

新塔花药材中3种指标性成分随生长周期的变化规律^Δ

王红丽^{1*},张帆^{1,2},兰卫^{1,2},安冬青^{1,2#},艾尔肯·热依木³(1.新疆医科大学中医学院,乌鲁木齐 830011;2.新疆名医名方与特色方剂重点实验室,乌鲁木齐 830011;3.乌鲁木齐市南山林场,乌鲁木齐 830011)

中图分类号 R282.5;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0795-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.25

摘要 目的:探讨新塔花中胡薄荷酮、咖啡酸与迷迭香酸在不同生长周期中的积累量及其变化规律。方法:采集处于不同生长周期的新塔花药材,采用高效液相色谱法进行含量测定。色谱柱为Agilent-C₁₈,流动相为甲醇-0.3%磷酸水溶液(梯度洗脱),检测波长为290 nm,柱温为30℃,流速为1.0 ml/min,进样量为10 μl。结果:从4月底返青至10月初种子成熟的整个生长周期,3种指标性成分含量均呈现出先升高后降低的趋势,胡薄荷酮与咖啡酸于7月中旬至8月中旬在药材中的含量较高,迷迭香酸于6月下旬至8月初在药材中的含量较高,整体药材于7月中旬至8月初的质量最好。结论:新塔花药材中指标性成分的含量变化随生长周期表现出较好的规律性,7月中旬至8月初的新塔花药材质量最好。这可为新塔花药材的采收与生产加工提供依据。

关键词 新疆;新塔花;高效液相色谱法;含量测定;胡薄荷酮;咖啡酸;迷迭香酸

Study on Change Regulations of 3 Indicative Components in *Ziziphora bungeana* during the Growth Cycle

WANG Hong-li¹, ZHANG Fan^{1,2}, LAN Wei^{1,2}, AN Dong-qing^{1,2}, Aierken·Reyimu³(1.College of TCM, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2.Xinjiang Key Laboratory of Famous Doctor Prescription and Special Formula, Urumqi 830011, China; 3.Nanshan Forest Farm of Urumqi, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To explore the accumulative amount and change regulations of pulegone, caffeic acid and rosmarinic acid in *Ziziphora bungeana* during different growth cycles. METHODS: *Z. bungeana* were collected during different growth periods and HPLC was adopted for the content determination. The determination was performed on Agilent-C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-0.3% phosphoric acid (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 290 nm, and the column temperature was 30 °C. The sample size was 10 μl. RESULTS: The three indicative components increased at first after reviving at the end of April, but later decreased when seeds matured at the early October; the contents of pulegone and caffeic acid were higher from mid-July to mid-August; and the contents of rosmarinic acid was higher in the late June to early August. So the quality of *Z. bungeana* during mid-July and early August was the best. CONCLUSIONS: The content changes of indicative components of *Z. bungeana* show good regularity with growth cycle. The quality of *Z. bungeana* during mid-July and early August is the best. It lays the foundations for the harvest, processing and production of *Z. bungeana*.

KEYWORDS Xinjiang; *Ziziphora bungeana*; HPLC; Content determination; Pulegone; Caffeic acid; Rosmarinic acid

新塔花 *Ziziphora bungeana* 为唇形科新塔花属植物,属新疆地产大宗药材,别称芳香新塔花、小叶薄荷,维吾尔药名“苏则、续则”,其具有疏散风热、清利头目、安神强壮、清胃消食等作用^[1-2]。维吾尔医长期用其治疗冠心病、心绞痛、失眠、软骨病等症,疗效显著,研究表明胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸是其主要有效成分^[3-8]。本研究采用高效液相色谱(HPLC)法对产自乌鲁木齐南山的新塔花生产基地在不同时间采收的新塔花药材进行3种指标成分的含量测定,探讨其随生长周期的动态变化规律,为该药材采收与生产加工提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

2010-AHT型HPLC仪,配有SPD-20A型紫外检测器(日本岛津公司);XS105型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);

