

· 药学研究 ·

太子参药材中环肽 A、B 含量分析及其动态研究

邹立思,傅兴圣,刘训红*,巢建国,谷巍,马阳,侯娅,李艳蓉

(南京中医药大学药学院,江苏 南京 210023)

摘要:**目的** 分析不同产区、地域及采收时间太子参中环肽 A(HA)、B(HB)含量变化,为探索太子参药材品质形成过程提供基础资料。**方法** 用高效液相色谱法同时测定太子参中 HA、HB 含量。**结果** 不同产区、同一产区不同地域及不同采收时间太子参中 HA、HB 的含量存在差异,HA、HB 的动态积累具有一定规律。**结论** 不同产区太子参中 HA、HB 的含量及其比值具有差异相关性,太子参中 HA、HB 的最高积累总值时间段与传统采收期基本一致。

关键词:太子参;高效液相色谱法;太子参环肽 A;太子参环肽 B

中图分类号:R282.4

文献标志码:A

文章编号:1672-0482(2013)02-0175-04

Study on the Dynamic Change of Heterophyllin A and B in *Radix Pseudostellariae*

ZOU Li-si, FU Xin-sheng, LIU Xun-hong*, CHAO Jian-guo, GU Wei, MA Yang, HOU Ya, LI Yan-rong

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To analyze the content changes of heterophyllin A (HA) and B (HB) in *Radix Pseudostellariae* from different habitats, regions and harvest time, and to provide the basic information for exploring the quality forming process of *Radix Pseudostellariae*. **METHODS** The content of HA and HB was determined by RP-HPLC. **RESULTS** The contents of HA and HB in *Radix Pseudostellariae* from different habitats, regions and harvest time were variable. Dynamic change of HA and HB in *Radix Pseudostellariae* in different harvest time showed a regular pattern. **CONCLUSION** There are correlative differences between the content and the ratio of HA and HB in *Radix Pseudostellariae* from different habitats. The total amount of HA and HB is the highest in the traditional harvest time.

KEY WORDS:*Radix Pseudostellariae*; HPLC; HA; HB

太子参为常用大宗中药材,系石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax et Hoffm. 的干燥块根^[1],具益气健脾、生津润肺之功效,临床用于脾虚体倦、食欲不振、病后虚弱、气阴不足、自汗口渴、肺燥干咳等症,尤其是治疗小儿脾虚而食欲不佳的要药,民间常作强壮滋补品。现代研究表明,太子参含有环肽、三萜皂苷、多糖等成分,具有抗疲劳、抗缺氧、抗应激、抗衰老等药理作用,近年来在治疗肝炎、糖尿病、冠心病、心绞痛、甲亢、淋巴结核等难治病症和开发功能性保健品等方面取得了新的进展^[2-12]。研究发现,不同产区太子参中化学成分积累变异较大,尤其是环肽类化合物^[13]。本文实地采集太子参道地产区或规范化种植基地的样品,用 HPLC 法分析不同产区、同一产区不同地域

及不同采收时间太子参中 HA、HB 的积累变化,为探索太子参药材品质形成过程提供基础资料。

1 材料

Agilent 1100 液相色谱仪(自动进样器),Agilent 1100 紫外检测器;METTLER AE240 电子天平;KQ-500 B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

甲醇(分析纯,南京化学试剂有限公司,批号:081110865);甲醇(HPLC 级,南京化学试剂有限公司,批号:081020942);乙腈(色谱纯,迪玛公司,批号:821801);定量滤纸(直径 9 cm,杭州新华纸业有限公司,批号:289);实验用水均为二次蒸馏水。

太子参环肽 A、太子参环肽 B 对照品由中国科

收稿日期:2012-12-11;修稿日期:2013-02-16

基金项目:国家自然科学基金(81274016);江苏省中医药局资助项目(LZ11193);江苏高校优势学科建设工程资助项目(ysxk-2010)

作者简介:邹立思(1985—),男,浙江青田人,南京中医药大学助理实验师。*通信作者:liuxunh1959@sohu.com

学院昆明植物研究所植物化学开放实验室谭宁华研究员提供,纯度为 98% 以上。

太子参样品均为实地采集,编号为:S1、S2 依次为福建柘荣 08 年、09 年产太子参,S3~S6 依次为柘荣东源、堵平、黄柏及宅中 4 个乡镇产太子参,S7 贵州施秉产太子参,S8、S9 安徽宣城产太子参,S10~S13 依次为句容袁巷、茅山、朱巷及白龙地四个村产太子参,均为 7 月上旬采收。S14~S18 依次为 2009 年 05 月 10 日、6 月 4 日、6 月 19 日、7 月 5 日和 7 月 21 日采于句容天王镇马梗村。所有样品均经刘训红教授鉴定为石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax et Hoffm. 的干燥块根。留样凭证存放于南京中医药大学中药鉴定实验室。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, TURNER), 流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 水; 梯度洗脱条件: 0~10 min, A 相 2%→30%, B 相 98%→70%; 10~20 min, A 相 30%→45%, B 相 70%→55%; 20~25 min, A 相 45%→55%, B 相 55%→45%; 25~30 min, A 相 55%→2%, B 相 45%→98%, 30~35 min, A 相 2%, B 相 98%; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 203 nm; 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取太子参环肽 A 对照品 4.19 mg 至 100 mL 量瓶中、太子参环肽 B 对照品 11.10 mg 至 10 mL 量瓶中, 分别用甲醇定容至刻度, 作为对照品贮备液。

