

# 不同月份三叶青中8种有效成分含量变化

李士敏, 孙崇鲁, 张煜炯, 孙媛, 彭昕\*

(浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100)

**[摘要]** 建立高效液相色谱法同时测定三叶青中绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素和山柰酚含量的方法, 研究不同月份三叶青中8种有效成分的含量变化。**方法:** 采用 Zorbax SB C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B) 梯度洗脱(0~30 min, 10%~30% A; 30~40 min, 30%~95% A; 40~45 min, 95% A; 45~60 min, 95%~10% A); 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 320 nm; 柱温 25 ℃。**结果:** 绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素和山柰酚在 13.7~549 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 0$ ), 12.6~253 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 1$ ), 15.8~316 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 0$ ), 14.7~147 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 2$ ), 8.8~88 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 1$ ), 7.9~79 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 5$ ), 8.6~172 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 1$ ), 8.9~89 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 4$ ) 与峰面积线性关系好, 有良好的准确度、精密度和重复性。7, 8 月份绿原酸、芦丁、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷和虎杖苷的相对含量最高; 6 月份槲皮素的相对含量最高; 4, 5 月份白藜芦醇和山柰酚的相对含量高; 11 月份紫云英苷的相对含量最高。**结论:** 通过对不同月份三叶青块根中8种有效成分的含量动态变化监测, 可为三叶青生产和药材质量控制提供参考。

**[关键词]** 三叶青; 不同月份; 绿原酸; 芦丁; 虎杖苷

**[中图分类号]** R284.1; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)19-0117-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20191111

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190219.1312.006.html>

**[网络出版时间]** 2019-02-20 9:32

## Content Changes of Eight Components in Tetrastigmatis Hemsleyani Radix of Different Months

LI Shi-min, SUN Chong-lu, ZHANG Yu-jiong, SUN Yuan, PENG Xin\*

(Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC method for determination of chlorogenic acid, rutin, polydatin, kaempferol-3-*O*-rutinoside, astragalgin, resveratrol, quercetin, kaempferol in Tetrastigmatis Hemsleyani Radix, in order to study the content changes of eight components of different months. **Method:** Zorbax SB C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was adopted with mobile phase consisting of acetonitrile (A) and 0.1% phosphoric acid (B) in gradient elution (0-30 min, 10%-30% A; 30-40 min, 30%-95% A; 40-45 min, 95% A; 45-60 min, 95%-10% A). The flow rate was 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, the column was kept at 25 ℃, and the detection wavelength was 320 nm. **Result:** Chlorogenic acid, rutin, polydatin, kaempferol-3-*O*-rutinoside, astragalgin, resveratrol, quercetin, kaempferol showed a good linearity within the range of 13.7-549 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 0$ ), 12.6-253 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 1$ ), 15.8-316 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 0$ ), 14.7-147 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 2$ ), 8.8-88 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 1$ ), 7.9-79 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 5$ ), 8.6-172 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 1$ ), 8.9-89 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 4$ ). There were great differences in contents of the eight flavonoid active components in different growth phases. In July and August, the relative contents of chlorogenic acid, rutin,

**[收稿日期]** 20180809(010)

**[基金项目]** 浙江省基础公益研究计划项目(LGN18B020001)

**[第一作者]** 李士敏, 硕士, 讲师, 从事药物分析与质量控制研究, Tel:0574-88222693, E-mail:shiminlee@ymail.com

**[通信作者]** \*彭昕, 博士, 副教授, 从事天然产物分析及应用研究, Tel:0574-88223132, E-mail:px4142@163.com

kaempferol 3-*O*-rutinoside and polydatin were the highest. The highest relative content of quercetin was observed in June. The relative contents of resveratrol and kaempferol in April and May was higher than those in other months. The relative content of astragaloside in November was the highest. **Conclusion:** It could provide abundant information for the production and quality control of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix*.

