

宁夏道地药材苦豆子的不同药用部位中生物碱成分和含量的测定分析

陈海燕¹, 郭鸿雁¹, 冷晓红²

(1. 宁夏职业技术学院 生物与制药技术系, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏中药材开发与利用工程技术研究中心, 宁夏 银川 750021)

摘要:为分析研究宁夏苦豆籽、苦豆草 2 个药用部位的生物碱成分及各成分含量, 采用 HPLC 法分析测定了苦豆籽、苦豆草中槐定碱、苦参碱、氧化苦参碱、槐果碱、氧化槐果碱、苦豆碱 6 种生物碱成分及含量的变化, 以期综合开发利用苦豆子这一具有地域性特色的药用植物提供参考。结果表明: 槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的含量在苦豆子药材不同药用部位中存在明显差异; 其质量浓度和峰面积在线性范围内, 呈良好的线性关系 ($R \geq 0.999$), 加样平均回收率分别为 97.6%、98.2%、99.5%、96.4%、100.2%, RSD 分别为 2.7%、1.9%、3.8%、0.91%、2.2%。

关键词:苦豆子; 生物碱含量; 测定分析

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)17-0165-03

苦豆子 (*Sophora alopecuroides* L.) 属豆科 (Leguminosae) 槐属植物, 别名苦豆根、苦豆草、苦甘草等, 全株性寒, 味极苦, 有毒。为宁夏道地的沙生植物, 具有药用及生态双重价值, 资源极其丰富, 宁夏回族自治区已将苦豆子列入重点保护的六大道地药材之一, 纳入国家中药现代化科技产业行动计划中。苦豆子中含 20 多种生物碱^[1], 已有研究表明, 苦豆子生物碱具有清热解毒、抗菌消炎、止痛杀虫、痛经活血、提高机体免疫功能等作用^[2]。苦豆子药用部分主要是地上干燥全草和成熟的种子, 虽然根及根茎也具有清热解毒、消肿止痛作用, 但考虑到地下根茎庞大、耐盐、具有防风固沙、

防止水土流失、保护土壤的生态作用, 因此不建议供药。通常将地上干燥全草称为“苦豆草”, 成熟的种子称为“苦豆籽”。宁夏从 20 世纪 70 年代起, 就开展了对苦豆子植物的开发利用, 以苦豆籽和苦豆草为原料提取苦豆子总碱及苦参碱、氧化苦参碱等, 制成苦参素、妇炎栓、克泻灵片等各种制剂, 先后载入《中国药典》1977 年版、《卫生部部颁标准》、《宁夏中药材标准 1993 年版》^[2]。已形成了以生态环境保护、特色产品开发及区域经济发展的苦豆子植物产业链。

由于国内对其原药材从源头上并未进行相应的研究, 目前苦豆子药材尚无国家质量标准, 而其苦豆籽、苦豆草中含有的生物碱成分和含量又有一定的差异, 作为提取苦参碱、氧化苦参碱等单体生物碱原料的生产厂家或从苦豆籽或从苦豆草中, 甚至从苦豆籽苦豆草的混合体中进行提取生产, 造成了产品质量的参差不齐, 其制

第一作者简介:陈海燕(1966-), 女, 本科, 副教授, 现主要从事药用植物的分析等研究工作。E-mail: chenhy66666@163.com.

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2011BAI05B04)。

收稿日期:2013-04-08

Abstract: Taking *Magnolia officinalis* plantation in Ankang city as the research object, based on quantity indexes (tree height, DBH, timber volume) in combination with quality indexes (honokiol class content), the plus tree selection technology was studied using five-dominant-trees method. The results showed that the tree height, DBH, timber volume of candidate plus tree were respectively 1%, 8%, 20% greater than that of comparison trees. 15 of 36 candidate trees were selected according to this criterion and the original selection ratio was 41.7%; 4 of 36 candidate trees were selected according to this criterion and the multiple selection ratio was 12.5%. Therefore, the plus tree selection of *M. officinalis* in this area had theoretical significance for standardizing its cultivation technique, particularly for the promotion of its scale development and increasing household income.

