

不同物候期苦豆草中主要生物碱量的动态变化研究

冷晓红¹, 马 玲², 王俊卿³, 王英华²

1. 宁夏职业技术学院, 宁夏 银川 750021
2. 宁夏回族自治区药品检验所, 宁夏 银川 750001
3. 宁夏回族自治区中医研究院, 宁夏 银川 750004

摘 要: **目的** 研究苦豆草中各生物碱的量随物候期的变化规律, 确定苦豆草的合理采收期。**方法** 采用HPLC法对不同物候期苦豆草中主要生物碱的量进行系统分析。色谱条件为色谱柱X-Brige C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈(A)-0.05 mol/L磷酸二氢钾(B)为流动相, 梯度洗脱, 0~10 min, 94% B; 10~50 min, 87% B; 50~55 min, 94% B。检测波长 205 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL, 柱温 25 ℃。**结果** 苦豆草中不同生物碱的量随物候期呈现不同规律的变化, 其中氧化槐果碱、槐胺碱量从 5 月至 7 月递减; 槐定碱、氧化苦参碱量从 5 月至 7 月递增; 而苦参碱、槐果碱、莱曼碱的量随物候期的变化不明显。**结论** 可根据苦豆草中各生物碱量随物候期的动态变化规律为工业化生产不同生物碱而确定苦豆草的合理采收期。

关键词: 苦豆草; 生物碱; 物候期; 采收期; 动态变化; 高效液相色谱法

中图分类号: R282.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)10-2110-04

Dynamic changes of alkaloid content in aerial part of *Sophora alopecuroides* at different phenological phases

LENG Xiao-hong¹, MA Ling², WANG Jun-qing³, WANG Ying-hua²

1. Ningxia Vocational and Technical College, Yinchuan 750021, China
2. Ningxia Institute of Drug Control, Yinchuan 750001, China
3. Ningxia Academy of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750004, China

Abstract: Objective To study the dynamic changes of alkaloids content of *Sophora alopecuroides* with the variation of phenological phases and to define a reasonable harvest. **Methods** The content of main alkaloids from the different phenological phases were analysed by HPLC. Chromatographic column: X-Brige C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); Mobile phase: acetonitrile (A) and 0.05 mol/L phosphoric acid solution (B), gradient elution: (0—10 min, 94% B; 10—50 min, 87% B; 50—55 min, 94% B); Flow rate: 1.0 mL/min; Wavelength: 205 nm; The column temperature: 25 ℃. **Results** The content of different alkaloids show different variations with changes in phenological phases, which the contents of oxysophocarpine decreased from May to July; sophoridine, oxymatrine, and sophoramine increased from May to July; matrine, sophocarpine and lehmannine with the phenological phases did not change significantly. **Conclusion** The results provide a basis for the appropriate harvest stage for the different alkaloids in industrial production.

Key words: *Sophora alopecuroides* L.; alkaloids; phenological phases; harvest stage; dynamic changes; HPLC

苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 为豆科槐属植物, 其药用部位为花期的干燥地上部分, 称为“苦豆草”。苦豆草中含有 20 余种生物碱^[1], 以苦豆草为原料提取苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱等成分, 制成了苦参素胶囊、妇炎栓等制剂, 形成了苦豆子生物碱系列产品的工业化生产。

植物体内生物碱的组成和量的变化受多种因素的影响, 如产地、物候期、土壤等。苦豆草作为重要的中药资源, 有关其不同物候期生物碱组成和量变化的研究尚未见报道。目前关于苦豆草单体生物碱的报道较多^[2-10], 但采用HPLC法同时测定 7 种生物碱的方法未见报道。

收稿日期: 2011-01-13

基金项目: 宁夏“十一五”科技攻关项目(宁科计字(2006)74 号)

作者简介: 冷晓红, 女, 宁夏职业技术学院教授, 长期从事药用植物的教学与科研工作, 获国家科技进步二等奖 1 项、省科技进步一等奖 1 项。

Tel: (0951)5049263

本实验通过采用高效液相色谱法同时测定苦豆草中主要的 7 种生物碱量, 确定了苦豆草中主要生物碱量在不同物候期(5~7 月)的变化规律, 以期为有效地利用苦豆子资源, 降低生产成本提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

