,14-dihydroflavinantine
8	314.171	9C ₁₉ H ₂₂ NO ₃	-2.5	(+)-amuronine
10	328.151	0C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	-4.5	野罂粟碱
11	340.114	5C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	0.5	黑龙辛甲醚
12	324.120	0C ₁₉ H ₁₇ NO ₄	-0.8	瑞芙热米定

2.2 总生物碱测定方法

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取青藤碱对照品 5.03 mg, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加适量 pH 值 3.6 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.503 mg/mL 对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取各样地植物样品约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 pH 值 3.6 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液 30 mL, 振摇 5 min, 放置过夜, 用干燥滤纸滤过, 取续滤液即得供试品液。

2.2.3 最大吸收波长的选择 定量吸取对照品溶液与供试品溶液 3 mL, 分别置于 125 mL 分液漏斗中, 各精密加入 pH 3.6 的醋酸-醋酸钠缓冲液 10 mL 及用上述缓冲溶液配制的 0.04% 溴甲酚绿溶液 3 mL, 摇匀; 加氯仿 10 mL 振摇萃取 5 min, 静置, 待溶液完全分层后, 分取氯仿层。将氯仿层用氯仿湿润的滤纸滤入 25 mL 量瓶中, 再用氯仿 (5 mL) 萃取 3 次, 同法依次滤入量瓶中, 最后用氯仿洗涤滤纸, 滤入量瓶中, 加氯仿至刻度, 摇匀。同法制得空白溶液, 以空白溶液为参比, 200~500 nm 内进行光谱扫描。结果表明, 对照品溶液和供试品溶液均在 414 nm 处有稳定的最大吸收, 空白液基本无吸收, 故选择 414 nm 为测定波长。

2.2.4 标准曲线的绘制 分别精密吸取青藤碱对照品储备液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.6、2.0 mL 至 5

mL 量瓶中, 加缓冲液定容, 摇匀。再分别取各对照品溶液 3 mL 按“2.2.1”项下方法操作, 按照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2015 年版一部附录 VA)在波长 414 nm 处测定各对照品溶液的吸光度, 以吸光度值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=0.0041X+0.0128$, $r=0.9996$, 表明青藤碱在 10.6~201.2 mg/mL 有良好的线性关系。

2.3 生物碱类成分测定方法

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取青藤碱对照品 0.42 mg, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶液并稀释至刻度, 摇匀, 即 42 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取干燥的野罂粟样品约 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 pH 3.6 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液 25 mL, 振摇 5 min, 室温放置过夜; 离心, 精密量取上清液 10 mL, 加氨水碱化至 pH 值为 8~9, 用醋酸乙酯 20 mL 振摇萃取 5 min, 待溶液完全分层后, 分取醋酸乙酯液旋转蒸发浓缩, 残渣加甲醇适量使溶解, 转入 5 mL 量瓶中, 定容至刻度, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3.3 色谱条件 AQUITY UPLC BEH Cis 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈 (A) - 0.05% 氨水溶液 (B), 梯度洗脱流程为 0~15 min, 35% A; 16~25 min, 45% A; 26~35 min, 65% A; 柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 2 μL ; 体积流量 0.4 mL/min。样品和青藤碱对照的液相色谱图见图 2。

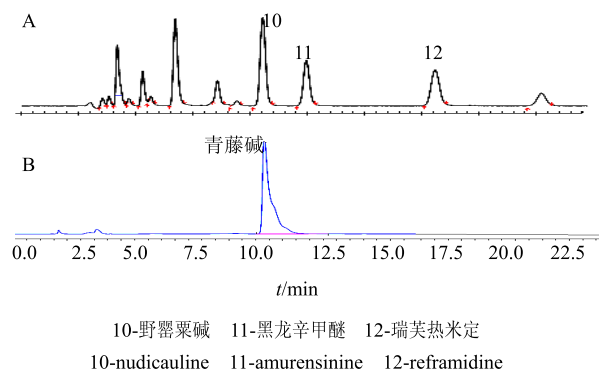


图 2 样品 (A) 和青藤碱 (B) UPLC 色谱图

Fig. 2 UPLC of sample (A) and sinomenine (B)

