

不同生长年限苦参不同部位的生物碱含量

陈静, 王淑美, 孟江, 孙飞, 王佰灵, 刘贝, 梁生旺*

(广东药学院 中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 对不同年限苦参药材茎、叶、芦头、侧根、根5个部分总生物碱与5种单体生物碱进行含量测定。方法: 采用高效液相色谱法分析不同年限苦参药材不同部位中5种指标性生物碱的含量。结果: 5种指标性生物碱在不同生长年限苦参不同部位的分布有不同特点, 不同部位槐果碱的含量分布叶>茎>侧根>主根>芦头, 苦参碱的分布是叶>茎>芦头>侧根>主根, 氧化槐果碱的分布是侧根>主根>芦头>茎>叶, 槐定碱的分布是侧根>主根>叶>茎>芦头, 氧化苦参碱的分布是侧根>主根>芦头>茎>叶。随着生长年限的增加, 各指标性生物碱成分含量随之增加, 第4年有效成分增加幅度较小, 其中主根中5种指标性成分含量依次为一年生 $13.58 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 两年生 $20.49 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 三年生 $27.74 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 四年生 $31.32 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结论: 上述结果为合理开发利用苦参以及苦参的生长年限提供了实验依据。

[关键词] 苦参; 不同年限; 不同部位; 高效液相色谱法; 5种生物碱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0080-05

[doi] 10.11653/zgsyfjxzz2013070080

Determination of Five Alkaloids from *Sophora flavescens* of Different Parts and Different Growth Years

CHEN Jing, WANG Shu-mei, MENG Jiang, SUN Fei, WANG Bai-ling, LIU Bei, LIANG Sheng-wang*

(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the five alkaloids of different parts in *S. flavescens* of different

[收稿日期] 20120925(011)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201007012-1-9)

[第一作者] 陈静, 在读研究生, 从事中药质量控制研究; E-mail: janechan_best@126.com

[通讯作者] * 梁生旺, 教授, 从事中药质量控制研究, Tel: 020-39352172, E-mail: swliang371@163.com

- [4] 沈琦, 胡晋红, 赵素娟, 等. 水杨酸甲酯的皮肤渗透和代谢特性[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 21(8): 3.
- [5] 陈斌, 贾晓斌, 刘齐. 气相色谱法测定不同厂家关节止痛膏中樟脑、薄荷脑和水杨酸甲酯的含量[J]. 中药材, 2010, 33(8): 1340.
- [6] 邢俊波, 曹红, 刘成红, 等. 毛细管气相色谱法测定伤湿祛痛膏中樟脑和薄荷脑的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(1): 107.
- [7] 浦益琼, 张彤, 项乐源. 毛细管气相色谱法测定伤湿止痛膏中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量[J]. 中成药, 2009, 31(8): 1224.
- [8] 张一鸣, 郭璞, 王洁, 等. 祖师麻关节止痛膏中四种活性成分的毛细管气相色谱法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2011, 42(6): 449.
- [9] 刘杰, 董文玲. 4种中药橡胶膏剂中樟脑、薄荷脑、冰片和水杨酸甲酯含量的气相色谱法测定[J]. 中成药, 2004, 26(10): 23.
- [10] 傅应华. 毛细管气相色谱法同时测定少林风湿跌打膏中薄荷脑、水杨酸甲酯和冰片的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(6): 1111.
- [11] 张一鸣, 王洁, 胡明勋, 等. 毛细管气相色谱法测定红药贴膏中4种活性成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 47.
- [12] 刘剑, 于得才. 麝香祛痛喷雾剂的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 84.
- [13] 刘东辉, 陈慕媛, 黄月纯, 等. 双柏散中槲皮苷与薄荷脑的含量测定研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(12): 4.

[责任编辑 顾雪竹]

growth years. **Method:** The five alkaloids in *S. flavescens* were analyzed by HPLC. **Result:** Five alkaloids of different parts in *S. flavescens* of different growth years had their distribution law. The content of sophocarpine's distribution in different parts was leaf > stem > lateral root > taproot > reed head; the distribution of matrine was leaf > stem > reed head > lateral root > taproot; the distribution of oxysophocarpine was lateral root > taproot > reed head > stem > leaf; the distribution of sophoridine was lateral root > taproot > leaf > stem > reed head; the distribution of oxymatrine was lateral root > taproot > reed head > stem > leaf. With the increase of growth years, the five alkaloids increased; the fourth year was tend to be gentle. For example, the content of the taproot was: 13.58 mg · g⁻¹ (first year), 20.49 mg · g⁻¹ (second year), 27.74 mg · g⁻¹ (third year), 31.32 mg · g⁻¹ (forth year). **Conclusion:** This research can provide data for rational utilization and growth years determination of *S. flavescens*.

