

4 讨论

抗氧化活性物质是一种可通过抑制自由基的产生,清除、熄灭自由基来抑制自由基参与的过氧化反应即为抗氧化作用。大量的研究证明生物体内过量的自由基会引起广泛的损伤效应,引起蛋白质、核酸、脂类等生物大分子结构和功能的改变,从而导致许多临床疾病的发生^[4-6]。本研究发现刺梨叶乙醇提取物对 DPPH 自由基和 ABTS 自由基均有良好的清除作用,说明刺梨叶有很好的抗氧化活性。

在小肠刷状缘细胞的微绒毛上存在着多种葡萄糖苷酶,如 α -葡萄糖苷酶,其作用是将多糖、寡糖等水解成单糖,促进其被吸收进入血液循环。葡萄糖苷酶抑制剂可通过竞争性结合葡萄糖苷酶上的碳水化合物结合位点,使寡糖不能水解为单糖,阻止其被吸收,从而使餐后血糖峰值渐变低平、波动减小^[7]。本研究发现刺梨叶乙醇提取物对 α -葡萄糖苷酶有很强的抑制作用,其活性明显高于阳性对照药,说明刺梨叶有良好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,可以作为降血糖药物进一步开发。

本研究结果表明刺梨叶有良好的抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性,具有很好的研究和开

发价值。

REFERENCES

- [1] 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, 1999.
- [2] LIU Q L, FAN W G, AN H M. Studies on the extraction of water-soluble polysaccharides and total flavone from *Rosae roxburghii* leaves [J]. J Mountain Agr Bio(山地农业生物学报), 2005, 24(6): 522-526.
- [3] TIAN Y, CAO P, LIANG G, et al. An investigation in Chemical Constituents of chestnut rose(*Rosa roxburghii*)leaves [J]. Mountain Agr Bio(山地农业生物学报), 2009, 28(4): 366-368.
- [4] LV H, TENG J, CHEN J, et al. Study on purification technology and antioxidant activity of total flavonoid from *Eriobotryae folium* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(1): 40-42.
- [5] WU Q P, QIAO H X, HE H H, et al. Extraction of polysaccharides from residue of *Ginkgo biloba* and study on anti-oxidant activity [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(1): 9-13.
- [6] DUAN R S, ZHANG H P, XIE T, et al. Relationship of anti-oxidative effect of taxane and apoptosis [J]. Her Med(医药导报), 2013, 32(4): 428-431.
- [7] WANG Q, ZHANG L, BIAN X, et al. Progress in research of α -glucosidase inhibitors and the structure-activity relationship [J]. Chin J New Drugs (中国新药杂志), 2014, 23(2): 189-195.

收稿日期: 2014-12-28

苦豆子提取过程中氧化苦参碱与苦参碱、氧化槐果碱与槐果碱的相互转化

冷晓红, 郭鸿雁, 陈海燕(宁夏职业技术学院, 银川 750021)

摘要: 目的 研究苦豆子药用植物提取过程中氧化苦参碱与苦参碱、氧化槐果碱与槐果碱的相互转化。方法 采用不同提取溶媒(水及 55%乙醇)、不同 pH 及不同提取时间 3 个因素, HPLC 测定苦豆籽、苦豆草植物中氧化苦参碱与苦参碱, 氧化槐果碱与槐果碱的含量。结果 随着提取时间的增加, 氧化型生物碱转化为还原型生物碱的量随之增大; 提取溶剂对苦豆子中生物碱转化的影响无明显差异; 随着提取时间的增加, 氧化苦参碱与苦参碱总量呈缓慢下降的趋势, 氧化槐果碱与槐果碱总量也呈缓慢下降的趋势。结论 氧化型生物碱与还原型生物碱转化趋势可为苦豆子生物碱质量控制提供依据, 也可作为工业化提取苦豆子生产工艺提供依据。

关键词: 苦参碱; 氧化苦参碱; 槐果碱; 氧化槐果碱; 相互转化

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)06-0688-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.06.011

基金项目: 科技部国家科技支撑项目(2011BAI05B00)

