

· 综述 ·

# HPLC 法在生物碱分析中的研究进展

李晓海, 周同惠\*

(中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

**摘要:** 生物碱是植物中一类重要化学成分, 许多生物碱或含生物碱的提取物已广泛用于医药领域, 因此对不同来源的, 存在于较复杂体系或基质中的生物碱进行快速、灵敏、可靠的定性、定量分析一直是受人瞩目的研究课题。本文对近年来 HPLC 分析生物碱理论与应用的研究进展进行概述。

**关键词:** HPLC; 生物碱; 含量测定

中图分类号: R 286. 022

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)04-0368-05

## Advances in analysis of alkaloids by HPLC

LI Xiao-hai, ZHOU Tong-hui

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Key words:** HPLC; alkaloids; assaying

生物碱是植物中一类重要化学成分, 至少有 50 多科 120 余属的植物中已证明有生物碱存在<sup>[1]</sup>。目前人们研究发现的约有一万二千余种, 大多具有较强生理活性。许多生物碱或含生物碱的提取物已广泛用于医药领域, 如阿片中镇痛成分吗啡, 麻黄中抗哮喘成分麻黄碱等; 许多滥用药物亦是生物碱, 如土的宁、可卡因、海洛因等; 同时食物或草药中常含有一些有毒的生物碱, 如肝毒性吡咯里西定类生物碱<sup>[2]</sup>已引起国际医药学界重视。因此对不同来源的, 存在于较复杂体系或基质中的生物碱进行快速、灵敏、可靠的定性、定量分析一直是受人瞩目的研究课题<sup>[3]</sup>。其中 HPLC 法由于其具有较高效的分离效能, 较宽的适用范围及条件优化的灵活性等优点在生物碱分析中得到广泛应用<sup>[4]</sup>。Kabulov B D<sup>[5]</sup>曾对 90 年代前的生物碱 HPLC 分析法进行了较全面的综述。本文对近年来 HPLC 分析生物碱理论与应用的研究进展进行概述, 以对从事分析工作的科学工作者有一定借鉴意义。

### 1 生物碱 HPLC 分析模式及机制

根据 HPLC 分析生物碱时所使用固定相性质, 流动相组成及极性不同, 其分析模式大致可分为: 正相吸附色谱法、正相硅胶-反相洗脱系统色谱法、反相色谱法及离子交换色谱法。

1.1 正相吸附色谱法: 通常以硅胶基质为吸附固定相, 流动相为不同极性的有机溶剂或不同比例混合溶剂, 分离过程主要依靠生物碱与吸附剂吸附作用的差异实现。为了改善分离, 提高溶剂洗脱能力, 常于流动相中加入浓氨液、二乙胺、三乙胺等<sup>[5]</sup>。近年来该法应用于生物碱分析的文献较少, 傅应华等<sup>[6]</sup>使用 Alltima 正相硅胶柱, 以氯仿-甲醇-浓氨液 (90:10:0.3) 为流动相, 紫外法检测, 建立了测定马钱子中土的宁和马钱子碱含量的方法, 两者分离及峰形良好, 其它应用见表 1。

1.2 正相硅胶-反相洗脱系统色谱法(NS-RE): 通常采用未

表 1 正相吸附色谱法在生物碱分析中的应用

生物碱	固定相	流动相	检测器	文献
氧化苦参碱	Spherisorb-SiO <sub>2</sub> , 5 μm 25 cm × 4.6 mm	methanol-hexane(4:1) 1.2 mL 28% NH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O/100 mL	UV220	25
莲心碱, 异莲心碱, 甲基莲心碱	Utrasphere Si 25 cm × 4.6 mm	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -isopropanol-Et <sub>2</sub> NH 70:30:0.2	UV	26
马钱子碱, 土的宁	Platinum silica, 3 μm 15 cm × 4.6 mm	hexane-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -methanol-NH <sub>3</sub> 47.5:47.5:5:0.35	UV254	27

经化学改性的普通硅胶为固定相, 以极性有机溶剂(甲醇、乙腈)和高 pH 缓冲溶液为流动相, 分析包括生物碱在内的碱性药物。该法柱效高, 峰形对称, 是简便有效的方法<sup>[7]</sup>。在实际应用中, 流动相的组成是主要影响因素, 流动相中除含有

