

## 二妙散生物碱类成分的定量分析\*

陈 婷 徐 强 严永清

(中国药科大学 南京 210038)

**摘要** 本文在前报对二妙散水提物中的免疫抑制活性成分进行定性分析的基础上,应用 TLCS 及 HPLC 法对其中的生物碱进行了定量测定,并与黄柏水提物中的各生物碱含量进行了比较,结果表明,二妙散中各生物碱的含量均低于黄柏,其中小檗碱和巴马汀的含量减少幅度最大。

**关键词** 二妙散 生物碱 TLCS HPLC 定量分析

## Quantitative Analysis of Alkaloids in Ermiao Powder

Chen Ting, Xu Qiang, Yan Yongqing

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210038)

**Abstract:** Based on the qualitative analysis for the immunosuppressive components in the aqueous extracts from Ermiao Powder (EMP) reported in our previous paper, present investigation was carried out to determine alkaloids in EMP and *Cortis phellodendri* (CP) quantitatively using TLCS and HPLC methods. The results demonstrated that quantity of all the individual alkaloids determined in EMP, especially berberine and palmatine, was less than that of corresponding ones in CP.

**Key words:** Ermiao Powder; alkaloid; TLCS; HPLC; quantitative analysis

古方二妙散由黄柏、苍术二药组成。我们的前期研究发现,其水提物对迟发型超敏反应有显著的抑制活性,且作用较单味黄柏、苍术为强<sup>[1]</sup>;进一步的研究表明,黄柏中的生物碱是二妙散免疫抑制作用的主要活性成分之一<sup>[2]</sup>。本文在此基础上用双波长薄层扫描法及反相高效液相法测定了二妙散及黄柏水提物中各生物碱的含量,并进行比较,以阐明生物碱含量与二妙散免疫抑制作用之间的关系。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器、药品与药材

1.1.1 仪器 日本岛津 Le-2F 型高效液

相色谱仪;日本岛津 SPD-1 型多波长紫外检测器;上海计算技术所 cDMC-1E 型色谱数据处理机;岛津 CS930 薄层扫描仪;CQ250 超声波清洗器。

1.1.2 药品 盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱均购自中国生物制品检定所;黄柏碱由日本岐阜药科大学森裕志教授惠赠;HB-1 为自提结晶,结构待定。

1.1.3 药材黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid 的树皮,苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC 的根茎。黄柏水提物由黄柏药

\* 江苏省自然科学基金资助项目

材加 11 倍水分三次煎煮,合并煎煮液,浓缩、干燥得粉末,得率为 20%;二妙散水提取物由黄柏和苍术等量药材按同法提取而得,得率为 31%。

## 1.2 薄层层析的含量测定与结果

**1.2.1 薄层层析条件** 薄层板:GF<sub>254</sub> 高效硅胶板,105℃活化半小时;展开剂:正丁醇:冰醋酸:水 7:1:2;展距:15cm;显色剂:碘化铊钾。测定波长: $\lambda_s = 620\text{nm}$ ,  $\lambda_R = 360\text{nm}$ 。

**1.2.2 样品的制备** 精密称取黄柏水提取物 1.00g 及二妙散水提取物 1.55g(相当于 5g 黄柏生药),加 20ml 水超声溶解后,再加 95% 的乙醇 56ml,边加边搅拌,使之成 70% 的醇沉液,离心,上清液定量转移至 100ml 容量瓶中,用 70% 的乙醇洗涤沉淀,合并上清液,最后加 70% 乙醇稀释至刻度。制得浓度为

50mg(黄柏生药)/ml 的各样品。

**1.2.3 测定结果** 取上述各样品液 10 $\mu\text{l}$ , 间隔点样,用盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、黄柏碱、HB-1 作定性对照。薄层扫描见图 1。以峰面积为测定值,结果见表 1。

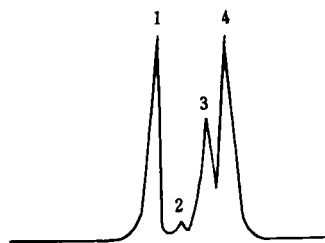


图 1 二妙散中生物碱的薄层扫描图

1. HB-1 2. 黄柏碱 3. 盐酸巴马汀 4. 盐酸小檗碱

表 1 薄层扫描测定结果

	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	黄柏碱	HB-1	总和
黄柏水提取物	76144 <sup>1)</sup>	25124	2168	41640	145076
二妙散水提取物	64541	22964	1023	38744	127272
含量减少数(%) <sup>2)</sup>	15.2	12.2	11.3	6.95	12.3

