

野生与栽培苦参药材的黄酮含量比较

姚丽^{1,2}, 张东², 易红², 高慧敏², 冯伟红², 刘帅英³,
刘晓谦^{2*}, 王智民^{1,2*}

(1. 广东药科大学 中药学院, 广州 510006; 2. 中国中医科学院 中药研究所,
中药质量控制技术国家工程实验室/中药过程控制技术国家中医药管理局重点研究室, 北京 100700;
3. 丽水市食品药品与质量技术检验检测院, 云南 丽水 323000)

[摘要] **目的:**建立了苦参药材中10种黄酮类成分(染料木苷,三叶豆紫檀苷,马卡因,异黄酮醇,苦参醇 I,槐黄醇,苦参酮,降苦参酮,2-*O*-甲基苦参酮及异苦参酮)HPLC测定方法,并对野生与栽培苦参黄酮类成分含量进行比较研究。**方法:**色谱条件为Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),甲醇(A)-0.3%甲酸水(B)为流动相进行梯度洗脱(0~5 min, 50% A; 5~25 min, 50%~70% A; 25~35 min, 70% A; 35~50 min, 70%~90% A; 50~55 min, 90% A),流速0.8 mL·min⁻¹,检测波长设定295 nm,数据处理采用独立样本 t 检验,辅以聚类分析(HCA)和主成分分析(PCA)方法进行评价。**结果:**独立样本 t 检验显示,各类成分均表现为 $P>0.05$,即野生品与栽培品在黄酮类含量上无差异;聚类分析和主成分分析也表现为栽培品与野生品苦参黄酮类成分无差异。方法学考察表明10种黄酮类成分具有较好的线性,在其线性范围内 r 值均 >0.999 。平均加样回收率在95.0%~105.0%,RSD均在5%以内,符合含量测定的要求。**结论:**该测定方法快速、准确,可为苦参的质量控制方法提供参考。

[关键词] 苦参; 黄酮; 栽培; 野生

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)12-0058-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017120058

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1359.004.html>

[网络出版时间] 2017-03-24 13:59

Comparison of Flavonoids in Cultivated and Wild Sophorae Flavescentis Radix

YAO Li^{1,2}, ZHANG Dong², YI Hong², GAO Hui-min², FENG Wei-hong², LIU Shuai-ying³,
LIU Xiao-qian^{2*}, WANG Zhi-min^{1,2*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences,
National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines,
Key Laboratory of SATCM for Process Analysis Technology of Chinese Herbal
Medicines, Beijing 100700, China;
3. Quality Control Academy for Food and Drug of Lishui, Lishui 323000, China)

[Abstract] **Objective:** To simultaneously determine the contents of ten flavonoids (genistin, trifolirhizin, maackiain, isoxanthohunol, kushenolII, sophoflavescenol, kurarinone, norkurarinone, 2-*O*-methyl-kurarinone and

[收稿日期] 20170110(013)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09103201-009,2012ZX09103201-027);中药饮片质量保障体系研究(一)项目(201507002);中国中医科学院客座研究员联合创新研究项目(ZZ070837)

[第一作者] 姚丽,在读硕士,从事中药质量控制研究,Tel: 18810336043,E-mail: rita_liyao@163.com

[通讯作者] * 刘晓谦,副研究员,从事中药制剂与质量控制研究,Tel/Fax: 010-84017310,E-mail: lianyu1127@126.com;

* 王智民,研究员,从事中药药效物质基础及质量评价研究,Tel/Fax: 010-84014128,E-mail: zhm123@263.net

isokurarinone) by using HPLC method, compare the flavonoid contents in cultivated and wild *Sophorae Flavescentis Radix*. **Method:** The chromatographic separation was performed on Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with methanol (A) -0.3% formic acid solution (B) as the mobile phase for gradient elution (0-5 min, 50% A; 5-25 min, 50%-70% A; 25-35 min, 70% A; 35-50 min, 70%-90% A; 50-55 min, 90% A). The flow rate was 0.8 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was set at 295 nm. Independent *t*-test (*t*-test), hierarchical clustering analysis (HCA) and principal components analysis (PCA) were applied to analyze and evaluate the cultivated and the wild *Sophorae Flavescentis Radix*. **Result:** The *t*-test results showed that $P > 0.05$ for all flavonoids, indicating that there were no significant differences in the contents of flavonoids between cultivated and wild *Sophorae Flavescentis Radix*. HCA and PCA also indicated that there were no differences in the contents of flavonoids between cultivated and wild *Sophorae Flavescentis Radix*. The results showed that ten flavonoids were well separated and had a good linear relationship, with $r > 0.999$. The average recovery rate was between 95.0% - 105.0%, with RSD < 5%, consistent with the content determination requirement. **Conclusion:** The method is accurate and selective, which could provide reference for the quality control of *Sophorae Flavescentis Radix*.