**[Key words]** *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix*; different months; chlorogenic acid; rutin; polydatin

三叶青为葡萄科崖爬藤属植物三叶崖爬藤,是我国特有的珍稀药用植物<sup>[1]</sup>。三叶青性平,味苦,归肺、肝、肾经,具有清热解毒、活血止痛、祛风化痰等功效,常被用于治疗小儿高热、肺炎、肝炎等各种炎症,因其确切的临床疗效,在民间广为传用<sup>[2-3]</sup>。现代药理学及化学成分研究表明其主要活性成分为有机酸类、酚类、黄酮类及挥发油类成分等<sup>[4-7]</sup>。有增强免疫、保肝护肝、抗肿瘤、抗炎、抗病毒等<sup>[8-10]</sup>作用。

三叶青主要分布于我国浙江、福建、广西、云南等地,以地下块根入药,于 2018 年 2 月入选新“浙八味”中药材<sup>[11]</sup>。三叶青野生资源稀缺,近年来各地均开展人工栽培驯化,不同种源的三叶青外观性状、药理活性、产量及价格均差异悬殊。前期课题组已经对不同产地三叶青的地上部分和地下部分进行了质量评价,并对不同产地三叶青中矿物元素的含量进行了比较研究<sup>[12-13]</sup>。

当前,关于三叶青中黄酮、酚类等有机成分的研究已有较多文献报道<sup>[14-16]</sup>。针对其质量评价研究主要集中于采收后的药材,对其块根发育动态中有效成分积累规律研究尚未见报道。本研究利用高效液相色谱技术,建立了同时测定不同生长期三叶青中绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素和山柰酚 8 种成分的方法,对三叶青药材发育过程中 8 种成分的积累动态变化进行追踪分析,为不同产地不同品种三叶青质量整体评价提供参考,也为三叶青农业生产、质量控制和资源合理利用等提供理论数据支持。

## 1 材料

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪,光电二极管阵列检测器(美国 Dionex 公司);Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)(美国 Agilent 公司);KQ-3200DE 型超声波清洗器(300 W, 40 kHz, 昆山市超声仪器有限公司);Cascada-BIO 型超纯水仪(美国 Cascada 公司);XSE105DU 型 1/1 万分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);DQ-02B 型手提式中药粉碎机(温岭市大德中药机械有限公司)。

对照品绿原酸、芦丁、虎杖苷(上海源叶生物

科技有限公司,批号分别为 170730, 170730, 170516, 纯度分别为 ≥ 99.4%, ≥ 98.0%, ≥ 99.8%);山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素、山柰酚(成都曼斯特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-1710021610, MUST-16022608, MUST-16022608, MUST-16022608, MUST-1710021610, 纯度分别为 ≥ 98.0%, ≥ 98.0%, ≥ 99.9%, ≥ 98.5%, ≥ 98.0%);甲醇、乙腈(色谱纯,美国 TEDIA 公司);磷酸为分析纯(国药集团化学试剂有限公司),实验用水为自制。

三叶青样品来自于圣旺生物科技有限公司三叶青种植基地,种植时间为 2015 年 4 月,采集时间为 2016 年 12—2017 年 12 月。经浙江医药高等专科学校彭欣副教授鉴定均为葡萄科爬藤属植物三叶崖爬藤 *Tetrastigma hemsleyanum* 的根块。具体样品信息见表 1。

表 1 三叶青样品信息

Table 1 Information of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix* samples

编号	数量/个	采集时间
S1	5	2016 年 12 月
S2	7	2017 年 01 月
S3	7	2017 年 02 月
S4	7	2017 年 03 月
S5	6	2017 年 04 月
S6	7	2017 年 05 月
S7	6	2017 年 06 月
S8	7	2017 年 07 月
S9	7	2017 年 08 月
S10	7	2017 年 09 月
S11	8	2017 年 10 月
S12	7	2017 年 11 月
S13	7	2017 年 12 月

