

小檗属植物中的生物碱成分测定及资源利用

华西医科大学药学院天然药物化学室(成都 610044)
中国协和医科大学
中国医学科学院 药用植物研究所

吕光华*
王立为 陈建民 肖培根

摘 要 应用 HPLC 法测定了 17 种 7 变种小檗属植物中的尖刺碱(A)、小檗胺(B)、异汉防己碱、非洲防己胺(D)、药根碱(E)、巴马亭(F)、小檗碱(G)。其中对 2 种 1 变种植物的根、根皮、根木、茎皮、茎木和 15 种 6 变种植物根中的 B、E、F、G 进了定量分析,对 A、C、D 进行了定性分析。通过分析生物碱在该属植物中的分布情况,讨论了小檗属药用植物资源的利用,建议:1、扩大药用植物种类,充分利用自然植物资源;2、扩大药用部位;3、多种有效成分提取及综合利用。

关键词 小檗属 生物碱 含量测定 高效液相色谱法 资源利用

小檗属(*Berberis* L.)植物习称为“三棵针”,在我国约有 200 多种,分布广、资源丰富。主要以根、根皮入药,用于治疗多种疾病;有的种用于提取“黄连素”。该属植物中的生理活性成分是苕基异喹啉生物碱。为了综合利用该属植物资源,评估其药用价值,我们测定了该属植物中的尖刺碱(oxyacanthine, A)、小檗胺(berbamine, B)、异汉防己碱(isotetrandrine, C)(以上系双苕基异喹啉类生物碱)、非洲防己胺(columbamine, D)、药根碱(jatrorrhizine, E)、巴马亭(palmatine, F)、小檗碱(berberine, G)(以上系原小檗碱类生物碱)7 种生物碱成分。曾报道了“改变检测波长 HPLC 法测定小檗属植物根中的生物碱”的方法,并测定了 5 种该属植物根中的这 7 种成分^[1]。笔者报道应用此方法对从四川、重庆、北京三省市采集的 17 种 7 变种小檗属植物中的上述 7 种生物碱成分的测定结果。其中对 2 种 1 变种植物根、根皮、根木、茎皮、茎木和 15 种 6 变种植物根中的 B、E、F、G 进行了定量分析,对 A、C、D 进行了定性分析。结合文献资料,通过分析生物碱在该属植物中的分布情况,讨论了该属药用植物资源的利用问题,建议:1、扩大药用植物种类,充分利用自然植物资源;2、扩大药用部

位;3、提取多种有效成分,综合利用植物资源。

1 HPLC 法测定 17 种 7 变种小檗属植物中 7 种生物碱成分

1.1 仪器与试剂:Waters 高效液相色谱仪(510 型泵,490E 检测器,U6k 进样器,Base-line 810 色谱工作站)。盐酸小檗碱、盐酸巴马亭、盐酸药根碱、非洲防己胺由中国药品生物制品检定所提供;小檗胺购于中国科学院林业土壤研究所,经重结晶纯化;尖刺碱、异汉防己碱由中国医学科学院药用植物研究所提供。植物标本和样品由作者采集,中国科学院植物研究所李振宇研究员鉴定。乙腈为色谱纯,甲醇和磷酸二氢钾为分析纯,去离子水。

1.2 色谱条件:色谱柱: μ -Bondapak phenyl;流动相:0.02 mol/L 磷酸二氢钾-乙腈(7:3);检测波长:固定波长用 203 nm,变波长 0~10 min 为 203 nm,10~25 min 为 346 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:室温。色谱图见文献^[1]。

1.3 4 种定量生物碱的线性范围及回归方程:分别精取干燥至恒重的小檗胺、盐酸药根碱、盐酸巴马亭、盐酸小檗碱 4.93、4.98、5.04、5.05 mg 于 25 mL 量瓶中,甲醇溶解,

* Address:Lu Guanghua, College of Pharmacy, West China University of Medical Sciences, Chengdu
• 428 •

定容,制成标准品贮备液。再分别吸取贮备液 0.1、0.3、0.5、0.8、1.0、1.5、3.0、5.0 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,制成 9 个浓度梯度的标准液;依次吸取 10 μ L 进样,用 203~346 nm 变波长检测;以峰面积(X)为横坐标,溶质量(Y)为纵坐标作图,得 4 条直线。其回归方程、相关系数和线性范围见表 1。