[Key words] *Sophorae Flavescentis Radix*; flavonoids; cultivated; wild

苦参又名地槐、水槐、苦骨、野槐,多生于山地、草坡灌木林中,喜阴生长、多丛生。苦参作为传统中药,始载于《神农本草经》被列为中品,主治心腹结气、症瘕积聚、黄疸等,能补中、明目止泪、养肝胆气、安五脏^[1]。现代药理研究表明,其具有抗肿瘤^[2-4]、抗炎^[5]、抗心率失常、抗肝损伤及升白细胞等多种药理活性^[6-7]。因其较高的医学价值和健康保健作用^[8-9],化学成分的研究逐渐深入^[10],到目前为止,已从苦参中分离出 200 多个化合物,主要为生物碱、黄酮、三萜皂苷、醌类、苯丙素类、有机酸、挥发油等^[11-14]。随着苦参应用范围的扩大苦参其他组织器官也逐步被利用起来^[13,15],尽管如此,现有的野生资源也不足以满足需求,故近年来大量的人工栽培品进入市场。虽有研究表明栽培与野生苦参在清热、利尿及镇痛方面的药理活性相同^[8],但其在具体成分之间的差异研究不够深入,不能更详细地说明野生与栽培品的等同性。鉴于苦参生物碱类成分含量相对较大,对照品易得,故前期研究主要集中在生物碱类成分,并得出生物碱类成分在野生品与栽培品之间无明显差异^[16]。关于其另一类主要活性成分——黄酮类成分关注较少。苦参黄酮类成分含量相对较少且对照品不易获得,缺乏较为全面的多成分研究。本文建立了苦参 10 种黄酮类成分同时测定的 HPLC 方法,并对野生品与栽培品中黄酮类成分的含量进行比较,以丰富苦参野生与栽培品是否具有等同性的问题,有利于全面评价苦参野生品与栽培品的品质,为苦参今后的用药原则奠定基础。

为保证研究结果的数据具有可比性,减少气候

地理等干扰因素,本研究在苦参样本的采集区域方面进行了限定,选择道地产区种植品和野生品储量均丰富的山西地区作为本研究的样品采集区,以期作为道地产区的苦参标准化种植生产和质量保障提供参考。

1 材料

LC20A 型高效液相色谱仪,包括 LC-20AT 溶液传输单元, SIL-20 A 自动进样器, SPD-M20 A 二极管阵列检测器, LC Solution 色谱工作站(日本岛津公司); Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), XMTD-6000 型水浴锅(北京长风仪器仪表公司)。

对照品染料木苷(武汉天植生物技术有限公司,批号 CFS201601,纯度 ≥ 98.0%), 三叶豆紫檀苷(北京北纳创联生物技术研究院,批号 14072911,纯度 ≥ 99.75%); 异黄酮醇(批号 151019,纯度 ≥ 98.0%), 苦参醇 I(批号 160104,纯度 ≥ 98.0%), 槐黄醇(批号 160128,纯度 ≥ 98.0%), 降苦参酮(批号 160109,纯度 ≥ 98.0%) 均购自成都古洛玛生物科技有限公司; 苦参酮(批号 150212,纯度 ≥ 98.0%), 2-O-甲基苦参酮(批号 151025,纯度 ≥ 98.0%), 异苦参酮(批号 150417,纯度 ≥ 98.0%), 马卡因(批号 RJ0719RA13,纯度 ≥ 98.0%) 均购自广州隼沐生物科技有限公司。乙腈、甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂为分析纯。

所有药材均采自山西长治,经中国中医科学院中药研究所王智民研究员鉴定为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* 的干燥根,留样样品储存于本课题组植物标本室。样品的采集信息见表 1, 2。

