

不同采收期、加工方法对溪黄草中 咖啡酸和迷迭香酸含量的影响

冯泓瑞,朱德全,黄松*,林吉,赖小平,陈玲玲,鲁芹飞
(广州中医药大学,广州 510006)

[摘要] **目的:**考察不同采收期和加工方法对溪黄草中咖啡酸、迷迭香酸含量的影响。**方法:**采用 HPLC 测定咖啡酸、迷迭香酸含量,色谱条件为 Dikma Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-0.3% 磷酸溶液(B) 梯度洗脱(0~17 min, 12% A; 17~20 min, 12%~25% A; 20~50 min, 25% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 329 nm, 柱温室温, 进样量 20 μL。以咖啡酸、迷迭香酸含量为指标, 考察采收期(5~11 月份) 和干燥方法(烘干、晒干和阴干) 对溪黄草药材质量的影响。**结果:**不同采收期对溪黄草茎、叶中咖啡酸含量影响较小, 但对迷迭香酸含量的影响较大。3 种干燥方法处理后迷迭香酸提取率分别为 1.365%, 1.790%, 1.577%, 咖啡酸提取率分别为 0.057%, 0.053%, 0.055%。**结论:**以 7 月份采收的药材质量最佳, 可每年采收 2 次, 采收时间为 7 月和 11 月; 药材加工方法采用自然晒干为最佳。

[关键词] 高效液相色谱; 含量测定; 溪黄草; 不同加工方法; 不同采收期

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0071-03

[doi] 10.11653/syfj2013220071

Effects of Different Harvest Times and Different Processing Methods on Contents of Caffeic Acid and Rosmarinic Acid in *Isodon lophanthoides*

FENG Hong-ruì, ZHU De-quan, HUANG Song*, LIN Ji, LAI Xiao-ping, CHEN Ling-ling, LU Qin-fei
(New Drug Research and Development Centre, Guangzhou University
of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigated effects of different harvesting times and different processing methods on the contents of caffeic acid and rosmarinic acid from *Isodon lophanthoides*. **Method:** The contents of caffeic acid and rosmarinic acid were determined by HPLC, which was performed on a Dikma Diamonsil C₁₈ (2) column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), gradient elution (0-17 min, 12% A; 17-20 min, 12%-25% A; 20-50 min, 25% A) with mobile phase of acetonitrile-0.3% phosphoric acid, flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, column temperature was room temperature, detection wavelength was 329 nm, injection volume 20 μL. With the contents of caffeic acid and rosmarinic acid as indexes, effects of harvesting times (May to November) and processing methods (drying in shade, sun-dried, drying) on quality of *I. lophanthoides* were investigated. **Result:** Different harvesting times had little effect on the content of caffeic acid from stems and leaves of *I. lophanthoides*, but it had significant effect on the content of rosmarinic acid. After handled by three drying methods, yield of rosmarinic acid were 1.365%, 1.790%, 1.577%, respectively; Yield of caffeic acid were 0.057%, 0.053%, 0.055%, respectively. **Conclusion:** *I. Lophanthoides* harvested in July had the best quality, herbs could be harvested twice a year, harvesting times were in July and November; Processing method of naturally dried was optimum.

[Key words] HPLC; content determination; *Isodon lophanthoides*; different processing methods; different harvesting times

[收稿日期] 20130513(022)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI29B00)

[第一作者] 冯泓瑞,在读硕士,从事新药开发研究, Tel:13560258780, E-mail:379580469@qq.com

[通讯作者] *黄松,博士,副研究员,硕士生导师,从事中药制剂与质量标准研究, Tel:020-39358103, E-mail:hs1318@yahoo.com.cn

溪黄草味苦、甘、微涩,性平,无毒,具有清热、利尿、退黄、去积、止痛、消炎等功效,市场应用较广,全草均可入药^[1-2],主要用于治疗湿热泻痢、跌打瘀肿、急性黄疸型肝炎、急性胆囊炎等疾病,临床疗效确切^[3-4]。溪黄草在广东各地临床应用普遍,开发了以之为主要原料的保健品及中成药,如溪黄草冲剂、溪黄草袋泡茶、消炎利胆片、复方胆通等。但溪黄草来源复杂,同名异物,品种混乱普遍存在,当作溪黄草入药的原料,除了正品线纹香茶菜外,还有线纹香茶菜变种狭基香茶菜和纤花香茶菜及属植物溪黄草等^[5-7]。