Δ基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81060350);新疆名医名方与特色方剂重点实验室开放课题(No.XJDX0910-2012)

*硕士研究生。研究方向:中药材质量标准。E-mail: wanghongli@163.com

#通信作者:教授,博士。研究方向:中医药资源利用。E-mail: 421894384@qq.com

ULUP型智普超纯水仪(西安优普仪器设备有限公司);KQ-200KDE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);旗箭Q-250A3型高速多功能粉碎机(上海冰都电器有限公司)。

1.2 试剂

胡薄荷酮对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111706-200903);咖啡酸对照品(天津金测分析技术有限公司,批号:090218,纯度:98%);迷迭香酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号:1189-090422,纯度>98%);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

1.3 药材

药材产自乌鲁木齐南山新塔花药材种植基地(采收日期分别为:20140517、20140607、20140628、20140711、20140721、20140802、20140920、20141008),经新疆医科大学中药系兰卫副教授鉴定为唇形科植物新塔花 *Z. bungeana*。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-0.3%磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~5 min, 80%~64% B; 5~10 min, 64%~52% B; 10~15 min, 52%~30% B; 15~

20 min, 30%~20% B; 20~25 min, 20%~15% B; 25~50 min, 15%~0B); 流速: 1.0 ml/min; 进样量: 10 μ l; 检测波长: 290 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C。在此色谱条件下, 各色谱峰的分度均> 1.5。色谱见图1。

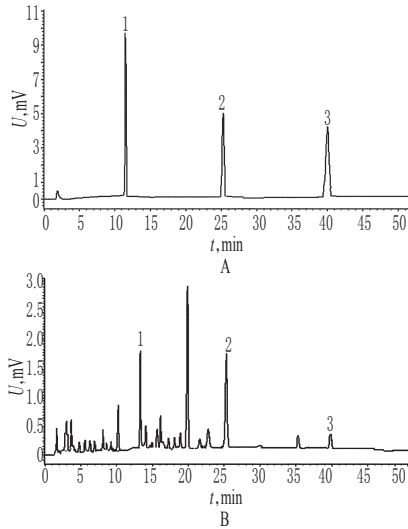


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品溶液; B.供试品溶液; 1.咖啡酸; 2.迷迭香酸; 3.胡薄荷酮

Fig 1 HPLC chromatograms

A. mixed control solution; B. test sample solution; 1. caffeic acid; 2. rosmarinic acid; 3. pulegone

2.2 对照品溶液的制备

精密称取胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸对照品各适量, 置于同一10 ml量瓶中, 用20%二甲基亚砷甲醇溶液溶解并定容, 摇匀, 即得混合对照品溶液(胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸的质量浓度分别为2.46、0.31、0.81 mg/ml)。

2.3 供试品溶液的制备

取药材粉末(过2号筛)0.8 g, 置于50 ml具塞锥形瓶中, 加入20%二甲基亚砷甲醇溶液25 ml, 超声(功率: 250 W, 频率: 40 kHz)提取50 min, 冷却, 滤过。取滤液于60 $^{\circ}$ C水浴蒸干, 用20%二甲基亚砷甲醇溶液溶解并定容至10 ml量瓶中, 摇匀, 经0.22 μ m微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系考察

取“2.2”项下混合对照品溶液适量, 分别按“2.1”项下色谱条件进样2、4、6、8、10 μ l, 记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、进样量(x, μ g)为横坐标, 进行线性回归, 得胡薄荷酮、咖啡酸与迷迭香酸的回归方程, 详见表1。结果表明, 各待测成分的进样量均在各自范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

表1 线性关系考察结果

Tab 1 The linear range of indicative components

待测成分	回归方程	r	线性范围, μ g
胡薄荷酮	$y=740.032x-81.423$	0.999 8	0.492~2.460
咖啡酸	$y=7 \times 10^4 x - 5.871.1$	0.999 9	0.062~0.310
迷迭香酸	$y=2 \times 10^4 x - 53.408$	0.999 5	0.162~0.810