表 1 4 种分析生物碱定量的回归方程和线性范围

成分	回归方程	相关系数 r	线性范围(μ g)
小檗胺(B)	$Y=1.109\times10^{-5}X-4.789$	0.9993(n=7)	0.019~0.296
药根碱(E)	$Y=2.359\times10^{-5}X+1.941$	0.9999(n=9)	0.019~0.996
巴马亭(F)	$Y=2.386\times10^{-5}X-3.450$	0.9998(n=9)	0.020~1.008
小檗碱(G)	$Y=2.376\times10^{-5}X-3.037$	0.9998(n=9)	0.020~1.010

1.4 样品液的制备:精密称取干燥样品粉末 0.1 g 于 50 mL 磨口三角瓶中,加甲醇 20 mL,称重,浸泡 12 h,超声提取 60 min,称重,补足损失的甲醇,摇匀,密闭,静置。取 5.0 mL 上清液于离心管中,密闭,离心,取 2.0 mL 于量瓶中,即为待测样品液。

1.5 精密度试验:吸取一样品液 10 μ L 进样,203~346 nm 变波长检测,重复进样测定 10 次。根据测出的样品液中各成分的浓度(μ g/mL)计算相对标准偏差 RSD(%):小檗胺 0.258,药根碱 0.840,巴马亭 0.754,小檗碱 1.206。

1.6 加样回收率试验:精密称取 0.05 g 黄芦木根的干燥粉末 5 份于 50 mL 磨口三角瓶中,其中 4 份(另 1 份作对照)分别加入标准品贮备液 0.5、1.0、2.0、3.0 mL,混匀,自然条件下挥干;按样品液的制备项操作;分别吸取 10 μ L 进样,用 203~346 nm 变波长测定,每份重复 3 次;计算每一份样品中 4 种定量生物碱的回收率,再计算出 4 份样品中同种生物碱的回收率平均值(%)(RSD%):小檗胺 99.2(1.93),药根碱 99.8(1.38),巴马亭 100.5(0.96),小檗碱 99.5(2.01)。

1.7 样品分析:按样品液的制备项操作,吸取 10 μ L 进样,用 203~346 nm 变波长检测,重复一次。以峰面积外标法定量。对成分 B、E、F、G 进行了定量分析,A、D 定性分析。再

吸取 10 μ L 进样,用 203 nm 固定波长检测,得到各样品的特征图谱,并定性分析成分 C。对小檗属 2 种 1 变种植物根、根皮、根木、茎皮、茎木和 15 种 6 变种植物根中 7 种生物碱成分测定结果,见表 2、3。

2 小檗属药用植物资源利用

小檗属是小檗科中最大的一属,约 500 种植物^[2],我国约有 200 种。从化学成分看,该属植物中含有多种苄基异喹啉生物碱,对其它类型的成分报道较少^[3~7],在我们测定的植物中也有一些生物碱含量高的种类(见表 2、3)。从药用价值看,该属多种植物的根、根皮、茎、茎皮、叶或果实及其制剂在国内外很多地区入药^[5,8~10]。

对小檗属药用植物资源的利用,我们建议:①扩大药用植物种类,充分利用自然植物资源:从我们研究的结果和文献资料分析,同属中还有不少植物中的主要有效成分含量也很高,这些植物应该利用起来,直接作药材用或作为提取药用成分的原料。如秦岭小檗 *B. circumsterrata* Schneid., 黑果小檗 *B. heteropoda* Schrenk, 蠟猪刺 *B. julianae* Schneid., 华西小檗 *B. silva-taroucana* Schneid., 深黄小檗 *B. atrocarpa* Schneid., 长柱小檗 *B. lempergiana* Ahrendt 等。

表 2 2 种 1 变种小檗属植物不同部位中 7 种生物碱分析结果(%)

植物名称及采集地	部位	A	B	C	D	E	F	G
<i>Berberis poiretii</i> Schneid. (细小檗,北京药植所)	根	-	1.59	+	0.52	+	0.22	0.75
	根皮	-	8.45	+	2.14	+	0.32	2.24
	根木	-	0.04	+	0.10	+	0.10	0.32
	茎皮	-	0.10	+	0.55	-	0.01	0.22
	茎木	-	±	+	0.11	+	0.18	0.25
<i>B. gagnepainii</i> Schneid. var. <i>omeiensis</i> Schneid. (四川峨眉山)	根	+	0.08	+	0.28	+	0.06	1.00
	根皮	+	0.74	+	0.99	+	0.26	2.94
	根木	-	±	+	0.07	-	0.15	0.42
	茎皮	+	0.55	+	1.08	+	0.34	2.59
	茎木	-	-	+	0.07	-	0.01	0.34
<i>B. simulans</i> Schneid. (四川峨眉山)	根	-	0.08	-	0.12	+	0.04	0.65
	根皮	-	0.43	-	0.74	+	0.20	2.42
	根木	-	0.03	+	0.06	-	0.02	0.28
	茎皮	-	0.09	-	0.53	+	0.16	1.56
	茎木	-	0.04	+	0.06	+	0.03	0.39

