

不同生长年限山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的含量比较

彭红华¹, 蒋嫦月¹, 林吴¹, 田辉¹, 杨东爱², 张晶晶¹, 员晓云¹, 梁国隆¹, 梁臣艳^{1*}

(1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 广西民族医药研究所, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 探讨不同生长年限山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的含量, 为建立和完善中药材山豆根的质量控制体系和适宜采收时间提供实验依据。方法: 采用 HPLC 测定, 色谱柱 Welch materials XB-C₁₈, 流动相乙腈-0.08% 三乙胺水溶液 (12:88), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 220 nm, 检测温度 25 ℃。结果: 不同生长年限的山豆根中生物碱的含量差异明显。1、2 年生山豆根中生物碱的含量较低, 3 年生的药材含量明显升高, 3~6 年的药材含量变化不大。结论: 苦参碱和氧化苦参碱的含量变化规律可为确定山豆根的采收年限提供参考依据。

[关键词] 山豆根; 苦参碱; 氧化苦参碱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0072-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014080072

Comparison of Matrine and Oxymatrine in Radix Sophorae Subprostrata of Different Growing Years

PENG Hong-hua¹, JIANG Chang-yue¹, LIN Wu¹, TIAN Hui¹, YANG Dong-ai², ZHANG Jing-jing¹,
YUAN Xiao-yun¹, LIANG Guo-long¹, LIANG Chen-yan^{1*}

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;
2. Guangxi National Medical Research Institute, Nanning 530001, China)

[收稿日期] 20130306(027)

[基金项目] 广西教育厅科研立项课题(200810LX101); 广西自然科学基金创新团队研究项目(2011GXNSFF018006)

[第一作者] 彭红华, 研究生, 副教授, 从事中医药学研究, Tel: 0771-3936092, E-mail: zydphh@163.com

[通讯作者] * 梁臣艳, 硕士, 副教授, 从事中药、药学的有效成分和质量控制方法研究, Tel: 0771-3137585, E-mail: liang_chen_yan@126.com

- [3] 刑旺兴, 陈斌, 苾鹤鸣, 等. 通光藤的化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(12): 1148.
- [4] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海: 上海人民出版社, 1975: 470.
- [5] 张文平, 王昌利, 仲英子, 等. 乌骨藤及其制剂的研究进展[J]. 齐鲁药事, 2006, 25(5): 293.
- [6] 于邵帅, 陈明苍, 李志雄, 等. 通关藤的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 279.
- [7] 陈敏, 李媛媛, 李先荣, 等. 通关藤抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 334.
- [8] 倪冲, 裴志东, 张婧小, 等. 乌骨藤中白桦脂酸的提取分离及抗肿瘤活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 172.
- [9] 钱军, 华海清, 秦叔逵. 通关藤制剂抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(1): 11.
- [10] 赵陆华, 相秉仁, 陆红柳. 乌骨藤药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2008, 30(8): 1093.
- [11] 李媛媛, 倪艳, 李先荣, 等. 通关藤药材 C21 甾体皂苷类成分特征图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 43.
- [12] 王月敏, 夏素霞, 于邵军, 等. 乌骨藤药材中绿原酸的含量测定方法研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(7): 12.
- [13] 李迩娜, 腾再进, 刘世平, 等. 不同产地通关藤药材 HPLC-ELSD 指纹图谱[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(11): 1610.
- [14] 张慧, 裴志东, 倪冲, 等. 通关藤及其混淆品的 RAPD 鉴别研究[J]. 中药材, 2011, 34(9): 13550.

