

臺灣產五加葉黃連之生物鹼成分研究

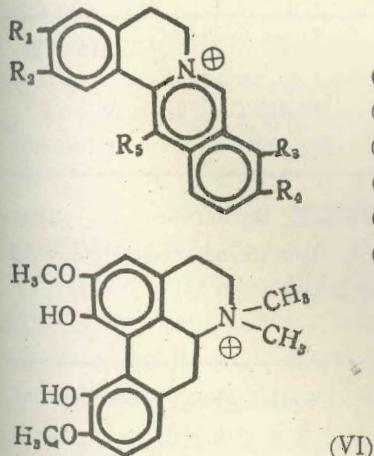
楊藏雄、陳國棟

臺北醫學院 藥物化學科

緒 言

五加葉黃連(*Coptis quinquefolia* Miq.)為毛茛科(Ranunculaceae)之一種多年生小草本植物¹⁾，自生於本省北部山野半陰處，高約10公分，根莖略肥厚，上生多數黃色鬚根，葉叢生根際，有長柄五裂，形似五加，故名。春天抽紫色花莖，頂開一白色小花。蓇葖果有柄，排列成輪狀繖形。在本省其全株搗汁，調酒服，渣敷患處，作為俗名「天蛇」之治療¹⁾。

由於五加葉黃連與既知之重要生藥「黃連」係同科同屬植物，而公定書²⁾收載之生藥「黃連」的品種有川連(*Coptis teeta* Wall.)，日連(*Coptis japonica* Mak.)，三葉黃連(*Coptis trifolia* Sal.)等三種，它不僅是優秀之健胃，腸炎下痢，眼結膜炎治療劑^{3,4,5,6)}，且日本嶋田玄彌等報告⁷⁾亦具有抗腫瘍作用。其生物鹼成分迄今報告^{8,9,10,11,12)}，均係水溶性第四級生物鹼，且因產地之不同而略有差異，除均含主成分 Berberine(I)外，*Coptis teeta* Wall. 尚含 Coptisine(II)，Palmatine(III)，Jatrorrhizine(IV)等成分，*Coptis japonica* Mak. 尚含 Jatrorrhizine(IV)，Coptisine(II)，Worenine(V)，Palmatine(III)及 Magnoflorine(VI)等而 *Coptis trifolia* Sal. 則僅含 Coptine 等⁸⁾。



然五加葉黃連之生物鹼成分，迄今未被闡明，著者為要明瞭其成分與生藥黃連因品種，地理分佈之不同而差異之情形及期待新成分之發現，以便檢討其藥用及大量栽培之價值等而着手本研究，茲將結果報告如下：

本研究所用材料為五加葉黃連之細切根莖2.94公斤，係於民國五十四年十二月間由立元藥業公司採自本省北部山野而提供的，經依實驗部份所記方法，操作分離結果，第二、三級生物鹼部份因收量甚微，且難結晶化，無法做更進一步之精查。第四級水溶性鹽基部份，先以鹽酸酸性化則得黃色結晶性鹽基氯化物沉澱160克，此黃色鹽基氯化物用鋅粉及稀硫酸還原，再依常法分離，得兩種結晶性鹽基還原物，如表I所示。

表 I

| | | mp. | Yield * |
|-------------------|-------------------------|-----------|--------------|
| phenolic base | Tetrahydrojatrorrhizine | 206-208°C | 3.2g (0.11%) |
| non-phenolic base | Tetrahydroberberine | 168-170°C | 96g (3.27%) |

上述黃色塩基氯化物沉澱分離後之母液，以 AcONa 中和使呈 Congò red 中性，再加入碘化鉀飽和水溶液至不生沉澱為止，得45克之黑褐色塩基碘化物，將此塩基碘化物以鋅粉及稀硫酸還原，分離結果得四種結晶性塩基還原物，如表 II 所示。

表 II

| | | mp. | Yield * |
|--------------------|-------------------------|-----------|-----------------|
| phenolic bases | Tetrahydrojatrorrhizine | 206-208°C | 2.24g (0.076%) |
| | Tetrahydrocolumbamine | 217-220°C | 0.035g (0.016%) |
| non-phenolic bases | Tetrahydroberberine | 168-170°C | 5.04g (0.17%) |
| | Tetrahydrocoptisine | 219-221°C | 0.774g (0.026%) |