2.3.4 线性关系考察 将配制好的青藤碱对照品储备液分别稀释为 0.013、0.067、0.336、1.680、8.400 $\mu\text{g/mL}$ 系列标准溶液, 分别进样 2 μL , 记录色谱图。以峰面积为纵坐标 (Y), 青藤碱对照品质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=28664X+330.55$, $r=0.9997$, 表明青

藤碱在 0.013 4~8.400 0 $\mu\text{g/mL}$ 呈良好的线性关系。

2.3.5 稳定性试验 取“2.3.1”项对照品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 h 内进样, 计算青藤碱质量分数及 RSD, 结果 RSD 为 0.88%。表明室温条件下, 供试品溶液中各成分在 12 h 内稳定。

2.3.6 重复性试验 取同一批样品 (XJG), 按“2.3.2”项方法制备 6 份供试品溶液, 计算青藤碱质量分数及 RSD, 结果 RSD 为 0.96%, 表明方法重复性良好。

2.3.7 精密度试验 精密吸取青藤碱对照品溶液 3.0 mL, 按“2.3.3”项方法操作测定, 平行测定 6 次, 所测得的青藤碱质量分数 RSD 为 1.65%, 表明仪器精密度符合要求。

2.3.8 加样回收率试验 分别精密称取已测定野罂粟碱量的同一批样品 (HGL) 约 0.5 g, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 分别等量加入青藤碱对照品, 按照“2.3.2”项方法制备供试品, 并以“2.3.3”项条件测定, 结果总生物碱的平均回收率为 99.08%, RSD 为 1.11%, 表明本法准确度较好。

2.3.9 样品的测定 因无法得到野罂粟碱、瑞苳热米定和黑龙辛甲醚的对照品, 根据所建立的 UPLC 定量检测方法, 参考《中国药典》2015 年版和“一测多评”的方法^[22-23], 应用对照品青藤碱的线性方程计算, 同时测定样品中野罂粟碱、瑞苳热米定和黑龙辛甲醚 3 种生物碱成分的量。野罂粟碱、瑞苳热米定、黑龙辛甲醚与青藤碱的相对校正因子 (f) 分别为 0.996、1.032、0.984。

3 结果与分析

3.1 不同居群野罂粟全草生物碱分析

按照“2.2”项和“2.3”项对 12 个不同居群野罂粟全草中总生物碱及 3 个主要生物碱(野罂粟碱、黑龙辛甲醚、瑞苳热米定)进行测定(表 3)。结果表明, 不同居群野罂粟中瑞苳热米定、野罂粟碱、黑龙辛甲醚及总生物碱量差异显著。

基于测定结果, 对 12 个不同居群野罂粟中生物碱类成分进行比较, 由图 3 可见, 野罂粟全草中的总生物碱及 3 种主要生物碱量在不同居群之间存在一定的差异, 总体来看, 乌兰布统 (WLBT)、多伦 1 (DL1)、黄岗梁 (HGL) 及多伦 2 (DL2) 等 4 个居群野罂粟的都高于其他居群, 其中总生物碱量的变化范围在 1.051 7~4.581 3 mg/g, 变异系数 (CV) 为 0.467 6, 总体平均值为 2.203 8 mg/g, 最大值出现在 WLBT 样地。野

表 3 不同居群野罂粟不同部位中生物碱的测定结果

Table 3 Contents of alkaloids in different parts of *P. nudicaule* from different populations

