

# 宁夏栽培牛蒡子不同生长期不同器官化学成分动态变化

王丽, 朱莉明, 安瑜\*

(固原市药品检验所, 宁夏 固原 756000)

**[摘要]** 目的:对宁夏栽培牛蒡子不同生长期不同器官化学成分动态变化进行研究,以 HPLC 切换波长法对宁夏栽培牛蒡子不同生长期、不同器官化学成分牛蒡苷、牛蒡苷元、绿原酸的含量进行测定分析。方法:采用 Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸水梯度洗脱,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 280,328 nm 切换,进样量 10 μL,温度 30 ℃。结果:不同生长期、不同器官木脂素类、苯酚类化学成分含量变化较大;果实中牛蒡苷、牛蒡苷元含量最高,叶中绿原酸含量最高。结论:为宁夏栽培牛蒡子合理利用、适宜采收期的确定及质量评价提供了理论依据。

**[关键词]** 宁夏栽培牛蒡子; 化学成分; 生长期; 器官; 动态变化

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)23-0061-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015230061

**Dynamic Changes of Chemical Compositions in Different Organs of Cultivated *Arctium lappa* from Ningxia During Different Growth Periods** WANG Li, ZHU Li-ming, AN Yu\* (Guyuan Institute of Drug Control, Guyuan 756000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the dynamic changes of chemical compositions in different organs of cultivated *Arctium lappa* from Ningxia during different growth periods, the method of HPLC with switching wavelengths was used to analyze the contents of arctiin, arctigenin, and chlorogenic acid in different organs of cultivated *A. lappa* from Ningxia during different growth periods. **Method:** The HPLC analysis was carried out on Agilent C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column at the temperature of 30 ℃; the mobile phase composed of acetonitrile and 0.1% phosphoric acid with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was 280 nm shifted to 328 nm; the sample loading volume was 10 μL. **Result:** The contents of lignans and phenol chemicals were found to have larger variations in different organs and during different growth periods; the fruit has the highest contents of the arctiin and arctigenin, and the content of chlorogenic acid is the highest in the leaves. **Conclusion:** This study has provided theoretical basis for determining the rational utilization and suitable harvest periods of arctium *A-lappa*, in Ningxia, as well as for evaluating the product quality.

**[Key words]** Ningxia cultivated *Arctium lappa*; chemical composition; growth period; organ; dynamic change

牛蒡子具有疏散风热、解毒透疹、利咽消肿等功效<sup>[1]</sup>。牛蒡子中主要含有牛蒡苷、牛蒡苷元等木脂素类化学成分<sup>[2-3]</sup>,牛蒡茎叶中含有以绿原酸为主的苯酚类化学成分<sup>[4]</sup>。牛蒡子在宁夏各地均有分布,主要分布于六盘山区<sup>[5]</sup>。近年来宁夏各地大面积栽培,是宁夏栽培药材的传统品种之一,具有粒大、饱满、色灰棕等特点。本研究采用 HPLC 切换波

长法<sup>[6-7]</sup>同时测定了牛蒡苷、牛蒡苷元<sup>[1,8]</sup>、绿原酸<sup>[9-10]</sup>3种化学成分在宁夏栽培牛蒡子不同生长期、不同器官中的含有量,为宁夏栽培牛蒡子的合理利用、适宜采收期及质量评价提供了依据。

## 1 材料

**1.1 仪器与试剂** 1260 系列高效液相色谱仪(VWD 检测器,美国 Agilent),XS205DU 型电子分析

**[收稿日期]** 20141211(007)

**[基金项目]** 宁夏固原市科技示范项目(2013014)

**[第一作者]** 王丽,主管药师,从事药品分析工作,Tel:18095411369

**[通讯作者]** \*安瑜,副主任药师,从事药品分析工作,Tel:13909549363

天平(瑞士梅特勒-托利多公司), Milli-Qplus 超纯水器(USA-Millipore 公司)。绿原酸(批号 110753-201314), 牛蒡苷(批号 110819-201108)对照品均购自中国食品药品检定研究院, 牛蒡苷元为本实验室自制。甲醇、乙腈为色谱纯、水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