Key words: *Magnolia officinalis*; plantation; plus tree selection; HPLC

剂的质量也受到了影响,严重制约着苦豆子产业的现代化发展。因此,为了分析研究宁夏苦豆籽、苦豆草 2 个药用部位的生物碱成分及各成分含量,现采用 HPLC 法分析确定苦豆籽、苦豆草中槐定碱、苦参碱、氧化苦参碱、槐果碱、氧化槐果碱、苦豆碱 6 种生物碱成分及含量的变化^[3-5],为综合开发利用苦豆子这一具有地域性特色的药用植物提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试苦豆籽和苦豆草购于宁夏盐池,粉碎后过 40 目筛,备用。日立 L-2000 高效液相色谱仪, L-2130 泵, L-2400 紫外检测器; FW135 型中药材粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); EL-204 型电子分析天平, (Mettler Toledo 设备上海有限公司)。乙腈、甲醇为色谱纯, 磷酸二氢钾、浓氨水为分析纯, 色谱用水为超纯水。苦参碱(批号 110805-200508)、氧化苦参碱(批号 110780-201007)、氧化槐果碱(批号 111652-200301)、槐定碱(批号 110784-200303), 均购自中国药品生物制品检定所; 槐果碱(质量分数大于 98%)和苦豆碱(质量分数大于 95%)购于宁夏紫荆花药业有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱: Wondasil C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(三乙胺 2.0 mL/L), 10 : 90; 检测波长: 205 nm; 流速: 1.0 mL/min; 进样量 20 μL, 柱温 30℃。在该色谱条件下, 各生物碱之间均能实现基线分离。色谱图见图 1~3。

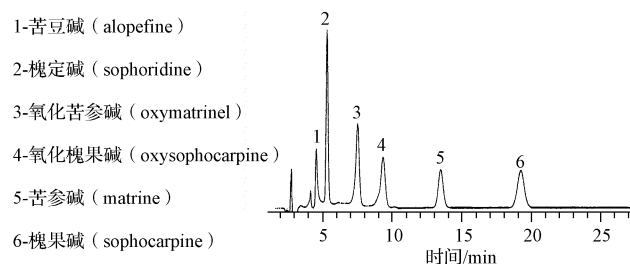


图 1 混合对照品 HPLC 色谱图

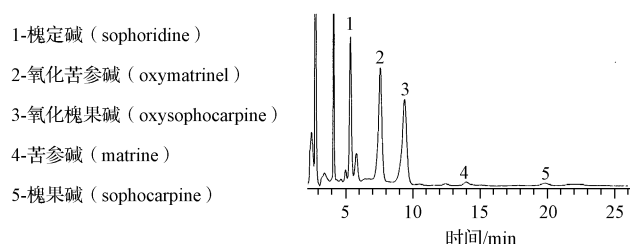


图 2 宁夏苦豆籽 HPLC 色谱图

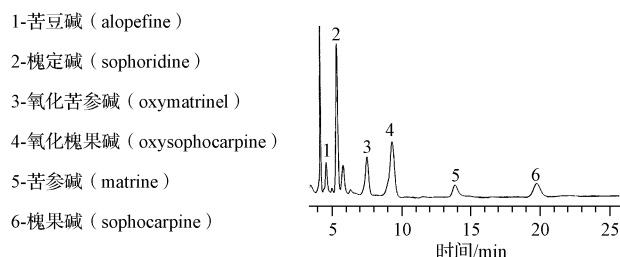


图 3 宁夏苦豆草 HPLC 色谱图

1.2.2 对照品溶液的制备 精密称取槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、苦豆碱对照品各适量, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 得质量浓度约为 1.0 mg/mL 的对照品溶液, 备用。

1.2.3 供试品溶液的制备 取宁夏产苦豆籽、苦豆草细粉各约 0.50 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇(分析纯)50 mL, 浓氨水 1.0 mL, 称定重量, 放置室温浸润 12 h 后, 超声处理 30 min(功率 250 W, 频率 33 kHz), 冷却至室温, 称定重量, 加甲醇补足减失的重量, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 滤膜, 即得苦豆籽、苦豆草供试品溶液。

1.2.4 线性关系考察 分别精确量取 1.2.2 项下对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制得系列混合对照品溶液, 按 1.2.1 色谱条件进样测定, 以混合对照品溶液质量浓度为横坐标(C), 色谱峰面积为纵坐标(Y), 得线性回归方程, 见表 1。结果表明 6 种生物碱的线性关系良好。

表 1 线性回归方程

化合物	回归方程	r	线性范围/mg · L ⁻¹
槐定碱	$Y=44\ 863C-3\ 451.2$	0.9997	11.3~169.2
氧化苦参碱	$Y=44\ 073C-36\ 608$	0.9998	10.0~153.0
氧化槐果碱	$Y=38\ 413C+18\ 099$	0.9999	10.4~156.6
苦参碱	$Y=48\ 572C+108\ 100$	0.9993	10.5~157.2
槐果碱	$Y=48\ 065C+37\ 045$	0.9996	10.8~162.0
苦豆碱	$Y=40\ 384C+17\ 590$	0.9998	13.0~195.0

1.2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 20 μL, 连续进样 6 次, 测定对照品色谱峰面积, 所得槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、苦豆碱峰面积的 RSD 分别为 0.77%、0.69%、1.02%、0.79%、0.92%、0.83%, 表明仪器的精密度良好。

1.2.6 重复性试验 取同一批苦豆籽细粉, 按 1.2.3 项下的方法平行制备供试品溶液 6 份, 测定各生物碱含量, 得槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的 RSD 分别为 1.51%、1.40%、0.89%、1.65%、1.46%。