苦参碱(批号 110805-200306)、氧化苦参碱(批号 0780-200004)、氧化槐果碱(批号 111652-200301)、槐定碱(批号 110784-200303)均购于中国药品生物制品检定所; 槐果碱(质量分数为 99.5%)、莱曼碱(质量分数为 99.5%)和槐胺碱(质量分数为 99.5%)由宁夏紫荆花药业公司提供。乙腈、磷酸二氢钾为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。苦豆草药材采于宁夏盐池县, 经宁夏药品检验所邢世瑞主任药师鉴定为苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 的地上部分, 即“苦豆草”。采集阴干后, 粉碎过 40 目筛, 备用。

1.2 仪器

高效液相色谱仪为 Agilent 1100 系列, 包括 Agilent 1100 色谱工作站, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, GB15B 二极管阵列检测器, G1311A 四元泵, G1379A 脱气机(美国 Agilent 公司)。

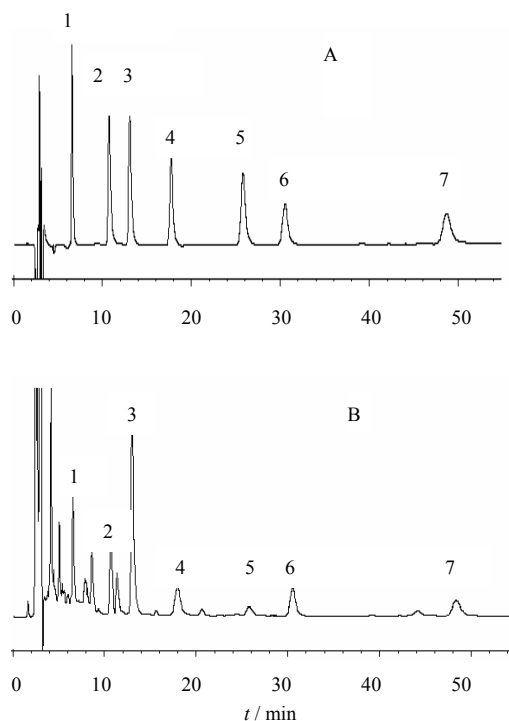
2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 X-Brige C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈(A)-0.05 mol/L 磷酸二氢钾(B)为流动相, 梯度洗脱: 0~10 min, 94% B; 10~50 min, 87% B; 50~55 min, 94% B。检测波长 205 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL, 柱温 25 ℃。理论塔板数按槐定碱计不低于 8 000。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取槐定碱对照品 9.51 mg、氧化苦参碱对照品 10.46 mg、氧化槐果碱对照品 9.95 mg、苦参碱对照品 13.01 mg、槐果碱对照品 11.33 mg、莱曼碱对照品 10.19 mg、槐胺碱对照品 13.49 mg 分别置 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成对照品溶液。精密量取槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱对照品溶液各 3 mL, 苦参碱、槐果碱、莱曼碱对照品溶液各 0.2 mL, 槐胺碱对照品溶液 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 得混合对照品溶液。



1-槐定碱 2-氧化苦参碱 3-氧化槐果碱 4-苦参碱 5-槐果碱
6-莱曼碱 7-槐胺碱
1-sophoridine 2-oxymatrine 3-oxysophocarpine 4-matrine
5-sophocarpine 6-lehmannine 7-sophoramine

图 1 对照品(A)与苦豆草样品(B)的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and samples in aerial part of *S. alopecuroides* (B)

2.3 供试品溶液的制备

精密称取苦豆草细粉约 0.5 g, 置锥形瓶中, 加 10% 氢氧化钠溶液 0.5 mL, 浸润 12 h, 加入甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 40 min, 放置至室温, 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2”项下的混合对照品溶液 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、10.0 mL 至 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀。按上述色谱条件进行测定, 以质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 见表 1。

2.5 精密度的试验

精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测定, 所得槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、莱曼碱和槐胺碱峰面积的 RSD 分别为 0.9%、0.8%、0.7%、1.2%、1.3%、0.7%、0.3%。

