

实验研究 EXPERIMENTAL STUDY

HPLC 法测定不同产地苦参饮片中苦参碱和氧化苦参碱的含量*

 李丰 胡春月 石延榜 吴迪 李圆圆 祝侠丽[※]

(河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046)

摘要:目的 测定 3 种不同产地苦参饮片中苦参碱与氧化苦参碱的含量,为评价不同产地苦参饮片的质量奠定理论基础。方法 收集甘肃、四川、内蒙古 3 个产地的苦参饮片,采用 HPLC 法测定其中苦参碱与氧化苦参碱的含量,并进行对比分析。HPLC 色谱条件如下:色谱柱为 Shimadzu 氨基键合硅胶柱(4.6×250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-3%磷酸溶液-无水乙醇(体积比 80:10:10),流速 1.0 mL/min,检测波长 220 nm,柱温 30℃。结果 甘肃、四川、内蒙古三个产地苦参饮片中苦参总碱的含量分别为 1.41%、1.45%、1.21%,均高于 1.0%,符合 2015 年版《中华人民共和国药典》的规定。不同样品中苦参碱的含量远低于氧化苦参碱的含量,且两者所占比例差异较大。甘肃、四川、内蒙古三个产地苦参饮片中苦参碱和氧化苦参碱的比例分别为 1:39、1:30、1:23,表明苦参碱和氧化苦参碱的含量最高苦参饮片的产地分别为内蒙古和甘肃。结论 甘肃、四川、内蒙古 3 个产地苦参饮片的苦参总碱均符合《中华人民共和国药典》的规定,但苦参碱和氧化苦参碱两种成分所占比例具有一定差异,有待进一步深入研究。

关键词:苦参饮片;产地;苦参碱;氧化苦参碱;高效液相色谱法;含量测定

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2020.02.043

文章编号:1672-2779(2020)-02-0102-03

The Content Determination of Matrine and Oxidation in Sophora Flavescens Pieces from Different Habitats by HPLC

LI Feng, HU Chunyue, SHI Yanbang, WU Di, LI Yuanyuan, ZHU Xiali*

Pharmacy Colloge, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Henan Province, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To establish the HPLC method for determination of matrine and oxymatrine in Sophora flavescens Pieces from different habitats, and to lay the theoretical foundation for the assessment of the quality of sophora faescens pieces from different origins. **Methods** Three kinds NH2 produced in Gansu, Sichuan and Neimenggu provinces were collected. Chromatography was performed on a 5 μm Shimadzu Spherisorb NH2 (4.6 mm×250 mm) at 30°C. The mobile phase was composed of acetonitrile-3% phosphorous acid solution-ethanol (80:10:10) with a flow rate of 1.0 mL/min. The detective wave is 220 nm. **Results** The banlangen content percentage in sophora faescens pieces from Gansu, Sichuan and Neimeng were 1.41 %, 1.45 % and 1.21 %, respectively. Which were all higher than 1.0 % and met the requirement of 2015 edition of Chinese Pharmacopoeia. But there were obvious difference between the content ratio of matrine and oxidation from different samples. And the content ratio of matrine and oxidation in sophora faescens pieces from Gansu, Sichuan and Neimenggu were 1:39, 1:30 and 1:23, respectively. Which showed the habitats of sophora faescens pieces contained highest content of matrine and oxymatrine were Neimenggu and Gansu, respectively. **Conclusion** The banlangen content percentage in sophora faescens pieces from Gansu, Sichuan and Neimeng were all met the requirement of 2015 edition of Chinese Pharmacopoeia. But the contents proportion of matrine and oxymatrine in sophora faescens pieces from different regions are very distinct, and the reasons need further research.