[**Key words**] *Sophora flavescens*; different growth years; different parts; HPLC; five alkaloids

苦参为豆科植物苦参的干燥根,始载于《神农本草经》,苦,寒,归心、肝、胃、大肠、膀胱经,具有清热燥湿、杀虫利尿的功效,主治热痢、便血、黄疸尿闭、赤白带下、阴痒阴肿、湿疹、皮肤瘙痒、疥癣麻风等证,外用亦可治疗滴虫性阴道炎。本实验采用高效液相色谱法对不同年限苦参各部位中苦参碱(matrine)、氧化苦参碱(oxymatrine)、槐果碱(sophocarpine)、氧化槐果碱(oxysophocarpine)、槐定碱(sophoridine) 5种单体生物碱进行含量测定,为合理开发利用苦参以及确定栽培苦参的生长年限提供实验依据。

1 材料

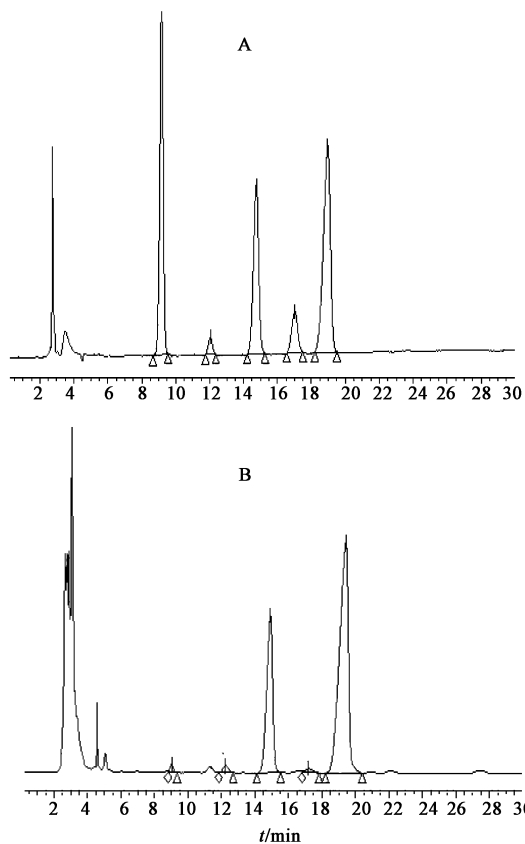
Waters 2695 型高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列检测器, Sartorius BP211D 1/10 万电子天平。乙腈(欧普森色谱纯), 无水乙醇(天津科密欧色谱纯), 其他试剂为分析纯, 水为超纯水。苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110805-200508)、氧化苦参碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110780-201007)、槐定碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110784-200804)、氧化槐果碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111652-200301)、槐果碱对照品(成都曼斯特生物科技有限公司, 批号 11052422)。

苦参药材采自山西振东道地药材开发有限公司苦参规范化种植基地, 经广东药学院生药教研室李书渊教授鉴定为苦参 *Sophora flavescens* Ait. 药材。取不同年限苦参药材, 分取不同部位, 洗净, 干燥, 粉碎, 过三号筛。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1-2] Inertsil-NH₂ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80:10:10), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 210 nm, 进样量 20 μL。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的配制 分别取槐果碱、苦参碱、



1. 槐果碱; 2. 苦参碱; 3. 氧化槐果碱; 4. 槐定碱; 5. 氧化苦参碱

图 1 对照品(A)与样品(B)液相色谱

氧化槐果碱、槐定碱、氧化苦参碱(含量以 92.3% 计算)对照品适量, 精密称定, 加乙腈-无水乙醇(80:20)溶解, 分别制成每 1 mL 含槐果碱 0.652 0 mg、苦参碱 0.552 0 mg、氧化槐果碱 0.568 0 mg、槐定碱 0.416 0 mg、氧化苦参碱 0.476 3 mg 的溶液, 作为对照品溶液。取槐果碱对照品溶液 0.1 mL、苦参碱对照品溶液 0.2 mL、氧化槐果碱对照品溶液 1.5 mL、槐定碱对照品溶液 0.3 mL 和氧化苦参碱对照品溶液 5 mL 至 10 mL 量瓶中, 加乙腈-无水乙醇(80