## 2 方法

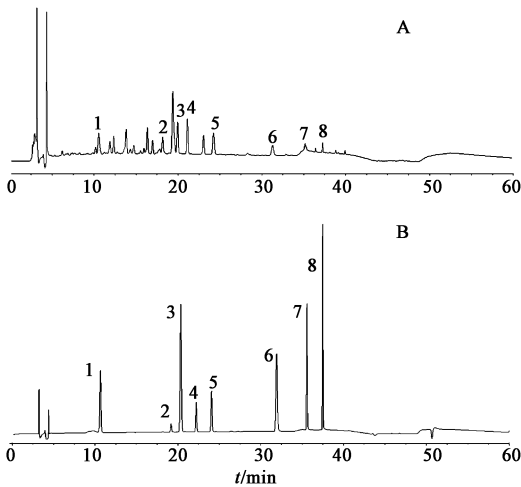
**2.1 混合对照品溶液的制备** 分别精密称取 8 种对照品适量,置于 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并定容,制得山柰酚、绿原酸、槲皮素、芦丁、白藜芦醇、

虎杖苷、紫云英苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷质量浓度分别为 0.089, 0.549, 0.172, 0.253, 0.079, 0.316, 0.088, 0.147 g·L<sup>-1</sup> 的混合溶液。置于 4 ℃ 冰箱中保存, 备用。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密称取三叶青样品粉末(40 目) 2.0 g, 置于 150 mL 具塞锥形瓶中, 加 80% 甲醇溶液 20 mL, 超声(300 W, 40 ℃) 提取 40 min, 过滤, 滤渣用 80% 甲醇溶液 20 mL 重复提取 1 次, 合并提取液, 浓缩至 10 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 备用。

**2.3 色谱条件** Agilent SB C<sub>18</sub> 色谱柱, 流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~30 min, 10%~30% A; 30~40 min, 30%~95% A; 40~45 min, 95% A; 45~60 min, 95%~10% A); 流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 320 nm, 柱温 25 ℃, 进样量 10 μL。

上述色谱条件下, 山柰酚、绿原酸、槲皮素、芦丁、白藜芦醇、虎杖苷、紫云英苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷分离良好。在该色谱条件下, 以山柰酚计理论板数不低于 3 500, 分离度 > 2.0(混合对照品)。混合对照品及供试品溶液 HPLC 色谱图见图 1。



1. 绿原酸; 2. 芦丁; 3. 虎杖苷; 4. 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷; 5. 紫云英苷; 6. 白藜芦醇; 7. 槲皮素; 8. 山柰酚

图 1 三叶青样品(A)和混合对照品(B) HPLC  
Fig.1 HPLC of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix* sample (A) and mixed standard (B)

**2.4 方法学考察**

**2.4.1 空白实验** 精密吸取甲醇 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 按 2.3 项下色谱条件进行测定。空白实验结果表明, 甲醇对测定结果均无干扰。见图 2。

**2.4.2 线性关系考察** 取 2.1 项下制备的混合对

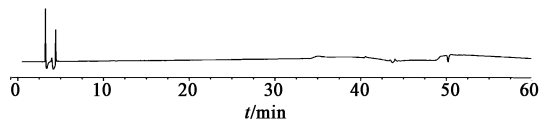


图 2 空白溶液 HPLC

Fig.2 HPLC of blank

照品溶液适量, 甲醇定容稀释至不同倍数, 摇匀, 分别取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 按 2.3 项下色谱条件进行测定, 以混合对照品溶液质量浓度为横坐标(X), 测得的峰面积作为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 计算得回归方程及相关系数, 见表 2。

表 2 8 种化学成分的线性关系及线性范围

Table 2 Linear relationship and linear range of eight effective constituents

对照品	线性方程	r	线性范围 /mg·L <sup>-1</sup>
绿原酸	Y=0.672 7X-0.325 5	0.999 0	13.7~549
芦丁	Y=0.131 7X-0.064 2	0.999 1	12.6~253
虎杖苷	Y=1.271X-0.484 3	0.999 0	15.8~316
山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷	Y=0.281 6X-0.023 2	0.999 2	14.7~147
紫云英苷	Y=0.407 8X-0.027 5	0.999 1	8.8~88
白藜芦醇	Y=1.050 1X-0.114 3	0.999 5	7.9~79
槲皮素	Y=0.867 3X-0.005	0.999 1	8.6~172
山柰酚	Y=1.040 9X+0.019 6	0.999 4	8.9~89

