

苦参药材中氧化苦参碱和苦参总黄酮含量比较

高红宁^{1*}, 殷奕²

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210029; 2. 南京多康商贸有限公司, 南京 210029)

[摘要] 目的:测定不同产地、来源苦参药材中氧化苦参碱和苦参总黄酮的含量。方法:采用高效液相法检测苦参中氧化苦参碱的含量,采用紫外分光光度法检测苦参中苦参总黄酮的含量。结果:比较了 10 批不同产地、来源苦参药材中氧化苦参碱和苦参总黄酮的含量,其中河南产苦参(批号 110613)氧化苦参碱含量最高,达 $19.53 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,广西产苦参(批号 110930)中苦参总黄酮含量明显高于其他产地的苦参,为 $14.44 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论:不同产地、来源苦参药材中有效成分的含量差异较大,在临床用药时应引起重视,在含苦参的复方制剂生产中应建立药材检测的可控标准。

[关键词] 苦参; 氧化苦参碱; 苦参总黄酮; 含量差异

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0066-04

[doi] 10.11653/syfy2013170066

Comparative Study on Contents of Oxymatrine and General Flavone in *Sophora Flavescens* from Different Habitats

GAO Hong-ning^{1*}, YIN Yi²

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;
2. Nanjing Duokuang Trading Co., Ltd., Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To study the content of oxymatrine and general flavone in *Sophora flavescens* from different habitats. **Method:** HPLC and UVspectrophotometry method were applied to detected the content of oxymatrine and general flavone in *S. flavescens*. **Result:** *S. flavescens* from different habitats were detected. Oxymatrin content in *S. flavescens* from Henan Province (Batch No: 110613) was the highest, up to $19.53 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, and general flavone content in *S. flavescens* from Guangxi Province (Batch No: 110930) was $14.44 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, significantly higher than the others. **Conclusion:** Oxymatrine and general flavone content differ widely in *S. flavescens* from different habitats, and it is necessary to establish quality control standard for compound preparations of *S. flavescens*.

[Key words] *Sophora flavescens*; oxymatrine; general flavone; content difference

苦参为豆科植物苦参的干燥根,性苦寒,功能清热燥湿、杀虫、利尿^[1]。现代临床应用表明,其具有减慢心率失常、扩张血管、平喘的功能^[2],可用于治疗热痢、便血、皮肤瘙痒、滴虫性阴道炎^[3]。苦参主要有效成分为生物碱类,包括苦参碱、氧化苦参碱、

羟基苦参碱等^[4-5],其中氧化苦参碱是苦参药效的主要成分^[6],因此通常将其作为苦参药材及其制剂定量检测的指标。进一步研究表明,苦参在体内产生药效并不是单一成分作用的结果,而是多种成分综合作用的结果,其有效部位是氧化苦参碱和苦参总黄酮^[7]。目前测定并比较不同产地、来源的市售苦参药材中有效部位含量的文献较少^[8-10]。本实验收集了 10 批不同产地及来源的苦参药材,分别测定了其中氧化苦参碱和苦参总黄酮的含量,并比较其含量差异,从有效成分含量的角度上综合评价药材质量。

[收稿日期] 20120524(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30171161);国家中医药管理局中医药科学技术研究专项(02-03ZP33)

[通讯作者] *高红宁,硕士,讲师,从事中药新剂型、制药新技术、中药新药的研究与开发, Tel:025-85811517, E-mail: hlinggao@yeah.net

1 材料

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪(Waters 510 泵,2487 紫外检测器,u6k 进样器),JS-3030 型江申通用汉化学谱工作站(大连江申分离科学技术公司),UV-752 型紫外-可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司),GS-150 型冷冻离心机(美国 Becton Dickinson 公司),Libror AEL-40SM 型电子天平(Shimadzu)。

1.2 试药 苦参药材 10 批,均为市售药材,产地及来源见表 1,经本校鉴定教研室吴德康教授鉴定为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根;氧化苦参碱、芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110780-200506,100080-200707);甲醇为色谱纯,磷酸、磷酸二氢钾、乙腈、十二烷基硫酸钠为分析纯,水为自制高纯水。