[责任编辑 顾雪竹]

[Abstract] Objective: To study the content of matrine and oxymatrine in Radix Sophorae Subprostrata of different growing years. **Method:** HPLC was adopted, the separation was performed on a welch materials XB-C₁₈ column, acetonitrile-0.08% triethylamine (12:88) was used as the mobile phase, the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹, detection wavelength was set at 220 nm with temperature at 25 °C. **Result:** The diversity of the content of matrine and oxymatrine in Radix Sophorae Subprostrata of different growing years was great. The ingredients in 1-2 years of Radix Sophorae Subprostrata were in the lower levels, the ingredients in 3 years increased significantly and the ingredients in over 3 years had stable change. **Conclusion:** The changing rules of matrine and oxymatrine provide scientific basis for the collecting years.

[Key words] Radix Sophorae Subprostrata; matrine; oxymatrine; HPLC

山豆根为豆科植物越南槐的干燥根及根茎,具有清火解毒、消肿止痛的功效,用于咽喉牙龈肿痛、肺热咳嗽烦渴、黄疸、热结便秘^[1]。山豆根为治咽要药,临床应用非常广泛,用于火毒蕴结、咽喉肿痛等^[2]。近年现代药理毒理研究表明^[3],山豆根具有抗肿瘤、抗炎、抑菌、保肝、增强免疫、抗心律失常、降血压等药理活性,同时又可引起肝毒性^[4-5]、神经毒性^[6]、胃肠道反应^[7]等毒副作用。山豆根的主要活性成分为苦参碱和氧化苦参碱^[8-9],是山豆根的有效成分和衡量药材治疗的重要指标^[10-13]。近年来,医药工业用山豆根为原料,大量研制开发治疗肝炎的针剂、咽喉肿痛的片剂以及抗肿瘤的中成药。随着市场需求量的不断增大,野生山豆根资源濒临枯竭,人工栽培山豆根正在广泛兴起。目前,关于山豆根不同生长年限中苦参碱和氧化苦参碱含量分布的研究未见报道。为此,笔者采用 HPLC 对不同生长年限山豆根中的苦参碱和氧化苦参碱含量进行分析,以期对山豆根药材的质量控制、最佳采收期的确定、资源的合理利用以及规范化种植与采用提供科学依据。

1 材料

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),B3500S-MT 型超声波清洗器(上海必能信仪器有限公司),BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。苦参碱和氧化苦参碱(批号分别为 110805-200508,110780-201007,中国食品药品检定研究院,供含量测定用)。乙腈为色谱纯(美国 Fisher),水为超纯水,其余试剂为分析纯。

药材采自广西各个种植基地,均为人工栽培品种,经广西中医药大学中药鉴定教研室田辉教授鉴定为豆科植物越南槐 *Sophora subprostrata* Chun et T. Chen 的根。药材的来源见表 1。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 取苦参碱对照品、氧化苦

表 1 山豆根来源

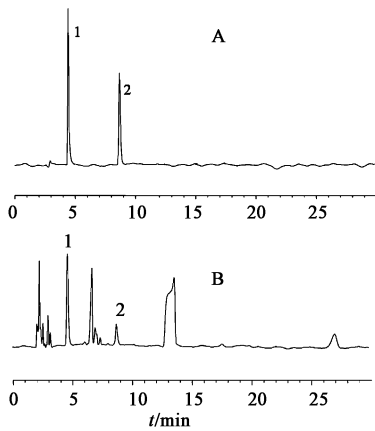
No.	生长年限	来源
1	1 年生	广西药用植物园
2	1 年生	广西药用植物园隆安种植基地
3	1 年生	广西那坡种植基地
4	2 年生	广西药用植物园
5	2 年生	广西药用植物园隆安种植基地
6	2 年生	广西那坡种植基地
7	3 年生	广西药用植物园
8	3 年生	广西药用植物园隆安种植基地
9	4 年生	广西药用植物园
10	5 年生	广西药用植物园
11	6 年生	广西药用植物园