调节 pH 的缓冲盐外, 有时还要加入三乙胺、溴化四丁基铵等竞争离子或烷基磺酸钠等对离子, 因此, 影响保留与分离的主要因素是流动相 pH、竞争离子种类及浓度。周桂生等<sup>[8]</sup>称该法为正相硅胶柱-准离子交换色谱法, 并建立了测定马

\* 收稿日期: 2001-06-20

作者简介: 李晓海(1970-), 男, 河北怀安县人, 中国医学科学院药物所分析专业 99 级博士生, 主要从事中药成分分析及常用中草药成分代谢转化研究。

钱子中士的宁含量的方法; 刘乃强等<sup>[9]</sup>用正交试验法对该法所用溶剂系统进行了研究, 发现它既不同于正相硅胶吸附法, 亦不同于反相分配法, 组分色谱行为与其脂溶性或极性无关, 生物碱碱性大小( $pK_a$ ) 以及碱性基团的多少成为主要影响因素, 该法有效地避免了生物碱在分配(或吸附)柱上保留时间长、峰形拖尾的缺点, 作者认为该法有可能成为 HPLC 分析生物碱的新趋势。魏清芳<sup>[10]</sup>亦采用未改性硅胶柱建立了测定复方黄连注射液中硫酸小檗碱及甲氧苄氨嘧啶含量的方法, 流动相中使用了有机改性剂三乙胺, 并讨论了改变流动相 pH、离子强度及加入三乙胺对分离的影响, 得到了类似结论。

1.3 反相高效液相色谱法(RP-HPLC): 近年来 RP-HPLC 应用于生物碱分析方面的文献很多, 已成为常规的方法, 应用实例见表 2。但普通存在色谱峰的展宽拖尾, 导致分离效能低, 这主要缘于生物碱结构中碱性氮原子与固定相未键合酸性硅醇基的相互作用<sup>[4]</sup>, 即使是所测生物碱在较低浓度下, 仍常产生峰漂移及峰对称性差等现象。针对此缺陷, 研究人员从适用于碱性物质分析的反相填料的设计选择<sup>[11, 12]</sup>, 流动相中缓冲盐的使用, 流动相添加剂(离子对试剂、有机胺改性剂) 等几方面进行了较为广泛细致的研究, 取得了一定进展, 现从固定相、流动相优化两方面进行评述。