塩基碘化物分離後之母液，依常法先做成 Reinecke Salt 後，再誘導成 Picrate，以丙酮分別再結晶結果，得兩種結晶性塩基苦味酸鹽，如表 III 所示。

表 III

| | | mp. | Yield * |
|----------------|-----------------------|-----------|------------------|
| phenolic bases | Jatrorrhizine picrate | 217-219°C | 2.03g (0.07%) |
| | Magnoflorine picrate | 230-232°C | 0.02g (0.00068%) |

由本實驗結果知道五加葉黃連含有 Protoberberine 型四級塩基 Berberine (I) , Jatrorrhizine (IV) , Coptisine (II) , Columbamine (VII) 及 Aporphine 型四級塩基 Magnoflorine (VI) 等，與其他生藥黃連^⑤之生物鹼成分比較如表 IV 所示：

表 IV

| | C. quinquefolia Miq. | C. teeta wall. | C. japonica Mak. | C. trifolia Sal. |
|---------------|----------------------|----------------|------------------|------------------|
| Berberine | + | + | + | + |
| Palmatine | - | + | + | - |
| Coptisine | + | + | + | - |
| Worenine | - | + | + | - |
| Jatrorrhizine | + | + | + | - |
| Columbamine | + | - | - | - |
| Magnoflorine | + | - | + | - |

由於 Berberine 為生藥黃連之主成分，且含量之多寡為其品質優劣之準據。著者為要更進一步了解因品種，產地之不同而影響 Berberine 之含量情形以及對五加葉黃連之藥用價值予以評價

於是選用 *Coptis teeta* Wall., *Coptis japonica* Mak. 及 *Coptis quinquefolia* Miq. 等在同條件下依日本藥局方第七改正版所記方法³⁾ 做 Berberine 之含量比較測定，結果如表V所示。

表 V

| | Berberine 之含量百分率 |
|---------------------------------|------------------|
| <i>Coptis teeta</i> Wall. | 6.73% |
| <i>Coptis japonica</i> Mak. | 4.76% |
| <i>Coptis quinquefolia</i> Miq. | 7.4% |

五加葉黃連含有 Protoberberine 型四級鹽基 Berberine (I), Coptisine (II), Jatrorrhizine (IV); Columbamine (VII) 及 Aporphine 型四級鹽基 Magnoflorine (VI) 等生物鹼成分。除了 Columbamine (VII) 外其生物鹼與其他黃連大致相同，Columbamine 在小檗科 *Berberis* 屬曾被單離證明過^{13,14)}，村山等⁹⁾ 雖曾報告 *Coptis japonica* Mak. 有 Columbamine 之存在，但後來谷千秋等¹²⁾ 則否認其存在。故此次在五加葉黃連之根莖中單離證明 Columbamine 之存在，可謂是毛茛科 *Coptis* 屬之首次發現，這在植物分類學上及生理學上與成分分佈情形而言，確是很有興趣的。最近 H. K. Kim 等¹⁵⁾ 報告 Coptisine chloride 是一種細胞毒 (Cytotoxic) 生物鹼。

此外五加葉黃連之 Berberine 含量高達 7.4%，遠較川連 (*Coptis teeta* W.)，日連 (*Coptis japonica* Mak.) 之含量為高，故其藥用價值亦頗堪重視。目前在本省所使用之黃連大部仰賴進口，若能推廣並大量栽培本省固有植物「五加葉黃連」以代替進口之黃連，則不僅可達療疾濟世，造福社會之目的，且可節省一筆為數可觀之外匯。

* 表 I, II, III 中之收量百分率是依原料 2.94 公斤計算。

實驗部份

(一) 總生物鹼之抽出：

將臺灣產五加葉黃連之乾燥細切根莖 2.94Kg 以 95% 乙醇還流抽取，每次抽取時間為八小時，重覆抽取八次，然後再用 50% 乙醇繼續抽取至抽取液呈 Mayer 氏反應陰性為止。總抽取液於減壓下濃縮之，得 800g 深黃色黏稠性抽出物。該抽出物以 3% 醋酸溶液處理，重複操作至酸性處理液呈 Mayer 氏反應陰性為止。

