

# 高速逆流色谱分离黄柏中的小檗碱和巴马亭

颜继忠<sup>1</sup>, 褚建军<sup>1</sup>, 金 洁<sup>2</sup>

(1. 浙江工业大学 药学院, 浙江 杭州 310032; 2. 浙江省医药工业设计院, 浙江 杭州 310012)

**摘要:** 用高速逆流色谱分离黄柏中的生物碱, 以氯仿: 甲醇: 0.2 mol/l 盐酸 (2: 1: 1) 溶剂体系, 上相为固定相, 下相为移动相, 流速 2 ml/min, 仪器转速 800 r/min, 进样量 200 mg, 分离出了 20.4 mg 巴马亭 (组分 I)、64.8 mg 小檗碱 (组分 II), 经 HPLC 测定, 组分 I 和组分 II 纯度均 > 99%, 并由 IR、<sup>1</sup>H-NMR 和 MS 确定结构。说明高速逆流色谱分离方法可快速从黄柏中分离出小檗碱和巴马亭。

**关键词:** 高速逆流色谱; 黄柏; 巴马亭; 小檗碱

中图分类号: R 937.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4303(2004)04-0415-03

## The separation of berberine and palmatine from the cortex of *Phellodendron chinense* Schneid using high speed countercurrent chromatography

YAN Ji-zhong<sup>1</sup>, CHU Jian-jun<sup>1</sup>, JIN Jie<sup>2</sup>

(1. Pharmacy institute of Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China;

2. Zhejiang Medical Industrial Designing Institute, Hangzhou 310012, China)

**Abstract:** To separate alkaloids from the cortex of *Phellodendron chinense* Schneid using high speed countercurrent chromatography. High speed countercurrent chromatography using chloroform:methanol:0.2 mol/l dilute hydrochloric acid (2:1:1) as solvent system, stationary phase: upper phase, mobile phase: lower phase, flow-rate 2.0 ml/min, revolution speed: 800 r/min, sample size: 200 mg. 20.4 mg Palmatine (fraction I) and 64.8 mg Berberine (fraction II) were separated and determined by HPLC which fraction I and II were in 99% pure and identified by IR, <sup>1</sup>H-NMR and MS. High speed countercurrent chromatography can separate alkaloids from the cortex of *Phellodendron chinense* Schneid quickly.

**Key words:** high speed countercurrent chromatography; *phellodendron chinense* Schneid; palmatine; berberine

## 0 引 言

黄柏为芸香科植物黄皮树 (*Phellodendron chinense* Schneid) 或黄檗 (*Phellodendron amurense* Rupr.) 的干燥树皮。前者习称“川黄柏”, 后者习称“关黄柏”。主要成分为多种生物碱, 包

收稿日期: 2004-01-14; 修订日期: 2004-04-15

作者简介: 颜继忠 (1964-), 男, 福建永春人, 副教授, 硕士, 主要研究中药有效成分的提取和分离。

括小檗碱(berberine)、巴马亭(palmatine)和药根碱(jatrorrhizine)等<sup>[1]</sup>。主要产地为四川、贵州、湖北和云南。黄柏的功用为清热、泻火、解毒。主治热痢、泄泻、消渴、黄疸、梦遗、淋浊、痔疮、便血、赤白带下、骨蒸劳热、目赤肿痛、口舌生疮、疮肠肿痛。盐酸小檗碱主要用于治疗胃肠炎、细菌性痢疾等肠道感染、腹泻;巴马亭临床主要用于清热解毒,用于妇科炎症、菌痢、肠炎、呼吸道及泌尿道感染、外科感染、眼结膜炎等。

高速逆流色谱技术可以在短时间内实现植物化学成分的高效分离和制备,并且可以达到几千个理论塔板数。其特点是不用任何固态的支撑物或载体。与其它色谱方法比较,不存在固态载体所造成的吸附损耗、样品变性、沾染和色谱峰形拖尾畸变等问题。此外 HSCCC 分离范围广,可以从小分子、中分子以及大到生物聚合物的分离,没有分子大小的限制<sup>[2,3]</sup>。袁黎明等<sup>[4]</sup>曾用高速逆流色谱分离了黄柏中的小檗碱,该文只报道分离了黄柏中的小檗碱,本文用该技术分离黄柏中的生物碱,进样量为 200 mg,从黄柏中一次性分离出了纯的小檗碱和巴马亭。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

HSCCC-TBE300 型高速逆流色谱仪,深圳同田生化有限公司;

HD-21-C-B 核酸蛋白检测仪,上海康华生化仪器厂;

R-201 旋转蒸发器,上海申胜生物技术有限公司;

LC-10A T 高效液相色谱仪,日本岛津色谱仪器公司;

氯仿、甲醇、正丁醇、乙酸均为国产分析纯,水为重蒸水,黄柏购于杭州胡庆余堂,为川黄柏。

### 1.2 样品的处理

把黄柏 1 000 g 粉碎过 20 目筛,用 5 倍量工业酒精浸泡 24 h,连续 3 次,过滤,合并滤液浓缩后加适量盐酸酸化至 pH 等于 2,放置过夜,过滤得滤液,滤液再用 NaOH 碱化至 pH 等于 10,然后用等量氯仿萃取 3 次,氯仿浓缩得浸膏 3.2 g,该浸膏用于高速逆流色谱分离的样品。

### 1.3 HSCCC 溶剂系统选择

溶剂系统参照文献<sup>[4,5]</sup>选择氯仿:甲醇:0.2 mol/l 稀盐酸组成溶剂体系,按照各种比例混合,总体积为 4 ml,每次取样品 10 mg 溶于溶剂体系,充分溶解后分层,取上下相分别点板(硅胶板,展开剂为:正丁醇:乙酸:水=7:1:2),看两相中斑点的大小,最后发现当氯仿:甲醇:0.2 mol/l 稀盐酸的体积比为 2:1:1 时,斑点大小大约相等,所以选氯仿:甲醇:0.2 mol/l 稀盐酸=2:1:1 为溶剂体系。