: 20) 定容至刻度, 得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取不同年限苦参不同部位的粉末各 0.3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加浓氨溶液 0.5 mL, 三氯甲烷 20 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用三氯甲烷补足减失质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 加在中性氧化铝柱(100 ~ 200 目, 5 g, 内径 1 cm) 上, 依次以三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇(7:3) 混合溶液各 20 mL 洗脱, 合并洗脱液, 回收溶剂至干, 残渣加无水乙醇适量使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 标准曲线的制备 精密吸取混合对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 μL 注入液相色谱仪测定, 以进样量(μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程, 分别为:

$$Y_{\text{槐果碱}} = 2\ 051\ 369.709\ 5X - 4\ 695.080\ 6 (R^2 = 0.999\ 7); Y_{\text{苦参碱}} = 1\ 347\ 009.059\ 6X - 6\ 872.2660 (R^2 = 0.999\ 6); Y_{\text{氧化槐果碱}} = 2\ 195\ 134.457\ 9X - 25\ 501.110\ 3 (R^2 = 1.00\ 0); Y_{\text{槐定碱}} = 1\ 303\ 758.019\ 9X - 13\ 731.329\ 9 (R^2 = 0.999\ 7); Y_{\text{氧化苦参碱}} = 1\ 230\ 594.023\ 8X - 34\ 593.772\ 9 (R^2 = 0.999\ 6)。$$

表明槐果碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱分别在: 0.013 04 ~ 0.195 6, 0.170 4 ~ 2.556, 0.022 08 ~ 0.331 2, 0.024 96 ~ 0.374 4, 0.476 0 ~ 7.140 μg 线性关系良好。

2.4.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 20 μL , 连续进样 5 次, 记录色谱峰的峰面积, 结果槐果碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱峰面积的 RSD 分别为 0.48%, 0.95%, 0.14%, 2.9%, 0.13%, 表明仪器精密度较好。

2.4.3 稳定性试验 取 3 年生苦参主根供试品溶液 1 份, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 h 进样测定, 结果槐果碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐定碱、氧化苦参碱峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 0.68%, 0.33%, 1.1%, 1.6%, 表明供试品溶液稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 取 3 年生苦参主根粉末共 6 份, 按供试品制备方法制备, 分别测定其含量, 结果槐果碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱含量测定的 RSD 分别为 1.2%, 1.7%, 0.98%, 2.1%, 1.0%, 表明本方法重复性较好。

2.4.5 加样回收率 精密吸取上述槐果碱对照品溶液 0.05 mL、苦参碱对照品溶液 0.15 mL、氧化槐果碱对照品溶液 1.6 mL、槐定碱对照品溶液 0.5 mL、氧化苦参碱对照品溶液 6 mL 置具塞锥形瓶中, 挥干溶

剂, 取 3 年生苦参主根粉末约 0.15 g, 精密称定, 按 **2.3** 制备供试品溶液, 同法制备共 6 份供试品溶液。精密吸取供试品溶液 20 μL , 注入液相色谱仪, 测定。计算回收率, 结果见表 1。

2.4.6 含量测定 取苦参药材不同部位粉末, 按供试品溶液制备方法制备, 精密吸取 20 μL , 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定各产地苦参药材中槐果碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐定碱和氧化苦参碱的含量, 结果见表 2。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择 尝试使用 C_{18} 色谱柱进行苦参含量测定, 但结果证明使用 C_{18} 柱时, 各峰拖尾严重, 且分离度不好, 而使用氨基柱进行苦参中生物碱的含量测定时, 各峰分离度好, 且保留时间适当, 分析时间短。原因是苦参中的生物碱类极性大, 而氨基柱适合用于分析极性或中等极性化合物。2010 年版《中国药典》苦参项下使用氨基柱进行含量测定^[1], 氨基柱已较广泛的用于苦参药材及其制剂的生物碱含量测定, 如闵庆璐^[3] 等采用氨基柱, 以乙腈-无水乙醇-3% 磷酸(82:10:8) 作为流动相, 测定丹黄祛瘀片中苦参碱和氧化苦参碱的含量。

3.2 实验结果 5 种指标性生物碱在不同生长年限苦参不同部位的分布有不同特点。不同部位槐果碱的含量分布叶 > 茎 > 侧根 > 主根 > 芦头, 苦参碱的分布是叶 > 茎 > 芦头 > 侧根 > 主根, 氧化槐果碱的分布是侧根 > 主根 > 芦头 > 茎 > 叶, 槐定碱的分布是侧根 > 主根 > 叶 > 茎 > 芦头, 氧化苦参碱的分布是侧根 > 主根 > 芦头 > 茎 > 叶。此外, 随着生长年限的增加, 各指标性生物碱成分含量随之增加。

