

## 苦参与蛇床子配伍过程中化学成分变化研究

艾芸, 刘建利\*, 刘竹兰, 房敏峰

(西北大学生命科学学院 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 陕西 西安 710069)

**摘要:**目的 考察苦参与蛇床子对药在配伍过程中化学成分的变化。方法 采用 HPLC 法测定苦参碱和氧化苦参碱在单煎与合煎中量的变化, 同时比较配伍前后其他成分的变化。结果 在苦参与蛇床子配伍对药共煎液中氧化苦参碱的量降低 30.58%, 苦参碱的量增加 71.05%, 伴随着 5 个其他成分的变化, 也产生了 5 个新成分。结论 苦参与蛇床子对药在配伍过程中发生了一系列复杂的变化, 其化学成分不但有量的变化, 也有质的变化。

**关键词:**苦参; 蛇床子; 配伍

**中图分类号:**R286.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2007)02-0205-03

Chemical change in compatibility of *Radix Sophorae Flavescentis* with *Fructus Cnidii*

AI Yun, LIU Jian-li, LIU Zhu-lan, FANG Min-feng

(Key Laboratory of Biology and Modern Biotechnology in Western Resources, Ministry of Education, School of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Key words:** *Radix Sophorae Flavescentis*; *Fructus Cnidii*; compatibility

复方是中医临床用药的主要形式, 是中药特色的集中体现。中药通过配伍组成复方可以提高疗效、减少不良反应、产生新的治疗作用、不产生抗药性等。复方的作用区别于其组成的单味药材正是由于复方在煎煮的过程中所含的化学成分相互作用, 发生了一系列质和量的变化, 这些变化后的成分才形成了复方具有独特疗效的物质基础<sup>[1~3]</sup>。对药是最小的复方形式, 可以单独使用, 也可与其他药组成更大的复方。由于中药复方化学成分非常复杂, 从对药开始研究可能会容易切入。苦参为豆科槐属植物苦参 *Sophora flavesens* Ait. 的干燥根, 味苦, 性寒, 具有清热利尿、燥湿杀虫的作用。蛇床子为伞形科植物蛇床 *Cnidium monnieri* L. Cuss. 的干燥成熟果实, 味辛、苦, 性温, 有散寒、祛风、燥湿、杀虫、止痒功能。两者在临床上经常配伍使用, 对病毒性疱疹、接触性皮炎、顽固性外阴瘙痒症、足癣湿疹、生殖器疱疹及各种阴道炎、阴部湿疹有很好的疗效<sup>[4~7]</sup>。本实验对苦参与蛇床子对药进行定性、定量的分析单味药煎液的成分和组成复方后成分的变化, 为进一步阐明复方物质基础和制定质量标准提供依据。

## 1 仪器与材料

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪, 配二级管阵列检测器, YCQ-300 超声波清洗器(上海凯波超声设备有限公司)。甲醇为色谱纯, 水为二次蒸馏水。

苦参、蛇床子购自西安市藻露堂药店, 经西安市药品检验所谢志民研究员鉴定分别为苦参 *S. flavesens* Ait. 干燥根和蛇床 *C. monnieri* L. Cuss. 的干燥成熟果实; 苦参碱和氧化苦参碱对照品均购自中国药品生物制品检定所。

## 2 方法与结果

## 2.1 苦参碱和氧化苦参碱的 HPLC 法测定

2.1.1 色谱条件: 色谱柱为 Phenomenex C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.02 三乙胺溶液 (35 : 65); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 35 °C。

2.1.2 对照品溶液的制备: 分别精确称定苦参碱、氧化苦参碱对照品适量, 用甲醇溶解并配成含苦参碱 0.106 mg/mL、氧化苦参碱 0.1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备: 精密称定苦参药材粉末 1 g, 加水 80 mL, 煎煮 30 min, 残渣再加水 50 mL, 煎煮 20 min, 合并两次煎煮液, 滤过, 定容至 50 mL 量瓶中, 吸取其中 5 mL 过 0.45 μm 滤膜滤过, 作为供试品溶液。

