

粉防己中三种双苄基异喹啉生物碱的 高效液相色谱法测定[△]

中国医学科学院药物研究所(北京100050) 何丽一·李宝明 段宏瑾
中国协和医科大学

大正制药株式会社, 总合研究所, 日本 相楽和彦 大島俊幸 平山总良

摘要 建立了同时测定粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 中粉防己碱、去甲粉防己碱及小檗胺等3种双苄基异喹啉生物碱含量的简便精确的高效液相色谱法, 用 YGW-C₁₈, 10 μ m 为固定相及甲醇-乙腈-水(3:1:1)含0.06%二乙胺为流动相, 种生物碱在10min内可以完全分离。

关键词 粉防己 粉防己碱 去甲粉防己碱 小檗胺 高效液相色谱法

粉防己为防己科千金藤属植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 的块根, 主要成分为生物碱, 已知的有双苄基异喹啉生物碱粉防己碱(又称汉防己碱 tetrandrine)、去甲粉防己碱(防己诺林 demethyltetrandrine, fangchinoline)、小檗胺(berbamine)及一种季胺生物碱轮环藤酚碱(cyclanoline)等。

粉防己为传统中药, 具祛风除湿、利尿消肿、行气止痛的作用, 由于产地不同, 含量也有差异。文献报道上述1~3种生物碱的分离方法有薄层法^[1]、高速反相色谱法^[2]、低压柱层析及pH梯度法^[3], 定量方法有容量法^[4]、薄层扫描法^[5,6]等。本文建立了粉防己中3种双苄基异喹啉生物碱的反相高效液相色谱测定法, 方法简便、准确。

1 实验部分

1.1 样品来源: 福建、浙江、江西样品为中国医学科学院药用植物资源开发研究所冯毓秀研究员提供并鉴定, 广东大埔、浙江临安、浙江、江西德安、江西抚州样品为所在地药检所提供并鉴定, 福建、安徽样品为市售商品。

1.2 仪器: 日本岛津 LC-4A 高效液相色谱仪、SPD-2AS 紫外检测器、C-R₂AX 数据处理机、不锈钢柱 250mm × 4mm ID, 填充 YWG-C₁₈, 10 μ m (天津化学试剂二厂)。

1.3 试剂、药品: 小檗胺、粉防己碱、去甲粉防己碱均重结晶2次, 色谱单峰, 甲醇、乙腈均为色谱用规格, 重蒸馏水, 二乙胺 (AR, 北京化工厂)。

1.4 色谱条件: 流动相甲醇-乙腈-水(3:1:1)含0.06%二乙胺, 超声波脱气, 温度20~25 $^{\circ}$ C, 流速1.0ml/min, 检测波长242nm, 纸速0.25mm/min。

2 结果及讨论

2.1 小檗胺、去甲粉防己碱及粉防己碱的分离: 分离条件如上, 结果见图。

实验结果证明以甲醇及水作流动相不能达到分离的目的, 流动相中必须含有一定量的乙腈, 使系统呈微碱性; 二乙胺的浓度0.1%、0.08%、0.06%及0.04%时分离效果相似, 以0.06%最合适; 流动相甲醇-乙腈-水的比例为3:1:1时最佳, 3种双苄基异喹啉生物碱在10min内可以达到基线分离。

2.2 精密度试验: 相同进样量8次, 小檗胺、去甲粉防己碱及粉防己碱色谱峰面积的RSD分

*Address: He Liyi, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing

[△]本文曾参加1992年第三届生物医药色谱学术会议

别为1.14%、1.11%及1.22%。

2.3 标准曲线: 将3种生物碱配成不同浓度的混合液, 进样各5 μ l, 用上述色谱条件分离测得其回归方程及相关系数为: 小檗碱 $y = 19802.83x - 338.20, r = 0.9999$; 去甲粉防己碱 $y = 33551.07x - 971.90, r = 0.9999$; 粉防己碱 $y = 60.00 + 26852.55x, r = 0.9999$ 。线性范围约在0.2~1.5 μ g之间。

2.4 样品提取条件的比较: 样品分别用氨性氯仿、甲醇及流动相作为提取溶剂, 分别用冷浸、超声波提取及热回流提取进行比较, 结果以流动相为提取溶剂, 浸泡样品12h后超声波提取30min结果最高, 见表1。

2.5 回收率试验: 将一定量的标准品加入样品, 按样品提取方法提取, 分离后测得小檗胺、去甲粉防己碱、粉防己碱的回收率分别为97.54%、102.15%及101.36%。

2.6 样品分析方法: 精密称取0.1g过40目筛的样品于5ml容量瓶中, 加4ml流动相冷浸12h时, 超声波提取30min, 放置澄清后, 取上清液5 μ l进样, 用上述条件分离后, 测得峰面积用外标法计算各样品中生物碱的含量, 结果见表2、图。

分析结果表明, 除广东、福建外, 其余产地的样品均不含小檗胺, 去甲粉防己碱的含量为0.454%~1.568%, 粉防己碱的含量

表1 样品提取条件比较

提取溶剂	提取方法	色谱峰面积	
		去甲粉防己碱	粉防己碱
氨性氯仿	冷浸超声	5422	7166
	热回流	6618	11371
甲 醇	冷浸超声	3312	7194
	热回流	4927	9311
流 动 相	冷浸超声	6816	11424
	热回流	6520	11794