编码	总生物碱/(mg·g ⁻¹)						野罂粟碱/(mg·g ⁻¹)					
	全草	根	茎	叶	花	果	全草	根	茎	叶	花	果
WLBT	4.581 3	3.363 6	2.222 4	5.273 4	3.700 3	1.302 1	2.018 5	0.788 6	0.171 8	3.375 9	2.674 6	0.852 4
HGL	2.543 9	1.525 8	3.500 4	2.846 1	5.372 8	1.373 8	2.002 6	0.724 8	0.077 0	1.361 2	3.128 2	0.887 5
HS	1.051 7	1.198 0	1.262 4	1.300 2	1.509 7	0.299 7	0.237 0	0.447 5	0.022 6	1.075 3	1.042 5	0.251 7
HHG1	1.071 4	0.965 0	0.962 2	0.250 6	0.414 9	0.519 1	0.316 7	0.777 7	0.064 2	0.161 5	0.105 4	0.357 8
DL2	2.817 7	0.907 0	1.291 0	0.532 6	0.921 3	0.547 4	0.267 6	0.910 5	0.014 6	0.220 6	0.236 4	0.444 4
DL1	3.281 4	2.575 9	1.108 7	0.652 8	1.099 1	0.959 8	0.698 7	0.796 5	0.354 9	0.238 2	0.292 7	0.615 6
HHG2	1.724 9	2.202 9	1.329 1	0.883 4	1.494 5	1.088 0	0.490 0	1.534 0	1.245 0	0.146 9	0.099 1	0.163 7
XJG	1.265 4	0.788 5	1.041 8	0.663 8	0.748 9	0.684 2	0.115 2	1.534 1	1.288 6	0.115 5	0.280 5	0.378 1
ARS	2.124 2	1.208 0	0.775 8	0.237 1	0.851 0	0.583 3	0.050 3	0.284 3	0.387 2	0.031 9	0.035 8	0.126 3
EWK	2.290 4	1.359 2	1.359 2	1.096 1	1.196 6	0.728 0	0.011 7	0.245 1	0.226 7	0.011 0	0.010 9	0.011 6
HLE	1.408 0	1.700 1	1.226 8	1.727 7	1.247 7	0.759 7	0.002 2	0.167 9	0.230 7	0.102 6	0.033 9	0.019 4
ERGN	2.285 2	1.037 6	0.569 2	0.177 3	0.361 2	0.356 5	0.631 7	0.039 7	0.218 8	0.003 1	0.006 7	0.010 6
平均值	2.203 8	1.569 3	1.387 4	1.303 4	1.576 5	0.766 8	0.570 2	0.687 6	0.358 5	0.570 3	0.662 2	0.343 3
标准差	1.030 4	0.778 2	0.776 8	1.461 0	1.473 4	0.348 2	0.710 6	0.488 1	0.440 7	0.985 4	1.087 4	0.309 6
CV	0.467 6	0.495 9	0.559 9	1.120 9	0.934 6	0.454 1	1.246 2	0.709 9	1.229 3	1.727 9	1.642 1	0.901 8

编码	黑龙辛甲醚/(mg·g ⁻¹)						瑞芙热米定/(mg·g ⁻¹)					
	全草	根	茎	叶	花	果	全草	根	茎	叶	花	果
WLBT	1.138 2	0.212 0	0.950 8	1.914 2	1.617 5	0.345 3	0.294 0	0.052 6	0.171 8	0.273 1	0.222 3	0.026 5
HGL	1.085 8	0.148 8	0.656 7	1.048 5	1.527 2	0.357 1	0.157 0	0.012 1	0.077 0	0.204 6	0.222 2	0.195 6
HS	0.004 5	0.144 4	0.671 4	0.339 5	0.768 9	0.020 2	0.169 8	0.021 1	0.022 6	0.059 3	0.054 6	0.006 6
HHG1	0.004 6	0.029 7	0.015 4	0.010 9	0.002 0	0.005 7	0.040 0	0.267 9	0.064 2	0.026 0	0.098 9	0.017 3
DL2	0.346 1	0.020 5	0.023 9	0.003 1	0.003 3	0.004 7	0.838 9	0.502 3	0.014 6	0.005 6	0.051 5	0.026 6
DL1	0.455 3	0.084 3	0.036 0	0.001 5	0.008 4	0.026 1	1.287 8	0.481 1	0.354 9	0.130 5	0.337 8	0.400 3
HHG2	0.010 4	0.513 4	0.408 8	0.306 3	0.470 1	0.627 9	0.202 3	1.818 5	1.245 0	0.528 8	0.764 9	1.307 3
XJG	0.272 2	0.597 5	0.443 4	0.223 0	0.326 6	0.405 4	0.377 9	2.233 8	1.288 6	0.502 5	0.939 5	1.411 0
ARS	0.455 9	0.850 1	0.201 9	0.128 2	0.373 7	0.160 9	0.159 7	0.194 7	0.387 2	0.124 2	0.626 2	0.386 5
EWK	0.730 0	0.653 9	0.723 7	0.604 0	0.751 0	0.363 9	0.106 4	0.153 9	0.226 7	0.135 7	0.135 1	0.095 8
HLE	0.956 1	0.180 3	0.635 4	0.658 6	0.624 3	0.328 8	0.145 9	0.333 9	0.230 7	0.163 5	0.243 0	0.091 6
ERGN	0.523 2	1.819 1	1.431 1	0.640 5	0.913 6	0.663 8	0.327 9	0.317 1	0.218 8	0.025 6	0.160 3	0.138 7
平均值	0.498 5	0.437 8	0.516 5	0.489 9	0.615 6	0.275 8	0.342 3	0.532 4	0.358 5	0.181 6	0.321 4	0.342 0
标准差	0.407 0	0.514 2	0.422 8	0.553 4	0.543 5	0.233 7	0.362 7	0.721 6	0.440 7	0.174 6	0.294 2	0.493 9
CV	0.816 4	1.174 5	0.818 6	1.129 6	0.882 9	0.847 4	1.059 6	1.355 4	1.229 3	0.961 5	0.915 4	1.444 2