3.3 药用部位的开发利用 现代药理研究表明, 槐果碱具有中枢神经抑制作用、抗肿瘤、正性肌力作用、平喘、镇痛抗炎等药理作用^[4], 苦参碱具有抗心律失常、抗肝纤维化、抗肿瘤、抗肺纤维化、抗胰腺纤维化、抗炎抗过敏以及增强特异性免疫的药理作用^[5], 此外, 苦参中苦参碱、槐果碱、氧化苦参碱等生物碱类成分具有明显杀虫活性^[6]。从上述实验结果可见, 非传统药用部位的茎、叶、芦头中苦参碱与槐果碱的含量较高, 若以茎、叶以及芦头作为主要原料进行提取利用, 用于研发保健用品、化妆品、杀虫剂、清洁洗剂、提取物或有效成分入药的中成药等, 有利于成本的节约以及合理开发利用新的药用部位。

3.4 生长年限的确定 苦参的药用部位为根, 由图 2 可见, 栽培前 3 年侧根和主根中 5 种生物碱总含

表1 加样回收率结果($n=6$)

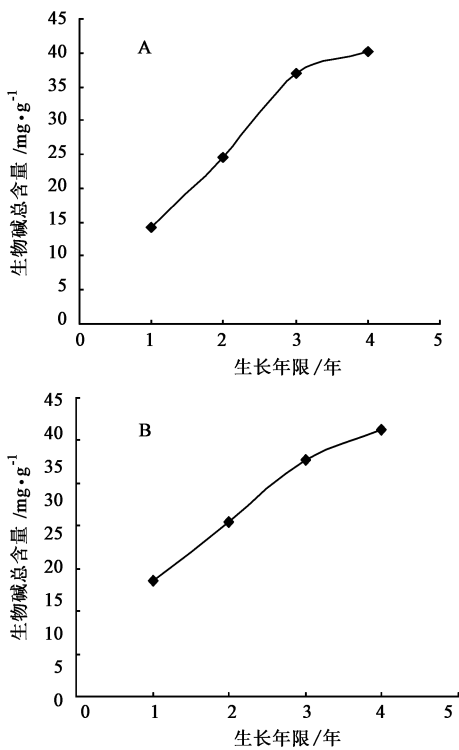
成分	称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
槐果碱	0.150 3	0.037 98	0.032 50	0.068 93	95.23	97.23	2.1
	0.150 0	0.037 91	0.032 50	0.069 01	95.69		
	0.149 9	0.037 88	0.032 50	0.069 91	98.55		
	0.150 1	0.037 93	0.032 50	0.070 43	100.0		
	0.150 3	0.037 98	0.032 50	0.069 02	95.51		
	0.150 4	0.038 01	0.032 50	0.069 99	98.40		
苦参碱	0.150 3	0.078 31	0.082 80	0.162 0	101.1	99.21	1.6
	0.150 0	0.078 15	0.082 80	0.160 0	98.85		
	0.149 9	0.078 10	0.082 80	0.158 9	97.58		
	0.150 1	0.078 20	0.082 80	0.162 0	101.2		
	0.150 3	0.078 31	0.082 80	0.159 3	97.81		
	0.150 4	0.078 36	0.082 80	0.160 1	98.72		
氧化槐果碱	0.150 3	0.888 0	0.908 8	1.768	96.83	97.62	0.83
	0.150 0	0.886 2	0.908 8	1.785	98.90		
	0.149 9	0.885 6	0.908 8	1.769	97.21		
	0.150 1	0.886 8	0.908 8	1.767	96.85		
	0.150 3	0.888 0	0.908 8	1.778	97.93		
	0.150 4	0.888 6	0.908 8	1.779	97.98		
槐定碱	0.150 3	0.211 3	0.208	0.409 1	95.10	96.53	1.1
	0.150 0	0.210 9	0.208	0.414 5	97.88		
	0.149 9	0.210 8	0.208	0.4112	96.35		
	0.150 1	0.211 0	0.208	0.410 2	95.77		
	0.150 3	0.211 3	0.208	0.414 5	97.69		
	0.150 4	0.211 5	0.208	0.412 0	96.39		
氧化苦参碱	0.150 3	2.953	2.858	5.896	103.0	101.8	2.9
	0.150 0	2.948	2.858	5.918	103.9		
	0.149 9	2.946	2.858	5.921	104.1		
	0.150 1	2.949	2.858	5.811	100.1		
	0.150 3	2.953	2.858	5.903	103.2		
	0.150 4	2.955	2.858	5.710	96.40		

