

黔产苦参根、茎、叶中生物碱含量累积与生态因子的相关性

陆平祝, 常楚瑞*, 龙庆德*, 王晓丽
(贵州医科大学药学院, 贵阳 550004)

[摘要] **目的:**对黔产不同产区苦参根、茎、叶与经纬度、海拔、平均湿度、平均温度进行相关性分析,了解不同生态环境下苦参不同部位生物碱含量累积。**方法:**采用紫外分光光度法测定苦参的根、茎、叶生物总碱的含量,利用相关性分析(CA)法研究其生物碱累积差异与生态因子的相关性。**结果:**苦参不同部位生物碱含量大小依次为根>叶>茎,其中最高的是毕节市大方县的苦参根、茎、叶生物碱质量分数之和为 $20.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;苦参不同部位受到生态因子的不同程度影响。**结论:**苦参根、茎、叶生物碱含量在不同的产区有显著差异,生态因子中相对湿度和年均温对叶生物碱含量影响最大,该结果可为中药苦参的规范化、标准化栽培管理和目标化种植提供理论依据,寻找苦参优质产区及为非药用部位综合利用提供理论依据。

[关键词] 苦参; 生物总碱; 生态因子; 相关性

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0043-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060043

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161207.1136.032.html>

[网络出版时间] 2016-12-07 11:36

Effect of Ecological Factors on Accumulation of *Sophora flavescens* in Roots, Stems and Leaves from Guizhou

LU Ping-zhu, CHANG Chu-rui*, LONG Qing-de*, WANG Xiao-li
(College of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To conduct correlation analysis between roots, stems and leaves of *Sophora flavescens* from different habitats of Guizhou and latitude and longitude, altitude, mean humidity and mean temperature, and investigate the alkaloid contents accumulation in different parts of *S. flavescens* from different environments. **Method:** UV spectrophotometry method was applied to detected the contents of alkaloids in roots, stems and leaves of *S. flavescens*, and the correlation analysis was conducted to study the correlation between cumulative alkaloids difference and ecological factors. **Result:** The contents of alkaloids in different parts of *S. flavescens* were in the order of roots > leaves > stems, and the contents were highest in those from Bijie City Dafang County, whose total contents in roots, stems and leaves were $20.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. The different parts of *S. flavescens* were differently affected by ecological factors. **Conclusion:** There were significant differences in alkaloid content of *S. flavescens* roots, stems, and leaves from different areas. Relative humidity and mean annual temperature among the ecological factors showed greatest impact on alkaloid content. The results can provide a theoretical basis to *S. flavescens* standardized cultivation and management as well as targeted cultivation, and provide a theoretical basis for *S. flavescens* high quality production and comprehensive utilization of its non-medicinal parts.

[Key words] *Sophora flavescens*; alkaloids; ecological factors; correlation

[收稿日期] 20160722(022)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合ZY字[2012]3004号);贵州省科技计划项目(黔科合重大专项字[2015]6009-2)

[第一作者] 陆平祝,在读硕士,从事分子生药学及中草药研发工作, Tel:18302645732, E-mail: 1435962566@qq.com

[通讯作者] *常楚瑞,博士,副教授,从事分子生药学及中草药研发工作, Tel:0851-6908218, E-mail: changchurui@hotmail.com;

*龙庆德,副教授,从事药用植物与生药学方面的研究, Tel:0851-6908218, E-mail: 562194365@qq.com

苦参为豆科植物,其主要成分为生物碱和黄酮两大类^[1],以前国内外研究方向均在苦参的生物碱类和黄酮类的化学成分分析上,随着技术的不断提高,近几年国内外研究重点在苦参生物碱类成分的药理活性与临床应用方面^[2-7],现我国山西长治、河南西部、山东西部、陕西中南部、以及安徽、湖北、贵州等地开展苦参人工种植及半野生抚育^[8],课题组野外采集药材发现苦参喜好生长在沟边、路旁、林内、荒野中,以沙质土壤生长良好。刘龙元等^[9]探讨了广东中山地区异地栽培对苦参生长与氧化苦参碱含量的影响,发现苦参药材生物总碱和总黄酮的含量与生长环境有密切相关,笔者于 2015 年对贵州不同产地苦参的生物碱和总黄酮的含量进行比较研究,发现不同产地苦参有效成分含量有较大差异^[10],基于此,本研究考察了根、茎、叶生物碱与生态因子的相关性,采用了多指标综合分析法研究了贵州 21 个产区苦参品质的差异,从而研究生态因子对苦参药材质量的影响,分析环境因子与活性成分的关系,明确苦参根、茎、叶生物碱的生态主导因子及其作用特征和规律,以期为中药苦参规范化标准化栽培管理和目标化种植提供理论依据,寻找苦参优质产区,克服药材的“道地性”不只局限于药材的功效与产地的关系,而是对药材品质与环境关系的研究,以及药材各部位的有效成分积累受产地生态因子的影响。