罂粟碱量在不同居群之间变化范围在 0.002 2~2.018 5 mg/g, CV 为 1.246 2, 总体平均值为 0.570 2 mg/g, 最大值出现在 WLBT 样地。黑龙辛甲醚量的最大值出现在 WLBT 样地, CV 为 0.816 4, 总体平均值为 0.407 0 mg/g; 而与以上的 3 个生物碱成分的最大值都出现在 WLBT 样地的情况不同, 瑞芙热米定量值则出现在 DL1 样地, 其变异系数为 1.059 6, 总体平均值为 0.342 3 mg/g。总体而言, 野罂粟中总生物碱量最高, 其次为野罂粟碱, 量最低的为瑞芙热米定; 其中各生物碱成分的 CV 表现出野罂粟

碱 (1.246 2) > 瑞芙热米定 (1.059 6) > 黑龙辛甲醚 (0.816 4) > 总生物碱 (0.467 6)。

3.2 野罂粟不同药用部位生物碱分析

中药及蒙药同一种植物不同部位所含有的活性成分及功效有所不同^[19,24-27]。图 4 为对不同居群野罂粟的不同部位 (根、茎、叶、花、果) 中所含有的生物碱类成分比较结果, 其中横坐标表示不同部位, 依次为根、茎、叶、花、果, 纵坐标表示 4 种成分的量; 图中不同居群从左到右依次代为乌兰布统、黄岗梁、罕山、黄花沟 1、多伦 2、多伦 1、黄

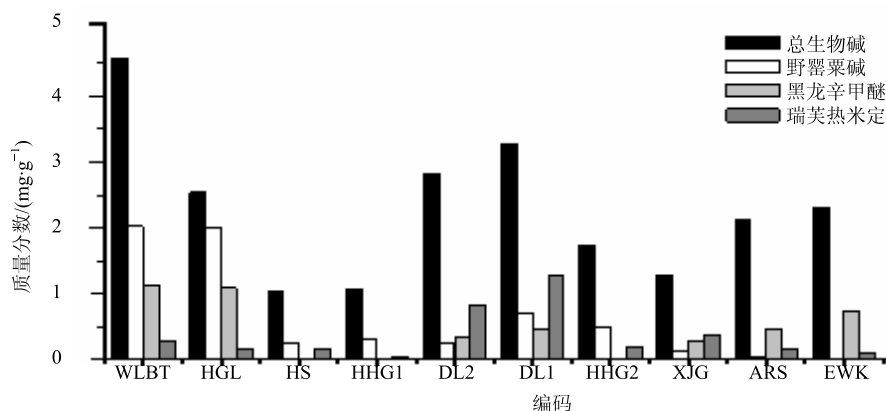


图 3 不同居群野罂粟中生物碱量比较

Fig. 3 Comparison on contents of alkaloids in *P. nudicaule* from different populations