1.3.1 固定相的选择: 近年来, 适用于碱性物质分析的反相

表 2 RP-HPLC 在生物碱分析中应用

生物碱	固定相	流动相	检测器	文献
psychotridine, pyrrolidine and quindine alkaloids	Symmetry C <sub>18</sub> , 5 μm 25 cm × 4.6 mm	methanol-H <sub>2</sub> O-Et <sub>3</sub> NH 720 280 1 to 850 15 1 in 25 min	UV, TSM/MS	28
钩藤碱 rhynchophylline, isorhynchophylline	Phenomenox C <sub>18</sub> , 5 μm 25 cm × 4.0 mm	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O(55 45) adjust pH to 7.5 with HAc	UV	254 29
indole alkaloids, 蛇根碱, 阿吗碱等	Nucleosil 5 C <sub>18</sub> , 5 μm 25 cm × 4.6 mm	MeOH-AcCN-25 mmol · L <sup>-1</sup> sodium acetate-Et <sub>3</sub> N (15 40 45 0.1)	UV	280 30
plasma, urine, 青风藤碱, sinomenine	ODS	ACN-0.01 mol · L <sup>-1</sup> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> -tetramethyldiethylamine(46 54 0.22) adjust pH6.9	UV	263 31
human serum, caffeine, paraxanthine	Supelco LC-18-DB	0.05 mol · L <sup>-1</sup> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , containing Et <sub>3</sub> N (pH6.4) / MeOH(830 160)	UV	273 32
plasma or organ tissue colchicine	LiChrospher 100RP-18, 5 μm 25 cm × 3.9 mm	Gradient elution A: ACN B: 0.03 mol · L <sup>-1</sup> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.1% Et <sub>3</sub> N, pH3.0	UV	33
bisbenzylisquinoline: alkaloids aromoline, obamegine, berberine	Microsorb-MV C <sub>18</sub> , 5 μm 25 cm × 4.6 mm	ACN/0.05 mol · L <sup>-1</sup> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> buffer (27 73) containing 2 mmol · L <sup>-1</sup> sodium heptanesulphonate 0.1% Et <sub>3</sub> N	UV	207 34
atropine, atropine-like alkaloids atropine, homatropine	Ultraspher, 5 μm CN 25 cm × 4.6 mm	H <sub>2</sub> O-ACN-THF(67 30 3) containing 1 mmol · L <sup>-1</sup> perchloric acid	ECD	35
colchicine alkaloids	Hypersil C <sub>18</sub> 10 cm × 4.6 mm	Gradient elution ACN-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> buffer(pH4.5)-THF	UV	36
β-carboline alkaloids	Shim-pack CLC C <sub>8</sub> , 5 μm 25 cm × 4.6 mm	ACN-TFA-H <sub>2</sub> O (90 1 409)	FD	37
野罂粟碱	YWG-C18 25 cm × 3.9 mm	ACN-CH <sub>3</sub> OH-Et <sub>3</sub> N phosphate (15 10 75), pH3.0	UV	261 38
rhynchophylline	Phenomenex C <sub>18</sub> , 5 μm 25 cm × 4.0 mm	MeOH-H <sub>2</sub> O(55 45) 0.01 mol · L <sup>-1</sup> Et <sub>3</sub> N, pH7.5	UV	254 39
codeine, ephedrine	u-Bondapak ODS, 5 μm 15 cm × 4 mm	0.05 mol · L <sup>-1</sup> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1% Et <sub>3</sub> N, pH3.0) - 0.005 mol · L <sup>-1</sup> IPR-B6 MeOH solution(1.2 1)	UV	254 40

填料的设计和选择日益受到重视。Haberlein 等<sup>[11]</sup>指出 RP-HPLC 分析生物碱时峰拖尾变形, 分离效能差的程度与所选用的反相填料的性质相关, 主要受反相填料硅醇基活性, 硅胶基质的性质, 硅烷化试剂的差异等因素影响, 并利用<sup>29</sup>Si 及<sup>13</sup>C-CP-MAS-NMR 谱学手段阐明了反相填料 Nucleosil 100AB 及 LiChrospher 60RP-select B 各自结构特征及差别, 以及这些差别在分离、分析白屈菜属生物碱黄连碱、白屈菜碱以及小檗碱时对分离效果的影响, 得出选择合适固定相对于分析生物碱是必要的结论。Theodoridis G 等<sup>[13]</sup>测试比较了专用于碱性化合物的 HPLC 分析设计的新型柱填料, 其中包括硅胶基体的甲基苯基-丙基甲硅烷基、硅胶基体的 C<sub>18</sub> 和 C<sub>8</sub>, 以氧化铝和聚苯乙烯-二乙烯苯为基体的聚合物填料以及混有阳离子交换-C<sub>18</sub>功能的填料, 针对每种柱填料均进行了流动相组成的优化, 碱性化合物在这些 C<sub>18</sub>柱和聚合物

柱上得到满意的分离效果, 以不同柱填料为固定相对生物碱的分离、分析呈现明显选择性差异, 这些新柱填料已被用于金鸡纳生物碱和长春花生物碱的分析。Imaz C 等<sup>[14]</sup>以尿中麻黄碱类生物碱的分析为评价依据, 比较了几种专用于碱性物质分析的反相柱 LiChrospher 60RP-select B、LiChrospher-100RP<sub>18</sub>、Hypersil BDS-C<sub>18</sub>、Inertsil ODS-2、Spherisorb ODS-B、Symmetry Shield RP8 的分析效果, 结果表明麻黄碱类生物碱在各种反相柱均得到较佳分离效果, 所建立的方法适用于该类兴奋剂检测。最后需要指出的是, 一个合理客观的评价碱去活反相柱性能的标准可以为选择合适的反相柱提供依据, McCalley D V<sup>[15]</sup>针对烟草类生物碱在不同碱去活性反相柱分离效果与反相柱性能比较结果不符, 提出了以尿嘧啶作为死体积标示物, 以吡啶代替 N,N-二甲苯胺作测试物, 所测得的柱效及拖尾因子可提示不同柱料性