(二) 第二、三級生物鹼之分離：

由(一)所得之醋酸處理液，先以 Et_2O 振搖除去酸性乙醚可溶物質後，再用 NH_4OH 鹼性化，繼續以 Et_2O 抽取至 Et_2O 抽取液呈 Mayer 氏反應陰性為止 (水液層留待(三)處理)。 Et_2O 層以 3% NaOH 溶液振搖，分離酚性生物鹼， Et_2O 層經水洗， K_2CO_3 脫水後蒸乾，得微量黑褐色殘渣是為非酚性生物鹼。3% NaOH 層加入過量 NH_4Cl 後用 Et_2O 抽取之， Et_2O 抽取液經水洗， K_2CO_3 脫水後蒸乾溶媒得微量褐色殘渣是為酚性生物鹼。以上所得之酚性及非酚性第二、三級生物鹼，因收量甚微，且用種種方法均難使之結晶化，無法做更進一步之精查。

(三) 第四級生物鹼之分離：

由(二)之第二、三級生物鹼分離後之 NH_4OH 鹼性水溶液，以 C-HCl 酸性化後放置過夜，則有大量黃色結晶性鹽基氯化物沉澱析出，吸引過濾得 160g。母液加入 AcONa 使呈 Congo red

中性，再加入碘化鉀飽和水溶液至無沉澱產生為止，放置過夜，過濾得黑褐色塩基碘化物 45g。母液最後滴加 $\text{NH}_4\text{-Reineckate}$ 饰和水溶液 (60°C) 並加攪拌至不會再產生沉澱為止，靜置過夜，過濾得灰色 Base-Reineckate 沉澱 50.2g。

取 5 g 之黃色塩基氯化物 (收量 160 g) 加 200ml 之 10% 硫酸溶液及 25g 之鋅粉，加熱攪拌，此還原反應持續約 8 小時，冷卻後過濾，除去殘渣，濾液以 NH_4OH 鹼性化並以 Et_2O 抽取之， Et_2O 層繼以 3% NaOH 振搖分離酚性塩基， Et_2O 層經水洗， K_2CO_3 脫水，蒸乾溶媒，得粗柱狀結晶，以甲醇反覆再結晶精製之，得 mp. $168\sim170^\circ\text{C}$ 白色柱狀結晶 (塩基 A) 收量 3.0 gm。 NaOH 層加入過量 NH_4Cl 並以 Et_2O 振搖抽取， Et_2O 層經水洗， K_2CO_3 脫水，蒸乾溶媒得 102mg 白色板狀結晶，以 MeOH 再結晶精製之，mp. $206\sim208^\circ\text{C}$ (塩基 B)。

取 5 g 之黑褐色塩基碘化物 (收量 45g) 同樣以 10% 硫酸溶液 200ml 及鋅粉 25g 加熱攪拌還原八小時，冷卻後過濾，濾液依常法分離酚性及非酚性塩基，結果酚性塩基部份以 MeOH 分別再結晶得 mp. $206\sim208^\circ\text{C}$ 板狀結晶，收量 248.6mg (塩基 C) 及 mp. $217\sim220^\circ\text{C}$ 離子狀結晶，收量 15mg (塩基 D)。非酚性塩基部份，得 mp. $168\sim170^\circ\text{C}$ (MeOH) 白色柱狀結晶，收量 57.0mg (塩基 E) 及 mp. $219\sim221^\circ\text{C}$ ($\text{Benzene}+\text{MeOH}$) 白色針狀結晶，收量 86mg (塩基 F)。

Base Reineckate 部份充分陰乾後 (50.2g) 溶於丙酮，過濾除去不溶物，丙酮溶液依常法以 Ag_2SO_4 破壞，再誘導成苦味酸塩，以丙酮分別再結晶，得 mp. $217\sim219^\circ\text{C}$ 橙赤色針狀結晶，收量 2.03gm (塩基 G) 及 mp. $230\sim232^\circ\text{C}$ 離子狀黃色結晶，收量 10mg (塩基 H)。