表 1 苦参野生品采集信息

Table 1 Samples of *Sophorae Flavescentis Radix* collected from wild species

No.	海拔/m	采集地点
Y-1	1 182	长治县西火镇部则掌村
Y-2	1 492	平顺县龙溪镇上井村
Y-3	1 490	平顺县龙溪镇佛堂岭村
Y-4	1 237	平顺县东寺头乡东寺头村
Y-5	1 284	平顺县东寺头乡南庄沟村
Y-6	1 544	平顺县龙溪镇淙上村
Y-7	1 396	平顺县龙溪镇龙家村
Y-8	1 703	平顺县龙溪镇寺南凹村
Y-9	1 586	平顺县龙溪镇扬威村
Y-10	1 608	平顺县杏城镇赵城村
Y-11	1 274	平顺县青羊镇车厢沟村
Y-12	1 223	平顺县虹梯关乡张河线村
Y-13	1 052	武乡县石北乡岭南村
Y-14	1 052	武乡县石北乡义门村
Y-15	1 027	沁县牛寺乡韩家庄
Y-16	1 059	沁县牛寺乡东安庄
Y-17	1 049	沁县牛寺乡西安庄

注:野生品均采自山西省长治市不同县。

表 2 苦参栽培品采集信息

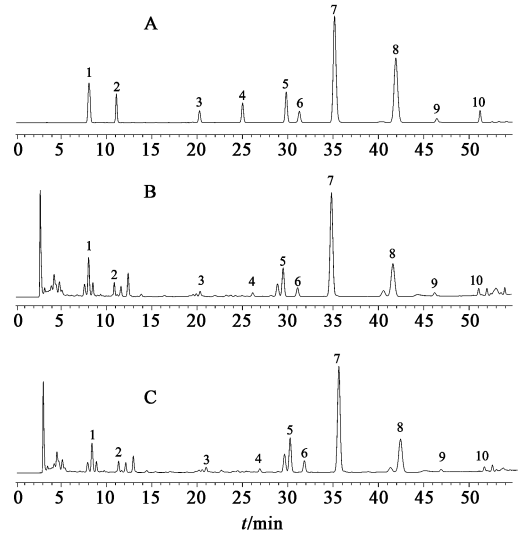
Table 2 Samples of *Sophorae Flavescentis Radix* collected from cultivated species

No.	海拔/m	生长年限	采集地点
Z-1	990	2	长治县西池乡河头村
Z-2	1 044	3	潞城市店上镇韩村
Z-3	1 172	5	长治县西火镇部则掌村
Z-4	1 053	4	长治县荫城镇小河南村
Z-5	961	3	屯留县鲍店镇茶棚村
Z-6	773	3	潞城市黄牛蹄乡上黄村
Z-7	1 538	4~5	平顺县龙溪镇佛堂岭村
Z-8	1 237	6	武乡县韩北乡土河平村
Z-9	1 213	5	武乡县韩北乡土河平村
Z-10	1 230	4	武乡县韩北乡土河平村
Z-11	1 211	3	武乡县韩北乡土河平村
Z-12	1 260	3	武乡县韩北乡韩北村
Z-13	1 172	3	武乡县韩北乡东堡村
Z-14	1 197	3	武乡县韩北乡斗底村
Z-15	952	2	沁县松村乡松村
Z-16	952	2	沁县松村乡松村
Z-17	999	2	沁县牛寺乡秦家庄
Z-18	1 038	10	沁县牛寺乡西安庄
Z-19	1 036	3~4	沁县牛寺乡西安庄
Z-20	1 034	6	沁县牛寺乡西安庄
Z-21	1 008	3	沁县牛寺乡李庄
Z-22	993	3	沁县牛寺乡东寨底村

注:栽培品均种植于山西省长治市不同县。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长选择 295 nm, 流速调至 0.8 mL·min⁻¹, 柱温室温。流动相甲醇(A)-0.3% 甲酸水(B)溶液, 采用梯度洗脱(0~5 min, 50% A; 5~25 min, 50%~70% A, 25~35 min; 70% A; 35~50 min, 70%~90% A; 50~55 min, 90% A)。见图 1。



A. 混合对照品; B. 苦参栽培品; C. 苦参野生品; 1. 染料木苷; 2. 三叶豆紫檀苷; 3. 马卡因; 4. 异黄腐醇; 5. 苦参醇 I; 6. 槐黄醇; 7. 苦参酮; 8. 降苦参酮; 9. 2-O-甲基苦参酮; 10. 异苦参酮

图 1 苦参栽培和野生品的 HPLC

Fig. 1 HPLC spectra of cultivated and wild species of *Sophorae Flavescentis Radix*