2.5 精密度试验

取“2.2”项下混合对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件连续进样6次, 记录峰面积。结果, 胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸的峰面积RSD分别为2.1%、0.80%、1.5%(n=6), 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取新塔花药材样品(采集日期: 20140628)适量, 按“2.3”项

下方法制备供试品溶液, 室温放置, 分别于配制后0、2、4、6、8、10、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸的峰面积RSD分别为0.22%、0.53%、0.61%(n=8), 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一新塔花药材样品(采集日期: 20140802)制备的供试品样品6份, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。结果, 胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸的平均含量分别为1.57、1.92、5.27 mg/g, 其峰面积RSD分别为1.96%、1.24%、1.32%(n=6), 表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的新塔花药材(采集日期: 20140802)粉末0.4 g, 共6份, 分别加入胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸对照品溶液各适量, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算加样回收率, 结果见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery test (n=6)

待测成分	称样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
胡薄荷酮	0.402 9	0.828	0.811	1.633	99.3	99.7	0.89
	0.400 4	0.800	0.811	1.616	100.6		
	0.402 4	0.849	0.811	1.654	99.3		
	0.408 2	0.809	0.811	1.607	98.4		
	0.406 4	0.793	0.811	1.605	100.1		
	0.405 2	0.814	0.811	1.630	100.6		
咖啡酸	0.408 2	0.966	0.967	1.931	99.8	100.6	1.51
	0.406 4	0.965	0.967	1.957	102.6		
	0.405 2	0.932	0.967	1.906	100.7		
	0.404 0	0.951	0.967	1.911	99.3		
	0.404 3	0.965	0.967	1.923	99.1		
	0.405 7	0.946	0.967	1.935	102.3		
迷迭香酸	0.402 9	3.927	3.801	7.716	99.7	99.7	1.17
	0.400 4	3.884	3.801	7.666	99.5		
	0.402 4	4.078	3.801	7.802	98.0		
	0.408 2	3.888	3.801	7.683	99.8		
	0.406 4	3.988	3.801	7.851	101.6		
	0.405 2	3.967	3.801	7.747	99.4		

2.9 样品含量测定

分别称取不同采收期的8批药材各适量, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量, 结果见表3。不同采收期新塔花药材中胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸的含量变化见图2。

表3 样品含量测定结果(n=3, mg/g)

Tab 3 Results of content determination of samples (n=3, mg/g)

采收日期	胡薄荷酮	咖啡酸	迷迭香酸
20140517	1.758	1.348	5.855
20140607	2.003	1.739	6.969
20140628	1.748	2.178	8.156
20140711	1.852	2.321	8.706
20140721	2.343	2.530	8.394
20140802	2.922	2.396	8.634
20140920	2.016	1.870	7.708
20141008	1.469	1.276	7.284

3 讨论

本研究采用HPLC法对乌鲁木齐南山新塔花生产基地不

HPLC法测定瑶药鸮鹰风中绿原酸的含量[△]

滕建北*, 谢凤凤, 梁雁, 蔡毅[#](广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)06-0797-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.06.26

摘要 目的:建立测定瑶药鸮鹰风中绿原酸含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为ODS₂ C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸(10:90, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为330 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:绿原酸的进样量在0.035~1.120 μg范围内与峰面积呈良好的线性关系;精密度试验的RSD<2%,重复性、稳定性试验的RSD<3%;平均加样回收率为102.37%,RSD=2.52%(n=6)。结论:该方法简单快速、重复性好、准确度高,可用于瑶药鸮鹰风中绿原酸含量的测定。

关键词 鸮鹰风;绿原酸;高效液相色谱法;含量测定

Determination of Chlorogenic Acid Content in Yao Drug *Tetrapanax papyriferus* by HPLC