表 1 10 批苦参药材的产地和来源

批次	产地	来源	批号
1	河南	南京药材公司	110613
2	浙江	南京药材公司	110708
3	四川	南京药材公司	110529
4	贵州	南京药材公司	111016
5	贵州	南京益丰大药房	111006
6	安徽	南京药材公司	110920
7	安徽	南京中医药大学国医堂	110922
8	广西	南京中医药大学百草堂	110930
9	福建	南京大华中药房	110817
10	江苏	南京药材公司	110705

2 方法与结果

2.1 HPLC 测定苦参中氧化苦参碱的量

2.1.1 色谱条件^[4] Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相含 42 mmol·L⁻¹ SDS 的[1/15 mol·L⁻¹ H₃PO₄-1/15 mol·L⁻¹ KH₂PO₄ (pH 2.0)]-CH₃CN(62:38),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 207 nm,柱温 30 ℃。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取在 120 ℃减压干燥至恒重的氧化苦参碱对照品,加甲醇配成 0.233 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 将苦参药材粉碎,过 20 目筛,精密称取苦参样品粉末 0.5 g,加 50% 甲醇溶液 25 mL,水浴回流 15 min。冷却后,在 3 500 转下离心分离 5 min,取上清液置入 50 mL 的量瓶中。残渣用 50% 甲醇水浴回流提取两次,每次 10 mL,再按上述相同条件离心,所得的上清液并入上述量瓶中,加 50% 甲醇溶液至刻度,摇匀,取过微孔滤膜(0.45 μm)的续滤液作为供试品溶液。

2.1.4 线性关系的考察 精密吸取上述对照品溶液 1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,各进样 10 μL,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积为纵坐标,对照品进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 15\ 350X - 5\ 371$ ($r = 0.999\ 7$),线性范围为 0.023 3~0.139 8 g·L⁻¹。

2.1.5 精密度试验 精密吸取 0.233 g·L⁻¹ 的对照品溶液,按上述色谱条件,连续进样 6 次,每次 10 μL,测定氧化苦参碱的峰面积,计算其峰面积的 RSD 0.32%。

2.1.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0,1,2,4,8,12,24 h 进行测定,计算得其 RSD 0.48%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性好。

2.1.7 重复性试验 精密称取河南产(批号 110613)苦参样品粉末 0.5 g,共 6 份,按 2.1.3 项下制备供试品溶液,并按上述色谱条件测定,测得氧化苦参碱的质量分数的 RSD 1.36%。

2.1.8 加样回收率试验 以河南产(批号 110613)苦参药材粉末为研究对象,精密称取药材粉末 9 份,每份 0.1 g,置 50 mL 量瓶中,每 3 份分别加入氧化苦参碱对照品溶液(0.233 g·L⁻¹)8.0,8.5,9.0 mL,按 2.1.3 项下制备,测定,结果见表 2,计算得平均回收率为 98.86%,RSD 1.17%。

2.2 紫外可见分光光度法测定苦参总黄酮的量

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取在 120 ℃减压干燥至恒重的芦丁对照品,加甲醇配成质量浓度为 0.44 g·L⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取苦参样品粉末 0.5 g,加 25 mL 甲醇,水浴回流 30 min。冷却后,在 3 500 转下离心分离 5 min,将上清液置入 50 mL 的量瓶中。残渣用甲醇水浴回流提取 2 次,每次 10 mL,再按上述相同条件离心,所得的上清液并入上述量瓶中,加甲醇溶液至刻度,作为供试品溶液。

2.2.3 测定波长的选择 取对照品溶液、供试品溶液和空白对照液在紫外分光光度计上 200~800 nm 进行扫描,结果显示对照品溶液和供试品溶液在 500 nm 处均有最大吸收,适合定量测定,故选择 500 nm 作为定量测定的波长。

2.2.4 线性关系的考察 精密吸取上述对照品溶液(0.44 g·L⁻¹),以甲醇作溶剂,分别配成 0.017 6~0.105 6 g·L⁻¹ 的溶液,以甲醇为空白,在 500 nm 波长处测定吸光度(A),以 A 为纵坐标,对照品质量浓度(C)为横坐标,绘制标准曲线。回归方