2.2 供试品溶液的制备 精密称取苦参药材粗粉(40 目)0.5 g, 置于 50 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 80 °C 水浴回流提取 1 h, 放冷, 称重, 甲醇补足减失的质量, 滤过, 即得。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取 2-O-甲基苦参酮、异苦参酮对照品 1.40, 2.30 mg 于 5 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 得混合对照品 1。精密称定染料木苷, 三叶豆紫檀苷, 马卡因, 异黄腐醇, 苦参醇 I, 槐黄醇, 苦参酮, 及降苦参酮对照品 4.32, 3.64, 1.30, 0.83, 1.76, 1.32, 9.08, 5.72 mg 于 10 mL 量瓶, 精密加入 1 mL 混合对照品 1, 甲醇定容至刻度。即得混合对照品溶液 1#, 备用。分别精密吸取上述混合对照品溶液 5, 2.5, 1.25, 1.00, 0.75, 0.50 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为混合对照品溶液 2#~7#, 备用。

2.4 线性关系的考察 分别精密吸取 2.3 项下不同质量浓度的混合对照品溶液 5 μL 注入高效液相色谱仪。以测定成分的峰面积和进样量(μg), 用最

小二乘法进行线性回归,得到 10 种黄酮类成分的回归方程及线性范围。结果表明苦参黄酮类对照品在范围内具有较好的线性关系,见表 3。

表 3 10 种黄酮类成分的线性方程和范围

Table 3 Linearity and ranges of ten flavonoids

成分	线性	r	范围/ μg
染料木苷	$Y = 5\,084.3X + 4\,098.6$	1.000 0	0.108 ~ 2.160
三叶豆紫檀苷	$Y = 2\,820.7X + 1\,662$	0.999 8	0.091 ~ 1.820
马卡因	$Y = 5\,697.9X + 1\,275.5$	0.999 8	0.033 ~ 0.650
异黄腐醇	$Y = 14\,580X + 2\,154.1$	0.999 9	0.021 ~ 0.415
苦参醇 I	$Y = 11\,813X - 325.95$	1.000 0	0.044 ~ 0.880
槐黄醇	$Y = 6\,836.2X + 3\,395.6$	0.999 8	0.033 ~ 0.660
苦参酮	$Y = 11\,060X + 43\,612$	0.999 9	0.227 ~ 4.540
降苦参酮	$Y = 13\,324X + 33\,441$	0.999 9	0.143 ~ 2.860
2-O-甲基苦参酮	$Y = 12\,425X - 1\,078.2$	1.000 0	0.007 ~ 0.140
异苦参酮	$Y = 13\,599X + 1\,500$	0.999 9	0.012 ~ 0.230

2.5 精密度试验 取同一份苦参供试品溶液连续进样 6 次,测定染料木苷,三叶豆紫檀苷,马卡因,异黄腐醇,苦参醇 I,槐黄醇,苦参酮,降苦参酮,2-O-甲基苦参酮及异苦参酮 10 种黄酮类成分的峰面积,计算 RSD。结果各成分峰面积的 RSD 分别为 0.7%, 0.7%, 2.0%, 0.3%, 0.5%, 1.1%, 0.2%, 0.2%, 1.5%, 1.0%。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一份苦参供试品溶液,分别于样品制备后的 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 进样,测定峰面积,计算 RSD。结果溶液中染料木苷,三叶豆紫檀苷,马卡因,异黄腐醇,苦参醇 I,槐黄醇,苦参酮,降苦参酮,2-O-甲基苦参酮及异苦参酮峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 4.0%, 3.6%, 2.9%, 0.5%, 1.4%, 0.5%, 0.7%, 3.1%, 2.3%。表明 24 h 内供试品溶液稳定性良好。

2.7 重复性试验 称取苦参药材粉末(40 目)约 0.5 g 共 6 份,精密称定,按照 2.2 项下方法制备样品,测得染料木苷,三叶豆紫檀苷,马卡因,异黄腐醇,苦参醇 I,槐黄醇,苦参酮,降苦参酮,2-O-甲基苦参酮及异苦参酮平均质量分数分别为 0.11%, 0.08%, 0.01%, 0.10%, 0.12%, 0.07%, 0.92%, 0.29%, 0.02%, 0.03%; RSD 分别为 1.6%, 3.8%, 3.9%, 2.2%, 1.9%, 2.6%, 2.3%, 1.9%, 2.3%, 2.2%。表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的苦参药材粉末约(40 目)0.25 g,精密称定,平行 6 份,分别加入一定量的对照品溶液,按 2.2 项下方法制备供试品