作者简介: 冷晓红, 女, 教授 Tel: (0951)2135045 E-mail: lxh-zss@163.com

Study on Transformation Between Matrine and Oxymatrine, Oxysophocarpine and Sophocarpine in the Extraction Process of *Sophora alopecuroides*

LENG Xiaohong, GUO Hongyan, CHEN Haiyan(Ningxia Vocational and Technical College, Yinchuan 750021, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the transformation between oxymatrine and matrine, oxysophocarpine and sophocarpine in the extraction process of *Sophora alopecuroides*. **METHODS** Different extraction solvent (water and 55% ethanol), pH and extraction time were used to study the transformation rule of oxymatrine and matrine, oxysophocarpine and sophocarpine in *Sophora alopecuroides* Semen and *Sophora alopecuroides* Herba by HPLC. **RESULTS** With the increasing of extraction time, the amount of oxidized alkaloids transformed into reduced alkaloids increased; extraction solvent made no difference in the effect of the transformation of *Sophora alopecuroides* alkaloids; with the increasing of extraction time, the additive amount of oxymatrine and matrine decreased slowly, the additive amount of oxysophocarpine and sophocarpine also decreased slowly. **CONCLUSION** The results provide a basis for quality control of alkaloids of *Sophora alopecuroides*, also can provide a basis for industrial extraction of *Sophora alopecuroides*.

KEY WORDS: matrine; oxymatrine; sophocarpine; oxysophocarpine; transformation

苦参碱、氧化苦参碱、槐果碱、氧化槐果碱是豆科植物苦参、苦豆子的主要成分,研究表明^[1-2],苦参和苦豆子等药材中氧化苦参碱、氧化槐果碱的含量远高于苦参碱、槐果碱的含量,表明在植物体内氧化苦参碱、氧化槐果碱应为较稳定的天然存在形式,含苦参的复方则以苦参碱为主要成分,苦参药材入药后苦参碱与氧化苦参碱存在着相互转化^[3-4]。而在体内也存在氧化苦参碱向苦参碱转化^[5]。

苦豆子虽不是传统中药,少以饮片入药,但目前以苦豆子为原料提取的单体碱已形成产业化,其相应的制剂也应用于临床。苦豆子药用植物体内氧化型的生物碱(如氧化苦参碱和氧化槐果碱)与还原型的生物碱(如苦参碱和槐果碱)是否存在相互转化及影响转化的因素的研究尚未见报道。同时国家食品药品监督管理局局颁标准苦豆子总碱[WS-10001(HD-1391)-2003]的质量标准中采用 HPLC 测定槐定碱,未采用测定苦参碱、氧化苦参碱或氧化槐果碱、槐果碱的方法,忽略了苦豆子提取过程氧化型生物碱与还原型生物碱相互转化的因素。本研究通过进行苦豆子药用植物提取过程中氧化苦参碱与苦参碱、氧化槐果碱与槐果碱相互转化的研究,明确相互转化的条件,为完善国家局标准苦豆子总碱的质量标准提供依据。同时为工业化从苦豆子植物提取单体生物碱提供依据。

根据文献[3-4]报道,氧化型生物碱与还原型生物碱的转化多发生在煎煮过程中,目前工业化回流提取苦豆草生物碱的溶剂多采用水或酸水等,提取苦豆籽多采用水或乙醇等^[6],因此本实验

采用 HPLC 测定苦豆籽及苦豆草植物中氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱及槐果碱的含量^[1],研究不同提取溶媒(水或 55%乙醇)、pH 和提取时间考察影响苦豆籽、苦豆草植物中氧化苦参碱与苦参碱,氧化槐果碱与槐果碱之间的转化规律。

1 仪器与试剂

Agilent 1220 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),色谱柱为 Zobax C₁₈ 键合硅胶柱,检测器为 GB15B 二极管阵列检测器;HT-600A 型超声波仪(500 W,天津东康科技有限公司);TU-1810 型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

苦参碱(批号:110805-200306,质量分数为 99.2%)、氧化苦参碱(批号:0780-200004,质量分数为 99.1%)、氧化槐果碱(批号:111652-200301,质量分数为 99.2%)均购于中国食品药品检定研究院;槐果碱(宁夏紫荆花药业,质量分数为 99.5%);乙腈、甲醇、三乙胺为色谱纯,其他试剂均为分析纯。苦豆子植物采于宁夏盐池县,经宁夏药品检验所韩仪欣主任药师鉴定为苦豆子 *Sophora alopecuroides* L.采集后分取苦豆籽及全草的样品阴干后,粉碎过 20 目筛,备用。