**2.4.3 精密度试验** 取 2.1 项下的混合对照品溶液, 按 2.3 项下色谱条件重复进样 6 次, 记录绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素、山柰酚的峰面积, 结果 8 种对照品峰面积的 RSD 分别为 1.4%, 2.0%, 1.1%, 1.3%, 1.5%, 1.1%, 1.9%, 1.7%, 均 ≤ 2%, 表明分析方法和仪器精密度良好。

**2.4.4 稳定性试验** 取 S8 样品, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 在室温下放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h, 按 2.3 项下色谱条件测定绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素、山柰酚的峰面积, 8 种成分峰面积的 RSD 分别为 2.4%, 2.2%, 3.5%, 2.8%, 3.4%, 2.6%, 2.9%, 2.5%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.4.5 重复性试验** 取 S8 样品 6 份, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.3 项下色谱条件测定绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素、山柰酚的质量分数分别为

136.2, 52.0, 70.1, 28.2, 6.2, 15.8, 39.3, 13.4  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 0.9%, 1.3%, 1.4%, 2.2%, 5.7%, 2.8%, 1.7%, 4.9%, 表明本方法的重复性良好。

**2.4.6 加样回收率试验** 精密称取已知含量的 S8 样品三叶青粉末 2.0 g, 6 份为 1 组, 按 2.2 项下方法, 制备样品溶液, 分别精密加入绿原酸

(0.549  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 芦丁 (0.253  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 虎杖苷 (0.316  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 山柰酚-3-O-芸香糖苷 (0.147  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 紫云英苷 (0.088  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 白藜芦醇 (0.079  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 槲皮素 (0.172  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 山柰酚 (0.089  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的混合对照品溶液 0.5 mL, 按 2.3 项下色谱条件测定。计算平均回收率, 表明方法加样回收率良好。见表 3。

表 3 三叶青中 8 种成分的加样回收率试验

Table 3 Recovery test of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix*

成分	称样量 /g	样品中量 / $\mu\text{g}$	加入量 / $\mu\text{g}$	测得量 / $\mu\text{g}$	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%	成分	称样量 /g	样品中量 / $\mu\text{g}$	加入量 / $\mu\text{g}$	测得量 / $\mu\text{g}$	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
绿原酸	2.003 7	272.9	274.5	545.2	99.2	100.6	4.5	紫云英苷	2.003 7	12.4	44.0	54.2	94.9	96.4	4.2
	1.994 9	271.7	274.5	535.9	96.2				1.994 9	12.4	44.0	51.9	89.8		
	2.012 5	274.1	274.5	546.1	99.1				2.012 5	12.5	44.0	54.5	95.5		
	2.015 4	274.5	274.5	547.2	99.3				2.015 4	12.5	44.0	55.1	96.8		
	1.999 3	272.3	274.5	547.9	100.4				1.999 3	12.4	44.0	57.3	102.1		
	2.006 7	273.3	274.5	548.0	109.3				2.006 7	12.4	44.0	56.2	99.5		
芦丁	2.003 7	104.2	126.5	242.6	109.4	103.9	3.7	白藜芦醇	2.003 7	31.7	39.5	72.5	103.4	98.7	3.8
	1.994 9	103.7	126.5	238.7	106.7				1.994 9	31.5	39.5	68.4	93.4		
	2.012 5	104.7	126.5	237.2	104.8				2.012 5	31.8	39.5	70.7	98.5		
	2.015 4	104.8	126.5	231.7	100.3				2.015 4	31.8	39.5	69.7	95.8		
	1.999 3	104.0	126.5	232.1	101.3				1.999 3	31.6	39.5	72.1	102.6		
	2.006 7	104.3	126.5	231.9	100.8				2.006 7	31.7	39.5	70.7	98.7		
虎杖苷	2.003 7	140.5	158	309.7	107.1	104.3	2.6	槲皮素	2.003 7	78.7	86	165.2	100.5	98.0	3.5
	1.994 9	139.8	158	307.6	106.2				1.994 9	78.4	86	165.4	101.2		
	2.012 5	141.1	158	308.3	105.8				2.012 5	79.1	86	161.4	95.7		
	2.015 4	141.3	158	300.1	100.5				2.015 4	79.2	86	162.1	96.4		
	1.999 3	140.2	158	300.9	101.7				1.999 3	78.6	86	165.8	101.4		
	2.006 7	140.7	158	305.4	104.3				2.006 7	80.1	86	160.0	92.9		
山柰酚-3-O-芸香糖苷	2.003 7	56.5	73.5	134.6	106.3	105.6	6.5	山柰酚	2.003 7	26.8	44.5	73.7	105.3	107.5	4.9
	1.994 9	56.3	73.5	129.1	99.1				1.994 9	26.7	44.5	77.0	113.0		
	2.012 5	56.8	73.5	136.9	109.0				2.012 5	27.0	44.5	72.8	103.0		
	2.015 4	56.8	73.5	127.6	96.3				2.015 4	27.0	44.5	77.6	113.7		
	1.999 3	56.4	73.5	137.3	110.1				1.999 3	26.8	44.5	72.3	102.3		
	2.006 7	56.6	73.5	101.8	112.7				2.006 7	26.9	44.5	74.8	107.7		

