

不同品种不同采收期太子参中太子参环肽 Pseudostellarin B 含量的比较

韩超¹, 陈军辉^{2,3}, 康海宁¹, 王小如^{1,2*}, 黎先春²

(1. 厦门大学化学化工学院·现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005;

2. 国家海洋局第一海洋研究所·青岛现代分析技术及中药标准化重点实验室, 山东 青岛 266061;

3. 中国海洋大学化学化工学院, 山东 青岛 266003)

摘要:目的 分析比较不同品种不同采收期太子参环肽 Pseudostellarin B 的含量, 为合理开发利用太子参的植物资源提供参考。方法 不同品种不同采收期太子参经提取制备后, 采用高效液相色谱测定太子参环肽 Pseudostellarin B 的含量。结果 一号品种不同采收期太子参中 Pseudostellarin B 的平均含量为 198.1 μg/g, 二号品种不同采收期太子参中 Pseudostellarin B 的平均含量为 105.8 μg/g。结论 不同品种不同采收期太子参中 Pseudostellarin B 的含量有差异。

关键词:太子参; 环肽 Pseudostellarin B

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-0805(2007)04-0824-02

Comparison on Pseudostellarin B (Cyclic peptide) Content in Different Kinds/Harvest Time of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax

HAN Chao¹, CHEN Jun-hui^{2,3}, KANG Hai-ning¹, WANG Xiao-ru^{1,2*}, Frank Sen-Chun Lee²

(1. Department of Chemistry and the Key Laboratory of Analytical Science of the MOE, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Qingdao Key Lab of Analytical Technology Development and Standardization of Chinese Medicines, First Institute Oceanography of SOA, Qingdao 266061, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao, 266006, China)

Abstract: Objective To compare the Pseudostellarin B content in different kinds and harvest time of *Pseudostellaria heterophylla* and provide reference for rational exploiting and utilizing the plant. **Methods** After extraction, Pseudostellarin B (cyclic peptide) in different kinds/harvest time of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax were determined by Agilent 1100 HPLC. **Results** The average contents of Pseudostellarin B in No. 1 and No. 2 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax were 198.1 μg/g, 105.8 μg/g, respectively. **Conclusion** There are differences among the contents of Pseudostellarin B in different kinds of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax.

Key words: *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax; Pseudostellarin B

太子参系常用中药, 它为石竹科 (Caryophyllaceae) 植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax 的干燥块根。太子参具有益气健脾、生津润肺之功效, 临床用途广泛^[1]。Pseudostellarin B 具有抑制酪氨酸酶和黑色素产生的活性^[2]。不同品种不同采收期的太子参所含化学成分差异较大, 本研究选用不同品种不同采收期的太子参进行 Pseudostellarin B 含量的测定, 为合理开发、利用太子参提供实验依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国, Agilent); 四元泵, DAD 二极管阵列检测器, 脱气机, 自动进样器; SK3200LH 型超声波清洗器 (上海超声波仪器有限公司)。

1.2 试剂 Pseudostellarin B 对照品 (本实验室分离纯化所得); 乙腈 (色谱纯, MERCK 公司), 实验用水为 Milli-Q 超纯水, 其它试剂为分析纯。太子参样品均采自福建省柘荣县, 由厦门倍尔思生化科技有限公司提供 (粉碎, 过 60 目筛, 60 ℃ 烘干)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制 精密称取 10.0 mg Pseudostellarin B 对照品, 放入 10 ml 容量瓶中, 用甲醇溶解定容制成 1 mg/ml 的储备液。

2.2 供试品溶液 供试样品 (粉碎, 过 60 目筛) 在 50 ℃ 烘箱中干燥 12 h, 称取 1.0 g 样品, 用 50 ml 甲醇超声辅助提取 45 min, 过滤, 滤液经旋转蒸发仪真空浓缩至干, 用甲醇溶解定容到 10 ml 容量瓶中, 过 0.45 μm 滤膜后作为供试品溶液。

2.3 色谱条件 色谱柱为大连依利特公司 SinoChrom ODS-BP (4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相 A: 水, 流动相 B: 乙腈; 流速为 1.0 ml/min; 梯度洗脱条件为: 0 min, 2% B; 10 min, 10% B; 30 min, 45% B; 35 min, 45% B; 柱温: 30 ℃。在此条件下, 对照品和样品的色谱图见图 1, 峰 1 为环肽 Pseudostellarin B。