2.3 供试品溶液的制备^[14]

取本品粉末(过 4 号筛)2 g, 精密称定, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 30 kHz)45 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 过滤, 精密量取续滤液 25 mL, 置圆底烧瓶中, 用旋转蒸发仪浓缩至干, 残渣加甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 标准曲线的制备、检测限与定量限

分别精密吸取对照品贮备液 0.125、0.25、0.5、1、2、4 mL 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 精密吸取上述不同浓度的对照品溶液各 20.00 μL, 进样作 HPLC 分析, 以对照品的峰面积(Y)对相应的浓度(X)进行线性回归, 得回归方程、相关系

数及线性范围(图 1): HA: $Y = 55.174X - 13.257$, $r = 0.9998$; HB: $Y = 72.104X - 29.541$, $r = 0.9998$, HA、HB 分别在 0.524~16.77 μg/mL、1.388~44.40 μg/mL 呈良好的线性关系。以太子参环肽 A、B 的信噪比等于 3($S/N=3$)时的相应浓度确定最低检测限(LOD)分别为 0.114 1 μg/mL、0.163 6 μg/mL; 以太子参环肽 A、B 的信噪比等于 10($S/N=10$)时的相应浓度确定最低定量限(LOQ)分别为 0.387 9、0.556 1 μg/mL。

2.5 系统适用性试验

在选定的条件下注入对照品液, 按 $n=5.54(t_R/W_{h/2})^2$ 分别计算色谱柱理论板数 n ; 按 $R=2(t_{R2}-t_{R1})/(W_1+W_2)$ 分别计算分离度 R 。太子参环肽 A、B 的保留时间(min)分别为 22.508 3、19.325 0, 理论板数分别为 70 225、17 615, 分离度为 1.71, 达到相关要求。见图 1。

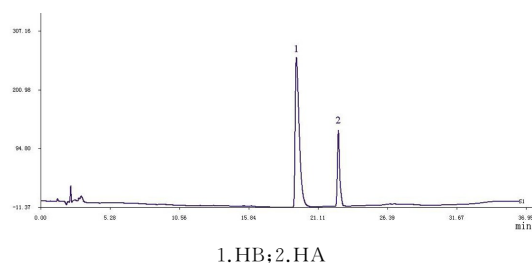


图 1 太子参环肽 A、B 混合对照品 HPLC 色谱图

2.6 方法学考察

精密度试验: 取含太子参环肽 A、B 浓度分别为 16.77、44.40 μg/mL 的混标溶液, 重复进样 5 次, 记录峰面积, 计算太子参环肽 A、B 含量 RSD 分别为 1.28%、1.34%。

稳定性试验: 取样品(S18)溶液, 分别于 1、2、4、8、12、16 h 在上述色谱条件下进样测定, 记录峰面积, 计算太子参环肽 A、B 含量的 RSD 分别为 1.91%、1.72%。样品 S18 为在传统采收期采自太子参道地产区句容, 故作为方法学考察样品用。

重现性试验: 精密称取样品(S18)2.0 g, 5 份, 依法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进样测定, 记录峰面积, 计算太子参环肽 A、B 含量的 RSD 分别为 2.31%、1.63%。

加样回收试验: 精密称取样品(S18)1.0 g, 5 份, 加入相同含量的对照品溶液, 按上述方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件进行 HPLC 分析, 计算回收率。太子参环肽 A 的平均回收率($n=5$)为 99.15%, RSD 为 2.07%; 太子参环肽 B 的平均回收率($n=5$)为 99.70%, RSD 为 2.95%。见表 1~2。

表 1 太子参环肽 A 加样回收试验结果(n=5)

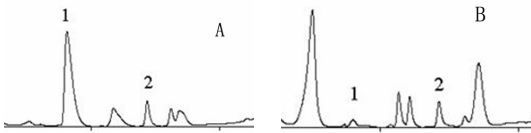
编号	样品量/g	样品中含量/ μg	加入量/ μg	实测值/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	1.0056	33.8	35.1	69.4	102.67		
2	1.0042	33.7	35.1	68.3	99.57		
3	1.0046	33.8	35.1	68.1	97.05	99.15	2.07
4	1.0045	33.8	35.1	69.3	101.82		
5	1.0041	33.7	35.1	67.7	103.39		