**2.5 样品测定** 取不同生长期的三叶青样品, 按 2.2 项下方法制备供试品, 按 2.3 项下色谱条件记录色谱图, 根据峰面积计算三叶青中绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素、山柰酚的含量。各批次样品平行测定 3 次取平均值, 测定结果见表 4。

三叶青块根在不同生长期, 8 种成分积累变化不存在一致性。绿原酸、芦丁、山柰酚-3-O-芸香糖苷和虎杖苷的含量最高在 7, 8 月份; 槲皮素的含量最高在 6 月份; 白藜芦醇和山柰酚的含量最高在 4, 5 月份; 紫云英苷的含量峰值在 11 月份。研究表明, 绿原酸、芦丁、虎杖苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、

表 4 13 批三叶青样品中 8 种成分的测定

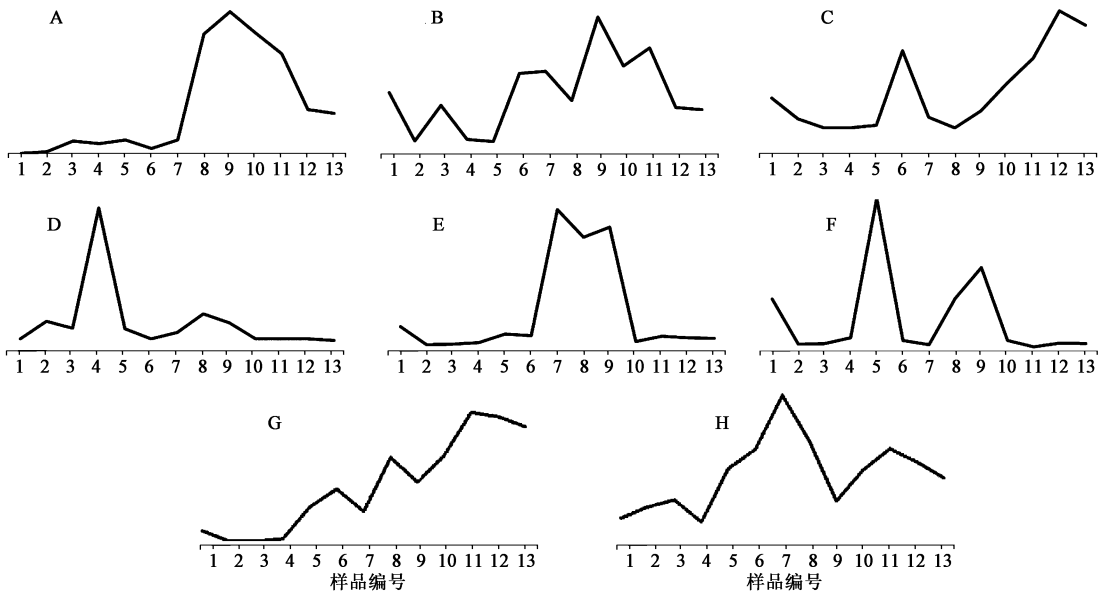
Table 4 Determination of eight constituents content in 13 batches of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix* samples  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

