

锁阳不同生育期中有机酸含量的动态研究

王勤^{1*}, 魏庆华²

(1. 甘肃省张掖市药品检验所, 甘肃 张掖 734000;
2. 甘肃省张掖医学高等专科学校, 甘肃 张掖 734000)

[摘要] 目的:为锁阳药材最佳采药期的确定提供科学依据。方法:用高效液相色谱法,对不同地区、不同生育期锁阳的原儿茶酸含量的动态变化进行了研究。色谱条件 Lichrosorb ODS C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);检测波长 259 nm;流动相乙腈-水-冰醋酸(10:100:0.1);流速 1.0 mL·min⁻¹;进样量 10 μL。结果:不同地区、不同生育期锁阳的原儿茶酸含量呈现规律性变化,出土前的原儿茶酸含量最高,出土期次之,结实期最低。结论:可将原儿茶酸可以作为锁阳的指标性成分之一,如仅以原儿茶酸作为指标成分,则出土前采集的锁阳药材质量最好,该结果为锁阳药材采收期的确定和质量评价提供了科学依据。

[关键词] 锁阳;原儿茶酸;高效液相色谱法

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0054-03

Study on Dynamics Trends of Protocatechuic Acid Content of the *Cynomorium songaricum* Rupr. in Different Growth Stages

WANG Qin^{1*}, WEI Qing-hua²

(1. Zhangye Institute for Drug Control, Zhangye 734000, China;
2. Zhangye Medical College, Zhangye 734000, China)

[Abstract] **Objective:** To provide scientific foundation for establishing harvesting time of best quality of herb. **Method:** Protocatechuic acid was determined by HPLC to study dynamic trends of its content of the *Cynomorium songaricum* in different growth stages. Using Eclipse XDB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) as the stationary phase, acetonitrile-water-glacial acetic acid(10:100:0.1) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 ml·min⁻¹, 259 nm as the detection wavelength, the injection volume was 10 μL. **Result:** The protocatechuic acid content of *C. songaricum* Rupr. changed regularly. The content was higher at preemergence stage than that of unearthed. The content at unearthed stage was higher than that in flowering stage. And In flowering stage was higher than fruiting stage. **Conclusion:** Protocatechuic acid could be regarded as one of mark components, that the preemergence stage was the best. The research provided a scientific foundation for the right harvesting -time and the quality evaluation of Herba cynomorii.

[Key words] *Cynomorium songaricum*; protocatechuic acid; high performance liquid chromatographic

锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr. 为锁阳科锁阳属的单科单属单种植物锁阳的干燥肉质茎,具有补肾阳、益精血、润肠通便的作用,主要用于腰膝痿软,阳萎滑精,肠燥便秘等症。也作蒙药,常用于止

泻健胃,治疗肠热、胃炎、消化不良、痢疾等病症。现代药理学研究证明^[1-7],锁阳具有促进性功能和肾功能,耐缺氧、抗应激、抗疲劳,清除自由基、抗氧化、抗衰老,抑制血小板聚集,抗癌及抑制艾滋病病毒增殖,类糖皮质激素样作用,抗血小板聚集,润肠通便等药理作用。锁阳中含有的主要有效成分有以儿茶素为代表的黄酮类、原儿茶酸为代表的有机酸类、熊果酸为代表的三萜类、多糖与鞣质等化合物。本文

[收稿日期] 20100115(001)

[通讯作者] *王勤,主任药师,主要从事药品质量标准及天然药物有效成分研究, Tel:13209360206

通过研究认为可以将原儿茶酸作为控制锁阳药材质量的指标性成分,对不同地区、不同生育期锁阳中原儿茶酸含量进行测定,为锁阳药材最佳采药期、内在质量标准的制定及指纹图谱的建立提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent1100 高效液相色谱仪包括 G1311A 四元泵, G1314A VWD 检测器, Agilent1100 化学工作站; U-3900H 岛津紫外-可见分光光度计; 1/10 万电子天平 (Metler-D2025 型); 超声波提取器 (SB2200-T 上海必能信超声有限公司)。