溶液,测定含量并计算各成分的加样回收率。10 种黄酮的加样回收率符合含量测定的要求,RSD 均在 5% 以内。见表 4。

表 4 苦参中 10 个黄酮类成分的加样回收率试验(n=6)

Table 4 Recoveries of ten flavonoids in Sophorae Flavescentis Radix(n=6)

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /%	回收率 /%	RSD /%
染料木苷	0.326	0.344	0.663	97.75	0.8
三叶豆紫檀苷	0.201	0.216	0.416	99.58	2.6
马卡因	0.376	0.356	0.739	101.69	2.2
异黄腐醇	0.276	0.257	0.540	102.65	1.2
苦参醇 I	0.477	0.454	0.944	102.91	0.7
槐黄醇	0.477	0.454	0.944	102.91	1.6
苦参酮	2.284	2.259	4.492	97.75	1.8
降苦参酮	1.330	1.337	2.660	99.44	2.6
2-O-甲基苦参酮	0.073	0.076	0.145	95.57	2.5
异苦参酮	0.163	0.151	0.318	102.35	2.5

2.9 样品含量测定 分别对 22 批栽培品和 17 批野生品按 2.2 项下方法制备样品,并测定其含量,结果见表 5。

3 结果与分析

3.1 供试品溶液提取时间的考察 为获得最佳的提取方法,对提取时间进行考察,分别考察了 0.5, 1, 2 h 的提取效果,实验表明,随着提取时间的延长,各成分含量呈现先上升后下降的趋势,故最终选择提取时间为 1 h。

3.2 苦参野生与栽培品比较

3.2.1 两独立样本 t 检验 采用 SPSS 20.0 软件对样品进行独立样本 t 检验分析,所有样本符合方差齐性的特点。由 t 检验结果可知,野生与栽培品所有成分差异均无显著差异。见表 6。

3.2.2 聚类分析及主成分分析对比 因相关变量较多,为系统比较野生与栽培品的差异,采用聚类分析和主成分分析两种方法进行综合对比。见图 2。采用 SPSS 20.0 数据处理软件对所有样品进行聚类分析及主成分分析。为消除原始数据对分析结果的影响,在分析过程中对原始数据进行了标准化处理。聚类方法采用 Ward 法,距离类型采用欧氏距离(Euclidean)法;主成分分析方法采用方差极大法并对因子载荷矩阵实行正交旋转,绘制旋转后的因子载荷图。提取特征值大于 1 的 3 个主成分进行分析,累积方差贡献率为 79.264%。第 1 主成分(PC1)主要反映了苦参酮,马卡因,2-O 甲基苦参酮及降苦参酮的信息,第 2 主成分(PC2)主要代表了

表 5 苦参野生品与栽培品中 10 种黄酮的质量分数

Table 5 Contents of ten flavonoids in cultivated and wild species of *Sophorae Flavescentis Radix*