表 2 太子参环肽 B 加样回收试验结果(n=5)

编号	样品量/g	样品中含量/ μg	加入量/ μg	实测值/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	1.0056	165.8	160.0	328.7	100.32		
2	1.0042	165.6	160.0	323.4	102.36		
3	1.0046	165.7	160.0	330.4	99.62	99.70	2.95
4	1.0045	165.6	160.0	321.9	104.11		
5	1.0041	165.6	160.0	330.1	98.47		

2.7 样品测定

精密吸取供试品溶液 20.00 μL ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件,采用外标法进行测定。根据相应线性关系计算样品中 HA、HB 的含量(图 2,表 3)。分别对不同产区、同一产区不同地域及不同采收时间太子参中 HA、HB 的含量作图分析。见图 3~5。



A.江苏句容太子参 B.福建柘荣

图 2 太子参样品 HPLC 色谱图

表 3 太子参环肽 A、B 含量测定结果(% ,n=2)

编号	HA	HB	编号	HA	HB
S1	0.003 3	0.000 7	S10	0.001 1	0.013 5
S2	0.003 0	0.000 7	S11	0.002 4	0.020 2
S3	0.003 3	0.000 7	S12	0.001 0	0.015 2
S4	0.003 0	0.000 8	S13	0.001 1	0.017 4
S5	0.003 2	0.001 5	S14	0.003 4	0.018 3
S6	0.003 3	0.001 7	S15	0.003 8	0.014 6
S7	0.000 9	0.014 0	S16	0.002 7	0.018 3
S8	0.001 9	0.014 1	S17	0.003 5	0.016 0
S9	0.002 4	0.016 3	S18	0.003 4	0.016 5

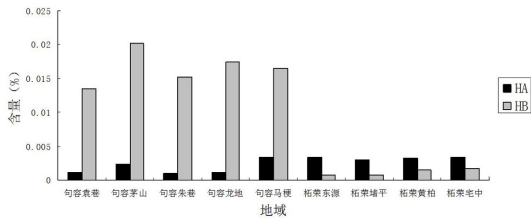


图 3 不同产地太子参中 HA、HB 含量变化

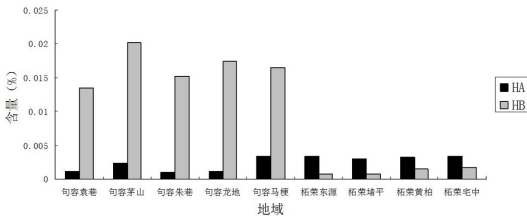


图 4 同一产区不同地域太子参中 HA、HB 含量变化

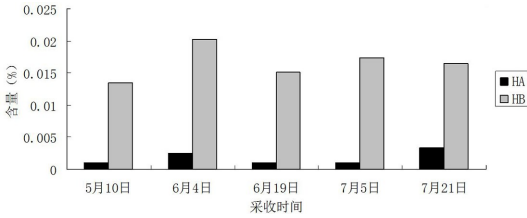


图 5 不同采收时间太子参中 HA、HB 含量变化

3 讨论

实验结果表明,不同产区太子参中太子参环肽 A、B 的含量存在差异。环肽 A、B 总量,江苏句容最高,安徽宣城、贵州施秉次之,福建柘荣最低;环肽 A 含量,福建柘荣>江苏句容>安徽宣城>贵州施秉;环肽 B 含量,江苏句容>安徽宣城>贵州施秉>福建柘荣;A、B 之比值,江苏句容 1 : 12,安徽宣城 1 : 7,贵州施秉 1 : 14,福建柘荣 1 : 0.3。这可能与太子参种质、产区栽培习惯或产区的气候、土壤等生态环境有关,还有待于进一步深入研究。

同一产区不同地域太子参中环肽 A、B 的含量具有一定差异。环肽 A、B 总量,江苏句容产区以茅山、马梗为高,其中环肽 A 以马梗最高,环肽 B 以茅山最高,与句容产区其它三个取样地相比,马梗与茅山的海拔较高,但马梗与茅山因坡向导致的光照强度有明显差异;福建柘荣以宅中、黄柏为高,且环肽 A、B 的动态积累呈正相关,柘荣产区不同取样点也

同样存在海拔,坡向的显著差异。因此同一产区太子参环肽 A、B 的含量差异可能与产区的光照强度、昼夜温差等小环境有关。

不同采收时间太子参中太子参环肽 A、B 的动态积累呈现规律性变化,环肽 A、B 的动态积累呈负相关,环肽 A、B 的总量无明显差异,科学采收太子参,既要考虑太子参环肽 A、B 等指标物质的含量,又要考虑太子参药材的生物产量,故民间以 6、7 月作为太子参的传统采收期。