1.2.7 稳定性试验 取苦豆籽供试品溶液 1 份, 按上述色谱条件分别于 0、4、8、12、16、24 h 进样测定, 得槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱峰面积的 RSD

分别为 1.16%、0.81%、0.72%、1.84%、1.77%，表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

1.2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的苦豆籽粉末 6 份，每份约 0.25 g 置具塞锥形瓶中，加甲醇 50 mL、浓氨水 1.0 mL 浸润，并在每份样品中分别精密加入槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱对照品溶液适量，密塞，称定重量，放置室温浸润 12 h 后。超声处理 30 min，冷却至室温，加甲醇补足减失的重量，摇匀，过滤取续滤液，过 0.45 μm 滤膜，即得加样回收样品液。按上述色谱条件进样测定，计算各生物碱回收率，得槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的平均回收率分别为 97.6%、98.2%、99.5%、96.4%、100.2%，RSD 分别为 2.7%、1.9%、3.8%、0.91%、2.2%。

1.3 项目测定

精密称取苦豆籽、苦豆草细粉样品各 6 份，按 1.2.3 项下配制供试品溶液并进行生物碱各成分含量测定。

2 结果与分析

由表 2 可知，苦豆草器官中均含有氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐定碱、槐果碱和苦豆碱 6 种生物碱，而苦豆籽器官中只含有 5 种生物碱，未见苦豆碱。表明苦豆子药材不同药用部位生物碱成分不完全相同。经高效液相色谱仪检测的数据表明，苦豆子总生物碱含量在籽中的含量(5.06%)>全草中的含量(2.13%)，槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱在籽中的含量(1.12%、1.98%、1.84%)>全草中的含量(0.54%、0.34%、0.65%)；苦参碱、槐果碱在籽中的含量(0.051%、

0.068%)<全草中的含量(0.170%、0.150%)；苦豆碱在全草中的含量(0.28%)>籽中的含量(未检出)。说明苦豆子不同药用部位其生物碱含量有着明显的差别。

表 2 宁夏苦豆子药材
不同药用部位生物碱成分及含量(n=6)

药用部位	生物碱含量/%					
	槐定碱	氧化苦参碱	氧化槐果碱	苦参碱	槐果碱	苦豆碱
苦豆籽	1.12	1.98	1.84	0.051	0.068	未检出
苦豆草	0.54	0.34	0.65	0.170	0.150	0.28

3 结论与讨论

该试验结果表明，苦豆子药材中不同药用部位所含生物碱成分及各成分含量不完全一致。今后在以苦豆子为原料提取单体生物碱时，有必要根据生产的实际需要，采用苦豆子不同药用部位，提高苦豆子生物碱提取率。选用苦豆籽为原料时，可有效增加槐定碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱的提取率；而选用苦豆草作为原料时，可增加苦参碱、槐果碱的提取率，从而更加充分合理的发挥苦豆子药用价值。

参考文献

- [1] 杨家新,喻志芳. 苦豆子的研究进展[J]. 天津药学, 1998, 10(1): 43-45.
- [2] 邢世瑞. 宁夏中药志上卷[M]. 2 版. 宁夏人民出版社, 2006: 130.
- [3] 李凯,王银兰,朱会秦. HPLC 法测定苦豆子总碱中 3 种生物碱的含量[J]. 西北药学杂志, 2004, 4(2): 53-54.
- [4] 马玲,王俊卿,田杰,等. HPLC 同时测定苦豆草中 7 种生物碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2011, 6(11): 1483-1486.
- [5] 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.

Determination and Analysis of Alkaloids and Its Content in Different Medicinal Parts of *Sophora alopecuroides* L from Ningxia

CHEN Hai-yan¹, GUO Hong-yan¹, LENG Xiao-hong²

(1. Department of Biotechnology and Pharmaceutical Technology, Ningxia Vocational and Technology College, Yinchuan, Ningxia 750021;
2. Ningxia Traditional Chinese Medicine Development and Utilization of Engineering Technology Research Center, Yinchuan, Ningxia 750021)

Abstract: In order to analysis the alkaloids kinds and their contents in *Sophora alopecuroides* L and its ground dry section, the composition and contents changes of sophoridine, matrine, oxymatrine, sophocarpine, oxysophocarpine, aloperine in them were determined by HPLC, in order to provide a reference for the development and utilization of *Sophora alopecuroides* L which is a medicinal plant with regional characteristics. The results showed that the contents of sophoridine, matrine, oxymatrine, sophocarpine and oxysophocarpine had significant difference in different medicinal parts of *Sophora alopecuroides* L. Its mass concentration and peak area showed a good linear relationship ($R \geq 0.999$) within the linear range, and the average recovery was 97.6%, 98.2%, 99.5%, 96.4%, 100.2%, RSD were 2.7%, 1.9%, 3.8%, 0.91%, 2.2%.

Key words: *Sophora alopecuroides* L; alkaloids content; determination and analysis