Keywords: Sophora flavescens pieces; habitats; matrine; oxymatrine; HPLC; content determination

苦参 (*Sophora flavescens* Ait.) 又名山槐、牛参、好汉枝,为豆科植物苦参的干燥根^[1-2]苦参性寒,味苦,具有清热、燥湿、杀虫、利尿之功效,现代研究结果显示苦参的主要成分为苦参碱和氧化苦参碱,还具有抗心率失常、抗肿瘤、抗过敏等作用。经切片后晒干为苦参饮

片的常用炮制方法^[3],苦参饮片是保证制剂质量的重要环节之一^[4]。

苦参在我国各地皆有分布,其中以山西、河南、湖北、河北为其主要产区。中药的质量同时受到人文环境与生态环境的影响,其中起主导作用的是生态环境^[5]。本课题选取我国境内地域环境差别较大的三个产地,即甘肃、四川、内蒙古产苦参饮片为研究对象,采用 HPLC 法测定其中苦参碱和氧化苦参碱的含量,通过比较分析初步探讨产地对苦参饮片质量的影响。

* 基金项目:河南省高等学校青年骨干教师培养项目[No. 2016 GGJS-081];河南中医药大学大学生创新训练项目[No. 201910471017]

※通讯作者:zhuxiali1980@126.com

1 仪器与材料

1.1 仪器 BSA124S型千分之一天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司); Waters e2695型高效液相色谱仪(美国沃特世公司); 6202型超微粉碎机(台湾弘荃机械企业有限公司); UPD-II-107型超纯水机(成都超纯科技有限公司); DHG-9240A型鼓风干燥箱(上海天呈实验仪器制造有限公司); 5.0 g中性氧化铝固相萃取柱(北京朋利驰科技有限公司)。

1.2 材料 甘肃产苦参饮片(安徽亳州谯郡人家中药饮片公司,批号20190104); 四川产苦参饮片(安市市御颜坊中药材有限公司,批号20181001); 内蒙古产苦参饮片(安市市瑞琪中药材有限公司,批号20181118); 苦参碱对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号wkq18042304); 氧化苦参碱对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号wkq19010909); 浓氨试液(烟台市双双化工有限公司,批号20180501); 磷酸(郑州派尼化学试剂厂,批号20180920); 三氯甲烷、甲醇、乙腈、无水乙醇、超纯水均为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 样品溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备^[6] 精密称取苦参碱对照品、氧化苦参碱对照品5 mg,加无水乙醇-乙腈(体积比=20:80)溶解,分别制成0.05 mg/mL的苦参碱对照品溶液和,0.15 mg/mL的氧化苦参碱对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取苦参粉末(过六号筛)0.3 g,置于100 mL具塞锥形瓶中,加入氨水0.5 mL,三氯甲烷20 mL,塞紧瓶塞并称定重量。于功率250 W,频率33 kHz下超声处理30 min,放冷,再称定重量,用三氯甲烷试液补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液5 mL,通过中性氧化铝固相萃取小柱,依次用三氯甲烷20 mL、甲醇6 mL与三氯甲烷14 mL的均匀混合溶液洗脱,收集所有的洗脱液,回收洗脱液至干,残渣加适量无水乙醇溶解,并将其转移到10 mL容量瓶中,加无水乙醇定容,摇匀后即得供试品溶液。

2.1.2 阴性对照品溶液的制备 取无水乙醇溶液,经0.22 μm微孔滤膜作为阴性对照溶液。

2.2 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱: Shimadzu氨基键合硅胶色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-3%磷酸溶液-无水乙醇(80:10:10); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 220 nm^[10,13]。苦参碱和氧化苦参碱的色谱峰与相邻峰的分离度大于1.5,理论塔板数按氧化苦参碱计算应不低于2000。阴性样品对苦参碱和氧化苦参碱的测定无干扰^[7],结果见图1。

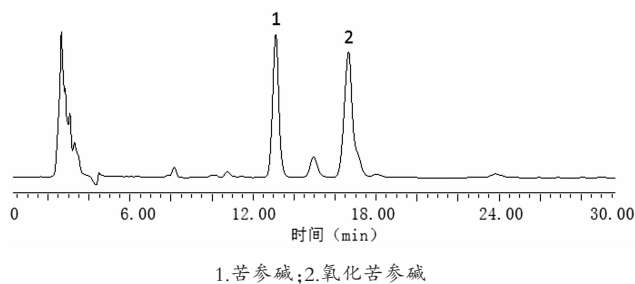


图1 供试品溶液 HPLC 色谱图

由图1可知,供试品溶液中苦参碱的保留时间为10.09 min,与苦参碱对照品溶液一致;氧化苦参碱的保留时间为16.83 min,与氧化苦参碱对照品溶液一致。阴性对照样品与溶剂对测定无干扰。