**1.2 样品** 牛蒡子药材、牛蒡不同器官均采自宁夏六盘山牛蒡子栽培基地(从 5 月至 10 月按研究内容定期采样, 以考察牛蒡不同器官的生长情况), 经固原市药品检验所中药室张文懿副主任中药师鉴定均为菌科牛蒡 *Arctium lappa* 的干燥成熟果实。

## 2 方法与结果

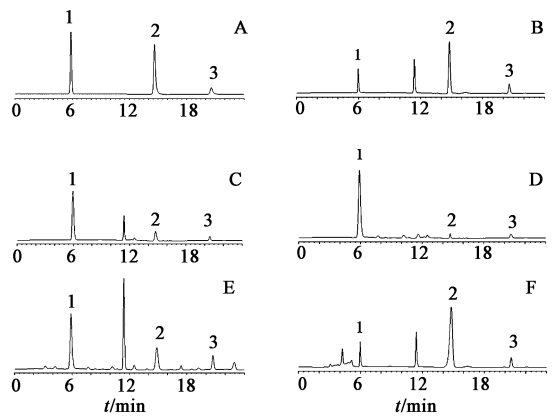
**2.1 混合对照品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的绿原酸对照品 6.03 mg, 牛蒡苷对照品 10.17 mg, 牛蒡苷元对照品 4.19 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解定容至刻度, 即得绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元对照品储备液。分别精密量取绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元对照品储备液 2, 1, 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

**2.2 供试品溶液的制备** 将牛蒡子去除杂质、洗净、干燥并粉碎过三号筛, 取本品粉末约 0.5 g, 精密称定置 50 mL 量瓶中, 加甲醇 45 mL 超声处理 20 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀、滤过, 取续滤液, 即得<sup>[1]</sup>。

**2.3 色谱条件及系统适应性试验** Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B) 梯度洗脱(0 ~ 20 min, 35% ~ 65% A; 20 ~ 30 min, 65% ~ 35% A; 30 ~ 40 min, 35% ~ 65% A), 检测波长(0 ~ 4 min, 280 nm; 4 ~ 8 min, 328 nm; 8 ~ 40 min, 280 nm), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C。见图 1。

**2.4 线性关系考察** 分别精密称取绿原酸对照品 6.83 mg, 牛蒡苷对照品 18.75 mg, 牛蒡苷元对照品 7.58 mg 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇 20 mL 超声处理 20 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得混合对照品母液。精密吸取混合对照品母液 0.2, 0.5, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 μL, 分别注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以各对照品进样量(X, μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归, 得回归方程, 结果见表 1。

**2.5 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次测定。结果绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元峰面积的 RSD 分别为 1.4%, 0.9%, 1.8%,



A. 对照品; B. 根; C. 茎; D. 叶; E. 果序; F. 果实; 1. 绿原酸; 2. 牛蒡苷; 3. 牛蒡苷元

图 1 牛蒡不同器官 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Arctium lappa* different organ

表 1 3 个成分线性关系考察

Table 1 Results of linear relation of 3 compounds

组分	回归方程	相关系数	线性范围/μg
绿原酸	$Y = 1\ 201.39X - 12.34$	0.997	0.055 ~ 3.278
牛蒡苷	$Y = 1\ 019.10X - 20.23$	0.998	0.150 ~ 9.000
牛蒡苷元	$Y = 301.13X + 4.00$	0.998	0.061 ~ 3.638

表明仪器的精密度良好。

**2.6 稳定性试验** 精密吸取在室温下放置的同一供试品溶液 10 μL, 分别在 0, 2, 4, 8, 10, 12, 24, 48 h 进样测定, 结果绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元峰面积的 RSD 分别为 1.5%, 1.0%, 1.9%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

**2.7 重复性试验** 精密称取同一牛蒡子样品 6 份, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3 项下色谱条件和方法测定, 结果绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元含量的 RSD 分别为 1.7%, 1.3%, 2.1%, 表明本方法重复性良好。