%

No.	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	总和
Z-1	0.263	0.185	0.046	0.006	0.131	0.085	0.782	0.226	0.021	0.017	1.762
Z-2	0.137	0.116	0.075	0.034	0.134	0.086	0.752	0.262	0.021	0.025	1.642
Z-3	0.160	0.143	0.030	0.001	0.105	0.054	0.537	0.135	0.021	0.026	1.212
Z-4	0.303	0.221	0.054	0.010	0.108	0.067	0.521	0.169	0.024	0.038	1.515
Z-5	0.145	0.171	0.043	0.001	0.043	0.029	0.344	0.115	0.009	0.000	0.900
Z-6	0.217	0.165	0.031	0.001	0.097	0.079	0.746	0.205	0.014	0.018	1.573
Z-7	0.154	0.152	0.052	0.007	0.174	0.085	0.573	0.200	0.013	0.025	1.435
Z-8	0.134	0.139	0.055	0.002	0.143	0.112	0.752	0.278	0.024	0.037	1.676
Z-9	0.144	0.166	0.058	0.002	0.111	0.080	0.744	0.304	0.022	0.033	1.664
Z-10	0.220	0.156	0.045	0.005	0.316	0.238	1.223	0.505	0.022	0.033	2.763
Z-11	0.174	0.128	0.039	0.008	0.218	0.107	1.374	0.326	0.028	0.026	2.428
Z-12	0.110	0.124	0.043	0.004	0.234	0.113	0.577	0.178	0.010	0.011	1.404
Z-13	0.198	0.122	0.055	0.003	0.107	0.081	0.857	0.271	0.020	0.020	1.734
Z-14	0.159	0.090	0.038	0.002	0.106	0.050	0.559	0.131	0.015	0.014	1.164
Z-15	0.150	0.085	0.128	0.123	0.110	0.197	0.628	0.474	0.028	0.052	1.975
Z-16	0.111	0.071	0.097	0.086	0.082	0.128	0.520	0.338	0.022	0.036	1.491
Z-17	0.119	0.076	0.081	0.061	0.152	0.195	0.708	0.360	0.035	0.050	1.837
Z-18	0.312	0.166	0.059	0.003	0.152	0.093	0.595	0.232	0.020	0.031	1.663
Z-19	0.147	0.102	0.052	0.003	0.132	0.102	0.536	0.189	0.013	0.018	1.294
Z-20	0.172	0.112	0.049	0.002	0.120	0.091	0.830	0.276	0.029	0.049	1.730
Z-21	0.173	0.138	0.041	0.008	0.210	0.114	1.032	0.296	0.022	0.026	2.060
Z-22	0.122	0.108	0.039	0.004	0.135	0.083	0.651	0.235	0.014	0.016	1.407
Y-1	0.164	0.111	0.038	0.004	0.164	0.109	0.980	0.293	0.024	0.036	1.923
Y-2	0.156	0.120	0.071	0.002	0.122	0.060	0.333	0.142	0.011	0.023	1.040
Y-3	0.132	0.117	0.039	0.002	0.101	0.098	0.255	0.166	0.014	0.032	0.956
Y-4	0.223	0.156	0.076	0.003	0.262	0.125	0.894	0.301	0.022	0.027	2.089
Y-5	0.175	0.099	0.049	0.002	0.110	0.060	0.249	0.084	0.012	0.013	0.853
Y-6	0.160	0.243	0.088	0.002	0.167	0.163	0.799	0.254	0.022	0.035	1.933
Y-7	0.319	0.101	0.042	0.002	0.108	0.097	0.380	0.177	0.014	0.022	1.262
Y-8	0.096	0.107	0.043	0.004	0.228	0.138	0.808	0.263	0.020	0.030	1.737
Y-9	0.205	0.185	0.050	0.002	0.150	0.121	0.457	0.214	0.012	0.036	1.432
Y-10	0.163	0.117	0.060	0.002	0.254	0.175	0.554	0.278	0.017	0.034	1.654
Y-11	0.121	0.072	0.033	0.006	0.116	0.073	0.432	0.161	0.009	0.014	1.037
Y-12	0.281	0.169	0.064	0.006	0.429	0.191	1.469	0.380	0.035	0.031	3.055
Y-13	0.119	0.090	0.132	0.101	0.148	0.130	0.893	0.410	0.025	0.046	2.094
Y-14	0.147	0.135	0.111	0.002	0.075	0.044	0.327	0.100	0.010	0.017	0.968
Y-15	0.106	0.111	0.061	0.002	0.107	0.060	0.537	0.157	0.014	0.013	1.168
Y-16	0.186	0.133	0.038	0.002	0.153	0.084	0.716	0.205	0.019	0.020	1.556
Y-17	0.107	0.123	0.048	0.004	0.174	0.106	0.988	0.343	0.022	0.032	1.947

注: A. 染料木苷; B. 三叶豆紫檀苷; C. 马卡因; D. 异黄酮醇; E. 苦参醇 I; F. 槐黄酮; G. 苦参酮; H. 降苦参酮; I. 2-O 甲基苦参酮; J. 异苦参酮。

表 6 苦参中 10 个成分独立样本 *t* 检验

Table 6 Independent *t*-test of ten flavone contents in *Sophorae Flavescentis Radix*