1.2 试剂 原儿茶酸对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 809-200102); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其余试剂均为分析纯; 锁阳样品 (见表 1) 分别采自甘肃敦煌、金塔和高台, 样品采集时间分别为: 出土前 (2007 年 2 月)、出土期 (2007 年 4 月)、开花期 (2007 年 6 月)、结实期 ((2007 年 7 月), 样品自然干燥一段时间后, 用烘箱低温烘干至恒重, 由兰州大学药学院马志刚教授鉴定为锁阳科锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr. 的干燥肉质茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 Lichrosorb ODS C_{18} 柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 检测波长 259 nm; 流动相乙腈-水-冰醋酸 (10:100:0.1); 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹; 柱温室温; 进样量 10 μ L; 理论塔板数按原儿茶酸峰计算大于 6 000, 原儿茶酸和前后色谱峰达到基线分离, 峰形基本对称; 外标法定量, 结果见图 1。

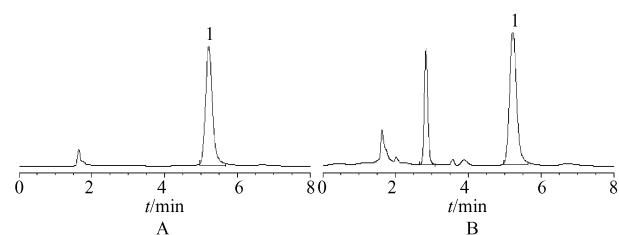


图 1 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 供试品; 1. 原儿茶酸。

2.2 对照品溶液的制备 精密称定原儿茶酸对照品 9.10 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温, 作为对照品储备溶液; 精密吸取对照品储备溶液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温, 作为对照品溶液 (每 1 mL 含原儿茶酸 36.4 μ g)。

2.3 供试品溶液的制备 取供试品粉末 (过 3 号筛) 约 1 g, 精密称定, 加水 50 mL 回流提取 2 次, 每

次 1 h, 合并提取液, 水浴浓缩至约 10 mL, 加盐酸调节 pH 至 3, 置分液漏斗中, 用乙醚轻轻振摇提取 4 次 (25, 25, 25, 20 mL), 合并提取液, 低温挥干乙醚, 残渣用流动相洗至 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温, 备用。

2.4 方法学验证

2.4.1 线性关系考察 精密吸取上述对照品储备溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL (含原儿茶酸 0.364, 0.728, 1.092, 1.456, 1.820 mg), 分别置于 25 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 超声处理 10 min, 放至室温。精密吸取上述 5 种溶液各 10 μ L, 按上述色谱条件, 分别进样, 测定。以对照品进样量 (μ g) 为横坐标, 以峰面积积分为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 1.06 \times 10^6 X + 2.58 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。结果表明原儿茶酸对照品进样量在 0.15 ~ 0.73 μ g 内具有良好的线性关系。

2.4.2 精密度实验 精密吸取对照品溶液, 在确定的色谱条件下连续进样 6 次, 原儿茶酸峰面积 RSD 0.55%, 表明本方法精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一样品 (甘肃敦煌) 6 份, 按 2.3 样品测定项下测定法测定, 结果平均含量为 0.32 mg \cdot g⁻¹, RSD 0.48%, 说明本方法的重现性良好。

2.4.4 稳定性试验 取上述样品在 4, 8, 12, 24, 48 h 分别测定, 结果 48 h 内平均含量为 0.31 mg \cdot g⁻¹, RSD 0.97%, 说明被测样品在 48 h 内稳定性良好。

2.4.5 加样回收试验 取已知含量的样品 (甘肃敦煌), 共 6 份, 编号 1 ~ 6, 每 2 份为 1 组。各加入一定量的对照品溶液, 按确定的方法提取得到样品溶液, 按 2.5 样品测定项下方法测定, 结果见表 1。

表 1 回收率实验 (n = 6)

样品含量 / μ g	加入量 / μ g	实测量 / μ g	回收率 / %	平均值 / %	RSD / %
0.125	0.095	0.217	98.64		
0.120	0.095	0.214	99.53		
0.121	0.120	0.238	98.76	98.39	0.94
0.120	0.120	0.234	97.50		
0.123	0.146	0.261	97.03		
0.122	0.146	0.265	98.88		