2.6 稳定性试验

精密吸取供试品(2006 年 6 月)溶液, 按上述

表 1 线性关系考察
Table 1 Results of linear

对照品	回归方程	<i>r</i>	线性范围
槐定碱	$Y=41.778X-93.592$	0.999 7	0.228~1.141 μg
氧化苦参碱	$Y=40.354X-265.525$	0.999 1	0.251~1.225 μg
氧化槐果碱	$Y=43.251X-119.271$	0.999 2	0.259~1.194 μg
苦参碱	$Y=47.813X-73.371$	0.999 3	0.021~0.100 μg
槐果碱	$Y=53.540X-97.413$	0.999 5	0.018~0.091 μg
莱曼碱	$Y=27.203X-110.721$	0.999 1	0.016~0.081 μg
槐胺碱	$Y=39.802X-123.167$	0.999 7	0.108~0.539 μg

色谱条件进样测定, 分别于 0、4、8、12、16、20 h 进样, 槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、莱曼碱和槐胺碱峰面积的 RSD 分别为 1.4%、1.0%、0.9%、0.5%、0.4%、0.6%、0.3%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重现性试验

分别取同一批供试品(2006 年 6 月)6 份各约 0.5 g, 按“2.3”项下的方法制备供试品溶液, 测定, 结果槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、莱曼碱和槐胺碱质量分数的 RSD 值分别为 1.4%、0.6%、1.6%、1.3%、1.9%、1.6%、2.0%。

2.8 加样回收率试验

精密称取苦豆草(2006 年 6 月)细粉 0.25 g 共 9 份, 置具塞锥形瓶中, 加 10%氢氧化钠溶液 0.5 mL 浸润 12 h 后, 3 份为 1 组, 每组分别精密加入混合对照品溶液 0.2、0.5、0.8 mL 及甲醇至 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 40 min, 放置至室温, 甲

醇补足减失的质量, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 即得加样回收样品液。按上述色谱条件测定, 计算回收率, 槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、莱曼碱和槐胺碱的平均回收率分别为 96.8%、97.4%、93.6%、100.1%、99.8%、96.2%、101.1%; RSD 分别为 2.2%、1.8%、2.7%、3.2%、2.9%、1.4%、2.2%。

2.9 样品测定

精密称取不同物候期的苦豆草样品, 按上述方法测定, 得到宁夏产不同物候期的苦豆草中 7 种生物碱量的动态变化情况, 结果见表 2。

测定结果显示, 苦豆草主要生物碱氧化槐果碱(0.22%~0.51%)、氧化苦参碱(0.27%~0.51%)、槐定碱(0.18%~0.40%)的量较高, 而苦参碱(0.02%~0.06%)、槐果碱(0.01%~0.03%)、莱曼碱(0.02%~0.04%)、槐胺碱(0.04%~0.10%)的量较低。其中氧化槐果碱、槐胺碱量从 5 月至 7 月递减; 槐定碱、氧化苦参碱量从 5 月至 7 月递增; 而苦参碱、槐果碱、莱曼碱的量随物候期的变化不明显。

3 讨论

7 种生物碱在 205~207 nm 均有最大吸收波长, 故选择其为测定波长。

在试验中比较了不同流动相体系和不同梯度比例的流动相, 结果确定了本实验的流动相体系, 7 种成分与其他成分可以得到较好的分离。

从苦豆草中提取的苦参碱、氧化苦参碱、槐果

表 2 不同物候期苦豆草样品测定结果 ($n=3$)

Table 2 Determination of alkaloids in aerial part of *S. alopecuroides* at different phenological phases ($n=3$)

不同物候期	槐定碱/%	氧化苦参碱/%	氧化槐果碱/%	苦参碱/%	槐果碱/%	莱曼碱/%	槐胺碱/%
2006-05	0.18	0.35	0.51	0.02	0.02	0.02	0.10
2006-06	0.25	0.42	0.33	0.02	0.02	0.02	0.08
2006-07	0.40	0.51	0.29	0.05	0.03	0.02	0.06
2007-05	0.18	0.27	0.51	0.02	0.01	0.03	0.06
2007-06	0.25	0.31	0.32	0.02	0.02	0.04	0.05
2007-07	0.28	0.39	0.29	0.04	0.02	0.03	0.04
2008-05	0.23	0.32	0.48	0.03	0.02	0.03	0.10
2008-06	0.34	0.44	0.35	0.05	0.02	0.02	0.07
2008-07	0.38	0.48	0.22	0.06	0.03	0.02	0.05
3 年平均(5 月)	0.20	0.31	0.50	0.02	0.02	0.03	0.09
3 年平均(6 月)	0.28	0.39	0.33	0.03	0.02	0.03	0.07
3 年平均(7 月)	0.35	0.46	0.27	0.05	0.03	0.02	0.05