2.1.4 线性关系考察: 分别精密吸取对照品溶液 3、5、10、15、20 μL 注入色谱仪, 按以上色谱条件进样测定。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程。苦参碱:  $Y = 988\ 244 X -$

收稿日期: 2006-04-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070905, 39070965); 陕西省重点实验室基金资助

\* 通讯作者 刘建利 Tel: (029)88302411 E-mail: jlliu@nwu.edu.cn

15 450,  $r=0.9997$ , 结果表明苦参碱在进样量为 0.318~2.12  $\mu\text{g}$  与峰面积具有良好的线性关系。氧化苦参碱:  $Y=732735X-11749$ ,  $r=0.9999$ , 结果表明氧化苦参碱在 0.30~2.0  $\mu\text{g}$  与峰面积具有良好的线性关系。

2.1.5 精密度试验: 取同一供试品溶液, 重复进样 5 次, 每次 10  $\mu\text{L}$ , 测定峰面积, 结果苦参碱的 RSD 为 1.28%, 氧化苦参碱的 RSD 为 0.97%。

2.1.6 重现性试验: 精密称取苦参药材 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算质量浓度。结果苦参碱的 RSD 为 1.76%, 氧化苦参碱的 RSD 为 0.38%。

2.1.7 稳定性考察: 取苦参供试品溶液, 每隔 1 h 进样一次, 进样量 10  $\mu\text{L}$ , 进样 3 次, 在 3 h 内苦参碱峰面积的 RSD 为 1.53%, 氧化苦参碱峰面积的 RSD 为 0.98%。

2.1.8 加样回收率试验: 精密称取苦参药材 5 份, 每份 1 g, 分别精密加入 0.055 mg 苦参碱和 0.065 mg 氧化苦参碱对照品, 制备供试品溶液, 进行测定。结果苦参碱平均回收率为 97.5%, RSD 为 1.29%; 氧化苦参碱平均回收率为 98.4%, RSD 为 1.12%。

2.1.9 苦参药材中苦参碱和氧化苦参碱的测定: 精密吸取苦参药材供试品溶液 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算, 测得实验用苦参药材中苦参

碱与氧化苦参碱的质量分数分别为 0.098%、1.125%, RSD 分别为 1.9%、2.5% ( $n=3$ )。

2.2 苦参与蛇床子配伍过程中化学成分的变化

2.2.1 供试品溶液的制备: 精密称定苦参、蛇床子药材粉末各 1 g, 加水 80 mL, 煎煮 30 min, 残渣再加水 50 mL, 煎煮 20 min, 合并煎提液, 滤过, 滤液定容至 50 mL 量瓶中, 吸取其中 5 mL 溶液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜, 作为苦参与蛇床子合煎供试品溶液。

分别精密称定苦参、蛇床子药材粉末 1 g, 分别加水 50 mL, 煎煮 30 min, 残渣再加水 40 mL, 煎煮 20 min, 分别滤过后合并煎提液, 滤液定容至 50 mL 量瓶中, 吸取其中 5 mL 溶液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜, 作为苦参与蛇床子分煎后混合供试品溶液。分别取苦参、蛇床子各 1 g 同法制备单煎供试品溶液。

2.2.2 色谱图的比较: 分别精密吸取合煎供试品溶液、单煎后混合供试品溶液和蛇床子、苦参单煎液 20  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 色谱见图 1。

2.2.3 苦参碱和氧化苦参碱的变化: 根据苦参碱和氧化苦参碱的峰面积计算, 在苦参与蛇床子合煎液中氧化苦参碱由苦参单煎液中的 0.445 mg/mL 下降到 0.3089 mg/mL, 降低 30.58%; 苦参碱由苦参单煎液中 0.019 mg/mL 上升到 0.0325 mg/mL, 增加 71.05%。在苦参与蛇床子分煎后混合液中氧化苦参碱和苦参碱的量变化不明显。

