

不同产地延胡索中金属元素及生物碱含量的相关性研究

丛晓东 郭国庆¹ 李晓燕² 李俊权¹ 支正良

(中国药科大学生药学教研室,南京 210038; ²中国医药公司广州采购供应站,广州 510160)

摘要 采用反相高效液相色谱法和原子吸收光谱法对不同产地的31件延胡索药材的两种叔胺生物碱(延胡索甲素和乙素)和8种常见金属元素(Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Sr, Pb和Cd)的含量进行了测定。通过统计回归分析发现:药材中延胡索甲素的含量与Fe, Zn, Mn和Zn/Cu比具有明显的相关关系($r=0.7702, P<0.01$);延胡索乙素与Fe含量呈正相关($r=0.5051, P<0.01$);胡延素甲素与乙素的相关性为($r=0.6503, P<0.01$)。延胡索经炮制后,Fe含量明显增加,生物碱含量稍有变化,其它元素含量变化不大。以上结果表明中药延胡索的活性可能是有机成份与金属元素相互作用的结果。

关键词 (±)-四氢巴马亭; (+)-紫堇碱; 微量元素; 延胡索; 高效液相色谱法; 原子吸收光谱法; 含量测定

延胡索是罂粟科(*Papaveraceae*)植物延胡索(*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang)的块茎,为常用中药,系多年生草本植物。主产于浙江东阳等地,具有活血、止痛等功效。对延胡索的活性成份研究一般侧重于生物碱,已发现40余种叔胺和季胺型生物碱。近年来,微量元素在中药中的功能已日益受到重视,但有机活性成份与无机元素相互关系的研究报道甚少。本文分别应用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)和原子吸收光谱法(AAS)测定了不同产地的31件延胡索药材中两种叔胺型生物碱(+)-紫堇碱、(±)-四氢巴马亭即延胡索甲素和乙素)和8种常见金属元素(Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Sr, Pb, Cd)的含量,通过回归统计分析,比较了它们之间的相互关系。对炮制前后延胡索中元素和生物碱的变化进行了比较。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

岛津AA-670原子吸收分光光度计,RP-4图示打印机,GFA-4B石墨炉原子化器,热解涂层石墨管,ASC-60G自动进样器,空心阴极灯(HTV-L233,日本滨松)。岛津LC-6A高效液相色谱仪,SPD-6AV可调波长紫外检测器,RHEODYNE-

7125进样阀,10 μ l微量注射器,Shim-Pack CLC-ODS不锈钢层析柱(150×3mm),YW G-C₁₈预柱填料(天津化学试剂厂)

硝酸、盐酸、高氯酸(工艺超纯,上海试剂一厂);桃叶标准品(GBW 08501)(中国科学院生态环境研究中心提供)标准溶液同文献^[2]。

甲醇,冰醋酸,氨水,苯(均为分析纯);(±)-四氢巴马亭,(+)-紫堇碱标准品(中国药品生物制品检定所提供)。其它试剂均为分析纯。所用水为石英亚沸蒸馏水。

药材取自中国药科大学生药教研究标本室,已进行学名鉴定。

1.2 实验条件

Fe Zn Cu Mn Sr和Ni用空气乙炔火焰原子吸收光谱法测定,实验条件同文献;Pb Cd用石墨炉原子吸收光谱法测定。石墨炉加热程序为:Cd,蒸发150°C,30 s(斜坡,以下均为阶梯升温,Pb测定法同Cd);灰化500°C,25 s;原子化2200°C,5 s;清洗2500°C,2 s;冷却0°C,25 s;Pb,蒸发150°C,30 s;灰化500°C,25 s;原子化2100°C,3 s;清洗2500°C,2 s;冷却0°C,25 s。进样体积为10 μ l。

HPLC分离条件参见文献^[1],流动相选用甲醇水-10% HAc(65:35:2),用10%氨水调节pH 6.0,

流速 0.6 ml/min

仪器参数: UV $\lambda = 280$ nm, 灵敏度 0.04 AUFS, 柱温为室温。

1.3 实验方法

1.3.1 样品预处理 样品经水洗, 65°C 烘干, 粉碎, 过 40 目筛, 最后保存于干燥器中备用。

1.3.2 样品的消化 采用 HNO_3 - HClO_4 -HF 常压消化法, 最后蒸至近干, 用 1 mol/L HCl 溶解并定容至 10 ml, 每样平行做两份。取该溶液供测定 Fe、Zn、Cu、Mn、Sr 和 Cd 之用。测 Pb 采用 KI/MBIK 萃取分离法, 方法见文献^[3]。