2.5 样品测定 照供试品溶液制备法制备样品溶液, 分别取配制的对照品溶液、供试品溶液各 10 μ L 进样, 用峰面积按外标法计算, 被测锁阳样品中原儿

茶酸的含量测定结果见表 2。

表 2 不同产地、不同生育期锁阳样品中原儿茶酸($n=3$)

产地	出土前	出土期	开花期	结实期
甘肃敦煌	0.32	0.23	0.14	0.07
甘肃金塔	0.31	0.23	0.11	0.05
甘肃高台	0.19	0.15	0.09	0.04

3 讨论

不同地区、不同生育期锁阳中原儿茶酸的含量的动态变化情况 研究表明,不同地区的锁阳不同生育期原儿茶酸的含量变化趋势是相同的,呈现出规律性地变化,即出土前 > 出土期 > 开花期 > 结实期。从图 2 可以看出,不同产地的锁阳再不同生育期原儿茶酸的含量变化很大,这可能与生长环境的土壤营养、水分、气候等因素有关。

不同生育期锁阳原儿茶酸含量的动态情况表明,其含量最高期在出土前和出土期。因此,如果以有机酸作为其有效成分,出土前和出土期锁阳药材的质量最好,恰好与一般民间采收锁阳药材的时期吻合。本研究成果为以原儿茶酸为代表的有机酸类化合物有效成分指纹图谱的建立提供了实验基础,也为科学评价锁阳药材内在质量、准确确定锁阳药

材采收期和控制其质量提供了科学依据。

[参考文献]

- [1] 俞腾飞,田向东,朱惠珍. 锁阳三种总成分耐缺氧及对血小板聚集功能的影响[J]. 中国中药杂志,1994,19(4):244.
- [2] 齐艳华,苏格尔. 锁阳的研究进展[J]. 中草药,2000,31(2):146.
- [3] 陶晶,屠鹏飞. 锁阳茎的化学成分及其药理活性研究[J]. 中国中药杂志,1999,24(5):292.
- [4] 赵永青,汤晓琴,李广宇,等. 锁阳对耐力训练大鼠小鼠 Purkije 氏细胞线粒体超微结构的影响[J]. 中国运动医学杂志,2001,20(4):373.
- [5] 袁毅君,赵国珍,郭红英. 锁阳的抗疲劳抗缺氧效应及对血红蛋白含量的影响[J]. 天水师范学院学报,2001,21(2):49.
- [6] 苏格尔,常艳旭. 锁阳化学成分和药理作用的研究概况[J]. 中国民族医药研究杂志,2005,23(6):46.
- [7] 常艳旭,苏格尔. 锁阳有效成分及指标性成分的探讨[J]. 现代中药研究与实践,2005,19(3):55.

[责任编辑 顾雪竹]

全国第十次中药鉴定学术会议征文通知(第一轮)

中华中医药学会中药鉴定分会定于 2010 年 7 月在陕西省咸阳市召开“全国第十次中药鉴定学术研讨会”,会期 3 天。会议将邀请著名专家及相关人士就中药鉴定与品质评价、中药质量标准化、信息化、网络化进展情况;中药资源开发及可持续利用、中药鉴定学和生药学教学及实验、教材与标本等问题做专题报告。

征文要求 1. 为未公开发表的论文。请在论文及信封右上角注明中药鉴定或中药标本研讨会稿件字样。2. 稿件一律用 Microsoft Word 文档标准 A4 版面。3. 请附 400 字以内摘要及关键词。4. 截止日期 2010 年 5 月 15 日,请自留底稿,概不退稿。请将论文发送如下 E-mail 地址,注明中药鉴定研讨会稿件字样。5. 论文一经采用,将收入会议论文集,并通知作者出席会议,会议期间颁发论文证书,参会代表计国家级 I 类继续教育学分 6 分。

联系方式 地 址:陕西中医学院生药教研室(陕西省咸阳市世纪大道)。邮编:712046

联系人:刘阿萍 讲师,手机:13818946096, Tel/Fax: 029-38185178

E-mail: shengyaojysh@163.com

沈 霞 讲师,手机:13991046336, E-mail: shengyaojysh@163.com

胡本祥 教授,手机:13891085127, E-mail: hubenxiang@tom.com