碱、槐定碱等国内已形成产业化,其相应的制剂已应用于临床^[11-12]。但有关其不同物候期生物碱组成和量变化的研究尚未见报道。本研究结果表明,不同生物碱的量在不同的物候期变化规律不同,因此可根据不同的生产目的决定植物原料采收季节。本研究结果为开发苦豆子系列生物碱提供了合理依据,对规范化种植、合理采收有重要意义。

参考文献

- [1] 邢世瑞. 宁夏中药志 [M]. 第 2 版. 银川: 宁夏人民出版社, 2005.
- [2] 高剑峰. 苦豆子生物碱的成份分析及提取工艺的研究 [J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 1997, 1(2): 109-111.
- [3] 秦学功, 元英进. 高效薄层色谱分离苦豆子生物碱的体系优化 [J]. 中草药, 2002, 33(6): 513.
- [4] 张建华, 乌云, 侯建华, 等. 苦豆子中生物碱含量测定方法新探 [J]. 中草药, 1997, 28(8): 465-467.
- [5] 杨文远, 杨宁莲, 王天勇. HPLC 法同时测定苦豆子中苦参碱与氧化苦参碱 [J]. 宁夏大学学报, 1996, 17(4): 13-15.
- [6] 宋玉琴, 魏玉辉, 武新安. RP-HPLC 法测定苦豆子总碱注射液中槐定碱、苦参碱和槐果碱的含量 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2007, 33(4): 24-26.
- [7] 王淑君, 陈丰, 姚崇舜. 苦豆子中生物碱的药物动力学研究 [J]. 中草药, 2000, 31(5): 附 1-附 2.
- [8] 乔华, 王婷, 梁莉, 等. 苦豆子总碱注射液中苦参碱和槐果碱的含量测定 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2007, 33(3): 59-61.
- [9] 李莉, 张文学, 张顺利. 苦豆子生物碱的免疫调节作用及其作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(4): 附 7-附 8.
- [10] 宋玉琴, 魏玉辉, 刘文静, 等. HPLC 法同时测定苦豆子乳膏中槐定碱、苦参碱和槐果碱的含量 [J]. 中国药房, 2008, 19(24): 1878-1879.
- [11] 李艳艳, 冯俊涛, 张兴, 等. 苦豆子化学成份及其生物活性研究进展 [J]. 西北农业学报, 2005, 14(2): 133-136.
- [12] 张清云, 张国荣, 尹长安, 等. 宁夏苦豆子药用植物资源保护与开发 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2006, 8(1): 104.

中草药杂志社 售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于 2009 年 8 月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines*、《现代药物与临床》(2009 年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009 年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿, 欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本: 1974—1975 年、1976 年、1979 年、1988—1993 年 (80 元/年), 1996、1997 年 (110 元/年), 1998 年 (120 元/年), 1999 年 (135 元/年), 2000 年 (180 元/年), 2001—2003 年 (200 元/年), 2004 年 (220 元/年), 2005 年 (260 元/年), 2006—2008 年 (280 元/年), 2009 年 (400 元/年)。

《中草药》增刊: 1996 年 (50 元), 1997 年 (45 元), 1998 年 (55 元), 1999 年 (70 元), 2000、2001 年 (70 元), 2002—2007 年 (65 元/年), 2008、2009 年 (55 元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者, 购买增刊 7 折优惠, 款到寄刊。

Chinese Herbal Medicines 合订本: 2010 年 (120 元/年)

《现代药物与临床》合订本: 2009 年 (100 元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本: 1996—2008 年 (80 元/年), 2006—2008 年 (90 元/年)。

《药物评价研究》2009 年单行本, 每册 15 元。

《中文科技资料目录·中草药》: 1993—2006 年合订本 (全套 2040 元), 2007—2008 年单行本, 每册定价 30 元, 全年订价 210 元 (6 期十年索引)。

天津中草药杂志社

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

邮编: 300193

电话: (022) 27474913 23006821

传真: (022) 23006821

电子信箱: zcy@tiprpress.com

网址: www.中草药杂志社.中国

www.tiprpress.com

开户银行: 兴业银行天津南开支行

账号: 44114010010081504

户名: 天津中草药杂志