## 2 结果及讨论

### 2.1 分离结果

溶剂体系为:氯仿:甲醇:0.2 mol/l 稀盐酸=2:1:1,将其室温下在分液漏斗中充分混合后静置分层(总体积 1 000 ml),然后取上相为固定相,下相为移动相。每次进样 200 mg 溶于 20 ml 的溶剂系统上相,用注射器一次进样,流动相流速 2 ml/min,仪器转速 800 r/min,检测器波长 254 nm,进样 4 h 后,停止主机转动,用氮气把固定相推出,测得保留比为 91.4%。

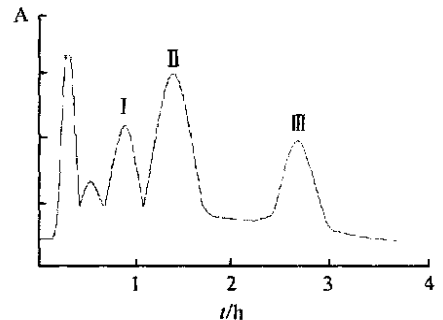


图 1 高速逆流色谱分离黄柏中的生物碱图

经高速逆流色谱分离后显示有三个主要的峰(见图 1), 我们用分部收集器对每个峰都进行了收集, 间隔时间为 6 min 每试管, 并用 TLC 进行监测, 去掉组分重叠的试管结果得到 20.4 mg 的组分 I, 64.8 mg 的组分 II, 经 HPLC 检测组分 I 和 II 的纯度分别为 99.6% 和 99.3%, 组分 III 16.9 mg 为一混合物。

## 2.2 结构鉴定

组分 I 黄色针状结晶(乙醇), 熔点 198~200 (分解)。IR<sub>U<sup>max</sup></sub>(KBr)cm<sup>-1</sup>: 2923, 1605, 1510, 1364(芳香核), <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.25(2H, tr, J=6.0Hz), 4.98(2H, tr, J=6.0Hz), 3.88, 3.94, 4.08 及 4.11(12H, 4×OCH<sub>3</sub>, s), 7.10(1H, s), 7.73(1H, s), 8.06(1H, d, J=9.0Hz), 8.21(1H, d, J=9.0Hz), 9.07(1H, s), 9.89(1H, s); MS m/z: 352, 337, 322, 308, 为盐酸巴马亭。

组分 II 黄色针晶, 熔点 201~203 (分解)。IR<sub>U<sup>max</sup></sub>(KBr)cm<sup>-1</sup>: 1600, 1505, 1364(芳香核), <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.22(2H, tr, J=5.6Hz), 4.95(2H, tr, J=5.6Hz), 4.07 及 4.09(6H, s), 6.17(2H, s), 7.08(1H, s), 7.78(1H, s), 8.02(1H, d, J=9.0Hz), 8.20(1H, d, J=9.0Hz), 8.94(1H, s), 9.89(1H, s); MS m/z: 337, 321, 306, 292, 278, 为盐酸小檗碱。

## 3 结 论

本文用半制备型高速逆流色谱, 进样量可达 200 mg, 对黄柏中生物碱进行分离, 能一次性得到两个纯的组分, 说明该方法特别是大制备量的高速逆流色谱仪, 是分离天然产物的一种好方法。

## 参考文献:

- [1] 王衡奇, 秦民坚, 余国奠. 黄柏的化学成分及药理学研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(4): 6-8
- [2] 张天佑. 逆流色谱技术 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1991: 274-386
- [3] 戴德舜, 王义明, 罗国安. 高速逆流色谱研究进展 [J]. 分析化学, 2001, 5: 586-591
- [4] 袁黎明, 吴平, 夏滔, 等. 高速逆流色谱制备分离中药黄柏中的生物碱 [J]. 色谱, 2002, 20(2): 185-186
- [5] Walter D. Conway and Yoichiro Ito. High speed countercurrent chromatography [J]. Liquid Chromatogr, 1984, 7(2): 291-302

(责任编辑: 翁爱湘)

(上接第 406 页)

要考虑到实际的环境和发展的需要。目前, iSCSI 还是一个草案, 还没有成为真正的标准, DAS 在较长的时间内仍有生命力, NAS 的性能及网络的性能和相关功能使当千兆网到桌面, 万兆网成为主干时将是最好的选择, SAN 的架构具有无限的扩展能力和更高的连接速度和处理能力。因此, SAN 和 NAS 的结合是现在数字图书馆存储解决方案的发展重点。

## 参考文献:

- [1] 郭伟. 图书馆数据存储系统建设与 NAS 和 SAN 的应用评述 [J]. 现代图书情报技术, 2003(3): 85-87
- [2] Clark T. Designing Storage Area Networks [M]. New York: Addison-Wesley Press, 2001. 135-150
- [3] 许鲁. NAS 与 SAN 融合的必要性的必要性 [J]. 通信世界, 2003(5): 31-33
- [4] 王志恒. A New Scheme of Integrating NAS with SAN [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University, 2003(9): 6-9
- [5] 余胜生. 一种基于 iSCSI 的 SAN 存储虚拟化实现 [J]. 计算机工程与应用, 2003(5): 95-97
- [6] Farley M. SAN 存储区域网络 [M]. 北京: 机械工业出版社, 2001
- [7] SNIA. Shared storage model draft SNIA TC proposal document [DB/OL]. <http://www.snia.org>, 2001

(责任编辑: 翁爱湘)