

湖南产颠茄草不同生长期 8 个成分的动态变化及不同部位分布特征

张文婷¹, 张春阳², 黄伟³, 程维明¹, 黄琴伟¹, 岳超¹

1. 浙江省食品药品检验所, 浙江 杭州 310004

2. 烟台鲁银药业有限公司, 山东 烟台 264002

3. 浙江医学高等专科学校, 浙江 杭州 310053

摘要: 目的 考察颠茄草不同生长期 8 种化合物的动态变化, 探索各成分在不同部位的分布。方法 采用反相高效液相色谱法-二极管阵列检测器, 以乙腈-0.05%磷酸溶液为流动相梯度洗脱, 同时测定东莨菪苷、绿原酸、槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、东莨菪内酯和芦丁的量, 并比较各成分在不同生长期的变化和在不同部位的分布。结果 各成分在整个植株中的总量随植株的生长呈上升趋势, 但不同成分增长速率不同, 大部分成分在 6 月中下旬达到平衡; 东莨菪苷主要分布在根部, 绿原酸以叶和花中量较高, 东莨菪内酯各部位分布较均匀, 其他 5 种成分在叶和花中量较高, 根部几乎不含。结论 颠茄草中各成分生长速率不同, 且各部位分布不同, 各成分量存在较大差异。

关键词: 颠茄草; 不同生长期; 药用部位; 高效液相色谱法; 东莨菪苷; 绿原酸; 槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷; 槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷; 山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷; 山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷; 东莨菪内酯; 芦丁

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)22-4072-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.22.023

Dynamic accumulations and distributions of eight chemical constituents of Hunan *Belladonnae Herba* in various parts and different growing periods

ZHANG Wen-ting¹, ZHANG Chun-yang², HUANG Wei³, CHENG Wei-ming¹, HUANG Qin-wei¹, YUE Chao¹

1. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China

2. Yantai Luyin Pharmaceutical Co., Ltd., Yantai 264002, China

3. Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To investigate the dynamic accumulations and distributions of eight chemical compounds of *Belladonnae Herba* in different growing periods and explore the distribution of each ingredient in various parts. **Methods** The detection was performed by RP-HPLC with diode array detector (DAD). The mobile phase was acetonitrile-0.05% phosphonic acid in gradient elution. The HPLC method was established for the simultaneous determination of the eight compounds, such as scopolin, chlorogenic acid, quercetin-3-*O*-galactose (6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside, quercetin-3-*O*-glucose (6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside, kaempferol-3-*O*-galactose (6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside, kaempferol-3-*O*-glucose-(6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside, scopoletin, and rutin, and also for the comparison on the changes of each ingredient in different growing periods and distribution in various parts. **Results** The total amount of each ingredient in the whole plant increased along with its growth. However, each ingredient had different rate of increase, in addition, most compounds would reach to a balance of accumulation in the middle or the last third of June. The analysis results showed scopolin mainly distributed in the roots, while chlorogenic acid had a higher distribution in the leaves and flowers; Scopoletin distributed evenly among all parts in the plant, and the others possessed a higher distribution among the leaves and flowers, however, there was scarce distribution in the roots. **Conclusion** Each ingredient of *Belladonnae Herba* has different rate of increase and different distribution in each part, resulting in comparatively large difference of each compound. The experimental data of this research could provide the basis for the implantation, harvest and collection, and quality evaluation of *Belladonnae Herba*.

Key words: *Belladonnae Herba*; different growing periods; medicament parts; HPLC; scopolin; chlorogenic acid; quercetin-3-*O*-galactose-(6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside; quercetin-3-*O*-glucose-(6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside; kaempferol-3-*O*-galactose-(6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside; kaempferol-3-*O*-glucose-(6→1) rhamnose-7-*O*-glucoside; scopoletin; rutin

收稿日期: 2016-04-19

作者简介: 张文婷, 主任药师, 硕士生导师, 主要研究方向为中药质量评价与新药研究。

Tel: (0571)86459425 13757170891 E-mail: leozhwt@163.com

颠茄草 *Belladonnae Herba* 为茄科植物颠茄 *Atropa belladonna* L. 的全草, 为引种品, 原产地为欧洲, 由于气候条件的局限, 国内仅有少数省市栽培, 目前主要集中在山东、湖南, 其他地区有少部分种植。湖南产颠茄草于立春移苗大田, 当年6月中下旬采收。颠茄草的主要活性成分有生物碱、黄酮、香豆素等, 颠茄草乙醇提取物被广泛应用于内服与外用制剂中, 用于胃及十二指肠溃疡、风湿性关节炎、跌打损伤、筋骨疼痛等, 现代研究显示东莨菪苷、东莨菪内酯、黄酮类成分具有镇痛抗炎等作用^[1-4], 莨菪类生物碱具有平喘、镇痛、解痉等作用^[5-6]。由于气候条件不同, 各产地的种植与采收季节存在较大差异。国内颠茄草种植采收与成分间的研究鲜有报道, 笔者曾对颠茄草中生物碱的动态变化和分布进行了探索^[7], 为了进一步探索国产颠茄草多成分在生长过程中的动态变化和在不同部位的分布特征, 为颠茄草的种植采收及其制剂的质量评价奠定物质基础, 本实验测定了湖南产颠茄草种植基地不同生长期颠茄草中除生物碱外的8个成分的量及其在不同部位的分布。