能之间的差异。总之,近来出现的许多适于碱性物质分离的反相填料,具有比常规填料更好的重现性、更高的耐酸碱稳定性以及不易受次级保留作用的影响,提高了生物碱 RP-HPLC 分析固定相选择的灵活性。

1.3.2 流动相添加剂的选择: RP-HPLC 分离、分析包括生物碱在内的碱性化合物时,为克服硅醇基的不利影响,从流动相角度入手,多从以下途径加以改善:①在合适 pH 值下,流动相中加入低浓度离子对试剂<sup>[16]</sup>(见表 3);②流动相中加入一定浓度的电解质缓冲盐,通过改变流动相离子强度,稳

定 pH 值及促进离子对相互作用而起到改善色谱峰形、分离选择性及分离效能,通常可加入无机盐类(NaOAc、KI、KBr、NH<sub>4</sub>OAc、NaSCN、NH<sub>4</sub>SCN 及 NBu<sub>4</sub>I 等),起到掩蔽硅醇基的作用;③加入有机胺改性剂,竞争或部分阻断硅醇基的影响,通常使用二乙胺、三乙胺、二甲基辛胺等。上述方法的综合运用,可以有效地改善峰形,提高分离效能,因而得到广泛的应用。但不足的是,这些有效的流动相添加剂实际应用中常导致平衡时间长,基线噪音强,清洗柱系统时间长,反相柱长期使用的稳定性降低,腐蚀仪器等缺点<sup>[3]</sup>。

表 3 反相离子对 HPLC 在生物碱分析中的应用

生物碱	固定相	流动相	检测器	文献
morphine, codeine, thebaine, papaverine, noscapine	Hypersil BDS 25 cm × 4 mm	gradient elution A: pH3.2 Sodium heptanesulfonate (1 g/390 mL) B: ACN	UV	41
nicotine, eserine, cocaine, strychnine	ODS, 5 μm 25 cm × 4.6 mm	A: pH3.0 0.01 mol · L <sup>-1</sup> sodiumoctylsulfonate 0.05 mol · L <sup>-1</sup> Citric acid B: methanol (A B 11 9)	DAD	42
bisbenzylisopropylamine alkaloids: aromoline, obamegine, berbamine, homoarmoline	microsorb-MVC18 5 μm 25 cm × 4.6 mm	pH3.0 50 mmol · L <sup>-1</sup> potassium phosphate buffer/ACN (27 73) (containing 0.1% Et <sub>2</sub> NH 2 mmol · L <sup>-1</sup> sodium heptanesulfonate)	UV207	43
plasma, urine, codeine and metabolites	Zorbax C <sub>8</sub> , 5 μm 15 cm × 4.6 mm	ACN/buffer (77 23) suffer: 5 mmol · L <sup>-1</sup> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 0.7 mmol · L <sup>-1</sup> sodium dodecylsulfate	UV214, ECD	44

1.4 离子交换色谱法:该法以阳离子交换树脂为固定相,利用质子化的生物碱阳离子与离子交换剂交换能力的差异而达到分离生物碱的目的,有关生物碱高效液相离子交换色谱法的应用报道较少。Borg P J 等<sup>[17]</sup>使用 Whatman Partisil 10SCX 阳离子交换色谱柱建立了测定大鼠脑及血浆中吗啡的离子交换色谱-电化学检测法,分离效果好,测定的专属性、灵敏度高;Croes K 等<sup>[18]</sup>使用 Spherisorb S5SCX(磺丙基键合硅胶)强阳离子交换树脂为固定相,以具有合适 pH 值及离子强度缓冲液(高氯酸或高氯酸铵)甲醇体系为流动相,建立了测定包括奎宁、可待因、吗啡在内的碱性药及季铵类化合物的 HPLC 方法,分离效果及峰形均较佳。