参碱对照品适量,加流动相溶解并定容,配置成质量浓度分别为 0.025 2,0.368 g·L⁻¹ 对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备 取药材粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置具 100 mL 塞锥形瓶中,精密加入三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(40:10:1)混合溶液 50 mL,密塞,称定质量,放置 30 min 后超声 30 min,补重,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解定容至 10 mL 量瓶中,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 色谱条件 C₁₈ 色谱柱(welch materials XB-C₁₈,4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.08% 三乙胺水溶液(12:88),流速 0.8 mL·min⁻¹,检测波长 220 nm,检测温度 25 °C。进样量 10 μL。在此色谱条件下,样品在与对照品相对应的保留时间出现相同的色谱峰,且分离度良好,见图 1。

2.4 线性关系考察 分别取苦参碱对照品溶液,氧化苦参碱对照品溶液各 1,2,3,4,5 mL,分别置 10 mL 量瓶中,以流动相稀释至刻度,精密吸取 10 μL 进样。以苦参碱和氧化苦参碱峰面积(A)为纵坐标(Y),进样量(μg)为横坐标(X)绘制标准曲线。苦



A. 对照品; B. 供试品; 1. 氧化苦参碱; 2. 苦参碱
图 1 山豆根 HPLC

参碱标准曲线方程为 $Y = 2\ 756.2X + 1.85$ ($r = 0.999\ 9$), 氧化苦参碱标准曲线方程为 $Y = 2\ 457.6X + 1.72$ ($r = 0.999\ 9$), 表明苦参碱和氧化苦参碱进样量分别在 $0.025\ 2 \sim 0.126, 0.368 \sim 1.84\ \mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.5 精密度试验 取混合对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$ 连续进样 6 次, 测定苦参碱和氧化苦参碱的峰面积, 峰面积的 RSD 分别为 $0.18\%, 1.3\%$, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批药材粗粉约 $0.5\ \text{g}$, 各 6 份, 分别按 2.2 项下供试品溶液的制备方法制备, 按 2.3 项下的色谱条件进行测定, 计算苦参碱和氧化苦参碱的含量, RSD 分别为 $1.4\%, 2.1\%$, 表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24 h 进样分析, 按 2.3 项下的色谱条件进行测定, 苦参碱和氧化苦参碱峰面积 RSD 分别为 $1.8\%, 2.3\%$, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收试验 取 9 份已知含量的药材粉末约 $0.25\ \text{g}$, 精密称定, 分别精密加入苦参碱和氧化苦参碱对照品适量, 按 2.2 项下制备方法制备, 并按 2.3 项下的色谱条件进行测定, 测得苦参碱和氧化苦参碱的平均回收率分别为 $100.10\%, 99.94\%$, RSD 分别为 $1.2\%, 0.45\%$, 见表 2。

表 2 苦参碱、氧化苦参碱加样回收测定

成分/g	取样量/mg	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
苦参碱	0.250 8	0.130 4	0.105 0	0.235 2	99.81	100.10	1.2
	0.250 7	0.130 4	0.105 0	0.235 6	100.20		
	0.250 0	0.130 0	0.105 0	0.237 8	102.67		
	0.250 6	0.130 3	0.130 8	0.259 8	99.01		
	0.250 6	0.130 3	0.130 8	0.261 5	100.30		
	0.250 8	0.130 4	0.130 8	0.259 4	98.62		
	0.251 1	0.130 6	0.156 0	0.286 0	99.62		
	0.250 4	0.130 2	0.156 0	0.287 5	100.83		
	0.250 7	0.130 4	0.156 0	0.286 2	99.87		
氧化苦参碱	0.250 8	1.955 6	1.558 0	3.514 0	100.02	99.94	0.45
	0.250 7	1.955 5	1.558 0	3.512 6	99.94		
	0.250 0	1.950 0	1.558 0	3.511 2	100.20		
	0.250 6	1.955 5	1.948 2	3.897 8	99.70		
	0.250 6	1.955 5	1.948 2	3.895 6	99.58		
	0.250 8	1.955 6	1.948 2	3.904 5	100.04		
	0.251 1	1.955 8	2.345 0	4.301 2	100.02		
	0.250 4	1.955 3	2.345 0	4.298 4	99.92		
	0.250 7	1.955 5	2.345 0	4.301 8	100.06		