2.4 标准曲线的绘制 取上述 Pseudostellarin B 对照品溶液, 在上述色谱条件下进行 HPLC 分析, 分别进样 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 μl, 按色谱条件确定峰面积积分值, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 浓度 (X) 为横坐标, 绘制标准吸收曲线, 进行回归处理, 回归方程为 $Y = 3.302 \times 10^4 X + 93.02$, $r = 0.9995$, 表明 Pseudostellarin B 在进样量为 0.50 ~ 20 μg 范围内具有良好的线性关系。

2.5 最低检出限实验 在本色谱条件下, 使 Pseudostellarin B 峰高为仪器响应噪声的 3 倍高, 测得 Pseudostellarin B 的最低检出量约为 3.2 ng。

2.6 精密度实验 精密吸取上述一定浓度 Pseudostellarin B 对照品溶液, 在上述色谱条件下重复进样 5 次, 测得峰面积, 计算相对

收稿日期: 2006-05-18; 修订日期: 2006-12-18

基金项目: 福建省科委创新药物与中药现代化项目 (No. 2001BA701A61-13); 国家科技部攻关项目 (No. 2003BA759C)

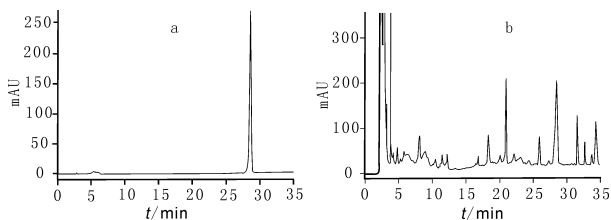
作者简介: 韩超 (1977-), 男 (汉族), 江苏淮安人, 现为厦门大学化学系在读博士研究生, 硕士学位, 主要从事中草药有效成分的提取研究、分离和质量标准研究。

*通讯作者简介: 王小如 (1949-), 女 (汉族), 辽宁大连人, 现任厦门大学教授, 主要从事分析化学中药现代化工作。

标准偏差, Pseudostellarin B峰面积积分值 $RSD = 0.46\%$,说明仪器的精密性良好。

2.7 稳定性实验 取配制好的样品溶液,分别于 2, 8, 12, 16, 24h 在上述色谱条件下进行测定,结果 $RSD = 1.64\%$,该样品溶液 24h 内稳定。

2.8 重现性实验 精密称取同一份样品 5 份,按上述方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析,测的 Pseudostellarin B 的峰面积,计算相对标准偏差,结果 $RSD = 1.75\%$,表明该方法的重现性良好。



a-Pseudostellarin B b太子参药材 1. Pseudostellarin B

图 1 对照品峰的液相色谱图

2.9 回收率实验 采用加样回收法,精密称取已知含量的太子参样品 6 份,分别加入一定量的对照品溶液,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,结果见表 1。Pseudostellarin B 的平均回收率 ($n = 6$) 为 97.68% , RSD 为 2.37% 。结果表明方法的回收率好,方法可行。

表 1 回收率测定结果

样品编号	样品量 $m/\mu\text{g}$	加入量 $m/\mu\text{g}$	实测量 $m/\mu\text{g}$	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	4.82	5.00	9.70	97.6	99.8	1.34
2	5.34	5.00	10.26	98.4		
3	17.16	20.00	38.06	104.5		
4	17.62	20.00	38.38	103.8		
5	87.47	90.00	174.50	96.7		
6	88.58	90.00	176.33	97.5		

2.10 样品含量测定 取不同品种、不同采收日期的太子参,按上述制备供试品溶液,在上述色谱条件进行 HPLC 分析,将测得的峰面积代入所得出的回归方程,计算 Pseudostellarin B 的含量,结果见表 2~3、图 2~3。