## 2 生物碱 HPLC 分析检测方法

目前,生物碱 HPLC 分析检测方式多以紫外法为主,在定性分析方面,紫外法检测选择性低,定性专属性差。随着二极管阵列检测器使用的普及,显著提高了液相分析检测的选择性。此外,根据生物碱的理化性质,其它检测方式如荧光法、电化学法、蒸发光散射法亦得到了应用。朱龙等<sup>[19]</sup>建立了 RP-HPLC 化学发光检测吗啡、可待因的方法,获得了比紫外法检测更高的灵敏度;朱丹妮<sup>[20]</sup>建立了测定贝母类药材生物碱的 HPLC 方法,以蒸发光散射检测,排除了杂质的干扰。近年来,液相色谱-质谱联用技术已应用于生物碱分析,增强了对生物碱的定性检测能力,提高了检测灵敏度<sup>[3]</sup>。Chuang 等<sup>[21]</sup>用紫外和电喷雾质谱(ESI-MS)测定黄连中的 7 种生物碱,通过追踪选定离子来解决重叠峰问题,用诱导碰撞裂解反应获得单个组分的结构信息,1 h 内分离鉴定了黄连粗提物中黄连碱、小檗碱等。新的接口技术及离子化方法的发展,使得 HPLC-MS 在生物碱的分析中得到较广泛的

应用,近年的文献报道日渐增多。

## 3 生物碱 HPLC 分析的样品处理方法

生物碱常具有一定的碱性,一般常用碱化液液萃取或酸水提取等方法从中草药、中成药及生物样品等较复杂体系中提取纯化,以达到富集和去除杂质的目的。近年来,固相萃取(SPE)技术及超临界流体萃取等现代提取纯化技术亦应用于样品的提取纯化。Yuan Y F<sup>[22]</sup>在测定紫堇属延胡索中 DL-延胡索乙素时,将样品干燥粉碎后,与适量 Ca(OH)<sub>2</sub> 混合碱化,利用混有甲苯的超临界 CO<sub>2</sub> 进行萃取,待测成分萃取率较高,杂质干扰少。Hurlbut J A<sup>[23]</sup>利用固相萃取技术,建立了从生药中提取麻黄碱类生物碱的方法。SPE 作为一种有效的样品预处理及净化技术,在 HPLC 测定法医或临床来源的生物样品中的生物碱得到充分应用<sup>[24]</sup>。

## 5 结语

本文较全面地综述了 HPLC 应用于分析生物碱的各种模式及应用特点。其中,正相吸附色谱的应用范围窄,不适用于生物体液样品的测定;正相硅胶-反相洗脱色谱法具有碱性药物保留时间短,拖尾改善,峰形对称,流动相组成简单,固定相稳定,选择性好等优点,近年来成为分析生物碱及碱性药物的一种有效方法;RP-HPLC 目前仍是分析生物碱的主要手段,值得一提的是,由于未键合残留硅醇基使得生物碱的分析受到不利影响,不同型号甚至同一型号不同批号的 ODS 柱所得分析结果重现性极差,针对这些问题,人们开始关注问题的焦点——反相填料的性能,逐渐开发出适用于碱性物质分析的新型反相填料及碱去活色谱柱,使得生物碱 HPLC 方法建立得以简化,估计今后更有效地分析包括生物碱在内的碱性药物的新型固定相将会不断涌现。另外,随着

二极管阵列检测技术、LC-MS 联用技术的日趋普及与完善,生物碱 HPLC 分析的定性鉴别能力大大得到加强。总之,随着适用性好、高性能反相填料的生产及使用,流动相添加剂理论及应用的成熟以及灵敏度高、定性鉴别能力强的检测方法的综合运用,HPLC 方法仍将在生物碱的分离、分析中扮演主要角色。