2 方法

2.1 生物碱转化试验

取宁夏产苦豆子种子(苦豆籽)粉碎过 20 目筛,分别称取 10 g,分别加 55%乙醇或水溶液(用盐酸或氢氧化钠分别调 pH 至 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13) 160 mL,置 250 mL 圆底烧瓶中加热回流,1, 2, 4, 6, 8 h 后取提取液 2 mL,过滤, HPLC 测定氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱的含量。

取宁夏产苦豆草粉碎过 20 目筛,分别称取

10 g,加水溶液(用盐酸或氢氧化钠分别调 pH 至 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13)160 mL, 同法处理。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Zobox C₁₈ 键合硅胶柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 的磷酸二氢钾溶液(2.0 mL·L⁻¹ 三乙胺)(10:90)为流动相, 检测波长为 205 nm。理论板数按氧化苦参碱峰计算应≥5 000。

2.3 对照品溶液的制备

取苦参碱对照品、氧化苦参碱对照品、槐果碱对照品及氧化槐果碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含氧化槐果碱 0.15 mg、氧化苦参碱 0.15 mg、槐果碱 0.05 mg、苦参碱 0.05 mg 的混合溶液, 即得。

2.4 供试品溶液的制备

2.4.1 原植物溶液的制备 取苦豆籽或苦豆草粉末约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 30 mL、浓氨水(28.0%)1 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz)30 min, 放冷, 再称定重量, 加甲醇补足减失的重量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.2 转化试验后溶液的制备 取“2.1”项下不同时间提取的溶液 2 mL, 滤纸粗滤, 取 1 mL 滤液于 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.5 测定法

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定, 即得。

3 结果

3.1 苦豆籽、苦豆草原植物生物碱含量

苦豆籽、苦豆草原植物生物碱含量结果表明, 苦豆籽及苦豆草植物中氧化苦参碱和氧化槐果碱的含量明显高于苦参碱和槐果碱, 在植物体内氧化苦参碱、氧化槐果碱应为较稳定的天然存在形式。结果见表 1。

表 1 苦豆子植物生物碱含量测定结果(n=3)

生物碱含量%	氧化苦参碱	苦参碱	氧化槐果碱	槐果碱
苦豆籽	2.08	0.09	1.87	0.06
苦豆草	0.34	0.17	0.65	0.15

3.2 苦豆籽生物碱转化试验后的生物碱含量

苦豆籽生物碱转化试验结果表明, 在相同的时间内, 不同 pH 提取液中氧化型生物碱转化为还

原型生物碱的趋势基本一致, pH 值及溶剂不是影响转化的主要因素。随着提取时间的增加, 氧化型生物碱转化为还原型生物碱的量增大, 提取时间是影响氧化型生物碱转化为还原型生物碱的主要因素。随着提取时间的增加, 氧化苦参碱与苦参碱的总量呈缓慢下降的趋势, 氧化槐果碱与槐果碱的总量也呈缓慢下降的趋势, 说明氧化苦参碱并未完全转化为苦参碱, 氧化槐果碱也未完全转化为槐果碱。其转化机制还需进一步研究。结果见表 2。

表 2 苦豆籽生物碱转化试验结果
Tab. 2 Results of alkaloids conversion in *Sophora alopecuroides* Semen