1 材料

AL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),AS 系列超声波清洗机(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,250 W,100 kHz),Q-250B 型高速多功能粉碎机(上海冰都电器有限公司),UV-5800PC 型紫外-可见分光光度计(上海元析仪器有限公司),HH-Z 型数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司),DROGON 型移液枪(上海恒奇仪器有限公司)。

黔产苦参茎,叶(6 月份上旬),根(10 月中旬)采摘于贵州各地,并经贵州医科大学药学院药用植物学与生药学教研室常楚瑞副教授鉴定为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* 的干燥根、茎、叶;苦参碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110780-2010071108005-200508),其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 根、茎、叶生物碱含量的测定

2.1.1 对照品溶液的制备 取苦参碱对照品约 5 mg,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加无水乙醇制成 0.202 g·L⁻¹ 的对照品溶液,即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 将苦参植物根、茎、叶进行分离,粉碎过 3 号筛(60 目),备用。取苦参根粉末约 0.3 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入浓氨试液 0.5 mL,然后加入 CHCl₃ 20 mL,密塞,称定并记录其质量,超声处理 30 min,功率为 250 W,频率为 33 kHz,待冷却到室温,称定其质量,用 CHCl₃ 补足损失质量,摇匀,滤过,放入冰箱保存待用^[9,11-14];取苦参茎细粉约 2 g,精密称定,置于圆底烧瓶中,加入 80% 乙醇 40 mL,85 °C 加热回流提取 2 h,提取 1 次,转移至 100 mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,即得。取苦参叶细粉约 2 g,精密称定,置于圆底烧瓶中,在料液比为 1:25,80 °C 水浴中 80% 乙醇回流提取 1 次,提取时间 2 h,所得溶液加入石油醚萃取 5~6 次,萃取至完全(除去色素、树脂等脂溶性杂质^[15-17]),弃去石油醚萃取液,用无水乙醇定容于 100 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.1.3 苦参碱标准曲线的绘制 精密吸取对照品溶液 100 μL 加入 25 mL 具塞试管中,水浴蒸干溶液后,加入溴麝香草酚蓝磷酸氢二钠缓冲溶液 6 mL (pH 7.6),再精密加入 CHCl₃ 6 mL,密塞剧烈振摇 2 min,放置 30 min,使水层和 CHCl₃ 层完全分层后,弃去上清液;取 25 mL 具塞试管,加入溴麝香草酚蓝磷酸氢二钠缓冲溶液 6 mL,加 CHCl₃ 6 mL 为空白,在紫外分光光度计 200~800 nm 进行扫描,结果显示对照品溶液和供试品溶液在 416 nm 处均有最大吸收,故选择 416 nm 作为含量测定的波长。

精密吸取苦参碱对照品溶液 0,100,150,200,250,300 μL 分别加入 25 mL 具塞试管中,测定其吸光度 *A*,求出回归方程。结果得到吸光度 *A* 与苦参总碱浓度 *X* 关系曲线的回归方程 $Y = 0.043 9X + 0.059$,相关系数 $r = 0.999 2$ 。结果表明本实验苦参碱在 2.55~6.8 mg·L⁻¹ 有良好的线性关系。

2.2 生态因子与苦参根、茎、叶的生物碱质量分数相关分析^[18-20]

2.2.1 生态因子的获取 登录中国气象科学数据共享服务网数据查询系统 <http://data.cma.cn/data>,中国地面国际交换站累年年值数据集。包括 4 个因次:相对湿度、年平均温度、年最多降水量、年最少降水量,见表 1。

2.2.2 不同产地苦参根、茎、叶生物总碱的测定 精密吸取供试品根、茎、叶溶液 100,150,300 μL 分别加入 25 mL 具塞试管中按 2.1 项下方法测定苦参生物总碱为同一地区 3~5 株植株所测质量分数的平均值见表 1。

表 1 不同产地苦参样品生态因子与苦参根、茎、叶生物总碱质量分数

Table 1 Total alkaloids in roots, stems and leaves of *Sophora flavescens* from different production areas and ecological factors