**2.8 回收率试验** 精密称取 6 份已知绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元含量的样品(9 月 10 日采收)粉末 0.25 g, 分别加入含绿原酸 0.541 g·L<sup>-1</sup>, 牛蒡苷 10.001 g·L<sup>-1</sup>, 牛蒡苷元 0.841 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液(0.05, 0.05, 0.1, 0.1, 0.15, 0.15 mL), 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进样测定, 结果绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元的平均回收率分别为 101.3%, 98.7%, 95.3%, RSD 分别为 1.9%, 1.5%, 2.0%, 表明该方法具有良好的回收率。

**2.9 栽培牛蒡不同生长期、不同器官化学成分含量**

测定 按 2.2 项下方法制备栽培牛蒡(均为二年生)不同生长期的根、茎、叶、花序、果实供试品溶液,分别取各供试品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,在上述色谱条件下

测定,采用外标法计算不同生长期、不同器官中绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元 3 种化学成分的含量,结果见表 2,3。

表 2 不同生长期栽培牛蒡根、茎、叶中 3 种化学成分含量测定

Table 2 Different growth period, three kinds of chemical composition content in root, stems and leaves of cultivation burdock determination results %

采收时间	根			茎			叶		
	绿原酸	牛蒡苷	牛蒡苷元	绿原酸	牛蒡苷	牛蒡苷元	绿原酸	牛蒡苷	牛蒡苷元
5 月 15 日	3.12	2.34	0.03	7.89	1.35	0.03	9.65	0.52	0.01
5 月 25 日	3.92	3.21	0.02	8.36	0.62	0.02	12.01	0.57	0.02
6 月 5 日	4.90	1.84	1.23	5.58	0.98	1.12	11.28	0.82	0.91
6 月 25 日	2.91	3.52	1.49	6.82	0.03	1.08	10.98	0.03	0.94
7 月 10 日	1.87	1.42	0.49	2.39	0.91	0.93	9.64	0.65	0.64
7 月 20 日	1.29	1.51	0.50	3.97	0.02	0.02	4.52	0.01	0.44
7 月 30 日	1.31	1.86	0.36	1.65	0.02	1.09	2.14	0.02	0.01
8 月 10 日	1.63	0.90	0.41	2.68	0.02	0.03	5.73	0.01	0.01
8 月 20 日	1.60	0.77	0.62	1.98	0.03	0.78	7.27	0.01	0.65
8 月 30 日	0.72	1.04	0.38	2.02	0.02	0.61	8.54	0.61	0.43
9 月 10 日	3.34	1.51	0.52	3.92	0.67	0.66	11.89	0.01	0.45
9 月 20 日	1.68	0.83	0.33	1.64	0.03	0.51	9.38	0.02	0.39

表 3 不同生长期栽培牛蒡花序、果实中 3 种化学成分含量测定

Table 3 Different growth period, three kinds of chemical composition content in infructescence and fruit of cultivation burdock determination results %

采收时间	花序			果实		
	绿原酸	牛蒡苷	牛蒡苷元	绿原酸	牛蒡苷	牛蒡苷元
8 月 20 日	0.01	1.19	0.09	0.19	5.09	0.25
9 月 1 日	0.05	2.71	0.11	0.15	10.89	0.51
9 月 10 日	0.06	2.54	0.36	0.41	11.92	0.65
9 月 20 日	0.05	1.65	0.14	0.23	8.91	0.49
9 月 30 日	0.02	1.22	0.03	0.21	6.96	0.31
10 月 10 日	0.02	0.12	0.05	0.15	1.48	0.06

### 3 讨论

目前国内文献对牛蒡子药材的化学成分研究主要以牛蒡子中牛蒡苷、牛蒡苷元为主<sup>[6,11]</sup>,而对地下部分(根)和地上部分(茎、叶等)中化学成分研究较少。牛蒡为中国古老的药食两用品种,具有极高的营养和保健价值,牛蒡茎叶中含有以绿原酸为主的苯酚类等活性成分,也应被充分利用。利用紫外分光光度计对绿原酸、牛蒡苷和牛蒡苷元进行扫描,发现绿原酸、牛蒡苷和牛蒡苷元分别在 328,280 nm 处有最大吸收,故含量测定时分别采用最大吸收波长为检测波长。绿原酸在 328 nm 下峰面积响应值为