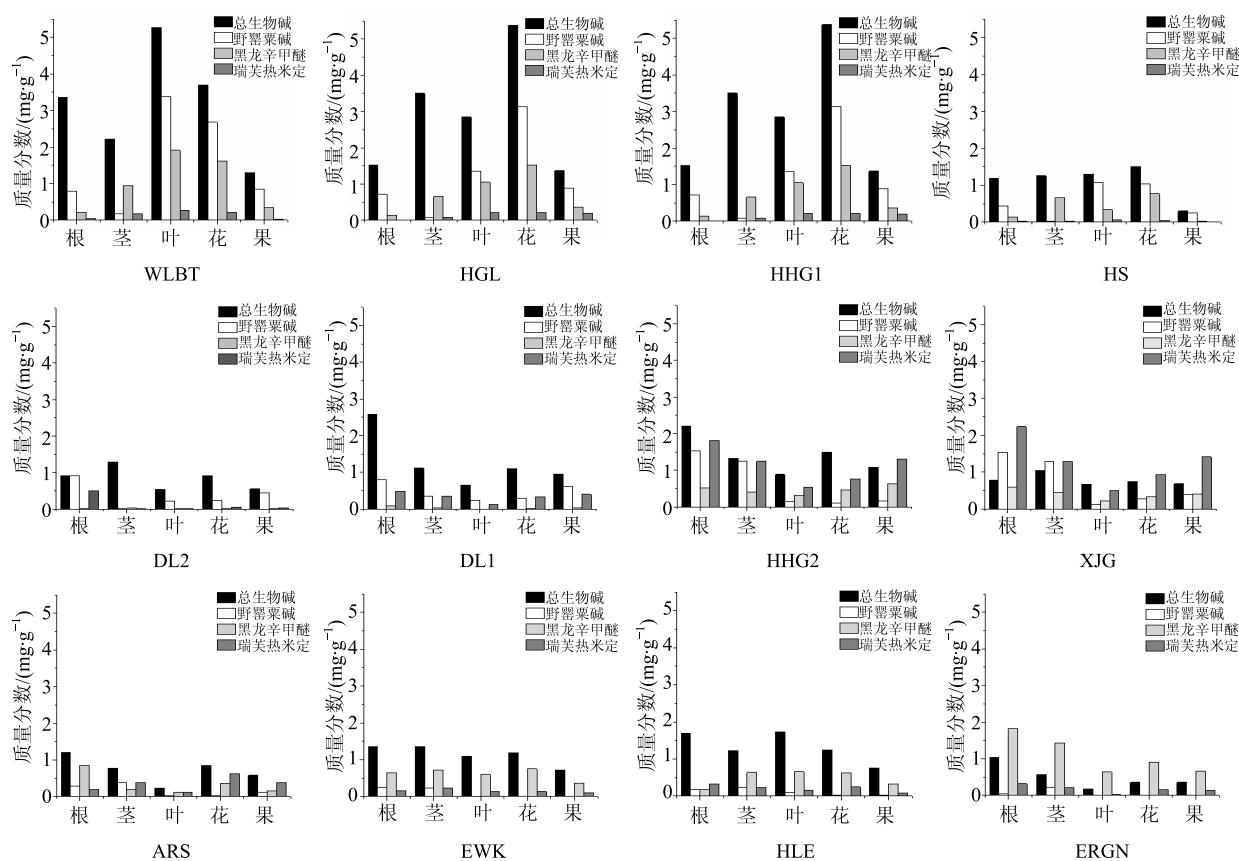


图 4 不同居群野罂粟不同部位中生物碱量比较

Fig. 4 Comparison of contents of alkaloids in different parts of *P. nudicaule* from different populations

花沟 2、小井沟、阿尔山、鄂温克、海拉尔和额尔古纳。由图 4 可见，乌兰布统（WLBT）和黄岗梁（HGL）居群中总生物碱、野罂粟碱和黑龙辛甲醚量明显高于其他居群，其中总生物碱在花和叶子中量较高，这与传统蒙药野罂粟花入药基本一致，因此验证了传统蒙药选择野罂粟花入药的科学性。然而，本研究结果中显示果实中量最低，与中药选择