No.	采样地	经纬度	海拔/m	相对湿度/%	年平均温度/℃	年降水量/mm		生物总碱质量分数/%		
						最多	最少	根	茎	叶
1	铜仁市德江县	N28°15'E108°05'	558	81	16.4	1 624.9	897.0	5.23	0.62	0.96
2	贵阳市龙洞堡	N26°34'E106°46'	1 081	79	14.7	1 436.9	910.6	4.66	0.48	1.02
3	修文县扎佐镇	N26°51'E106°42'	1 290	83	13.8	1 444	876.9	9.95	0.78	1.04
4	凯里市香炉山	N26°36'E107°53'	915	78	15.9	1 460.6	776.1	4.04	0.28	1.77
5	凯里市下司镇	N26°36'E107°58'	646	82	14.6	1 734.3	831.6	4.11	0.37	1.89
6	遵义市余庆县	N27°13'E107°53'	603	80	16.3	1 528.9	708.3	4.99	0.32	1.65
7	贵阳市二戈寨	N26°30'E106°43'	1 145	83	13.7	1 364.3	728.7	4.58	0.97	2.51
8	贵阳市金阳区	N26°36'E106°37'	1 080	82	14.8	1 441.2	849.5	6.65	0.45	2.81
9	贵阳市水田镇	N26°44'E106°49'	1 288	81	14.9	1 394.3	777.5	4.75	0.54	1.43
10	兴仁县百德镇	N25°41'E105°26'	1 300	80	15.5	1 867.4	735.1	3.71	0.80	2.90
11	开阳县南江乡	N26°56'E106°58'	1 277	84	13.0	1 550.3	910.1	5.72	0.38	4.07
12	清镇市百花湖	N26°41'E106°31'	1 202	85	13.6	1 372.4	809.6	6.03	0.48	2.22
13	花溪区孟关乡	N26°24'E106°44'	1 140	81	15.2	1 427.0	870.0	6.04	0.88	1.05
14	黔南州龙里县	N26°27'E106°58'	1 080	80	15.0	1 383.5	793.6	8.78	0.80	2.78
15	贵阳市大转弯	N26°49'E106°12'	1 241	76	14.6	1 264.3	718.6	7.71	1.20	1.28
16	六盘水老鹰山	N26°33'E105°01'	1 810	77	15.3	1 701.1	906.9	1.58	0.21	0.96
17	毕节市大方县	N27°08'E105°36'	1 500	84	12.1	1 440.2	791.7	15.60	0.98	3.87
18	安顺市平坝县	N26°24'E106°16'	1 250	81	14.3	1 780.3	964.7	6.24	0.58	1.96
19	铜仁市思南县	N27°40'E107°59'	1 063	75	17.5	1 528.1	791.7	15.20	0.37	2.05
20	贵阳市花溪区	N26°23'E106°37'	1 110	82	15.0	1 486.5	837.1	2.84	0.26	1.79
21	黎平县高屯镇	N26°20'E109°09'	440	83	15.8	1 734.3	831.6	10.60	0.53	2.83

3 结果与分析

3.1 比较黔产不同产区苦参根、茎、叶的生物总碱含量 采用紫外分光光度法按 2.1 和 2.2 项下测定黔产不同生态环境因素下的苦参根、茎、叶的生物总碱含量如图 1。其中根、茎、叶的 RSD 分别为 54%, 46%, 44%, 表明黔产的 21 个不同地区中苦参根、茎、叶总生物碱含量差异较大,从图 1 显示各地区的苦参根 > 叶 > 茎。苦参生物碱量的分析比较,在苦参生物总碱中,根占的比例最大,叶次之,茎最小。在产地分布中,毕节大方县的根和开阳南江苦参叶生物总碱最高达 15.6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 4.07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其次黎平县高屯镇苦参根为 10.6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,毕节大方县苦参叶的生物碱为 3.87 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,在所研究的 21 个样品中,苦参各部位生物碱量有较大差异,从药用部位与非药用部位的比例上看,除铜仁思南县和修文扎佐镇的苦参非药用部位(根、茎)比例未达到 20% 以外,其他产地苦参非药用部位(根、茎)生物碱均在 20%,说明苦参传统药用部位的利用方式导致了苦参资源的利用率较低。

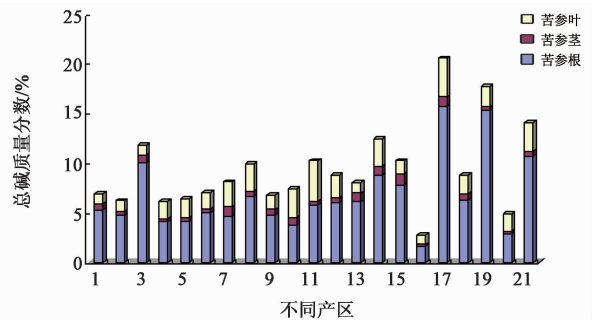


图 1 不同产区苦参根、茎、叶的生物碱质量分数

Fig.1 Contents of alkaloids in roots, stems and leaves of *Sophora flavescens* from different habitats in Guizhou