2.9 样品测定 取不同生长年限的药材粉末, 按 2.2 项下的制备方法制备, 按 2.3 项下的色谱条件进行测定, 苦参碱和氧化苦参碱的含量结果见表 3。

3 讨论

考察了不同柱子、不同流动相体系及不同检测波长^[1], 结果表明使用 C_{18} 柱避免了氨基柱在酸性

表3 山豆根药材的苦参碱和氧化苦参碱的含量

No.	生长年限	苦参碱 /mg·g ⁻¹	氧化苦参碱 /mg·g ⁻¹	总生物碱含量 /%
1	1年生	0.15	1.9	0.20
2	1年生	0.089	1.7	0.18
3	1年生	0.038	1.2	0.12
4	2年生	0.26	3.9	0.42
5	2年生	0.19	3.2	0.34
6	2年生	0.12	2.1	0.22
7	3年生	0.45	9.2	0.96
8	3年生	0.52	7.8	0.83
9	4年生	0.48	9.8	1.0
10	5年生	0.51	9.6	1.0
11	6年生	0.36	7.5	0.79

条件下使用寿命缩短的缺点;流动相乙腈-0.08%三乙胺水溶液(12:88)所得到的色谱图基线较平稳,分离效果好;溶剂在检测波长220 nm下的干扰较210 nm小,且检测灵敏度高。

植物次生代谢产物的合成积累受到地域、品系、生长年限、采收时期、加工方式、贮存时间等因素的影响^[14]。由表3可知,不同生长年限的山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的含量差异较大,3年以前的样品的含量随着生长年限的增加而增加,4,5年生的样品含量与3年生的样品含量相比,略有增加,但幅度比较小。6年生的样品含量比3年生的含量略有降低。2010年版《中国药典》规定,山豆根药材含苦参碱和氧化苦参碱的总量不得少于0.70%,3年(含)以上的山豆根药材生物碱含量符合要求。考虑到样品的质量、种植成本节约等方面,建议采收3年生药材为宜。但6年生以后的药材中生物碱的含量变化情况有待进一步的研究和考察。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:25.
- [2] 张涛. 山豆根药理作用与临床应用近况[J]. 广西中医学院学报,2008,11(3):110.
- [3] 王君明,崔瑛. 山豆根化学成分、药理作用及毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):229.
- [4] 李峰杰,姚广涛,金若敏,等. 山豆根致大鼠肝毒性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18):190.
- [5] 李晓宇,栾永福,李晓骄阳,等. 山豆根不同组分抗炎及伴随毒副作用研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(15):2232.
- [6] 焦万田. 中药不良反应与治疗[M]. 北京:人民军医出版社,1996:123.
- [7] 徐峰. 山豆根中毒5例[J]. 广东医药杂志,1999,20(11):900.
- [8] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:3394.
- [9] 戴五好,钱利武,杨士友,等. 苦参、山豆根生物碱及其总碱的抑菌活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(3):177.
- [10] 丁佩兰,郁韵秋,王钢力,等. RP-HPLC法评价山豆根药材质量[J]. 复旦学报:医学版,2004,31(2):208.
- [11] 何晓艳,周应军,田洪. 山豆根化学成分及药理作用研究进展[J]. 中南药学,2011,9(7):525.
- [12] 袁祥慧,李绪伦. 高效液相色谱法同时测定山豆根中苦参碱和氧化苦参碱含量[J]. 中国药业,2008,17(4):31.
- [13] 黄颖,王乃平,陈勇. 广西产山豆根 HPLC 指纹图谱测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):66.
- [14] 董娟娥,梁宗锁. 植物次生代谢物积累量影响因素分析[J]. 西北植物学报,2004,24(10):1979.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎投稿

欢迎订阅