1.3.3 生物碱提取 采用氨性苯溶液冷浸法^[1],

Tab 1. Analytical results of eight metallic elements and two alkaloids in *Rhizoma corydalis* samples

No.	Habitat	Trace elements ($\mu\text{g/g}$)								Alkaloids(%)	
		Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Sr	Gd	Pb	Zn/Cu	A ^a
1	Zhejiang	90.94	13.17	5.02	18.29	1.46	1.19	0.098	0.188	2.62	0.0227
2	Liaoning Shenyang	135.76	53.53	1.15	14.26	2.34	2.82	0.447	0.334	46.55	0.0925
3	Shenyang Zhiwuyuan	46.98	40.68	8.29	10.72	1.77	4.12	0.224	0.059	4.91	0.0457
4	Jiling Fusong	88.93	33.48	0.69	12.15	1.91	5.11	0.052	0.188	48.52	0.0011
5	Zhejiang Dongyang(1)	118.44	32.69	4.87	25.86	2.26	4.81	0.095	0.109	6.71	0.0478
6	Zhejiang Dongyang(2)	62.61	26.69	3.20	14.20	2.53	5.76	0.054	0.020	8.34	0.0584
7	Zhejiang Dongyang(3)	135.54	15.51	6.65	13.56	2.00	3.62	0.092	0.020	2.33	0.0939
8	Zhejiang Dongyang(4)	73.57	21.35	2.89	25.77	1.04	0.78	0.035	0.328	7.39	0.0587
9	Jiangsu Nantong ^c	178.41	26.58	6.46	28.19	5.07	3.42	0.060	0.415	4.11	0.1070
10	Beijing ^c	103.01	29.85	5.66	26.92	2.70	2.75	0.202	0.909	5.27	0.0445
11	Jiangsu Nanjing	52.37	14.80	5.35	10.07	3.14	5.67	0.077	0.128	2.77	0.0739
12	Jiangsu Nanjingqixiashad ^d	169.47	10.74	4.52	7.54	1.95	6.79	0.092	0.130	2.38	0.1050
13	Jiangsu Taixian ^c	184.15	21.39	5.63	6.66	3.37	8.32	0.053	0.100	3.77	0.0612
14	Jiangsu Shazhou ^c	189.57	15.08	8.24	10.59	2.39	2.54	0.200	0.151	1.83	0.0694
15	Shanghai Congming ^d	163.15	15.33	7.64	8.24	2.00	5.41	0.100	0.020	2.01	0.0710
16	Henan Zhengzhou ^c	306.42	12.52	7.98	14.26	3.26	2.35	0.50	0.422	1.57	0.0673
17	Sichuan Fuling	312.91	37.81	9.07	36.01	4.64	1.82	0.123	0.871	4.17	0.1270
18	Sichuan Yuechi	246.49	14.24	3.92	11.66	3.79	3.92	0.120	0.290	3.63	0.0700
19	Sichuan Kaixian	67.18	30.18	2.13	10.53	6.05	5.94	0.054	0.087	14.17	0.0527
20	Hunan ^c	31.19	29.39	4.51	23.64	2.78	3.81	0.122	0.020	6.52	0.0123
21	Hunan	68.56	34.46	5.41	28.11	3.00	3.07	0.223	0.112	6.37	0.0458
22	Hubei Lichuan(dry)	113.53	13.48	3.36	10.28	1.08	0.37	0.084	0.020	4.01	0.0283
23	Hubei Lichuan(fresh)	197.82	89.21	7.14	8.83	3.13	6.53	0.187	0.417	12.49	0.0973
24	Anhui Wuhu ^c	436.09	22.78	5.28	119.22	6.35	3.76	0.060	1.862	4.31	0.0741
25	Anhui	92.05	15.68	7.15	7.95	2.50	3.39	0.027	0.115	2.19	0.0141
26	Shandong Jinan	80.74	30.06	4.54	34.23	3.19	6.89	0.091	0.088	6.62	0.0199
27	Guangdong Guangzhou	112.44	25.64	5.14	19.30	3.02	2.60	0.130	0.177	4.99	0.0291
28	Guangxi Guilinlipu	156.96	21.54	4.60	20.50	2.41	1.55	0.248	0.020	4.68	0.0825
29	Fujian Puchengxian	75.02	39.10	7.56	12.48	1.37	1.19	0.148	0.161	5.17	0.0412
30	Jiangxi Gaoan	288.35	18.85	4.62	14.62	3.06	3.56	0.145	0.140	4.08	0.0335
31	Jiangxi Nanchang	45.37	22.94	3.38	17.65	2.03	2.32	0.081	0.020	6.67	0.0161