成分	指标	<i>t</i>	<i>df</i>	<i>P</i>	均值差值	标准误差值	95% 置信区间	
							下限	上限
染料木苷	假设方差相等	0.296	37.000	0.769	0.006	0.019	-0.033	0.044
	假设方差不相等	0.294	33.360	0.771	0.006	0.019	-0.033	0.045
三叶豆紫檀苷	假设方差相等	0.365	37.000	0.717	0.005	0.013	-0.021	0.030
	假设方差不相等	0.362	33.168	0.720	0.005	0.013	-0.021	0.030
马卡因	假设方差相等	-0.801	37.000	0.428	-0.006	0.008	-0.023	0.010
	假设方差不相等	-0.782	31.005	0.440	-0.006	0.008	-0.023	0.010
异黄腐醇	假设方差相等	0.915	37.000	0.366	0.008	0.009	-0.010	0.027
	假设方差不相等	0.949	36.978	0.349	0.008	0.009	-0.010	0.027
苦参醇 I	假设方差相等	-1.156	37.000	0.255	-0.027	0.023	-0.074	0.020
	假设方差不相等	-1.103	27.136	0.280	-0.027	0.024	-0.077	0.023
槐黄醇	假设方差相等	-0.310	37.000	0.758	-0.005	0.015	-0.035	0.026
	假设方差不相等	-0.316	36.525	0.754	-0.005	0.015	-0.035	0.025
苦参酮	假设方差相等	0.751	37.000	0.457	0.069	0.091	-0.117	0.254
	假设方差不相等	0.721	27.965	0.477	0.069	0.095	-0.127	0.264
降苦参酮	假设方差相等	0.896	37.000	0.376	0.028	0.032	-0.036	0.093
	假设方差不相等	0.903	35.470	0.372	0.028	0.032	-0.035	0.092
2-O-甲基苦参酮	假设方差相等	1.199	37.000	0.238	0.003	0.002	-0.002	0.007
	假设方差不相等	1.196	34.227	0.240	0.003	0.002	-0.002	0.007
异苦参酮	假设方差相等	0.050	37.000	0.960	0.0002	0.004	-0.007	0.008
	假设方差不相等	0.052	36.884	0.959	0.0002	0.004	-0.007	0.008

异黄腐醇、三叶豆紫檀苷的信息,第三主成分(PC3)主要代表了染料木苷的信息。

主成分分析与聚类分析结果基本一致。当欧式距离为 6 时,所有样品聚类分析分为 5 类(I 类, II 类, III 类, IV 类及 V 类),与主成分分析中 4 类不完全对应(IV 类, V 类对应 B 类, C 类),两种分析方法样品中均包含野生与栽培品。由结果可知,除 Y-13 外,主成分分析的 D 类成分与聚类分析中 III 类成分完全吻合,可能是由于此 4 种样本均为 2 年生苦参,故生长年限对其聚类的产生有一定的影响。主成分分析中 B 类成分与聚类分析中 IV 类完全对应,主要是由于此类中的 3 个样品受 PC1 的影响,具有相似的苦参酮含量,故聚为一类。C 类成分与聚类分析的 V 类成分基本一致,主要受 PC1 及 PC2 的影响较大,故聚为一类。

综上所述,相同或相近含量的野生与栽培样品在主成分分析和聚类分析中多距离较近,统计分析显示野生品与栽培品未能完全分开。表明苦参野生

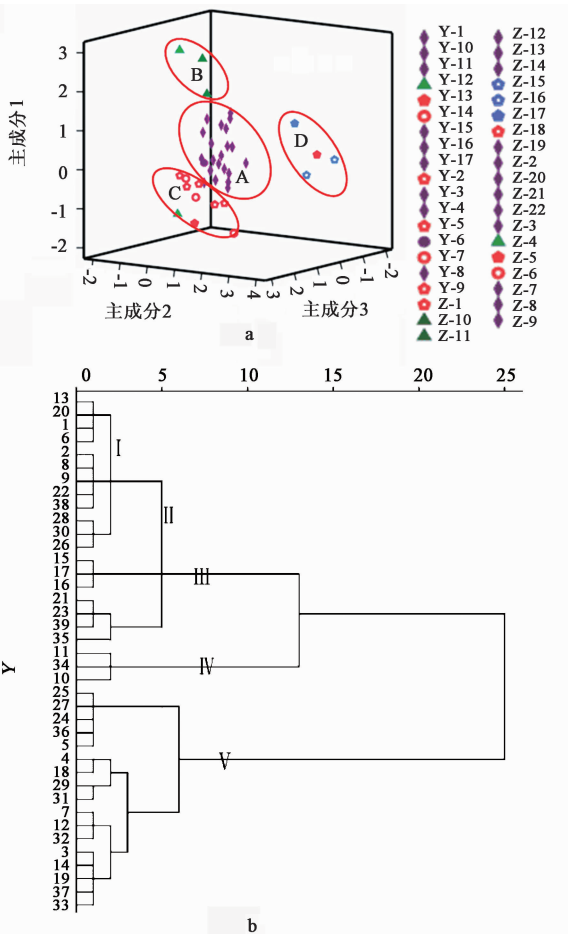
与栽培品黄酮类成分含量无显著差别。

4 讨论

本文所采集的野生与栽培品均符合 2015 年版《中国药典》一部的规定,其中黄酮类成分以苦参酮含量最高,约为 0.69%,其次为降苦参酮,约为 0.247%,异黄腐醇最低仅为 0.013%,各黄酮总和在 0.9%~3.1%,绝大部分药材的总黄酮质量分数超过 1%。