#### 参考文献:

- [1] 徐任生. 天然产物化学[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [2] 赵显国, 王峥涛, 张 勉. 肝毒性吡咯里西啶生物碱与中草药[J]. 中草药, 1998, 29(5): 343-346.
- [3] Verpoorte R, Niessen W M A. Liquid chromatography coupled with mass spectrometry in the analysis of alkaloids[J]. *Phytochem Anal*, 1994, 5(5): 217-232.
- [4] Popl M, Fahrnich J, Tar V. Chromatographic analysis of alkaloids [M]. New York: Marcel Dekker, 1990.
- [5] Kabulov B D, Yakonov A L D. High-performance liquid chromatography of alkaloids [J]. *Chem Nat Compd (Engl-Trans)*, 1992, 27(5): 521-540.
- [6] 傅应华, 韩伟东, 徐宏祥. 高效液相色谱法同时测定马钱子中土的宁和马钱子碱的含量[J]. 中国药科大学学报, 1998, 29(4): 281-283.
- [7] Golkiewicz W, Kuczynski J. High-performance liquid chromatography of some alkaloids on unmodified silica gel with aqueous-organic solvent mixtures [J]. *J Chromatogr A*, 1994, 686(1): 85-91.
- [8] 周桂生, 刘乃强, 孙信功. 硅胶柱准离子交换色谱法测定马钱子中土的宁的含量[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(9): 553-555.
- [9] 刘乃强, 周桂生, 张新琴. 用正交试验法对硅胶柱准离子交换色谱溶剂系统的研究[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(1): 31-33.
- [10] 魏清芳, 李康乐, 叶 青. 正相硅胶反相洗脱色谱法测定复方黄连素注射液的含量[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(9): 534-536.
- [11] Haberlein, Tschiersch K P. Effects of surface structure of reversed phases on the separation of alkaloids by HPLC [J]. *Pharmazie*, 1994, 49(4): 769-775.
- [12] McCalley D V. Reversed-phases HPLC of basic samples—an update[J]. *LC-GC Asia Pacific*, 1999, 2(3): 37-44.
- [13] Theodoridis G, Papadoyannis I, Hermans-lokkerbol A. A study of the behaviour of some new column materials in the chromatographic analysis of catharanthus alkaloids [J]. *Chromatographia*, 1997, 45: 52-58.
- [14] Imaz C, Navajas R, Carreras D. Comparison of various reversed-phase columns for the simultaneous determination of ephedrine in urine by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 870(1, 2): 23-28.
- [15] McCalley D V. Evaluation of reversed-phase columns for the analysis of very basic compounds by high-performance liquid chromatography application to the determination of tobacco alkaloids [J]. *J Chromatogr*, 1993, 636(2): 213-220.
- [16] Gennaro M C. Reversed-phase ion-pair and ion-interaction chromatography [A]. *Adv Chromatogr [C]*. New York: Marcel Dekker, 1995, 37.
- [17] Borg P J, Sitaram B R. Ion-pair extraction and liquid chromatography analysis of morphine in rat brain and plasma [J]. *J Chromatogr Biomed Appl*, 1993, 621(2): 165-172.
- [18] Croes K, McCarthy P T. HPLC of basic drugs and quaternary ammonium compounds on microparticulate strong cation exchange materials using methanolic or aqueous methanol eluents containing an ionic modifier [J]. *J Chromatogr A*, 1995, 693(2): 289-306.
- [19] 朱 龙, 封满良, 万秀琴. 吗啡和海洛因等生物碱的高效液相色谱化学光测定[J]. 分析化学, 1996, 24(11): 1295-1297.
- [20] 朱丹妮, 谭萍萍, 高山林. HPLC-ELSD 分析测定贝母类药材中生物碱[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 87-90.
- [21] Chuang W C, Young D S, Liu L K. Liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric analysis of *Coptidis rhizoma* [J]. *J Chromatogr A*, 1996, 755(1): 19-26.