的药用部位果实入药及赵春颖等^[28]的野罂粟壳及种子中量最高等有所差别，其原因可能与采集药材的时间相关；因为有关采收期对野罂粟量的影响^[29]的研究表明，生长在河北省承德一带的野罂粟的最佳采收期为 7~8 月份。而本研究采集的时间是盛花期，当时野罂粟果实尚未成熟，因此采集量较少，量较低。因此将在今后的研究中考虑采集不同时期

的野罂粟, 并对其进行定量分析, 进一步研究采收期对野罂粟品质野罂粟最佳采收期的影响。

4 讨论

本研究采用 LC-MS-IT-TOF 对野罂粟全草中的生物碱成分进行定性分析, 发现了 13 个成分, 初步推测了其中 6 个生物碱成分, 分别为罂粟碱、(-)-8,14-dihydroflavine、(+)-amurinine、野罂粟碱、黑龙辛甲醚与瑞芙热米定等, 并对其中野罂粟碱、黑龙辛甲醚与瑞芙热米定等 3 种生物碱单体进行定量测定。由于市场上无法购买到野罂粟碱、黑龙辛甲醚与瑞芙热米定等 3 种生物碱单体的对照品, 且国内开展野罂粟研究较早的课题组^[29-31]也无法提供上述生物碱的对照品。因此, 本研究参考《中国药典》2015 年版选择了结构上与上述生物碱相似的青藤碱作为对照品, 对其进行了相对量测定。本实验结果与潘文清等^[32]、赵春颖等^[33]等的研究基本一致, 即野罂粟全草及不同部位中所含有的生物碱基本一致, 其中总生物碱和野罂粟碱量较高, 并且野罂粟碱是野罂粟特有的生物碱, 因此可以用总生物碱及野罂粟碱来初步判断野罂粟的品质; 虽然, 瑞芙热米定和黑龙辛甲醚的量较少, 但是, 瑞芙热米定有抑制气管平滑肌收缩作用^[34], 可能与野罂粟治疗久咳及喘息有关, 因此综合判断野罂粟品质特征有一定的辅助作用。

综上所述, 评价野罂粟品质特征时建议主要以总生物碱和野罂粟碱为参考指标, 以微量瑞芙热米定及碱黑龙辛甲醚为辅助指标; 建议选择乌兰布统、黄岗梁和多伦开展野罂粟优良品种选育和药材质量标准制定及道地产地规划等研究, 采收部位应选择花和全草, 而最佳采收期应选在 7 月下旬至 8 月上旬为宜。

参考文献

[1] 占布拉道尔吉. 蒙药正典 [M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1988.

[2] 蓝蓉, 崔箭. 民族药野罂粟的化学及应用研究现状与发展前景 [J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(4): 51-53.

[3] 阿里穆斯, 王勇, 庄丽, 等. 野罂粟生物碱化学成分及生物活性研究进展 [J]. 中央民族大学学报, 2013, 22(3): 1-11.

[4] 张沿军, 于永芳, 康少文, 等. 野罂粟蒴果化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 1997, 28(1): 7-10.

[5] 张沿军, 李锦, 康少文, 等. 野罂粟蒴果化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 1998, 29(5): 296-298.

[6] 陶炳. 野罂粟化学成分分析 [D]. 北京: 中央民族大学, 2010.

[7] 陶炳, 张奥, 蓝蓉. 生物碱类镇痛活性成分及其镇痛机制研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(4): 957-960.

[8] 佟继名, 佟悦. 野罂粟总生物碱镇痛作用实验观察 [J]. 中国民族民间医药杂志, 1998, 32(3): 31-33.

[9] 杨宇杰, 佟继铭, 袁亚非, 等. 野罂粟总生物碱镇痛作用与前列腺素及阿片受体的关系 [J]. 中草药, 2005, 36(7): 83-86.

[10] 杨宇杰, 王春民, 袁亚非, 等. 野罂粟总生物碱镇痛作用部位的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 554-557.