在提取方法上,曾对比了超声法和回流法,以回流法提取率更高,故对回流时间进行了优化,最终选择提取时间为 1 h。由于测定成分种类较多,为使短时间内达到较好的分离效果,本实验对不同品牌色谱柱进行筛选,最终采用峰形较好、分离度较高的 Kromasil C₁₈ 色谱柱进行黄酮类成分的含量测定。

苦参野生与栽培品均表现为苦参酮含量最高,其次为降苦参酮。通过所有样品均值的比较发现野生与栽培品略有差异,但其组内差异远远大于组间差异,统计学方法(独立样本 *t* 检验、主成分分析和



1~22. 栽培品 Z-1~Z-22; 23~39. 野生品 Y-1~Y-17
图 2 苦参野生品与栽培品主成分分析 (a) 及聚类分析 (b)

Fig. 2 PCA (a) and HCA (b) based on flavone contents in cultivated and wild species of *Sophorae Flavescentis Radix*

聚类分析)亦得出二者黄酮类成分含量无显著差异的结论,故可认为栽培品与野生品主要黄酮类成分含量无差异。

为了避免因产区地理、气候、环境等因素对药材质量的影响,笔者对道地产区不同县、镇、乡、村的样品信息进行实地采集,收集了规范化种植基地、农户种植的样本,并对当地的野生品进行了有序采挖,保证了质量分析结果的可比性。为了进一步揭示不同产区的野生品与栽培品间的差异,笔者仍在继续收集全国其他主产区的代表性样本,以期得到更大范围、具有可比性的质量数据,为苦参的规范化标准化种植提供科学依据,为精准扶贫做出贡献。

【参考文献】

[1] 明·缪希雍. 神农本草经疏 [M]. 吴少祯, 主编. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 122-123.
[2] LIU Y, XU Y, JI W, et al. Anti-tumor activities of matrine and oxymatrine; literature review [J]. Tumour

Biol, 2014, 35(6): 5111-5119.

[3] 姚梅芬, 张思巨, 李琳, 等. 苦参中黄酮类成分及其药理作用研究现状 [J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(3): 110-112.
[4] CHEN H, ZHANG J, LUO J, et al. Antiangiogenic effects of oxymatrine on pancreatic cancer by inhibition of the NF- κ B-mediated VEGF signaling pathway [J]. Oncol Rep, 2013, 30(2): 589-595.
[5] DONG X Q, QUAN D, YU W, et al. Anti-inflammatory effects of oxymatrine through inhibition of nuclear factor-kappa B and mitogen-activated protein kinase activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells [J]. Iran J Pharmaceut Res, 2013, 12(1): 165-174.
[6] 李安平, 王智民. 中国苦参 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2014: 150-156.
[7] ZHAO P, ZHOU R U, ZHU X Y, et al. Matrine attenuates focal cerebral ischemic injury by improving antioxidant activity and inhibiting apoptosis in mice [J]. Int J Mol Med, 2015, 36(3): 633-644.
[8] YANG X, YANG J, XU C, et al. Antidiabetic effects of flavonoids from *Sophora flavescens* EtOAc extract in type 2 diabetic KK-ay mice [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 171(2): 161-170.
[9] SUO B, WANG J P. Oxymatrine attenuates diabetes-associated cognitive deficits in rats [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2014, 35(3): 331-338.
[10] 张翹, 马悦, 高慧敏, 等. 苦参化学成分研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(4): 203-214.
[11] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 4 卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 634-643.
[12] 王宇. 苦参化学、工艺、制剂及质量研究近况 [J]. 中成药, 1997, 19(4): 39-41.
[13] 赵凤春. 苦参不同组织器官化学成分及含量差异研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2015.
[14] XIAO C M, XIU L X, KE X L. Simultaneous determination of nine major flavonoids in *Sophora flavescens* by RP-LC [J]. Chromatography, 2008, 68(5): 471-474.
[15] 张翹, 马悦, 高慧敏, 等. 苦参化学成分研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(4): 205-214.
[16] 姚丽, 易红, 高慧敏, 等. 野生与栽培苦参生物碱含量的比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 3968-3974.

【责任编辑 顾雪竹】