迷迭香酸是存在于许多植物中的一种多酚,具有很强的抗氧化性,其抗氧化活力强于维生素 E。迷迭香酸有助于防止自由基造成的细胞受损,可降低癌症和动脉硬化的风险^[8]。咖啡酸具有广泛的抑菌、抗病毒、抗氧化作用。两者与溪黄草的抗肝炎、抗氧化、抗菌、抗病毒等活性一致,提示二者在溪黄草药材的质量控制中具有重要意义^[9]。本实验采用超声提取技术从溪黄草中提取咖啡酸、迷迭香酸,建立两者在溪黄草的含量测定方法。

溪黄草在南方每年可收割 2~3 次,春季种植后 90 d 即可收第 1 次。如管理得当,肥水充足,在首次收割后 70~80 d 可收第 2 次,入冬前植株停止生长时收割第 3 次。每次收割时,用镰刀在植株茎基部离地面 2~3 cm 处割下,有利于分蘖萌芽。采收通常选择在晴天进行,溪黄草收割后应及时干燥,晒干、阴干或烘干,晒干后待叶片回软时再捆压成件,即成商品。本实验拟考察不同采收期和加工方法对溪黄草中咖啡酸和迷迭香酸含量的影响,为溪黄草药材的质量控制研究提供实验依据。

1 材料

LD-150G-D2 型超纯水机(重庆利迪现代水技术设备有限公司),DK-98-11A 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司),FEJ-200 型电子称(上海保衡电子科技有限公司),BP110s 型 1/万电子天平和 CP2250 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司),UV-1 型高效液相色谱仪(日本岛津公司)。

溪黄草采自广州中医药大学大学城校区 2 号山体,经广州中医药大学新药开发研究中心陈建南研究员鉴定为狭基线纹香茶菜 *Isodon lophanthoides* (Buch. Ham. ex D. Don) Hara var. *Gerandianus* (Benth.) Hara,标本存放于广州中医药大学新药开发研究中心。咖啡酸、迷迭香酸对照品(均购自中国食品药品检定研究院,批号分别为 110885-

200102,111871-201102),甲醇、乙腈为色谱醇,其他试剂均为分析纯。

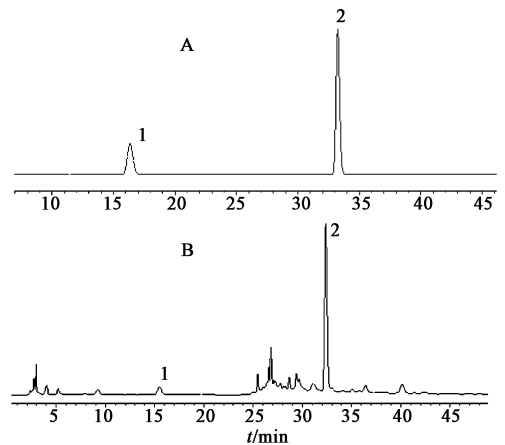
2 方法与结果

2.1 咖啡酸、迷迭香酸的含量测定

2.1.1 对照品溶液的制备 分别精密称取咖啡酸、迷迭香酸对照品 2.27,10.96 mg,置于同一 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释成质量浓度分别为 0.227,1.096 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取本品(过四号筛) 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 40 mL,称定质量,超声提取 60 min,放冷,称定质量,用 50% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.3% 磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~17 min,12% A;17~20 min,12%~25% A;20~50 min,25% A),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 329 nm,柱温室温,进样量 20 μL。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 咖啡酸; 2. 迷迭香酸

图 1 溪黄草 HPLC

2.1.4 标准曲线的制作 精密吸取混合对照品溶液 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,按 2.1.3 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得咖啡酸、迷迭香酸回归方程分别为 $Y = 4.0 \times 10^6 X - 101\ 826$ ($r = 0.999\ 9$), $Y = 2.0 \times 10^6 X - 134\ 274$ ($r = 0.999\ 6$), 线性范围分别为 0.045 4~0.908, 0.219 2~4.384 μg。

2.1.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件平行测定 6 次,结果咖啡酸、迷迭香酸峰面积的 RSD 分别为 0.86%, 0.43%, 表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,分别于制备后 0,8,12,18,24 h 进样,按 2.1.3 项下色谱条件测定,结果咖啡酸、迷迭香酸峰面积的 RSD 分别为 0.98%,0.75%,表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.1.7 重复性试验 精密称取同一样品 6 份,每份 1.0 g,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件测定,结果咖啡酸、迷迭香酸含量的 RSD 分别为 1.89%,1.65%,表明该方法重复性较好。

2.1.8 加样回收率测定 取已知含量的同一溪黄草药材粗粉(咖啡酸、迷迭香酸质量分数分别为 0.168 5,0.959 8 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)6 份,每份约 0.70 g,精密称定,分别精密加入混合对照品溶液 0.70 mL,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件测定,计算加样回收率,结果咖啡酸、迷迭香酸平均回收率分别为 98.7% (RSD 2.20%),103.0% (RSD 1.84%)。