- [22] Yuan Y F, Liu Z L. Use of silica gel with reversed-phase eluents for the separation and determination of alkaloids in *Corydalis Yanhusuo* and its preparations [J]. *Biomed Chromatogr*, 1996, 10(1): 11-14.
- [23] Hurlbut J A, Carr J R. Solid-phase extraction cleanup and liquid chromatography with ultraviolet detection of ephedrine alkaloids in herbal products [J]. *J AOAC Int*, 1998, 81(6): 1121-1127.
- [24] Theodoridis G, Papadoyannis I. A comparative study of different solid phase extraction procedure for the analysis of alkaloids and forensic interest in biological fluids by RP-HPLC/DAD [J]. *J Liq Chromatogr*, 1995, 18(10): 1973-1995.
- [25] 孟根达莱, 王 毅, 刘拴娣. HPLC 法测定人血浆中氧化苦参碱含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(2): 114-117.
- [26] 张先州, 胡学民, 罗顺德. 高效液相色谱法测定莲子心中三种生物碱[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(2): 110-112.
- [27] 徐丽华, 鲁 静. HPLC 法测定马钱子及制剂中土的宁与马钱子碱的含量[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(6): 383-385.
- [28] Verotta L, Peterlongo F. High-performance liquid chromatography-diode array detection-tandem mass spectrometry analysis of the alkaloids extracts of amazon psychotria species [J]. *J Chromatogr A*, 1999, 841(1): 165-176.
- [29] 王英锋, 魏璐雪. 高效液相色谱法测定钩藤中钩藤碱、异钩藤碱含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(1): 56-57.
- [30] 赵 剑, 朱蔚华. 反相高效液相色谱法测定长春花组织培养物中吲哚生物碱含量[J]. 药理学学报, 1999, 34(7): 539-542.
- [31] 闫小华, 李焕德, 彭文兴. 高效液相色谱法测定人血清及尿中盐酸青藤碱浓度及药代动力学研究[J]. 药理学学报, 1997, 32(8): 620-624.
- [32] Koch J P, Tusscher G W. Validation of a high-performance liquid chromatography assay for quantification of caffeine and paraxanthine in human serum in the context of CYP1A2 phenotyping [J]. *Biomed chromatogr*, 1999, 13(3): 309-314.
- [33] Dehon B, Chagnon J, Vinnor E. Colchicine poisoning: report of a fatal case with body fluids and post-mortem tissue analysis by high-performance liquid chromatography [J]. *Biomed Chromatogr*, 1999, 13(3): 235-238.
- [34] Sun S W, Lee S S. Determination of bisbenzylisoquinoline alkaloids by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 799(1, 2): 337-342.
- [35] Lau O W, Mok C S. High-performance liquid chromatographic determination of atropine and atropine-like alkaloids in pharmaceutical preparations with indirect conductometric detection [J]. *J Chromatogr A*, 1997, 766(1, 2): 270-276.
- [36] Rosso, Zuccaro A. Determination of alkaloids from the colchicine family by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 825(1): 96-101.
- [37] Tshchiya H, Hayashi H. Quantitative analysis of all-types of carboline alkaloids in medicinal plants and dried edible plants by HPLC with selective fluorometric detection [J]. *Phytochem Anal*, 1999, 10(5): 247-253.
- [38] 戴军平, 张平兰, 李 铭. HPLC 测定咳嗽宁胶囊中盐酸野罂粟碱的含量[J]. 中成药, 2000, 22(10): 693-694.
- [39] 王英锋, 魏璐雪. 天麻苷与钩藤生物碱在实验动物体内的代谢分析[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(2): 133-136.
- [40] 南 楠, 陈 华, 朱霁虹. HPLC 法测定万辉化痰止咳露中硫酸可待因、盐酸麻黄碱和马来酸氯苯那敏含量[J]. 药物分析