3.2 根、茎、叶生物总碱含量与不同生态环境因素的关系 苦参根的苦参碱质量分数与生态因子中波动比较大,其次是叶。海拔 1 063 ~ 1 080, 1 500 m; 相对湿度为 75% 及 83% ~ 84%; 年平均温度为 12.1, 15, 17.5 $^{\circ}\text{C}$; 年最多降水量为 1 440.2, 1 528.1 及 1 734.3 mm; 年最少降水量为 777.1 ~ 809.0 及 876.9 mm 比较适合苦参根、茎、叶的生物碱累积。见图 2。

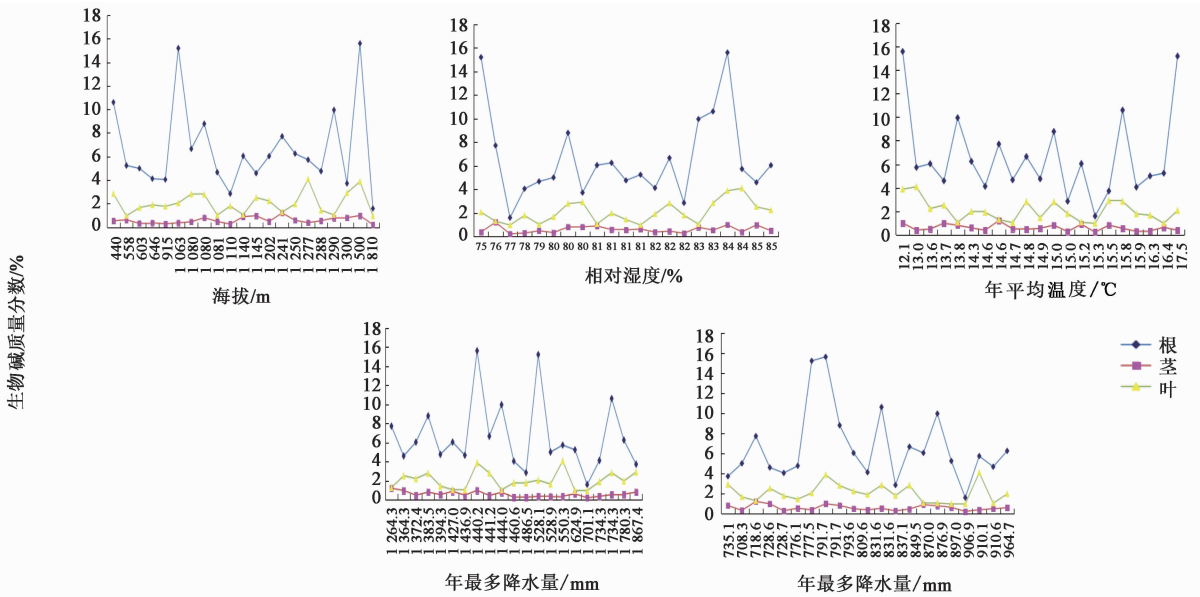


图 2 苦参根、茎、叶生物总碱含量与不同生态环境因素的关系

Fig. 2 Correlation between total alkaloid contents in roots, stems and leaves and different ecological factors

3.3 根茎叶生物碱含量与生态因子的相关性 苦参根生物碱含量与海拔、相对湿度、年平均温度、年最多降水量、年最少降水量呈显著负相关,且苦参根生物碱含量与生态因子的 r 都 < 0.3 ,属于弱相关;茎的生物碱含量与海拔、相对湿度呈正相关,与年平均温度、年最多降水量、年最少降水量呈负相关,其中茎生物

碱与相对湿度相关系数 $r = 0.130$ 为弱相关;叶的生物碱含量与海拔、相对湿度、年最多降水量呈正相关,与年平均温度、年最少降水量呈负相关,其中叶的生物碱含量与海拔、年最多降水量、年最少降水量 r 均 < 0.3 为弱相关。可见,相对湿度和年平均温度对叶生物碱含量影响最大,呈正显著相关。见表 2。

表 2 苦参生物碱含量与生态因子的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between alkaloid contents of *Sophora flavescens* and ecological factors

苦参不同部位	海拔	相对湿度	年平均温度	年最多降水量	年最少降水量
根	-0.014	-0.003	-0.090	-0.192	-0.114
茎	0.393	0.130	-0.378	-0.356	-0.323
叶	0.073	0.468 ¹⁾	-0.451 ¹⁾	0.104	-0.160