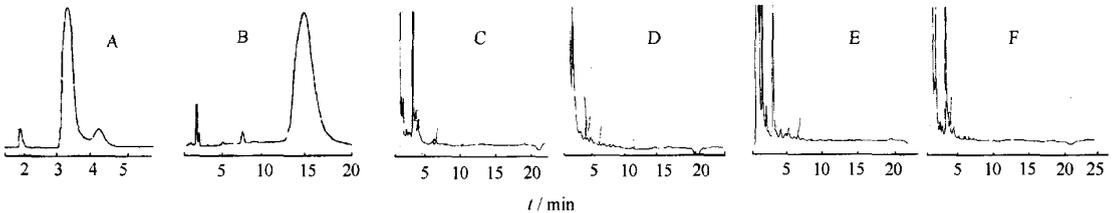


图 1 氧化苦参碱对照品(A)、苦参碱对照品(B)、苦参单煎液(C)、蛇床子单煎(D)、苦参与蛇床子合煎液(E)和苦参与蛇床子分煎后混合液(F)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of oxymatrine reference substance (A), matrine reference substance (B), single decoction of *Radix Sophorae Flavescentis* (C), single decoction of *Fructus Cnidii* (D), complex decoction of *Radix Sophorae Flavescentis* with *Fructus Cnidii* (E), and mixture of two single decoctions (F)

2.2.4 其他化学成分的变化: 对比单煎液与合煎液色谱图, 并结合紫外吸收光谱分析, 发现伴随着苦参碱和氧化苦参碱量的变化, 在苦参与蛇床子合煎液和分煎后混合液中还有一些其他化学成分的改变。

在苦参与蛇床子合煎液中  $t_R$  5.405 min (紫外吸收为 203、307、283、660 nm) 的色谱峰是新产生的, 虽然蛇床子单煎液  $t_R$  5.615 min (紫外吸收为 258、431、583 nm) 的保留时间相近但紫外吸收截然不同。合煎液中产生的峰在苦参与蛇床子单煎后混

合液中也未检出。在苦参与蛇床子合煎液和单煎后混合液中都产生了  $t_R$  5.009 min (紫外吸收为 201、478、552、574 nm) 和 4.972 min (紫外吸收为 201、479、551、570 nm) 的新色谱峰, 虽然保留时间有微小差异, 但紫外吸收相同, 所以应为同一成分。在苦参与蛇床子合煎液中  $t_R$  10.663 min (紫外吸收为 201、365、282、639 nm) 的色谱峰也是新产生的。单煎后混合液中的  $t_R$  10.262 min (紫外吸收为 204、281、675 nm) 色谱峰也应该是新生成的, 它与合煎

液中相应色谱峰的保留时间及紫外吸收有一定差别,但有可能是同一物质。

按照上述相同的方法比较保留时间及紫外吸收可发现,苦参单煎液中  $t_R$  3.754、10.032、7.501 min 的色谱峰在苦参与蛇床子合煎液中均未检出,而在苦参与蛇床子分煎后混合液中仍然存在。苦参单煎液中  $t_R$  21.932 min 峰和蛇床子单煎液中  $t_R$  23.801 min 峰在合煎液和分煎后混合液中均未检出。

### 3 讨论

3.1 实验条件的优化:以反相柱进行分析,首选甲醇-水系统,加大流动相中水的比例可使杂质峰达到基线分离。在生物碱的测定中通常加入少量的三乙胺,可减少待测峰的拖尾,改善峰形,有利于准确定量<sup>[8]</sup>。在实验中考察多种流动相的组成,最后选择甲醇-0.02 三乙胺溶液(35:65)为流动相可获得较好的峰形,且在一定时间内相对稳定。应用二极管阵列检测器考察了多波长检测条件下色谱图的变化,结合紫外光谱吸收图,确定 220 nm 作为检测波长时供试品色谱图较好,能够反映出不同样品化学成分之间的差异。

3.2 中药成分非常复杂,同一成分在不同时间测定的色谱保留时间可能会有误差,仅通过比较色谱保留时间来判别色谱峰的异同有可能产生误判,若同时使用色谱峰保留时间及相应的紫外吸收光谱则可提高判断的准确性。