PH	提取 时间/ h	氧化苦参碱/%		氧化槐果碱/%		苦参碱/%		槐果碱/%	
		55% 乙醇	水	55% 乙醇	水	55% 乙醇	水	55% 乙醇	水
1	1	0.83	1.06	0.84	1.14	0.04	0.06	0.03	0.08
	2	0.84	0.98	0.85	1.05	0.05	0.09	0.05	0.11
	4	0.77	0.93	0.78	1.00	0.06	0.13	0.07	0.15
	6	0.77	0.90	0.81	0.93	0.10	0.16	0.11	0.20
	8	0.71	0.71	0.75	0.74	0.12	0.18	0.11	0.23
3	1	0.85	0.95	0.87	1.00	0.05	0.08	0.03	0.10
	2	0.79	0.87	0.80	0.90	0.06	0.10	0.06	0.10
	4	0.75	0.76	0.76	0.79	0.09	0.19	0.10	0.19
	6	0.73	0.70	0.78	0.70	0.12	0.20	0.14	0.24
	8	0.66	0.56	0.70	0.58	0.16	0.24	0.15	0.30
5	1	0.83	0.96	0.84	1.01	0.04	0.09	0.04	0.11
	2	0.79	0.86	0.80	0.91	0.05	0.13	0.05	0.16
	4	0.75	0.78	0.75	0.80	0.09	0.19	0.09	0.23
	6	0.75	0.71	0.79	0.74	0.13	0.22	0.14	0.27
	8	0.66	0.58	0.71	0.60	0.15	0.28	0.14	0.34
7	1	0.84	1.00	0.86	1.05	0.05	0.08	0.04	0.09
	2	0.78	0.94	0.78	0.99	0.06	0.13	0.05	0.15
	4	0.77	0.81	0.79	0.85	0.09	0.18	0.09	0.23
	6	0.76	0.67	0.81	0.70	0.14	0.19	0.13	0.32
	8	0.68	0.59	0.78	0.62	0.15	0.27	0.14	0.37
9	1	1.13	0.95	1.25	0.97	0.11	0.18	0.17	0.27
	2	1.10	0.93	1.22	0.95	0.15	0.19	0.18	0.26
	4	1.12	0.92	1.17	0.86	0.20	0.22	0.20	0.33
	6	1.03	0.83	0.93	0.84	0.24	0.24	0.41	0.35
	8	0.93	0.70	0.84	0.69	0.25	0.32	0.45	0.40
11	1	1.08	1.02	1.22	1.18	0.13	0.25	0.18	0.22
	2	1.16	1.01	1.29	1.12	0.13	0.26	0.14	0.28
	4	1.06	0.97	1.18	1.11	0.54	0.28	0.18	0.27
	6	0.98	0.96	1.10	0.98	0.30	0.29	0.21	0.39
	8	0.90	0.91	1.01	0.92	0.22	0.33	0.25	0.44
13	1	1.22	1.23	1.47	1.32	0.11	0.22	0.13	0.40
	2	1.20	1.22	1.29	1.25	0.13	0.26	0.15	0.47
	4	1.21	1.10	1.24	1.24	0.19	0.32	0.23	0.46
	6	0.92	0.99	1.04	1.02	0.22	0.42	0.29	0.67
	8	0.88	0.89	1.01	0.99	0.27	0.53	0.35	0.69

3.2 苦豆草生物碱转化试验后的生物碱含量

苦豆草生物碱转化试验结果表明, pH 值为 1 时, 氧化苦参碱与氧化槐果碱的含量最高, 接近原植物的含量, 随着 pH 值的增大, 氧化苦参碱与氧化槐果碱部分转化为苦参碱和槐果碱, pH 值是影响氧化型生物碱转化为还原型生物碱的主要因素。随着提取时间的增加, 氧化型生物碱转化为还原型生物碱的量增大, 不同 pH 值溶液在提取 6 h 时氧化型生物碱的含量接近零(几乎全部转化), 提取时间是影响氧化型生物碱转化为还原型生物碱的因素之一。随着提取时间的增加, 氧化苦参碱与苦参碱总量呈缓慢下降的趋势, 氧化槐果碱与槐果碱总量也呈缓慢下降的趋势, 说明氧化苦参碱并未完全转化为苦参碱, 氧化槐果碱也未完全转化为槐果碱。其转化机制还需进一步研究。结果见表 3。

4 讨论

提取液的 pH 值对苦豆草与苦豆籽氧化型生物碱与还原型生物碱相互转化的影响程度不同, 对苦豆草影响较大。

提取时间是影响生物碱转化的重要因素, 随着提取时间的增加, 氧化型生物碱转化为还原型生物碱的量也随之增大, 尤其是对苦豆草的提取, 提取 6 h 时, 氧化型生物碱几乎完全转化。

55%乙醇溶液和水溶液做溶剂对苦豆子中生物碱转化的影响无差异。

氧化型生物碱与还原型生物碱及其总量的变化趋势可为苦豆子生物碱质量控制提供依据, 也可工业化提取苦豆子生产工艺提供依据。

REFERENCES

[1] 陈海燕, 郭鸿雁, 冷晓红. HPLC 法测定西北地区不同产地苦豆子药材中生物碱的含量[J]. 北方药学, 2013, 10(5): 10-11.