2.3 方法学考察

2.3.1 标准曲线的绘制 分别取“2.1.1”项下苦参碱和氧化苦参碱对照品溶液,按照“2.2”项下色谱条件进行测定,进样体积为2、4、6、8、10、12、14 μL,以峰面积对进样量进行线性回归,得苦参碱的线性回归方程为 $y=894580x-11711$ ($R^2=0.9998$);氧化苦参碱的线性回归方程为 $y=767403x-43565$ ($R^2=0.9999$)。表明苦参碱在0.1~0.7 μg、氧化苦参碱在0.3~2.1 μg范围内线性关系良好^[8]。

2.3.2 精密度试验 取“2.1.1”项下苦参碱和氧化苦参碱对照品溶液,按照“2.2”项下色谱条件进行测定,重复进样6次,每次进样10 μL,计算苦参碱和氧化苦参碱峰面积的RSD值分别为0.31%和0.24%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取“2.1.2”项下不同产地的苦参供试品溶液各3份,按照“2.2”项下色谱条件进行测定,每次进样10 μL,计算甘肃、四川、内蒙古产苦参饮片苦参碱峰面积的RSD值分别为1.70%、1.35%和2.22%;氧化苦参碱峰面积的RSD值分别为0.17%、0.15%和0.34%,表明实验方法重复性良好^[9]。

2.3.4 稳定性试验 取“2.1.2”项下不同产地的苦参供试品溶液各3份,按照“2.2”项下色谱条件分别在2、4、6、8 h进行测定,每次进样10 μL,计算甘肃、四川、内蒙古产苦参饮片苦参碱峰面积的RSD值分别为2.36%、1.05%和2.77%;氧化苦参碱峰面积的RSD值分别为0.41%、0.96%和0.58%,表明供试品溶液在室温下放置8 h稳定性良好^[10]。

2.4 供试品的含量测定 取甘肃、四川、内蒙古3个产地的苦参饮片,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液各3份,按照“2.2”项下色谱条件进行测定,每次进样10 μL。将峰面积分别带入标准曲线计算苦参饮片中苦参碱、氧化苦参碱以及苦参总碱的含量。结果见表1。

表 1 苦参饮片中苦参总碱的含量测定结果 ($n=3$)

饮片产地	苦参碱质量(mg)	氧化苦参碱质量(mg)	苦参总碱质量(mg)	苦参总碱含量(%)	平均含量(%)	RSD(%)
甘肃	0.105	4.109	4.214	1.405	1.41	0.50
	0.105	4.144	4.249	1.416		
	0.106	4.145	4.252	1.417		
四川	0.136	4.208	4.345	1.448	1.45	0.12
	0.138	4.197	4.335	1.445		
	0.137	4.199	4.336	1.445		
内蒙古	0.136	3.466	3.602	1.201	1.21	0.73
	0.161	3.486	3.648	1.216		
	0.163	3.439	3.602	1.201		

由表 1 可知,甘肃、四川、内蒙古三个产地苦参饮片中苦参总碱的含量分别为 1.41%、1.45%、1.21%,均高于 1.0%,符合 2015 年版《中华人民共和国药典》的规定。其中四川产苦参饮片中苦参总碱的含量最高,内蒙古产苦参饮片中苦参总碱的含量最低。另外,不同样品中苦参碱的含量远低于氧化苦参碱的含量,且两者所占比例差异较大。经计算得知,甘肃、四川、内蒙古三个产地苦参饮片中苦参碱和氧化苦参碱的比例分别为 1:39、1:30、1:23,相比之下,苦参碱和氧化苦参碱的含量最高的产地分别为内蒙古和甘肃。