本实验以太子参道地产区或规范化种植基地为研究对象,用 HPLC 法分析不同产区、同一产区不同地域及不同采收时间太子参中 HA、HB 的积累变化,为探索太子参药材品质形成过程提供基础资料。

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:化学工业出版社, 2010:67.
ChPC. Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China: Volume 1[S]. Beijing: Chemical industry press, 2010: 67.
- [2] 谭宁华,周俊.太子参中新环肽-太子参环肽 C[J].云南植物研究, 1995, 17(1):60.
Tan NH, Zhou J. A new cyclopeptide from pseudostellaria heterophylla[J]. Acta botanica Yunnanica, 1995, 17(1): 60.
- [3] 丁中涛,周俊,谭宁华,等.石竹科植物环肽研究进展[J].化学研究与应用,1999, 11(5):492-494.
Ding ZT, Zhou J, Tan NH, et al.Progress in chemistry of cyclic peptides from plants of caryophyllaceae[J]. Chemic Res Applic, 1999, 11(5): 492-494.
- [4] 刘训红,阚毓铭,王玉玺.太子参多糖的研究[J].中草药,1993, 24(3):119-121.
Liu XG, Kan YM, Wang YX. Study on polysaccharides from pseudostellaria heterophylla[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 1993, 24(3): 119-121.
- [5] 李滢,杨秀伟.太子参(柘荣 1 号)的化学成分研究[J].中国中药杂志,2008, 33(20):2353-2355.
Li Y, Yang XW.Studies on chemical constituents of root tuber of cultivated Pseudostellaria heterophylla (Zheshen No.1)[J]. Chin J Chin Mater Med, 2008, 33(20): 2353-2355.
- [6] 王喆星,徐绥绪,张国刚,等.太子参化学成分的研究(IV)[J].中国药物化学杂志,1992, 2(3):65-67.

- Wang ZX, Xu SX, Zhang GG, et al.Study on the chemical constituents of pseudostellaria heterophylla (MIQ.)[J]. Chin J Med Chem, 1992, 2(3): 65-67.
- [7] 王玉玺,刘训红,李汉宝,等.太子参补益作用机理的探讨[J].南京部队医药,1992(5):21-22.
Wang YX, Liu XG, Li HB, et al.Discussion on enriching mechanism of pseudostellaria heterophylla[J]. Nanjing Army Med, 1992(5): 21-22.
- [8] Sheng R, Xu X, Tang Q, et al. Polysaccharide of radix pseudostellariae improves chronic fatigue syndrome induced by poly I:C in mice[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011(4): 840516.
- [9] 刘训红,陈彬,王玉玺.太子参多糖抗应激和免疫增强作用实验研究[J].江苏中医,2000, 21(10):51-57.
Liu XG, Chen B, Wang YX.Experimental study of stress resistance and immune enhancement effect of pseudostellaria polysaccharide[J]. Jiangsu J Tradit Chin Med, 2000, 21(10): 51-57.
- [10] 刘维俊,黄光才,叶小青,等.太子参胶囊的药效学研究[J].中药新药与临床药理,1994, 5(3):51,58.
Liu WJ, Huang GC, Ye XQ, et al.Study on the pharmacodynamics of pseudostellaria heterophylla capsule[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharm, 1994, 5(3): 51,58.
- [11] 刘训红,陈彬,王玉玺.太子参总皂苷药理作用的初步研究[J].江苏药学与临床研究,2000, 8(3):6-8.
Liu XG, Chen B, Wang YX.Preliminary Studies on Pharmacological Action of Total Saponins from Radix Pseudostellariae [J]. Jiangsu Pharm Clin Res, 2000, 8(3): 6-8.
- [12] 倪受东,夏伦祝,徐先祥,等.太子参多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠的治疗作用[J].安徽医药,2010, 14(5):521-522.
NI SD, XIA LZ, XU XX, et al. Effect of pseudostellaria polysaccharides in diabetic mice by alloxan[J]. Anhui Med Pharm J, 2010, 14(5): 521-522.
- [13] 杨亚滨,谭宁华,许文彦,等.中药太子参中环肽 A 和 B 含量测定的 HPLC 方法研究[J].云南中医学院学报,2009, 32(6):33-36.
YANG YB, TAN NH,XU WY, et al. Content determination of heterophyllin a and B in pseudostellaria heterophylla by HPLC methods[J]. J Yunnan Univer Tradit Chin Med, 2009, 32(6): 33-36.
- [14] 刘训红,韩乐,王丽娟,等.太子参药材质量标准研究[J].中国药房,2010, 21(19):1769-1771.
Liu XG, Han L, Wang LJ, et al.Study on Quality Standards of Pseudostellaria heterophylla[J]. Chin Pharm, 2010, 21(19): 1769-1771.

(编辑:董宇)