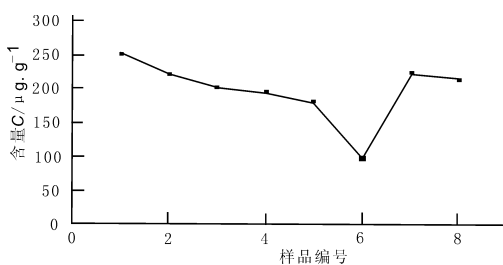


图 2 一号品种不同采收期太子参中 Pseudostellarin B 的含量

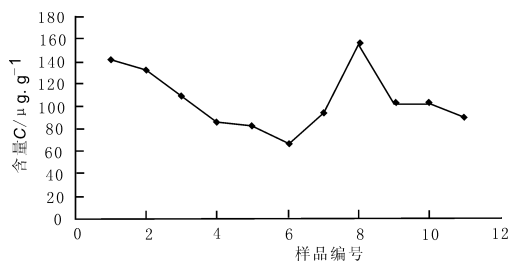


图 3 二号品种不同采收期太子参中 Pseudostellarin B 的含量

表 2 一号品种不同采收期太子参中 Pseudostellarin B 的含量

样品编号	采收日期	Pseudostellarin B 的含量 $C/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD (%)
01	2005-05-25	250.7	1.54
02	2005-06-05	224.1	2.49
03	2005-06-10	202.6	1.83
04	2005-06-15	193.7	2.61
05	2005-06-21	179.1	2.68
06	2005-06-30	98.9	2.65
07	2005-07-05	221.6	2.32
08	2005-07-10	214.3	1.97

表 3 二号品种不同采收期太子参中 Pseudostellarin B 的含量

样品编号	采收日期	Pseudostellarin B 的含量 $C/\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD (%)
01	2005-05-14	142.5	1.81
02	2005-05-20	132.7	2.16
03	2005-05-25	109.1	1.93
04	2005-05-30	86.4	2.34
05	2005-06-05	82.7	2.27
06	2005-06-10	67.1	2.86
07	2005-06-16	94.2	3.06
08	2005-06-21	157.9	1.67
09	2005-06-30	103.6	2.45
10	2005-07-05	96.9	2.24
11	2005-07-10	91.1	2.38

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择 选择甲醇、60%乙醇、80%乙醇和 80%甲醇为溶剂,精密称取等量的同一样品,超声提取 45 min,进行 HPLC 测定,结果表明:甲醇提取效果最好, Pseudostellarin B 提出率高,且杂质峰干扰少,故选择甲醇为提取溶剂。

3.2 检测波长的确定 Pseudostellarin B 对照品溶液在 200 ~ 400 nm 范围扫描,结果在 203 nm 处有最大吸收峰,故本研究选择 203 nm 为检测波长。

3.3 不同品种、不同采收日期的太子参中 Pseudostellarin B 的含量差异明显,1 号品种不同采收期太子参中太子参环肽 Pseudostellarin B 的含量在不同采收日期是不同的,含量在 $98.9 \sim 250.7 \mu\text{g/g}$ 之间,平均含量是 $198.1 \mu\text{g/g}$,在采收初期和末期较高;2 号品种不同采收期太子参中太子参环肽 Pseudostellarin B 的含量在不同采收日期也是不同的,含量在 $67.1 \sim 157.9 \mu\text{g/g}$ 之间,平均含量是 $105.8 \mu\text{g/g}$,在采收初期和末期较高。尽管 2 号品种中 Pseudostellarin B 的含量要比相应的一号品种中的 Pseudostellarin B 含量要低,但是 Pseudostellarin B 的含量随着采收日期的变化趋势和在一号品种中变化趋势相似,其原因还有待进一步研究。

药材的合理采收对于确保药材质量、保护和扩大药物资源有着十分重要的作用。本文的研究结果表明,根据 2005 年样品的初步分析结果可以看出,1 号、2 号太子参中 Pseudostellarin B 含量分别在 5 月中下旬和 6 月底 7 月初比较高。科学采收太子参,既要考虑 Pseudostellarin B 含量,又要考虑太子参药材的生物产量,所以建议太子参采收期在 6 月底或 7 月初比较合理。本实验结果为民间在 6 月底或 7 月初采收太子参药材的经验提供了理论依据。本文对 1 个生产周期的样品进行了测定,实验结果有待于今后长期的进一步监测证实。

致谢:衷心感谢厦门倍尔思生化科技有限公司对本工作的大力支持。

参考文献:

[1] 李仕海,刘训红.江苏地产太子参中氨基酸及微量元素的分析[J].时珍国医国药,2001,12(3):199.
 [2] Hiroshi M, Takashi K, Hideyuki K, Hideji I. Pseudostellarins A - C, new tyrosinase inhibitory cyclic peptides from Pseudostellaria heterophylla [J]. Phytochemistry, 1994, 50: 6797.