No.	绿原酸	芦丁	虎杖苷	山柰酚-3-O-芸香糖苷	紫云英苷	白藜芦醇	槲皮素	山柰酚
S1	18.6	12.3	0.2	32.7	13.0	5.6	8.2	13.2
S2	1.8	18.2	1.2	6.8	8.3	12.6	1.7	1.45
S3	1.0	21.8	7.6	25.7	6.2	9.8	2.0	1.6
S4	5.0	10.4	6.0	7.6	6.2	58.7	2.4	3.2
S5	56.4	38.0	8.2	6.6	6.8	9.8	5.4	39.6
S6	85.8	48.0	3.1	43.0	24.0	5.5	5.0	2.5
S7	49.3	76.1	8.2	44.0	8.6	8.2	48.8	1.3
S8	137.0	52.4	72.0	28.4	6.2	15.8	39.2	13.4
S9	96.8	21.4	85.5	73.2	10.0	12.0	42.8	21.6
S10	140.5	37.2	72.6	47.0	16.5	5.6	3.0	2.5
S11	209.6	48.4	60.4	56.8	22.4	5.6	4.7	0.8
S12	203.0	41.6	26.4	24.6	33.4	5.5	4.2	1.8
S13	187.1	33.2	24.1	23.4	30.0	5.0	4.0	1.6

白藜芦醇、槲皮素、山柰酚是三叶青抗氧化、抗炎作用的活性成分;绿原酸、山柰酚-3-O-芸香糖苷和芦丁是三叶青中抗肿瘤活性成分;紫云英苷、山柰酚、芦丁和槲皮素是三叶青中保肝、护肝,调节免疫的活性成分<sup>[17-20]</sup>。因此,不同生长期采收的三叶青化学成分具有差异,由此导致其具有的功效不同。同时也提示,对不同生长期采收后的三叶青药材进行统一的单一(类)组分测定、单一指标评价是不科学的,对三叶青的质量评价应结合多指标成分更符合实际。见图 3。

### 3 讨论

**3.1 色谱条件的选择** 本研究考察了甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液等不同比例的流动相进行梯度洗脱,结果表明采用乙腈-0.1%磷酸水溶液梯度洗脱所得的色谱图,各组分能较好地完成分离,峰型对称性好,保留时间适中,各成分色谱峰分离度最大,故流动相确定为乙腈-0.1%磷酸水溶液。



A. 虎杖苷; B. 山柰酚-3-O-芸香糖苷; C. 紫云英苷; D. 白藜芦醇; E. 槲皮素; F. 山柰酚; G. 绿原酸; H. 芦丁

图 3 不同月份三叶青中 8 种不同成分含量变化趋势

Fig. 3 Trend chart of 8 different components of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix* in different months

**3.2 检测波长的选择** 目前已有报道的对三叶青化学成分的研究波长多采用 230, 300, 365 nm<sup>[8,10]</sup>, 本研究对 8 种成分进行紫外全波长扫描,发现绿原酸、芦丁、虎杖苷和山柰酚-3-O-芸香糖苷在 230 nm 处有较大吸收,而紫云英苷、白藜芦醇、槲皮素和山柰酚在 320 nm 处吸收较强,综合考虑,在 320 nm