(四) 生物鹼之性質及證明：

塩基 A (Tetrahydroberberine)：白色柱狀結晶 mp. $168\sim170^\circ\text{C}$ ，薄層色層分析 (Al_2O_3 ; Benzene; Dragendorff reagent) 呈單一 Spot Labat 氏反應陽性，質量分析值 m/e 339(M^+) 相當於 $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}$ ，base peak m/e 174，其他 intense peaks m/e 176, 164, 149。TLC 紅外線吸收光譜 (nujol) 與標品 Tetrahydroberberine 完全一致，混融測定，融點亦不下降，故確認為 Tetrahydroberberine。

塩基 B (Tetrahydroatrorrhizine)：mp. $206\sim208^\circ\text{C}$ (MeOH) 白色板狀晶，薄層色層分析 (Al_2O_3 ; $\text{CHCl}_3+\text{MeOH}$ (微量); dragendorff reagent)，呈單一 spot。 FeCl_3 反應呈綠色，Labat 氏反應陰性，質量分析值 m/e 341(M^+) 相當於 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{N}$ ，base peak m/e 176 其他 intense peaks m/e 178, 164, 149 與標品 Tetrahydroatrorrhizine 之 TLC, 紅外線吸收光譜 (Nujol) 完全一致；混融測定，融點亦不下降。

O-methyl 體 (Tetrahydropalmatine) 之生成：6mg 塵基 B 之 CHCl_3 溶液加 diazomethane- Et_2O 溶液 (由 0.5g 之 P-tolylsulfonyl methyl nitrosamide 製成) 放置兩日蒸乾溶媒。再以酸鹼處理得 mp. $146\sim148^\circ\text{C}$ 柱狀結晶。TLC (Al_2O_3 ; CHCl_3 or Benzene; I_2) 及紅外線吸收光譜 (Nujol) 與標品 Tetrahydropalmatine 比較完全一致，混融測定 mp. $146\sim148^\circ\text{C}$ 並無下降。

塩基 C (Tetrahydroatrorrhizine)：mp. $206\sim208^\circ\text{C}$, FeCl_3 反應呈綠色，Labat 氏反應陰性，與塩基 B 之 TLC, 紅外線吸收光譜 (Nujol) 及混融測定完全一致，故確認為 Tetrahydroatrorrhizine。

塩基 D (Tetrahydrocolumbamine)：mp. $217\sim220^\circ\text{C}$ (MeOH) 離子狀晶， FeCl_3 反應呈綠色，Gibb's 反應陰性，Labat 氏反應陰性，質量分析值 m/e 341 (M^+) 相當於 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{N}$ ，base peak m/e 176，其他 intense peaks m/e 178, 164, 149。但 TLC (Al_2O_3 ; CHCl_3 ; I_2)，紅外線吸收光譜 (Nujol) 與塩基 B (Tetrahydroatrorrhizine) 不一致，混融測定，融點下降至 $198\sim204^\circ\text{C}$ 。

O-methyl 體 (Tetrahydropalmatine) 之生成：5.1mg 塩基D之 CHCl_3 溶液加 diazo-methane-Et₂O 溶液（由0.5g 之 P-tolylsulfonyl methyl nitrosamide 製成）放置兩日後蒸乾溶媒，以酸鹼處理得 mp. 146-148°C 之柱狀晶，與標品 Tetrahydropalmatine 之 TLC, 紅外線吸收光譜 (Nujol)，混融測定等均完全一致。

由塩基D與B之不一致及其 Tetrahydropalmatine 之生成與質量分析值 base peak m/e 176 ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}$) 之 Signal 等事實知道塩基D之酚性 OH 基是占在A環之第二位 (Tetrahydrojatrorrhizine 之酚性 OH 基是在第三位)，故推定塩基D為 Tetrahydrocolumbamidine。與標品 Tetrahydrocolumbamidine 比較 TLC, 紅外線吸收光譜 (Nujol)，混融測定結果完全一致，故證明為 Tetrahydrocolumbamidine。

塩基E (Tetrahydroberberine): mp. 168-170°C (MeOH) 白色柱狀晶，Labat 氏反應陽性，薄層色層分析，紅外線吸收光譜 (Nujol) 及混融測定均與塩基A (Tetrahydroberberine) 完全一致，故證明是 Tetrahydroberberine。