表 2 氧化苦参碱加样回收率试验

化合物	称样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
氧化苦参碱	0.099 8	1.949 1	1.864 0	3.769 7	97.67	98.86	1.17
	0.100 1	1.955 0	1.864 0	3.795 9	98.76		
	0.100 3	1.958 9	1.864 0	3.799 4	98.74		
	0.100 4	1.960 8	1.980 5	3.905 7	98.20		
	0.099 9	1.951 0	1.980 5	3.940 0	100.43		
	0.099 7	1.947 1	1.980 5	3.913 5	99.29		
	0.099 9	1.951 0	2.097 0	4.019 3	98.63		
	0.100 2	1.956 9	2.097 0	4.032 3	98.97		
	0.100 3	1.958 9	2.097 0	4.035 6	99.03		
苦参总黄酮	0.101 1	0.595 5	1.100 0	1.687 4	99.26	98.90	1.25
	0.100 9	0.594 3	1.100 0	1.677 6	98.48		
	0.100 9	0.594 3	1.100 0	1.663 4	97.19		
	0.101 5	0.597 8	1.320 0	1.900 2	98.67		
	0.100 9	0.594 3	1.320 0	1.923 1	100.67		
	0.103 0	0.606 7	1.320 0	1.917 5	99.30		
	0.102 9	0.606 1	1.540 0	2.147 6	100.10		
	0.101 1	0.595 5	1.540 0	2.130 1	99.65		
	0.100 3	0.590 8	1.540 0	2.081 2	96.78		

程 $A = 0.0182 + 9.2727C$ ($r = 0.9997$), 结果表明苦参总黄酮在 $0.0176 \sim 0.1056 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取 $0.1056 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液于 500 nm 处测定 A , 重复测定 6 次, 结果 RSD 0.81% 。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液依次于 $0, 1, 2, 3, 4, 5 \text{ h}$ 测定 A , 结果表明供试品溶液在 5 h 内稳定, RSD 0.49% 。

2.2.7 重复性试验 精密称取河南产(批号 110613)苦参药材粉末 0.5 g , 共 6 份, 按 **2.2.2** 项下制备供试品溶液, 测定 A , 计算苦参总黄酮的平均质量分数 RSD 1.52% 。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知苦参总黄酮量的河南地区(批号 110613)药材 0.1 g , 共 9 份, 置 25 mL 量瓶中, 分别加入对照品溶液 ($0.44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) $2.5, 3.0, 3.5 \text{ mL}$, 各 3 份, 按 **2.2.2** 项下制备样品, 测定 A 值, 结果见表 2, 计算得平均回收率为 98.9% , RSD 1.25% 。

2.3 样品测定

2.3.1 不同产地、来源苦参药材中氧化苦参碱量的测定 精密称取 10 个不同产地苦参药材粉末 0.5 g , 按 **2.1.3** 项下制成供试品溶液, 精密吸取

$10 \mu\text{L}$ 注入色谱仪, 记录色谱图。根据标准曲线计算质量分数, 结果见表 3。色谱图见图 1。

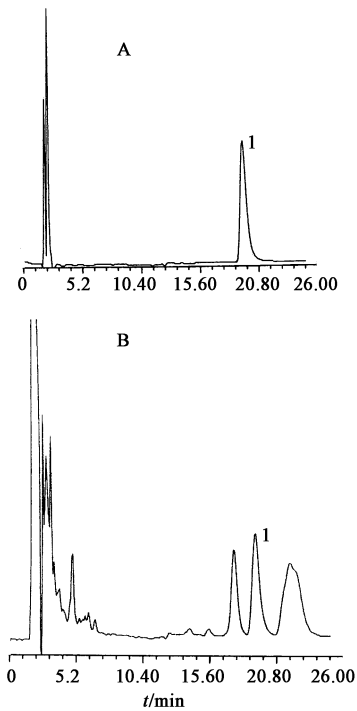
表 3 不同产地苦参中氧化苦参碱的含量测定 ($n = 3$)