量增长幅度较大,第4年增长幅度较小。2010年版《中国药典》中苦参项下没有明确提出苦参的生长年限,而《中华本草》苦参项下提到苦参生产上以种子作为繁殖材料,“播种第3年9~10月挖去全

株^[7]”。通过走访GAP种植基地发现,基地栽培苦参一般以3年生为主。上述实验数据表明,播种后第3年采挖符合有效成分积累规律以及经济效益。

表 2 样品中 5 种生物碱含量测定 (n=3)

药龄	部位	槐果碱		苦参碱		氧化槐果碱		槐定碱		氧化苦参碱		总含量 /mg·g ⁻¹
		含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%	含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%	含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%	含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%	含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%	
一年生	茎	0.216 0	0.12	0.293 1	0.68	1.856	1.6	0.406 6	0.45	2.897	1.5	5.559
	叶	0.227 0	0.33	0.461 6	0.22	0.748 8	2.4	0.788 5	0.86	0.617 1	2.3	2.843
	芦头	0.152 5	1.7	0.251 7	0.22	2.333	0.45	0.300 7	0.31	5.612	0.34	8.650
	主根	0.155 7	0.98	0.222 4	1.3	4.136	0.33	0.811 2	0.24	8.252	0.23	13.58
	侧根	0.183 2	0.57	0.230 0	1.5	4.435	0.67	0.835 3	0.11	8.572	0.021	14.26
二年生	茎	0.192 5	1.3	0.270 1	2.0	2.765	1.3	0.966 1	0.87	5.62 9	0.75	9.823
	叶	0.306 9	2.1	0.813 4	1.4	0.956 3	0.51	1.051	0.55	1.200	0.65	4.328
	芦头	0.096 85	0.23	0.310 1	0.90	3.627	0.66	0.553 4	1.5	17.04	0.78	21.63
	主根	0.103 2	0.87	0.246 5	0.78	4.319	0.34	1.209	1.4	14.62	1.0	20.49
	侧根	0.108 4	0.77	0.267 4	0.65	5.232	1.3	1.515	0.99	17.51	0.74	24.63
三年生	茎	0.201 2	1.4	0.896 2	0.46	2.214	2.0	1.378	0.87	8.873	1.0	13.56
	叶	0.386 7	0.40	0.901 1	0.87	1.027	1.0	1.113	0.34	1.902	0.54	5.330
	芦头	0.215 5	2.3	0.872 2	2.4	3.841	0.98	0.908 8	0.26	16.19	0.34	22.03
	主根	0.252 7	2.2	0.521 0	0.42	5.908	0.41	1.406	0.73	19.65	0.77	27.74
	侧根	0.255 5	1.9	0.665 3	0.67	6.851	0.92	1.960	0.46	27.34	0.32	37.07
四年生	茎	0.321 7	0.57	0.912 3	2.7	2.657	0.88	1.535	2.0	9.887	0.81	15.31
	叶	0.466 7	0.34	1.118	2.1	1.235	0.79	1.333	0.27	2.013	0.97	6.166
	芦头	0.221 2	0.85	0.897 7	1.1	4.662	0.14	1.027	1.7	18.73	1.1	25.54
	主根	0.283 1	0.34	0.555 3	0.098	6.381	0.33	1.937	0.46	22.16	0.88	31.32
	侧根	0.299 8	0.77	0.621 7	0.24	7.273	1.2	2.079	0.024	30.01	0.90	40.28



A. 侧根; B. 主根

图 2 生长年限与 5 种指标性成分总含量关系

[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, 2010:188.
 [2] 胡北, 单玉, 张振秋, 等. HPLC 法同时测定苦参中 5 种生物碱的含量[J]. 中药材, 2009, 32(10): 1556.
 [3] 闵庆璐, 王巍, 鞠成国, 等. HPLC 测定丹黄祛瘀片中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 60.
 [4] 顾关云, 肖年生, 蒋昱. 苦参的化学成分、生物活性和药理作用[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(5): 265.
 [5] 李屹, 张丽楠, 杨磊. 苦参碱药理作用研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2012, 28(5): 423.
 [6] 陈慧芝, 包海鹰. 苦参的化学成分和药理作用及临床研究概况[J]. 人参研究, 2010, 3: 31.
 [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 4 分册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 634.

[责任编辑 顾雪竹]