塩基F (Tetrahydrocoptisine): mp. 219-221°C (Benzene + MeOH) 白色針狀晶，Labat 氏反應陽性，本塩基之 AcOH 溶液加入 $\text{C}-\text{H}_2\text{SO}_4$ 呈黃綠色，若再滴加稀硝酸溶液時則呈紅色反應，元素分析值相當於 $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{N}$ ，理論值 C70.57% H5.30% N4.32%，實驗值 C70.71% H5.57% N4.33%。以上諸性質與文獻¹⁰⁾ 記載之 Tetrahydrocoptisine 性質完全吻合而且質量分析值 m/e 322 ($\text{M}^+ - 1$)，intense peaks m/e 174, 148，亦是合理的。與標品 Tetrahydrocoptisine 之薄層色層分析，紅外線吸收光譜及混融測定等均完全一致，故確認為 Tetrahydrocoptisine。

塩基G (Jatrorrhizine picrate): mp. 217-219°C (Me₂CO) 橙紅色針狀結晶，薄層色層分析 (SiO_2 ; n-propanol: NH_4OH : $\text{H}_2\text{O} = 2:1:1$; dragendorff reagent)，紅外線吸收光譜 (Nujol) 與標品 Jatrorrhizine picrate 完全一致，混融測定，融點亦不下降，故證明為 Jatrorrhizine picrate。

塩基H (Magnoflorine picrate): mp. 230-232°C (Me₂CO) 黃色結晶，薄層色層分析 (SiO_2 ; n-propanol: NH_4OH : $\text{H}_2\text{O} = 2:1:1$; dragendorff reagent)，紅外線吸收光譜 (Nujol) 與標品 Magnoflorine picrate 比較測定結果完全一致，混融測定，其融點亦不下降，故確認為 Magnoflorine picrate。

四 Berberine 之含量測定：

所用材料為五加葉黃連 (Coptis quinquefolia Miq.) 及由本學院生藥學科提供之川連 (Coptis teeta Wall.) 和日連 (Coptis japonica Mak.) 等。先將材料除去鬚根粉碎後，依日本藥局方第七改正版中黃連之 berberine 含量測定法：「取本品粉末，於 80°C 乾燥至恆量後，精確秤取約 3gm，用甲醇 100ml 抽取 5 小時，將抽取液置水鍋上蒸發至約為原容積之十分之一後，加水 100ml 及滑石粉 2~3gm，徐徐溫熱 15~20 分鐘，振搖過濾之濾液加碘化鉀溶液 (1:5)-5ml，即析出沉澱，過濾，濾渣用碘化鉀溶液 (1:50) 洗滌。然後用水 100ml 將濾渣洗入燒瓶中，於 60~70°C 溫熱十分鐘，加丙酮 50ml，密塞，徐徐振搖十分鐘，迅速加氫氧化鈉溶液 (1:10) 3ml，振搖後於 50~60°C 溫熱之，放置過夜。析出之丙酮黃連素結晶經已知重量之玻璃漏斗 (G3) 過濾，濾液精確量其容量，結晶則用水洗後於 100°C 乾燥二小時，放冷而秤定之，每 gm 之丙酮黃連素相當於 898.2mg 之 $\text{C}_{29}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}$ ，每 ml 之母液相當於 0.0272mg 之 $\text{C}_{29}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}$ 」實施。每一材料樣品做三次，然後取其平均值，結果如下。

臺灣產五加葉黃連之生物鹼成分研究

| | 材 料 重 量 | Berberine 重 量 | Berberine 含量百分率 | 平 均 值 |
|---|----------|---------------|-----------------|-------|
| 川 連 <i>Coptis teeta</i> Wall. | 3.0194gm | 202.3mg | 6.70% | 6.73% |
| | 3.1000gm | 208.0mg | 6.71% | |
| | 3.0550gm | 205.0mg | 6.78% | |
| 日 連 <i>Coptis japonica</i> Mak. | 3.0290gm | 140.3mg | 4.64% | 4.76% |
| | 3.1877gm | 151.0mg | 4.74% | |
| | 3.1350gm | 155.8mg | 4.91% | |
| 五加葉黃連 <i>Coptis quinquefolia</i> Miq. | 3.0505gm | 232.5mg | 7.63% | 7.4% |
| | 3.020 gm | 219.0mg | 7.25% | |
| | 3.0352gm | 219.7mg | 7.23% | |