注:“-”表示生物碱质量分数与生态因子相关系数为负值;¹⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

本研究对黔产不同产区苦参根、茎、叶的生物碱含量进行了测定,发现不同产区的生物碱含量不同,各产区不同部位的生物碱也有明显的不同,以毕节大方县的根、茎、叶生物碱质量分数之和最高为 $20.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,以根含量最高,其次为叶。可见,叶片的生物总碱含量比较高,在现阶段生产中,苦参的处理方法是对资源的严重浪费,建议在利用苦参的药用部位时,也要积极开发利用非药用部位,从而达到减少资源的浪费,实现可持续发展。此外对于苦参根、茎、叶以 5 个生态因子进行相关性分析,发现苦参不同部位受到生态因子的影响有差异。因此,在苦参优选栽培研究中,需要重视不同的生态环境对其品质产生影响的不同步性。研究结果提示在

苦参的种植中以毕节大方县作为基准产区,可以适当的调节生态因子数据作为基准数据进行产区生态适宜性分析,充分考虑不同生态因子对不同部位苦参的影响差异,尽可能选择的苦参最佳种植地。

[参考文献]

[1] 陈静,梁生旺. 苦参的成分及质量分析研究进展[J]. 广东药学院学报,2012,28(5):569-572.
 [2] 陈晓峡,向小庆,叶红. 苦参碱及氧化苦参碱抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(11):361-364.
 [3] 闫德祺,闰英男,阿力木·买买提,等. 苦参活性成分的抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 现代生物医学进展,2014,14(24):1-9.
 [4] 张文谨,海丽娜,连增林. 复方苦参注射液抗肿瘤作用及其机制实验研究进展[J]. 中国中医药信息杂

- 志, 2012, 19(8): 101-103.
- [5] 元建华, 赵清梅, 廖燕, 等. 复方苦参注射液联合硫酸吗啡缓释片治疗中重度癌痛的临床观察[J]. 中国疼痛医学杂志, 2015, 21(1): 79-80.
- [6] 陈蔚峰, 朱玲. 复方苦参注射液联合化疗治疗非小细胞肺癌 53 例[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(1): 126-127.
- [7] 刘晓琼, 沈宏辉, 陈佳欣, 等. 苦参碱类生物碱联合胸腺肽抗 HBV 作用研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(7): 1275-1281.
- [8] 翁泽斌, 段金廛, 郭盛, 等. 山西产苦参种子生物碱类化学成分分析及其资源化价值探讨[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(17): 3265-3271.
- [9] 刘龙元, 潘海运, 李书渊, 等. 苦参异地栽培对其生长与氧化苦参碱含量的影响[J]. 中药材, 2013(10): 1569-1672.
- [10] 陆平祝, 龙庆德, 常楚瑞, 等. 贵州不同产地苦参的生物总碱和总黄酮的含量比较[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(5): 120-123.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 202-203.
- [12] 付起凤, 曹琦, 吕邵娃, 等. 正交法优化苦参中苦参生物碱的超声提取工艺[J]. 中医药信息, 2015, 32(1): 11-13.
- [13] 杨美玲, 曹新录, 崔东亚, 等. 苦参碱的提取与含量测定[J]. 浙江农业科学, 2011(2): 413-415.
- [14] 钟彩娜, 钟文, 伍严利. 正交实验优选苦参生物碱的提取工艺[J]. 医学信息临床医学, 2011, 24(9): 6038-6039.
- [15] 靳维荣, 刁保忠, 彭向前. 正交实验优选黄芩茎叶中野黄芩苷和黄芩苷的提取工艺[J]. 中医临床杂志, 2015, 20(17): 21-27.
- [16] 陈凌, 肖文军, 傅冬和, 等. 荷叶中荷叶碱的高效液相色谱检测方法及其提取工艺研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(4): 81-99.
- [17] 王聚乐, 崔超英, 徐福春, 等. 西藏不同区域砂生槐在不同采收时间的花、茎、叶及种子中苦参碱、氧化苦参碱含量的比较[J]. 西藏大学学报, 2012, 27(1): 28-31.
- [18] 杨庆珍, 王增绘, 付娟, 等. 黄芪化学成分与生态因子的相关性[J]. 应用生态学报, 2015, 26(3): 732-738.
- [19] 赵英, 汪有科, 汪星, 等. 山地枣树直径对不同生态因子的响应[J]. 生态学报, 2012, 32(17): 5476-5483.
- [20] 常旭虹, 赵广才, 王德梅, 等. 生态环境与施氮量协同对小麦籽粒微量元素含量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(4): 885-895.

[责任编辑 邹晓翠]