[2] JIA M G, SUN W Q. Sophora and its compound matrine and sophora and alkali oxide in translational research [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2003, 23(2): 90-92.

[3] LU Y X, YANG Z K, DONG Y M. Studies on changes of chemical constituents of Radix Sophorae Flavescentis in complex formulas of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Chin Pharm(中国中药杂志), 1996, 21(7): 412-415.

[4] 宋小妹, 考玉萍. 洁身洗剂中苦参化学成分转化研究[J]. 西北药学杂志, 2000, 15(6): 257-258.

表 3 苦豆草生物碱转化试验结果

Tab. 3 Results of alkaloids conversion in *Sophora alopecuroides* Herb

pH	提取 时间/h	氧化苦 参碱/%	氧化槐 果碱/%	苦参 碱/%	槐果 碱/%	氧化苦参碱 +苦参碱/%	氧化槐果碱 +槐果碱/%
1	1	0.34	0.44	0.17	0.18	0.51	0.62
	2	0.33	0.43	0.18	0.20	0.51	0.63
	4	0.30	0.39	0.19	0.22	0.49	0.61
	6	0.30	0.37	0.19	0.21	0.49	0.58
	8	0.26	0.34	0.20	0.24	0.46	0.58
3	1	0.19	0.24	0.21	0.28	0.41	0.52
	2	0.14	0.16	0.25	0.34	0.39	0.50
	4	0.06	0.07	0.30	0.41	0.36	0.48
	6	0.01	0	0.32	0.42	0.33	0.43
	8	0	0	0.32	0.41	0.32	0.42
5	1	0.17	0.21	0.20	0.25	0.37	0.46
	2	0.11	0.12	0.24	0.32	0.35	0.44
	4	0.03	0.03	0.30	0.39	0.34	0.43
	6	0	0	0.32	0.41	0.32	0.42
	8	0	0	0.29	0.37	0.29	0.38
7	1	0.18	0.24	0.15	0.22	0.33	0.46
	2	0.12	0.15	0.19	0.28	0.31	0.43
	4	0.09	0.07	0.22	0.34	0.31	0.42
	6	0.03	0.04	0.24	0.35	0.28	0.39
	8	0	0	0.25	0.36	0.25	0.36
9	1	0.15	0.19	0.17	0.27	0.32	0.46
	2	0.10	0.13	0.21	0.32	0.31	0.45
	4	0.04	0.06	0.24	0.38	0.29	0.44
	6	0.02	0.02	0.25	0.37	0.27	0.39
	8	0	0	0.26	0.37	0.27	0.37
11	1	0.16	0.20	0.18	0.26	0.34	0.46
	2	0.08	0.09	0.22	0.34	0.30	0.44
	4	0.02	0.02	0.26	0.39	0.28	0.41
	6	0	0	0.28	0.39	0.29	0.39
	8	0	0	0.28	0.38	0.29	0.38
13	1	0.13	0.17	0.18	0.28	0.31	0.45
	2	0.08	0.09	0.22	0.33	0.30	0.42
	4	0.03	0.03	0.25	0.38	0.28	0.41
	6	0	0	0.25	0.36	0.27	0.36
	8	0	0	0.26	0.36	0.27	0.36

[5] WANG M L, ZHOU Q L, WANG B X. Studies on metabolism of oxymatrine by human intestinal bacteria [J]. Chin J Chin Pharm(中国中药杂志), 2001, 26(4): 56-58.

[6] LIANG X H, LIU Y N, CHEN X G. Extraction of alkaloid from bitter beans [J]. Jilin J Med Coll(吉林医药学院学报), 2008, 29(3): 168-170.

收稿日期: 2014-07-18