其最大波长下的 64.51%,检出限为 0.23  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,而牛蒡苷和牛蒡苷元在 328 nm 下峰面积响应值仅为最大波长下的 0.33%,检出限高达 37.01  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,这也是二者难以在同一波长下测定的原因,故本实验采用切换波长法测定,克服了单一波长检测时带来灵敏度下降问题,本试验条件下,绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元的保留时间分别为 6,15,22 min 左右,检测波长,前 4 min 为 280 nm,4 ~ 8 min 切换为 328 nm,8 ~ 40 min 再切换为 280 nm,此条件下基线平稳,灵敏度高,结果准确。表 2 显示,不同生长期栽培牛蒡子根、茎、叶中绿原酸含量变化较大。叶中 5 月下旬至 6 月含量最高,7 月开始迅速下降,8 月下旬逐渐上升,9 月上旬又出现高峰期,虽然 5 月下旬,9 月上旬两个高峰值之间无显著差异,但考虑到 9 月叶片已经开始枯萎凋谢,因此以 5 月下旬,6 月份采收的牛蒡叶中绿原酸产量高。牛蒡苷、牛蒡苷元含量变化不大,根中最高,茎、叶中含有少量或几乎不含。表 3 显示,不同生长期栽培牛蒡子花序、果实中 3 种化学成分牛蒡苷、牛蒡苷元含量变化较大,其中果实中含量最高,花序次之。本文对宁夏栽培牛蒡子在不同生长期、不同器官中绿原酸、牛蒡苷、牛蒡苷元 3 种化学成分动态变化进行研究,结果表明宁夏栽培牛蒡子茎、叶中绿原酸含量在 5 月下旬

至6月份最高,果实中牛蒡苷、牛蒡苷元的含量9月份最高,为宁夏栽培牛蒡子茎、叶、果实的合理采收和利用提高了理论依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:66-67.  
[2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977,6(3):217-219.  
[3] 赵华,王劲,杨松松,等. 药用植物牛蒡化学成分和药理活性研究述要[J]. 辽宁中医学院学报,2005,7(2):128-129.  
[4] Ferracane R, Graziani G, Gallo M, et al. Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (Arctium lappa) seeds, root and leaves [J]. J Pharm Biomed Anal, 2009, 51(1):300-304.  
[5] 邢世瑞. 宁夏中药志[M]. 2版. 银川:宁夏人民出版社,2006:494-499.

[6] 王冰,张振秋,孙艳涛,等. HPLC 切换波长法同时测定升麻中5种成分的含量[J]. 药物分析杂志,2011,31(2):391-394.  
[7] 李可强,王坤,张振秋,等. HPLC 切换波长法同时测定冬凌草片中迷迭香酸和冬凌草甲素含量[J]. 中成药,2008,30(4):526-528.  
[8] 袁媛,窦德强,康廷国,等. 高效液相色谱法测定牛蒡药材不同部位牛蒡子苷和苷元的含量[J]. 中华中医药学刊,2008,26(10):2160-2161.  
[9] 李利华. HPLC 法测定鱼腥草不同部位绿原酸和芦丁的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(19):94-96.  
[10] 郑锡任,张龙,陈勇,等. 不同采收期山绿茶药材绿原酸和芦丁的含量比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(18):65-67.  
[11] 康凯,窦德强,康廷国,等. 牛蒡不同部位、牛蒡子不同产地中牛蒡苷和牛蒡苷元含量比较及指纹图谱分析[J]. 中国现代中药,2009,11(4):23-26.

[责任编辑 顾雪竹]

热烈祝贺中国中医科学院中药研究所屠呦呦研究员荣获  
“2015年诺贝尔生理学或医学奖”

**Congratulation to Youyou Tu on Her Receiving the 2015 Nobel  
Prize in Physiology or Medicine**