波长下测定 8 个成分均有较大吸收,且色谱峰对称性和分离度好,因此选择 320 nm 作为检测波长。

**3.3 样品特征图谱结果分析** 根据峰面积可以判断出三叶青块根中各组分在不同生长阶段其积累特征各不相同,但其整体变化特征呈增大至平衡后小幅下降趋势,见表 5。通过色谱图发现,大多

数组分每年 8 月份前后含量趋于最大,11 月份后有下降趋势,见图 4。部分色谱峰在单月含量较高,相邻的前后月份含量较低,这是因为这一次级

代谢产物的合成及积累受其自身遗传因素制约和环境因素的影响,三叶青受外界环境胁迫产生的应激产物<sup>[21]</sup>。

表 5 三叶青药材的 HPLC 特征图谱色谱峰相对峰面积

Table 5 HPLC characteristic peak's relative peak area of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix*

No.	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13	峰 14
S1	0.33	0.40	0.44	0.30	3.61	0.07	0.81	0.45	0.00	2.71	0.64	0.44	0.20	2.70
S2	3.89	5.60	1.89	0.50	0.18	0.26	0.52	1.00	0.52	1.29	0.73	0.33	2.00	2.11
S3	0.30	0.73	0.78	0.70	0.21	0.19	0.24	1.60	0.26	1.43	0.45	0.78	4.20	1.83
S4	0.44	0.53	0.67	1.70	0.24	0.07	0.05	0.50	0.03	2.14	0.09	0.56	0.20	1.42
S5	0.19	0.33	0.67	0.40	0.12	0.27	0.19	0.95	0.45	3.57	5.55	0.22	0.20	1.61
S6	0.56	1.60	2.89	0.90	0.27	0.34	0.43	0.65	0.52	2.00	1.18	0.89	0.20	0.22
S7	0.81	1.40	1.33	1.20	0.36	1.32	0.86	1.80	2.65	1.00	4.82	0.78	2.00	1.13
S8	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
S9	1.59	1.07	1.22	1.20	1.09	1.99	1.19	1.70	3.10	0.71	2.45	2.67	6.60	1.12
S10	1.78	1.33	1.78	1.40	2.09	1.21	1.62	4.15	2.26	0.57	1.36	1.67	3.60	1.15
S11	1.66	1.29	1.28	1.90	3.15	1.22	3.57	2.80	1.35	0.98	0.92	1.54	3.41	1.16
S12	1.59	1.33	2.11	3.80	7.12	1.00	5.38	1.85	1.13	1.43	0.73	1.67	2.00	1.12
S13	1.56	1.27	1.22	0.90	6.15	0.27	2.57	0.80	0.35	2.00	2.82	1.44	2.40	1.17

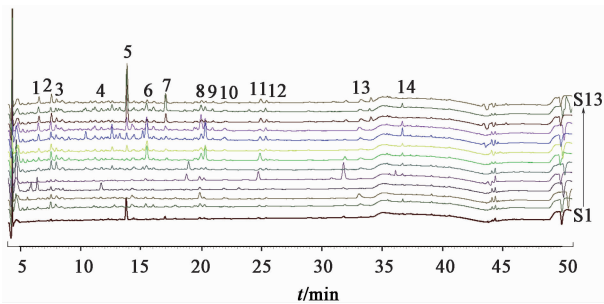


图 4 三叶青样品 HPLC-PAD 特征谱

Fig. 4 Characteristic spectrum of HPLC-PAD of *Tetrastigmatis Hemsleyani Radix* samples

#### 4 结论

目前,三叶青作为民间抗肿瘤用药,尚无法定标准对其质量进行控制。迄今相关研究仅针对已采收样品进行分析,通过测定单一组分或者单一类成分的含量作为评价和控制其质量的方法,具有片面性和不确定性。中药材生产的目标是实现产量最大化和质量最优化,而中药材的产量和其有效组分含量的动态变化往往是不一致的,这就在一定程度上增加了中药材质量评价的难度<sup>[22]</sup>。通过对不同生长期三叶青中 8 种成分的含量比较,跟踪三叶青药材中化学组分的积累规律,为三叶青药材质量的客观评价和控制提供数据支撑。通过对三叶青块根(药材)整个发育阶段中 8 种组分的积累动态进行研