最后取供试溶液 10 μl 进样测定。

2 结 果

为检验微量元素测定结果的可靠性, 本文对中科院生态环境研究中心提供的桃叶标准品 (GBW 08501) 进行了监控测定, 测定结果与标准对照值基本一致 (相对偏差均小于 10%)。

31 件延胡索类中药材中 8 种微量元素与 2 种叔胺型生物碱的测定结果见表 1。延胡索炮制前后成份的变化见表 2。对生物碱测定进行回收试验, 平均回收率在 94% ~ 98% 之间。

^a*Corydaline*; ^b*tetrahydropalmatine*; ^cfrom Zhejiang Dongyang; ^dCulture; ^eCommercial

将表 2 中延胡索甲素和乙素含量分别作为因变量 $Y(\%)$, 以 4 种微量元素及 Zn/Cu 比作为自变量 $X(\mu g/g)$, 进行逐步多元回归分析, 回归运算在 IBM-PC 计算机上完成, 程序见文献^[4], 结果如下。

延胡索甲素与微量元素 (Fe Zn Mn 和 Zn/Cu) 的相关方程为:

$$Y(\text{甲素}) = 3.695 \times 10^{-3} + 3.145 \times 10^{-4} X(\text{Fe}) + 1.452 \times 10^{-3} X(\text{Zn}) - 1.553 \times 10^{-3} X(\text{Zn/Cu}) - 6.682 \times 10^{-4} X(\text{Mn}), r = 0.7702, \text{剩余标准差 } S = 2.988 \times 10^{-2}, F = 9.48$$

查 F 分布表, $F_{0.01, 31-4-1} = 4.18$, 计算值 $F(9.48) > 4.18$, 表明回归方程效果显著。

Tab 2. A comparison of the contents of eight elements and two alkaloids in processing *Rhizoma corydalis* samples with crude samples($\mu g/g$)

Sample (Origin)	Processing	Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Sr	Cd	Pb	A ^a	B ^b
<i>C. yanhusuo</i> (Jiangsu Nantong)	Crude	178.41	26.58	6.46	28.19	5.07	3.42	0.060	0.415	0.052	0.107
<i>C. yanhusuo</i> (Jiangsu Nantong)	Vinegar Processing	333.94	16.43	5.80	19.12	3.80	3.67	0.087	0.381	0.277	0.054
<i>C. yanhusuo</i> (Jiangsu Nantong)	Water Boiling	251.24	18.44	6.85	10.80	2.96	2.80	0.085	0.341	0.077	0.113
<i>C. yanhusuo</i> (Jiangsu Nanjing)	Crude	52.37	14.80	5.35	22.67	3.14 5.67 ¹¹	0.0770.128	0.410	0.0739		
<i>C. yanhusuo</i> (Jiangsu Nanjing)	Vinegar Processing	365.77	14.95	7.56	26.33	3.19	3.21	0.059	0.433	0.0266	0.0199

^a Corydalin; ^bTetrahydropalmatine, %

3 讨 论

1)由表 1 可以看出, 相同品种的胡延索药材中, 产地不同其有效成份生物碱及金属元素的含量相差较大; 而当产地相同或相近时, 其成份有接近的趋势, 这说明药材质量与种植土壤、气候等环境因素有一定的关系。

2)由回归方程可知, 延胡索甲素与乙素的含量与金属元素 Fe 均呈正相关, 且两种生物碱含量之间也有较好的相关关系。因此, 可以认为 Fe 在这类中药有效成份形成中起了关键的作用, 这可能对药材中次生代谢产物的形成产生一定的稳定和促进作用。

3)延胡索经炮制(醋制)后, 其药效会明显提高和增强, 一般认为这与醋制后生物碱溶解度提高有关。但是, 表 2 表明, 醋制后, Fe 含量会大幅度地提高, 而生物碱含量也发生变化, 其它元素变化不大。因此, 炮制后的药效增强是否与 Fe 或 Fe 与生物

延胡索乙素与微量元素 (Fe) 的相关方程为:

$$Y(\text{乙素}) = 3.319 \times 10^{-2} + 1.676 \times 10^{-4} X(\text{Fe}), r = 0.5015, S = 2.762 \times 10^{-2}, F = 9.748$$