产地及批号	氧化苦参碱		苦参总黄酮	
	含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%	含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%
河南, 110613	19.53	0.18	5.89	0.59
浙江, 110708	7.84	0.47	7.81	0.47
四川, 110529	9.08	0.42	8.09	0.49
贵州, 111016	14.15	0.21	6.31	0.67
贵州, 111006	9.48	0.18	11.52	0.87
安徽, 110920	12.18	0.51	9.03	0.81
安徽, 110922	14.27	0.22	10.28	0.67
广西, 110930	4.71	0.85	14.44	0.97
福建, 110817	7.94	0.64	9.71	0.76
江苏, 110705	5.70	0.81	8.36	0.58

2.3.2 不同产地、来源苦参药材中苦参总黄酮量的测定 精密称取 10 个不同产地苦参药材粉末 0.5 g , 按 **2.2.2** 项下制成供试品溶液, 测定 A , 计算苦参总黄酮质量分数, 结果见表 3 和图 2。

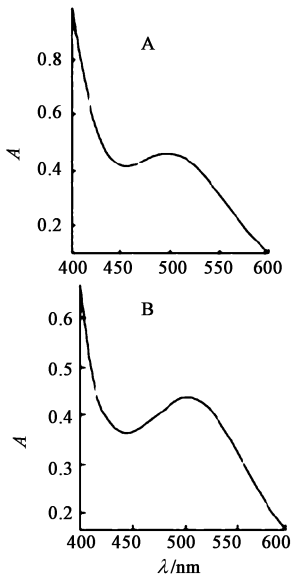
3 讨论

比较了不同提取溶剂甲醇、 50% 甲醇、 50% 乙醇、 75% 乙醇、 95% 乙醇溶液对氧化苦参碱提取效率



A. 对照品;B. 样品;1. 氧化苦参碱

图1 苦参碱 HPLC



A. 供试品溶液;B. 对照品溶液

图2 芦丁紫外扫描图谱

的影响,结果表明以 50% 甲醇作为提取溶剂,提取效率最高。比较了水浴回流、索氏提取 2 种提取方法,结果表明水浴回流提取效率较好。

曾选用甲醇-水(100:32)、乙腈-磷酸-无水乙醇

(80:8:10)、含 $42 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SDS 的 $[1/15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{PO}_4-1/15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4 (\text{pH } 2.0)]-\text{CH}_3\text{CN}$ (62:38) 等体系作为洗脱,发现流动相为含 $42 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SDS 的 $[1/15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{PO}_4-1/15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4 (\text{pH } 2.0)]-\text{CH}_3\text{CN}$ (62:38) 得到的色谱峰形较好,且较稳定。

含量测定结果显示,产地、来源不同的苦参药材中氧化苦参碱和苦参总黄酮含量差异较大。河南产苦参所含氧化苦参碱含量最高,广西地区苦参所含苦参总黄酮含量明显高于其他产地和来源的苦参。苦参目前除新疆和青海外全国各地均有分布,苦参药材的产地及来源对指导临床安全用药十分重要。如何针对苦参药材及其制剂中有效部位的含量制定统一的质量标准和含量限度,也是苦参研究领域迫切需要解决的问题。

[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,2005:141.
- [2] 阴健. 中药现代研究与临床应用[M]. 北京:中国古籍出版社,1994:424.
- [3] 陈静,王淑美,孟江,等. 不同生长年限苦参不同部位的生物碱含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(7):80.
- [4] 王慕邹,陈毓亨,相乐和彦,等. 常用中草药高效液相色谱分析[M]. 北京:科学出版社,1999:207.
- [5] 马悦,张启伟,王智民,等. 复方苦参注射液研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(23):342.
- [6] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:636.
- [7] 涂瑶生,李绍林,孙冬梅,等. 星点设计-效应面法优选苦参提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5):34.
- [8] 刘涛,李娟,徐玉玲,等. 苦参提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):58.
- [9] 刘敬霞,李建生. 苦参及其有效成分治疗失眠症研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):284.
- [10] 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.

[责任编辑 顾雪竹]