[11] 徐皓. HPLC 法测定不同产地元胡药材中 5 种生物碱含量 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(8): 1403-1407.

[12] 曹海禄, 曹国番, 魏建和, 等. 遗传和环境因子对药用植物品质的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(5): 785-788.

[13] 王洪成, 尹海波, 曹波, 等. HPLC 同时测定不同产地野老鹳草中 5 种活性成分含量 [J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(4): 834-836.

[14] 彭亮, 李治光, 陈杰, 等. 不同产地、不同品种间绞股蓝总皂苷和总多糖含量比较研究 [J]. 亚太传统医药, 2015, 11(22): 21-24.

[15] 王晓博, 张俏, 曹爱兰, 等. 铁冬青不同产地不同部位质量分析 [J]. 中南药学, 2016, 14(7): 726-730.

[16] 胡婉琦, 张瑜, 杨宁, 等. HPLC-ELSD 法测定人参属药材不同部位中的 20(R)-25-羟基-原人参三醇 [J]. 中草药, 2016, 47(8): 1401-1404.

[17] 朱亚民. 内蒙古植物志 (第一、二、三卷) [M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2000.

[18] 内蒙古植物志编辑委员会. 内蒙古植物志 [M]. 第 2 版. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1998.

[19] 严辉, 段金殿, 尚尔鑫. 当归不同部位入药功效取向差异的化学物质基础与药性关联性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3208-3213.

[20] Philipov S, Istakova R, Yadamsurengiin G, et al. A new 8, 14-dihydropromorphine alkaloid from *Papaver nudicaule* L. [J]. *Nat Prod Res*, 2007, 21(9): 852-856.

[21] Istakova R, Philipov S, Yadamsurengiin G, et al. Alkaloids from *Papaver nudicaule* L. [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(7): 607-611.

[22] Chen J, Shi Y P, Liu J Y. Determination of noradrenaline and dopamine in Chinese herbal extracts from *Portulaca oleracea* L. by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1003(1): 127-132.

[23] 刘永利, 李冬梅, 冯丽, 等. “一测多评”法测定咳嗽宁片中 5 种生物碱类成分的含量 [J]. 中药新药与临

- 床药理, 2012, 23(4): 464-468.
- [24] 韩瑜, 张久磊, 王芳, 等. 山银花不同产地、不同部位、不同时期药用成分分布规律 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 294-296.
- [25] 刘英, 曲媛, 王承潇, 等. 不同产地不同部位三七中总黄酮的含量测定 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(15): 54-55.
- [26] 杨洁, 戚进, 余伯阳, 等. 不同产地夏枯草中总三萜及总酚酸的含量测定 [J]. 海峡药学, 2015, 27(8): 29-31.
- [27] 李静, 魏玉海, 秦雪梅, 等. 基于 NMR 代谢组学技术的当归不同部位化学成分比较 [J]. 中草药, 2017, 48(7): 1409-1415.
- [28] 赵春颖, 李宝群, 孟艳彬. 野罂粟植株中总生物碱和野罂粟碱的分布及含量测定 [J]. 承德医学院学报, 2004, 21(3): 197-198.
- [29] 崔箭, 狄留庆, 沈红, 等. 野罂粟中野罂粟碱提取方法及其含量测定 [J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(2): 45-49.
- [30] 牛广俊, 朱思, 陈清英, 等. 金花茶不同部位多糖的测定及体外抗氧化活性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 168-173.
- [31] 赵春颖. 野罂粟采收期的研究 [J]. 承德医学院学报, 2003, 23(3): 265-266.
- [32] 潘文清, 李华. 酸性染料比色法测定野罂粟药材中总生物碱的含量 [J]. 中药材, 2004, 27(2): 103-104.
- [33] 赵春颖, 韩生玉. HPLC 测定野罂粟药材中野罂粟碱的含量 [J]. 承德医学院学报, 2003, 20(1): 13-14.
- [34] 王坚定, 李锦, 苏佩清. 瑞芙热米定对过敏性豚鼠离体气管平滑肌收缩的抑制作用及原理 [J]. 承德医学院学报, 1992, 9(4): 229-231.