<sup>1)</sup>峰面积; <sup>2)</sup>二妙散较黄柏生物碱含量的减少数。

## 1.3 HPLC 的含量测定与结果

**1.3.1 液相色谱条件** 色谱柱:Nucleosil-ODS5 $\times$ 250mm 分析柱。流动相:甲醇:磷酸盐缓冲液:十二烷基硫酸钠 60:40:0.1 (ml:ml:g)。流速:1.0ml/min。检测波长:264nm。柱温:25℃。

**1.3.2 线性试验** 精密称取盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸药根碱、黄柏碱、HB-1 适量,置 25ml 容量瓶中,加甲醇溶解,并稀释

表 2 标准品的回归方程(n=2)

标准品	相关系数	回归方程
盐酸小檗碱	0.9976	$y = 0.0568 + 1.6077x$
盐酸巴马汀	0.9991	$y = -0.0239 + 1.5392x$
盐酸药根碱	0.9986	$y = 0.0108 + 1.4824x$
黄柏碱	0.9989	$y = 0.0066 + 0.1921x$
HB-1	0.9980	$y = 0.0067 + 0.6263x$

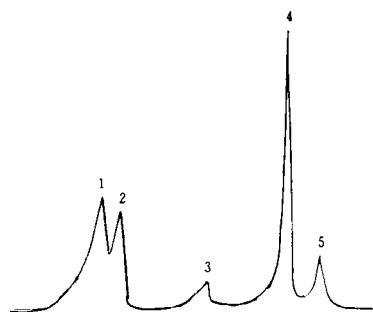


图 2 数种生物碱的 HPLC 色谱图

1. 盐酸小檗碱 2. 盐酸巴马汀  
3. 盐酸药根碱 4. HB-1 5. 黄柏碱

至刻度。取上述 5 种生物碱混合液进样,色谱图如图 2 所示,用峰面积 X 对进样量( $\mu\text{g}$ )Y 回归,得各标准品的回归方程见表 2。

**1.3.3 样品的提取方法** 取黄柏水提取物 40mg 及二妙散水提取物 124mg 左右(相当于黄柏生药 200mg),精密称定,置索氏提取器中回流提取至无色(约需 16 小时),回收溶剂至干,加 5ml 甲醇超声溶解,定量转移至 10ml 容量瓶中,稀释至刻度,过滤,弃去初滤

液,收集继滤液,供测定。

**1.3.4 测定结果** 取二妙散及黄柏样品液 15 $\mu$ l 进样,外标两点法按前述选定色谱条件测定。按峰面积计算,结果见表 3,黄柏及二妙散水提取物中生物碱的含量均按黄柏生药量计(g/100g)。

表 3 含量测定结果 (n=2)

	小檗碱+巴马汀	药根碱	HB-1	黄柏碱	总和
黄柏水提取物	0.7893	0.0174	0.4715	0.0734	1.352
相对误差(%)	1.46	0.49	1.27	0.24	1.29
二妙散水提取物	0.5886	0.0138	0.4160	0.0650	1.083
相对误差(%)	1.00	0.72	0.91	0.98	0.88
含量减少数(%) <sup>1)</sup>	25.43	21.07	11.86	11.5	19.90

<sup>1)</sup>二妙散较黄柏生物碱含量的减少数。

## 2 讨论

有文献报道,小檗碱型生物碱与其它药材配伍后,其含量均有显著降低<sup>[3,4]</sup>。为了探讨二妙散中生物碱含量的变化,本文先用薄层扫描法测定了二妙散及黄柏水提取物中生物碱的相对含量,继之用高效液相法确定。结果表明,二妙散水提取物中生物碱的含量,均低于黄柏,其中小檗碱和巴马汀及药根碱降低 20%以上,证实了黄柏与苍术配伍后其主要生物碱含量明显减少,推测其原因可能系鞣质类化合物与生物碱产生沉淀所致,因为我们曾用氧化还原法测定了黄柏、苍术及二妙散中鞣质的含量,发现二妙散中鞣质的含量也较黄柏、苍术单味含量之和为低(数据未发

表)。

二妙散中生物碱含量的降低与其免疫抑制作用的关系尚有待进一步探讨,因为前期实验已经证明二妙散免疫抑制作用的有效成分包括小檗碱以外的生物碱及生物碱以外的成分<sup>[2]</sup>,寻找其它活性成分,并研究其与生物碱的关系,将有助于阐明二妙散免疫抑制作用的化学基础。

## 参 考 文 献

- [1]徐 强等. 中国免疫学杂志 1993;9(4):244
- [2]陈婷等. 中国实验方剂学杂志 1995;1(1):4
- [3]丁林生等. 中成药 1993;15(1):18
- [4]林似兰等. 中草药 1989;20(6):10