3 结论与讨论

采用 HPLC 法测定苦参饮片中苦参碱和氧化苦参碱含量的方法学良好。测得甘肃、四川、内蒙古 3 个产地苦参饮片中苦参总碱的含量均符合 2015 年版《中华人民共和国药典》的规定,但含量存在一定差异。3 个产地苦参饮片中苦参总碱中苦参碱和氧化苦参碱的比例也不尽相同,其原因以及对药物疗效的影响尚有待考察。

影响中药饮片质量的因素较多^[11-12]。中药饮片的质量除与产地有一定关系以外,还与药材的种植条件、土壤环境,栽培方法,采收方式、加工炮制方法、储藏方式、使用等环节息息相关。由于时间等原因所限,仅考察甘肃、四川、内蒙古 3 个不同产地的苦参饮片,且批次较少,未能对苦参不同产地饮片间的差异做系统而具有代表性的比较,缺乏大量数据作为支撑。综上,我国不同产地苦参饮片的质量标准研究有待于进一步深入进行。

参考文献

- [1] 汪文来,赵红霞,贾海骅,等. HPLC 法测定不同产地苦参中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 中国中医基础医学杂志,2007(10):799-800.
 - [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1998.
 - [3] 尤军,任宝君. 辽西北半干旱地区苦参高产优质栽培的关键技术[J]. 特种经济动植物,2014,17(11):42-43.
 - [4] 熊厚溪,丁铃,许海. 毕节地区苦参的生态适宜性区划[J]. 贵州农业科学,2017,45(5):90-94.
 - [5] 禹娟红. 不同产地党参药材质量评价研究进展[J]. 中国中医药科技,2016,23(4):503-505.
 - [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:中药医药科技出版社,2015.
 - [7] 金燕. 黔产苦参的质量评价研究[D]. 贵阳:贵州医科大学,2016.
 - [8] 刘晓丹,王惠英,李瑞和,等. HPLC 法测定植物源杀螨溶剂(外用)中氧化苦参碱的含量[J]. 畜牧与饲料科学,2019,40(3):6-11.
 - [9] 丁茹. HPLC 法测定痢泻灵片中苦参碱和氧化苦参碱的含量[J]. 海峡药学,2017,29(11):69-71.
 - [10] 孔维妹,闫丹彤,王淼,等. HPLC 法测定苦参康肤搽剂中苦参碱、氧化苦参碱和苍术素的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2018,35(1):43-46.
 - [11] 吕海鸿. 苦参片质量标准的研究[J]. 中国药品标准,2015,16(5):353-356.
 - [12] 姚倩. 不同产地苦参药材的质量考察[C]. 中国植物学会药用植物与中药专业委员会、中国药学会中药与天然药物专业委员会、北京大学医学部,2001.
- (本文编辑:李海燕 本文校对:贾永艳 收稿日期:2019-05-27)

本刊郑重声明

近期有作者来电反映,有人借我刊名义从事征稿与广告活动,扰乱了正常的投稿秩序,影响了我们《中国中医药现代远程教育》杂志社的声誉。

中国中医药现代远程教育杂志社郑重声明:本刊从未与任何公司或个人签订组稿与广告合作协议,凡冒用我刊名义征稿和广告的中介机构均未获得我刊的任何许可,其工作人员均非我刊的工作人员,与之相关的经济与法律关系与本刊无关。均属违法行为,本刊将依法保留追诉权。

我社唯一投稿邮箱:zgzyycjy@163.com,没有其他征稿邮箱。中国中医药现代远程教育杂志社官方网址:<http://www.zgzyycjy.com> 收费只通过邮寄汇款,地址:北京市复兴门南大街甲 2 号配楼知医堂 101 室,邮编:100031,收款单位:中国中医药现代远程教育杂志社。杂志社不通过任何账户和个人卡号收费。请广大作者、读者相互转告,谨防上当。若有不明事宜,请来电垂询。

特此声明。

投稿邮箱:zgzyycjy@163.com

电话查询:010-57289309 010-57289308

财务部:010-87363190

官网:<http://www.zgzyycjy.com>

中国中医药现代远程教育杂志社
2015 年 2 月 10 日