3.3 氧化苦参碱是苦参中的主要生物碱类成分,具有氮氧化物结构。它的还原产物苦参碱同时也存在于苦参中。具有氮氧化物结构的化合物具有氧化作用<sup>[9]</sup>。以往的研究也发现苦参与其他中药配伍在煎煮过程中,氧化苦参碱的量减少,苦参碱的量增加<sup>[10~13]</sup>,但并未看到其他成分变化的报道。氧化苦参碱作为氧化剂参加反应,必然有还原剂被氧化,这样才能构成完整的氧化还原反应。从本研究的结果可以看出在煎煮过程中有些成分消失了、也有新成分生成,应该是发生了氧化还原反应。

3.4 由于在合煎液中同时存在氧化还原平衡和溶解平衡,氧化还原反应使氧化苦参碱的量减少,打破了溶解平衡,使其溶解度也大大增加,所以使得苦参碱的量升高 70.58%,远超出氧化苦参碱量降低的 30.58%。

3.5 通过上述研究结果可以证明以前对复方化学成分的猜想<sup>[14,15]</sup>,即复方化学成分不是各单味药的简单加和,而是发生了变化。这种变化不仅有成分量

的增减,也有化学成分种类的生成与消失。

### References:

- [1] Wang Y Q, Xu H X. Research advance on Chinese herbal com-pound chemical composition [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med* (上海中医药杂志), 2001(3): 45-49.
- [2] Ma C T, Lei Y. Progression on studies of the effective components of decoction [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2003, 9(3): 46-49.
- [3] Jing L, Wang J, Hua Z Q, et al. Advance in the compatibility and dismantlement research on traditional Chinese compound prescription [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(12): 1125-1128.
- [4] He T Y, Liu J. 87 Cases of treatment of herpes zoster with Shechuangzisan [J]. *Yunnan J Tradit Chim Med* (云南中医中药杂志), 2004, 25(5): 18.
- [5] Yu Q B, Zhang R Z. The treatment of eczema model with Dahuang, Kusheng and Shechuangzi [J]. *J Bengbu Med Coll* (蚌埠医学院学报), 2001, 26(3): 197-198.
- [6] Dong G L, Dong S Q, Dong G Q. The excellent treatment of skin disorders and STD with Shechuangzi [J]. *J Extern Ther Tradit Chin Med* (中医外治杂志), 2002, 11(4): 36.
- [7] Shi C B, Wu S M, Zhang J P. The preparations and quality control of Shechuangzi lotion [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2004, 15(1): 41.
- [8] Yang W Y, Yang N L, Wang T Y. Determination of oxymatrine and matrine in jieeryin and fuyanshuan by RP-HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1997, 22(12): 732-734.
- [9] Bjprsvik H, Gambarotti C, Jensen V, et al. A novel efficient deoxygenation process for N-heteroarene N-oxides [J]. *J Org Chem*, 2005, 70(80): 3218-3224.
- [10] Song X M, Kao Y P. Studies on transform of chemical constituents of *Radix Sophorae Flavescentis* in Jieshen wash liquid [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2000, 15(6): 257.
- [11] Li L X, Chen X, Cui J. The content variation in compatibility between *Radix Sophorae Flavescentis* and *Cnidium monnieri* L. Cuss [J]. *J Changchun Coll Tradit Chin Med* (长春中医学院学报), 2002, 18(4): 44.
- [12] Jia M G, Sun W J. Studies on transform of matrine and oxymatrine in *Radix Sophorae Flavescentis* and its prescription [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(2): 90-93.
- [13] Lu Y R, Yang Z K, Dong Y M. Studies on changes of chemical constituents of *Radix Sophorae Flavescentis* in complex formulas of traditional Chinese medicine [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21(7): 412.
- [14] Liu J L. Chemical research of effective constituents in compound prescription of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药) 1992, 14(10): 49.
- [15] Liu J L. On the ideal quality control specification of compound prescription-taking thought for the new ingredients produced in the single drugs cobining process in compound prescription [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志) 1999, 19(2): 115-116.