TENG Jian-bei, XIE Feng-feng, LIANG Yan, CAI Yi (College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of chlorogenic acid content in Yao drug *Tetrapanax papyriferus* by HPLC. METHODS: HPLC was conducted with the chromatographic column of ODS₂ C₁₈; the mobile phase was acetonitrile-0.1% H₃PO₄ (10:90, V/V) with a flow rate of 1.0 ml/min; the detection wavelength was 330 nm, the column temperature was 30 ℃ and the volume was 10 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the content of chlorogenic acid and peak surface values in the range of 0.035-1.120 μg. The RSD of precision test were less than 2%, the RSD of repeatability and stability tests were less than 3%; the average recovery was 102.37%, RSD was 2.52% (n=6). CONCLUSIONS: The HPLC method is simple, sensitive and accurate to determine the chlorogenic acid content in Yao drug *T. papyriferus*.

KEYWORDS *Tetrapanax papyriferus*; Chlorogenic acid; HPLC; Content determination

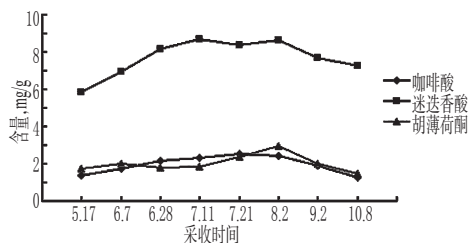


图2 不同采收期新塔花药材中胡薄荷酮、咖啡酸、迷迭香酸的含量变化

Fig 2 The content changes of pulegone, caffeic acid and rosmarinic acid in *Z. bungeana* during different harvest periods

同生长周期的新塔花药材进行了含量测定。结果表明,从4月底返青至10月初种子成熟的整个生长周期,新塔花中3种指标性成分含量总体呈现出先升高后降低的趋势:胡薄荷酮与咖啡酸含量从7月中旬至8月中旬达到峰值,6月下旬至8月初迷迭香酸的含量较高,此阶段新塔花处于盛花期。因此,可初步确定新塔花药材在7月中旬至8月初的有效成分含量最高、质量较好,可在此阶段进行采收。

[△]基金项目:广西自然科学基金资助项目(No.2011GXNSFF018006);瑶族习用药材质量评价与标准研究项目(No.MZY2012040)

* 副教授,博士。研究方向:中药鉴定及质量控制。E-mail: tengjianbei@163.com

[#]通信作者:教授。研究方向:中药鉴定及质量控制。电话:0771-3137525。E-mail: Caiyi118@163.com

综上所述,由于不同生长季节气候、土壤与水分等因素的影响,新塔花药材中的有效成分在不同生长周期的含量不同。本研究结果可为该药材的采收与生产加工提供科学依据。

参考文献

- [1] 刘勇民,沙吾提·伊克木.维吾尔药志:上册[M].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999:44.
- [2] 新疆维吾尔自治区卫生厅.新疆维吾尔自治区药品标准[S].乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1987:17.
- [3] 安冬青,胡金霞,赵明芬,等.天香丹对冠心病病人血管内皮生长因子及相关因子的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2007,5(8):662.
- [4] 杨建梅,安冬青,王晓峰,等.天香丹颗粒治疗冠心病心绞痛33例[J].上海中医药大学学报,2006,20(2):29.
- [5] 杨伟俊,哈木拉提,孙玉华,等.芳香新塔花对大鼠急性心肌缺血和乳鼠心肌细胞的保护作用[J].现代药物与临床,2010,25(3):194.
- [6] 施洋,毕青,徐墩海,等.维药唇香草挥发油稳定性的研究[J].中国民族民间医药,2009,18(6):1.
- [7] 张海英,李伟,薛洁,等.维药新塔花中胡薄荷酮的鉴别及定量测定[J].中成药,2011,33(9):1628.
- [8] 温献业,刘光明,林善远.HPLC法测定紫苏梗药材中迷迭香酸的含量[J].中国药房,2014,25(27):2565.

(收稿日期:2014-10-23 修回日期:2014-12-15)

(编辑:孙冰)