表2 粉防己样品分析结果

产 地	采集年份	含 量(%)		
		小檗胺	去甲粉防己碱	粉防己碱
广东大埔	1986	0.253	0.898	2.196
福 建	1979	0.058	0.568	3.537
福建省售	1992	0.145	0.990	1.915
浙江临安	1992	—	0.775	1.274
浙 江	1979	—	1.023	1.529
浙 江	1985	—	0.798	1.761
江西德安	1992	—	0.454	1.187
江 西	1956	—	0.531	0.991
江西抚州	1992	—	0.727	2.168
安徽省售	1992	—	0.871	1.378

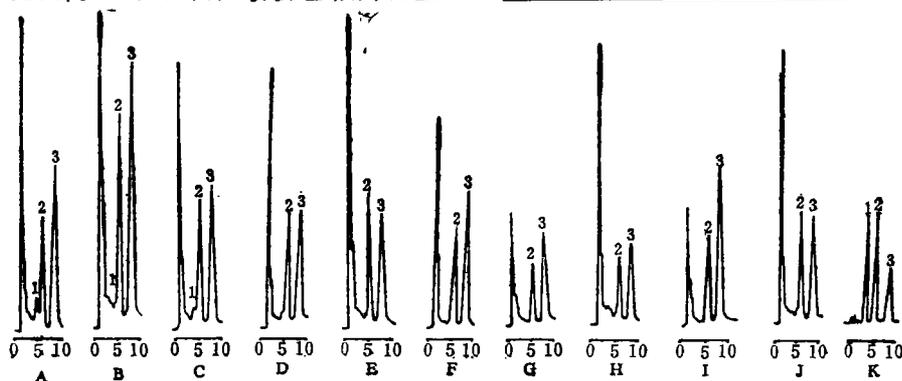


图 粉防己中生物碱的高效液相色谱图

1-小檗胺 2-去甲粉防己碱 3-粉防己碱

A-广东大埔 B-福建 C-福建省售 D-浙江临安 E-浙江 F-浙江
G-江西德安 H-江西 I-江西抚州 J-安徽省售 K-对照品混合物

为0.991%~3.537%。由此可见粉防己产地不同, 生物碱的质与量均有较大差异。

参 考 文 献

- 1 楼凤昌. 中草药, 1981, 12(1): 7
- 2 Zhang T Y, et al. J Liq Chromatogr, 1988, 11(8): 1661
- 3 陆新民, 等. 中草药, 1985, 16(10): 8
- 4 陆蕴如. 中草药通讯, 1978, 10: 10
- 5 吴志荣, 等. 中草药, 1988, 19(8): 13
- 6 杨义方, 等. 中药通报, 1988, 13(12): 740

(1993-10-07收稿)

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on the Chemical Constituents of Korean Monkshood

(*Aconitum coreanum*)

Han Ying, Liu Jinghan, et al

The compounds were isolated from *Aconitum coreanum* (Levl.) Rapaics and identified by TLC, IR, MS and NMR, as β -sitosterol (I), daucosterol (II), Guan-Fu base A (III), Guan-Fu base G (IV), condelphine (V), Guan-Fu base I (VI), hetisinone (VII), isoatisinum chloride (VIII), atisinum chloride (IX), and Guan-Fu base z (X) from the root. Compounds III and IX were also found in the aerial parts of the plant. Compounds II, V, VII and VIII were obtained for the first time from this plant. Most of them exhibited antiarrhythmic activity.

(Original article on page 619)

Studies on Alkaloid and Flavonoids from Roxburgh Wormwood

(*Artemisia roxburghiana*)

Li Yu, Hu Youhua, and Shi Yanping

One alkaloid was isolated for the first time from *Artemisia* genus and four flavonoids also for the first time, from *A. roxburghiana* Wall. They were identified as N-phenyl-2-naphthylamine, penduletin, quercetin, 3,3',4'-trimethyl ether, eupatilin, jaceosidin by their spectroscopic data (MS, ¹HNMR, UV).

(Original article on page 622)

Determination of Geniposide in Cape Jasmine (*Gardenia jasminoides*) and Its Oral Liquid

Zhou Lihong, Zhong Shuhua

Isolation of geniposide in *Gardenia jasminoides* was accomplished by high performance GF₂₅₄ TLC and the content of the said component in the herb and its preparation determined by linear scanning at λ 248nm. The method was simple and accurate.

(Original article on page 627)

Determination of Three Bisbenzylisoquinoline Alkaloids in Fourstamen *Stephania* (*Stephania tetrandra*) by HPLC

He Liyi, Sagaraka Kazuhiko, et al

A simple and precise method using high-performance liquid chromatography was developed for the simultaneous determination of three bisbenzylisoquinoline alkaloids, namely tetrandrine, demethyltetrandrine and berbamine, in *Stephania tetrandra* S. Moore. A reversed-phase system consisting of chemically bonded ODS silica gel column and methanol-acetonitrile-H₂O (3:1:1) containing 0.06% diethylamine as the mobile phase was used. The three alkaloids were completely separated within 10 min. The analytical results for various samples were presented.

(Original article on page 629)