注：+：检测到该成分，未定量；-：未检测到该成分；±：含量低于0.01%

②扩大药用部位：同一植株，各部位中有效成分的分布、含量有一定差别，从生物碱的含量上看，大多数植物以根皮中含量最高（在皮部又以内皮层含量最高^[6]），茎皮次之，然后是根部、茎木部，地下部分高于地上部分。从植株产量看，茎皮和茎的产量超过根和根皮，应加以利用。

表3 15种6变种小檗属植物根中7种生物碱分析结果(%)

植物名称	采集地	A	B	C	D	E	F	G
<i>Berberis amoena</i> Dunn var.								
<i>umbelliflora</i> Ahrendt	四川理塘	+	±	-	1.02	+	0.49	0.48
<i>B. amurensis</i> Rupr. (黄芦木)	北京药植所	+	0.60	-	0.56	+	0.15	3.50
<i>B. atrocarpa</i> Schneid. (深黄小檗)	四川峨眉山	+	0.84	+	0.40	+	0.04	1.90
	重庆南川	-	0.06	-	0.44	+	0.20	3.42
<i>B. atrocarpa</i> Schneid. var.								
<i>subintegra</i> Ahrendt	重庆南川	-	0.09	+	0.20	+	0.42	2.14
<i>B. diaphana</i> Maxim. var.								
<i>tachiensis</i> Ahrendt(康定小檗)	四川康定	+	0.30	-	0.17	+	0.07	0.90
<i>B. fallaciosa</i> Schneid. (金山小檗)	重庆金佛山	-	1.00	-	0.33	+	0.95	2.70
<i>B. floribunda</i> Wall. ex G. Don	北京药植所	-	0.64	+	0.69	+	0.23	1.03
<i>B. gagnepainii</i> Schneid. var.								
<i>lanceifolia</i> Ahrendt(蓝果小檗)	四川峨眉山	+	0.12	-	0.19	+	0.45	1.26
<i>subovata</i> Schnid. (瓦屋小檗)	重庆金佛山	+	1.08	-	0.38	+	0.15	1.40
<i>B. henryana</i> Schneid. (巴东小檗)	重庆南川	+	0.14	+	0.77	+	0.11	2.26
<i>B. heteropsis</i> Ahrendt	四川峨边	+	0.03	+	0.38	+	0.26	0.60
<i>B. impedita</i> Schneid. (南岭小檗)	重庆金佛山	+	0.17	-	0.17	+	0.06	0.85
<i>B. liophylla</i> Schneid.	四川茂县	+	0.33	-	0.13	+	0.55	1.51
<i>B. potaninii</i> Maxim. (少齿小檗)	四川茂县	+	2.25	-	0.47	+	0.37	0.49
<i>B. silva-taroucana</i> Schneid.(华西小檗)	四川峨眉山	+	±	-	0.24	+	0.03	3.85
<i>B. stiebritziana</i> Schneid.	四川理塘	-	0.34	+	0.23	+	0.09	1.38
<i>B. thunbergii</i> D C. (日本小檗)	北京药植所	+	0.17	-	0.47	+	0.08	1.33
<i>B. thunbergii</i> D C. var.								
<i>atropurpurea</i> Chenault(紫茎小檗)	北京药植所	+	1.47	+	0.88	+	0.19	2.13
<i>B. valida</i> (Schneid) Schneid.	四川峨眉山	+	-	+	0.20	+	0.08	1.73
<i>B. verruculosa</i> Hemsl. (疣枝小檗)	四川峨眉山	-	0.16	-	0.94	+	0.30	1.98
<i>B. wilsonae</i> Hemsl. (金花小檗)	四川峨眉山	-	0.01	+	0.78	+	0.24	1.94

注：+：检测到该成分，未定量；-：未检测到该成分；±：含量低于0.01%

参考文献

7 马志刚. 中草药, 1993, 24(6): 298; 1993, 25(3), 149
8 肖培根, 等. 植物分类学报, 1974, 12(4): 383
9 中华人民共和国药典. 一部. 广州: 广东科技出版社. 1995; 附录 22
10 中国医学科学院药物研究所等. 中药志. 第一册. 北京: 人民卫生出版社. 1993; 278

(1998-04-25 收稿)

敬告读者

本刊编辑部尚存部分过刊精装合订本, 包括: 1991~1994 年(50 元/年); 1995~1997 年(102 元/年); 1998 年(120 元); 1996 年增刊(50 元); 1997 年增刊(45 元); 1998 年增刊(55 元)。欢迎来函来电订购。