究,能更全面、准确地评价三叶青药材的质量,可为三叶青的生产和质量控制提供可靠的方法依据和理论参考。

#### [参考文献]

- [1] 丁富娟,李慧芬,崔伟亮,等. 三叶青名实考辨[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(9):208-212.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 4 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:541.
- [3] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编. 上册[M]. 北京:人民卫生出版社,1975:31.
- [4] 范世明,谢心月,曾繁天,等. 三叶青叶化学成分鉴定及其总黄酮含量测定研究[J]. 药物分析杂志,2017,37(8):1481-1488.
- [5] 许文,傅志勤,林婧,等. HPLC-Q-TOF-MS 和 UPLC-QqQ-MS 的三叶青主要成分定性定量研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(22):4365-4372.
- [6] 曾美玲,沈耐涛,吴赛伟,等. 基于 UPLC-Triple-TOF/MS 方法的三叶青化学成分分析[J]. 中草药,2017,48(5):874-883.
- [7] SUN Y, LI H Y, HU J N, et al. Qualitative and quantitative analysis of phenolics in *Tetrastigma hemsleyanum* and their antioxidant and antiproliferative activities[J]. J Agric Food Chem,2013,61(44):10507-10515.

- [ 8 ] 林婧,纪明妹,黄泽豪,等. 三叶青的化学成分及其体外抗肿瘤活性研究[J]. 中国药学杂志,2015,50(8): 658-663.
- [ 9 ] 张胜强,张洪艳,黄建伟,等. Notch1 下调对三叶青黄酮抑制食管癌 EC9706 细胞迁移和侵袭的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(5):162-167.
- [10] XIONG Y, WU X W, RAO L Q. *Tetrastigma hemsleyanum* (San ye qing) root tuber extracts induces apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells[J]. J Ethnopharmacol,2015,165:46-48.
- [11] 王慧. 浙八味·神农蝴蝶谷:打造中药产业发展标杆项目[J]. 浙江经济,2018(18):29.
- [12] 张煜炯,彭昕,吉庆勇,等. 聚类分析和主成分分析法研究三叶青氯仿部位 HPLC 指纹图谱[J]. 中成药,2016,38(3):607-612.
- [13] 孙崇鲁,吴浩,楼天灵,等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析三叶青地上部分化学成分[J]. 中成药,2018,40(6): 1424-1429.
- [14] 范世明,徐惠龙,谢心月,等. 三叶青叶指纹图谱研究及 8 种酚类成分含量测定[J]. 中国中药杂志,2016,41(21):5975-3981.
- [15] 许文,傅志勤,林婧,等. UPLC-MS/MS 法同时测定三叶青中 10 种黄酮类成分[J]. 药学学报,2014,49(12):1711-1717.
- [16] HOU J J, WU W Y, LIANG J, et al. A single, multi-faceted, enhanced strategy to quantify the chromatographically diverse constituents in the roots of *Euphorbia kansui* [J]. J Pharm Biomed Anal,2014,88(6):321-330.
- [17] 赵金娟,戴雪梅,曲永胜,等. 绿原酸药效学研究进展[J]. 中国野生植物资源,2013,32(4):1-5.
- [18] 李玉山. 芦丁的资源、药理及主要剂型研究进展[J]. 氨基酸和生物资源,2013,35(3):13-16.
- [19] 王亚运,张琪. 虎杖苷的药理作用研究进展[J]. 医学综述,2017,23(5):989-991,996.
- [20] 孙涓,余世春. 槲皮素的研究进展[J]. 现代中药研究与实践,2011,25(3):85-88.
- [21] 黄璐琦,郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及道地药材的形成[J]. 中国中药杂志,2007,32(4): 277-280.
- [22] 吴发明,王盼,李敏,等. 基于 HPLC 特征图谱研究不同生长阶段麦冬有效组分积累特征[J]. 中草药,2018,49(7):1682-1687.

[责任编辑 顾雪竹]