查 F 分布表, $F_{0.01, 31-1-1} = 7.77$, 计算值 $F(9.748) > 7.77$, 表明该回归方程效果显著。

将甲素 (Y) 与乙素含量 (X) 进行回归分析, 结果为:

$$Y(\text{乙素}) = 2.810 \times 10^{-2} + 0.469 X(\text{甲素}), r = 0.6503, S = 2.43 \times 10^{-2}, F = 21.25$$

F 值 (21.25) > $F_{0.01, 31-1-1} = 7.77$, 表明该回归方程效果显著。以上 3 个相关方程的系数均为中度相关。

碱形成的配合物作用有关值得进一步研究

4) 延胡索甲素的含量与金属元素 Fe Zn Mn 的含量及 Zn/Cu 比等多个变量具相关关系, 且与 Fe Zn 呈正相关, 与 Mn Zn/Cu 呈负相关。上述元素均为药材中富含的必需元素, 这些元素之间可能通过相互协同作用, 对次生代谢产生一定的影响。有害元素 (Pb Cd) 在方程中未出现, 这些元素与有机成份关系不大, 除与天然因素有关外, 还可能与人为污染因素有关。因此, 控制这些有害元素的限量对保证中药品质具重要意义。

5) 由于延胡索药材中有机成份较多, 仅生物碱有报道的已有四十余种, 均具有一定生理活性, 生物碱之间、生物碱与微量元素之间可能存在极其复杂的作用过程。因此, 上述结果只是初步的, 但有机成份与无机必需元素的结合研究有可能为解释中药有效成份关系及指导地道药材栽培开辟一条新的途径。

参 考 文 献

- 1 虞清,徐国钧,金蓉鸾等.中药延胡索类研究I.4种延胡索块茎中生物碱的含量比较.中国药科大学学报,1988,19(1): 4
- 2 支正良,王丽华,董善士.原子吸收光谱法测定中药中1种金属

元素的含量.中国药科大学学报,1991,22(1): 33

- 3 辽宁省林业土壤研究所分析组.污水组.土壤、粮食、蔬菜中镉铅的石墨炉无焰原子吸收测定.分析化学,1977,5(4): 252
- 4 相秉仁编著.计算药学.北京:中国医药科技出版社,1990. 87

Correlation Studies of Contents of Metallic Elements and Alkaloids in *Rhizoma corydalis*

Cong Xiaodong, Guo Guoqing, Li Xiaoyan, Li Junquan, Zhi Zhengliang

Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

Abstract The contents of eight metallic elements (Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Sr, Pb, Cd) and two main alkaloids (*dl*-*tetrahydropalmatine* and *d*-*corydaline*) in 31 *Rhizoma corydalis* samples were determined by AAS and RP-HPLC methods respectively. Based on the results obtained, the correlation between alkaloids and metallic elements was investigated. The results showed that the contents of *dl*-*tetrahydropalmatine* were correlated with Fe ($r=0.5051$, $P < 0.01$), and *d*-*corydaline* was correlated with Fe, Zn, Mn, and Zn/Cu ($r=0.7702$, $P < 0.01$). The content of Fe in processing samples (Vinegar-processing) was higher, but the content of its alkaloids was lower than that of crude samples.

Key words *dl*-*tetrahydropalmatine*; *d*-*corydaline*; Metallic element; *Rhizoma corydalis*; Reversed-phased high performance liquid chromatography; Atomic absorption spectrophotometry

《药剂学题库》软件在中国药科大学完成

《药剂学题库》软件在中国药科大学药学院领导的关心和支持下,经过药剂学教研室部分教师和学生的共同努力,目前已经全部完成。该题库以人民卫生出版社出版的《药剂学》(第二版)以及卫生部统编教材《药剂学》(第三版)为基础,结合执业药师考试有关内容以及教学科研实践,精心制作。全库包含5000多道题目,题型分为:选择,填空,问答,名词解释,是非,处方分析,计算七种类型。题库设有自动出题及自选出题功能,生成试卷的同时自动生成答案。题库还设有录入功能,以方便用户的特殊要求,利于升级换代。题库在Windows系统下工作,操作方便,适用于大专院校药学专业教学、执业药师考试辅导教学使用,欢迎垂询。联系地址:南京市童家巷24号,210009,中国药科大学《中国药学年鉴》编辑部,联系人:印高凤。电话:3305996转478