杂志, 2000, (1): 7-10.

[41] Krenn K, Glantschnig S. Determination of the five major opium alkaloids by reversed-phase HPLC on a base-deactivated stationary phase[J]. *Chromatographia*, 1998, 47(1, 2): 21-24.

[42] Smallwood A W, Tschee C S. Basic drug screen and quantitation of five toxic alkaloids in milk, chocolate milk, orange juice and blended vegetable juice [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45(10): 3976-3979.

[43] Sun S W, Lee S S. Determination of bisbenzylisoquinoline alkaloids by high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 1998, 799(1, 2): 337-342.

[44] He H, Shay S D. Simultaneous determination of codeine and its seven metabolites in plasma and urine by high-performance liquid chromatography with ultraviolet and electrochemical detection[J]. *J Chromatogr Biomed Appl*, 1998, 709(1): 185-193.

## 一种尚待开发的中药——竹黄

钟树荣, 赵海, 李安明, 戚天胜\*

(中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041)

摘要: 竹黄是中国传统的中药之一。从生态学、药物化学、药理作用及临床应用等方面对竹黄的研究现状作了较为全面的介绍, 初步探讨了竹黄研究中存在的问题, 指出其微生物学、生态学和分子生物学等领域的研究尚待深入。并且认为光敏色素——竹红菌素有望发展成为新型的抗肿瘤和抗病毒药物。

关键词: 竹黄; 竹红菌素; 自敏光氧化; 光损伤

中图分类号: R282.71 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0372-03

### Potential TCM——*Shiraia bambusicola*

ZHONG Shu-rong, ZHAO Hai, LI An-ming, QI Tian-sheng

(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu Sichuan 610041, China)

**Key words:** *Shiraia bambusicola* Henn.; hypocrellins; auto-sensitized photooxidation; photodamage

竹黄 *Shiraia bambusicola* Henn. 别名赤团子、竹赤团子、竹茧、竹赤斑菌、淡菊花、天竹花、淡竹花、竹花等, 为肉座菌科(Hypocreaceae)真菌竹黄寄生于特定竹类上形成的子实体(也叫子座)。其性温味淡, 具有止咳祛痛、舒筋活络、祛风利湿、补中益气、活血补血、散瘀通经之功效。主要分布于我国江苏、安徽、浙江、江西、福建、湖北、四川、贵州等地。民间用于治疗虚寒胃痛、风湿性关节炎、气管炎, 百日咳、坐骨神经痛、跌打损伤、贫血头痛等症, 是我国一种重要的中药资源<sup>[1]</sup>。目前, 随着竹黄中具有光敏活性的竹红菌素(竹红菌甲素和竹红菌乙素)的发现, 竹黄的研究日益受到重视。为使读者对竹黄有一个全面的认识, 更好地开发利用宝贵的自然资源, 现将竹黄的国内外研究现状概述如下。

#### 1 生态学

竹黄的主要寄主为短穗竹属(*Brachystachyum* Keng)植物。其中最重要的为短穗竹 *B. densiflorum* (Rendle) Keng 及其变种毛环短穗竹 *B. densiflorum* (Rendle) Keng var. *villosum* S. L. Chen et C. Y. Yao, 并且发现竹黄的另一重要新寄主植物——白纹短穗竹 *B. albostriatum* G. H. Lai。竹黄在不同生境竹林中的寄生状况也颇有不同: 竹黄在山凹洼地或阴坡湿润阴凉生境竹林中的寄生率明显高于

其它生境竹林; 在纯竹林中的寄生率高于混交林。每年5月下旬至6月上旬为竹黄最佳生长发育期, 也是其最佳采收期<sup>[2]</sup>。

#### 2 化学成分

2.1 主要色素及自敏光氧化反应机制: 竹黄中分离提纯的色素主要有竹红菌甲素(hypocrellin A, 简称 HA)和竹红菌乙素(hypocrellin B, 简称 HB), 二者均属醌类衍生物, 统称为竹红菌素<sup>[3]</sup>。此两种色素首先自竹红菌 *Hypocrella bambusae* Sacc 中发现, 因而得名(图1)。

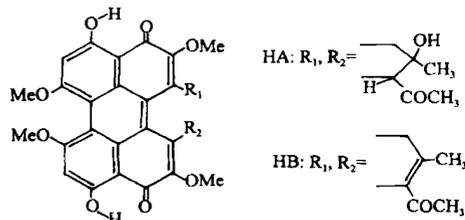


图1 竹红菌素的结构式

张志义等从光生物学角度, 用电子自旋共振(ESR)等近代技术, 探讨了 HA 光敏作用原初反应的特征。结果表明,

\* 收稿日期: 2001-09-14

作者简介: 钟树荣(1977-), 女, 云南会泽人, 中科院成都生物所在读硕士研究生, 指导教师李安明, 目前从事高等真菌的研究工作。

E-mail: sarazhong@hotmail.com