2.2 不同采收月份对溪黄草质量的影响 根据溪黄草药材的生长周期和采收季节,重点考察了 5~11 月份采收的溪黄草药材质量。将各月采收的药材于恒温干燥箱 90 $^{\circ}\text{C}$ 下烘干 24 h,分出茎、叶部位,分别粉碎过四号筛,精密称取 1.00 g,各 2 份,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件测定溪黄草茎、叶中咖啡酸、迷迭香酸的含量,结果见图 2,3。

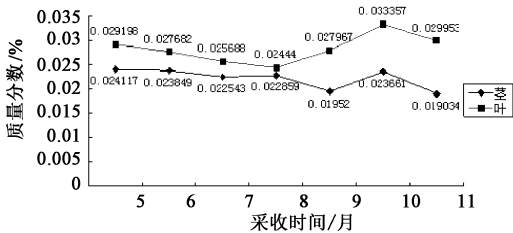


图 2 不同采收时间的溪黄草茎、叶中咖啡酸含量变化

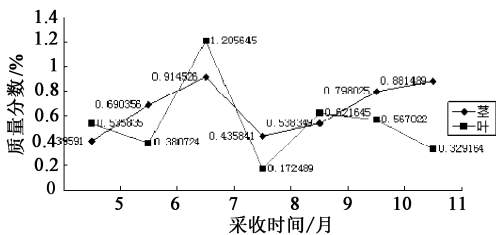


图 3 不同采收时间的溪黄草茎、叶中迷迭香酸含量变化

2.3 不同加工方法对溪黄草质量的影响 溪黄草收割后应及时干燥,干燥方式包括晒干、阴干或烘干。取 10 月份采收的同一批溪黄草药材 3 份,分别通过烘干、晒干和阴干 3 种方法进行干燥,分别粉碎

过四号筛,精密称取 1.00 g,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件测定,结果迷迭香酸提取率分别为 1.365%,1.790%,1.577%,咖啡酸提取率分别为 0.057%,0.053%,0.055%。

3 讨论

由图 2~3 可知,不同采收期的溪黄草药材中咖啡酸和迷迭香酸含量变化显著,咖啡酸和迷迭香酸含量在全年均呈先逐渐减小后逐渐增大的变化趋势。咖啡酸含量在全年的变化较稳定,且全年叶部位中含量均高于茎部位;迷迭香酸则在全年的生长变化较明显,存在一定的茎和叶转运规律。从 6~7 月迷迭香酸含量增加了近一倍,而 8 月的含量缩小了 2 倍多,7 月份为溪黄草生长最旺盛时间,迷迭香酸含量为全年中最高;7 月后溪黄草由盛转向枯萎,咖啡酸和迷迭香酸含量均显著减小;8~11 月份(入冬枯萎前),两者的成分逐渐增加。因此,以咖啡酸和迷迭香酸含量考察溪黄草的最佳采收日期为 7 月和入冬前的 11 月,但以 7 月份采收的药材质量最佳。

采用不同加工方法处理不同采收期的样品,结果显示不同加工方法处理的样品中迷迭香酸含量顺序为晒干>阴干>烘干;但 3 种干燥方法对咖啡酸的含量变化影响不大。溪黄草药材在加工炮制过程中,加热或过高的温度会导致有效成分咖啡酸和迷迭香酸部分分解,使其含量下降,从而导致药材药效降低,因此采用合理的加工炮制方法显得尤为重要。

[参考文献]

- [1] 陈建南,赖小平,刘念. 广东溪黄草药材的原植物调查及商品鉴定[J]. 中药材,1996,19(2):73.
- [2] 张龙,周光雄,李茜,等. 狭基线纹香茶菜的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2006,23(12):768.
- [3] 邓洁薇,张翠仙,林朝展,等. 狭基线纹香茶菜的化学成分研究[J]. 中药新药与临床药理,2009,20(6):551.
- [4] 肖树雄,黄诺嘉,林伟忠,等. 溪黄草研究进展[J]. 中草药,2000,31(12):950.
- [5] 邓乔华. 溪黄草资源分布与开发利用的研究[J]. 今日药学,2009,19(9):21.
- [6] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准[M]. 广州:广东科技出版社,2004:204.
- [7] 潘超美. 溪黄草、九节茶、景天类规范化栽培技术[M]. 广州:广东科学出版社,2003:3.
- [8] 周丹,刘艾林,杜冠华. 迷迭香酸的药理学研究进展[J]. 中国新药杂志,2011,20(7):594.
- [9] 朱德全,黄松,陈建南,等. 不同品种、不同产地溪黄草咖啡酸与迷迭香酸的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):120.

[责任编辑 全燕]