結 論

由臺灣產五加葉黃連 (*Coptis quinquefolia* Miq.) 之根莖中單離證明有 Protoberberine 型四級塩基 Berberine (I), Coptisine (II), Jatrorrhizine (IV), Columbamine (VII) 及 Aporphine 型四級塩基 Magnoflorine (VI) 等生物鹼成分之存在。除了 Columbamine (VII) 外其生物鹼成分與其他生藥黃連大致相同, Columbamine (VII) 在小檗科 Berberine 屬曾被單離證明過^{13,14)}, 村山等⁹⁾ 雖曾報告過 *Coptis japonica* Mak. 有 Columbamine 之存在, 可是後來谷千秋等¹⁵⁾ 則否認其存在。故此次在五加葉黃連之根莖中單離證明 Columbamine 之存在, 可謂是毛茛科 *Coptis* 屬之首次發現, 此於植物分類學上及生理上學與成分分佈情形而言, 確是很有興趣的。

此外五加葉黃連之 Berberine 含量高達 7.4% 遠較川連 (*Coptis teeta* Wall.), 日連 (*Coptis japonica* Mak.) 之含量為高, 故其藥用價值亦頗堪重視。目前本省所使用之黃連大部仰賴進口, 若能推廣並大量栽培本省固有植物「五加葉黃連」以代替進口之黃連, 則不僅可達療疾濟世, 造福社會之目的, 且亦可節省一筆為數可觀之外匯。

誌 謝

本研究承本學院院長徐千田博士之鼓勵與支持, 實驗部份之元素分析及質量分析蒙日本京都大學伏康夫教授與美國普渡大學林宗仁博士等幫忙測定, 日本神戶女子藥科大學谷千秋教授及高雄醫學院盧盛德教授等惠賜標品, 本學生藥學科那崎教授及立元藥業公司等提供實驗材料, 本學院畢業生吳和修和巫脩齊兩位同學協助抽取, 特此致謝。

又本研究之完成承蒙國家長期發展科學委員會補助, 謹致謝忱。

參 考 文 獻

- 甘偉松: 臺灣藥用植物誌 第一卷 146.
- 李承祐: 生藥學 79.
- 藤田路一: 生藥學 76.
- Heber W. Youngken: Textbook of Pharmacognosy, 6th ed. 338.
- 李時珍: 本草綱目 (文友書局). 447.
- 大衆書局: 古今中藥集成 375.
- 嶋田玄彌、澤田徳之助、永井吉澄、小松信彦、中澤昭三、福田玲子: 日本生藥學雜誌 14 (1), 49 (1960)

8. 日本厚生省：日本藥局方第七改正版 C-387.
9. 村山義溫、篠崎好三：日本藥學雜誌 **46**, 299 (1926).
10. 北里善次郎：日本藥學雜誌 **47**, 315 (1927).
11. 富田真雄、倉貞代：日本藥學雜誌 **76**, 1425 (1956).
12. 谷千秋、高尾猶雄：日本藥學雜誌 **77**, 805 (1957).
13. E. Späth: Monatsh. Chem. **52**, 117 (1929).
14. 近藤平三郎、富田真雄：日本藥學雜誌 **59**, 309 (1930).
15. H. K. Kim; N. R. Farnsworth; R. N. Blomster; H. H. S. Fong: J. Pharm. Sci. **58** (3) 372 (1969).

Studies on the Alkaloids of *Coptis quinquefolia* Miq.

by

TSANG-HSIUNG YANG and KUO-TUNG CHEN

Department of Pharmaceutical Chemistry, Taipei Medical College

Examinations were made on the alkaloids present in the rhizoma of the Formosan *Coptis quinquefolia* Miq. and the presence of berberine (I), coptisine (II), jatrorrhizine (IV), columbamine (VII) as water soluble quaternary protoberberine type bases and magnoflorine (VI) as the aporphine type quaternary base were identified.

The identifications of the alkaloids were based on direct comparison of their tetrahydro-derivatives or picrates with authentic samples and spectroscopic evidences respectively. It is interesting that columbamine (VII) was the first example found in *Coptis* genus.

The comparison of the alkaloids presented in some different species of *Coptis* plants were shown as Table IV.

Assay of berberine content in *Coptis teeta* W., *Coptis japonica* M. and *Coptis quinquefolia* Miq., according to J.P. VII method, were also performed and the results were shown in Table V.