1 仪器与材料

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪 (G1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样仪, G1316A 柱温箱, G1314A 紫外检测器, Chemstation 色谱工作站); 甲醇为色谱纯 (德国 Merck 公司), 水为注射用水, 其他试剂均为分析纯。

绿原酸 (批号 110753-200413)、东莨菪内酯 (批号 110768-200504) 和芦丁 (批号 100080-200707) 对照品均购自中国食品药品检定研究院; 东莨菪苷、槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷均为自制, 质量分数>98%。颠茄草采自湖南永州地区新田县颠茄草种植基地, 经浙江省食品药品检验研究院郭增喜主任中药师鉴定, 均为茄科植物颠茄 *Atropa belladonna* L. 的全草。收集同一种植基地不同生长时间 (5月5日、5月14日、5月24日、6月14日、6月24日、6月29日) 植株进行不同生长期成分比较, 收集不同种植基地完整植株共5批 (S1~S5) 作为不同产地及不同部位的比较。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Welch XB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱

柱; 流动相为甲醇 (A)-0.05%磷酸水 (B) 溶液, 梯度洗脱, 0~5 min, 3%~15% A; 5~60 min, 15%~60% A。柱温 30 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 344 nm; 进样量 10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取以五氧化二磷为干燥剂减压干燥 24 h 的东莨菪苷、绿原酸、槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、东莨菪内酯和芦丁对照品适量, 加 50%甲醇制成混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取颠茄草粉末 0.8 g, 精密称定, 精密加入 50%甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 400 W, 频率 58 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50%甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 标准曲线

以峰面积为纵坐标 (Y), 以进样量为横坐标 (X), 进行回归分析, 得东莨菪苷、绿原酸、槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、东莨菪内酯和芦丁回归方程分别为 $Y=1.504X-0.090$, $r^2=1.0000$; $Y=2.137X-3.389$, $r^2=1.0000$; $Y=1.402X-3.488$, $r^2=0.9999$; $Y=1.257X+2.300$, $r^2=1.0000$; $Y=1.357X+23.342$, $r^2=0.9999$; $Y=1.378X-60.630$, $r^2=0.9997$; $Y=3.821X+0.864$, $r^2=1.0000$ 和 $Y=1.555X-6.698$, $r^2=1.0000$; 其线性范围分别为 11.08~498.96 ng、14.57~2 040 ng、32.04~4 486 ng、53.00~1 484 ng、99.84~4 992 ng、43.20~6 048 ng、4.450~278.0 ng、25.23~3 532 ng。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 分别精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 以峰面积值为指标计算 RSD, 考察方法精密度, 结果东莨菪苷、绿原酸、槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、东莨菪内酯和芦丁的 RSD 分别为 0.63%、0.14%、0.12%、0.08%、0.10%、

0.11%、0.22%和 0.06%，表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性试验 按照“2.2.2”方法制备供试品(S1)溶液 6 份，分别测定 8 种成分的量，计算 RSD，考察方法重复性，测得东莨菪苷、绿原酸、槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、东莨菪内酯和芦丁的量依次为 0.411、0.375、0.907、1.294、2.381、1.105、0.115、0.687 mg/g，RSD 为 2.58%、1.42%、0.73%、0.93%、0.69%、0.80%、0.67%、0.90%，表明本实验方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取重复性试验供试品(S1)溶液，分别间隔 0、2、5、18、36 h 进样分析，以峰面积为指标计算 RSD，考察供试品溶液稳定性，结果上述各成分峰面积的 RSD 分别为 2.55%、2.18%、0.69%、0.91%、0.42%、1.21%、1.42%和 0.99%，表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

2.4.4 加样回收率试验 取已测定的供试品(S1)，采用 3 个浓度水平，精密加入混合对照品溶液，按照“2.2.2”方法制备供试品溶液，分别测定各成分的量并计算回收率，结果东莨菪苷、绿原酸、槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、东莨菪内酯和芦丁加样回收率分别为 101.4%、95.0%、97.3%、96.7%、98.3%、101.2%、103.4%和 101.3%，RSD 分别为 2.51%、2.63%、2.04%、1.89%、1.87%、2.09%、2.00%和 2.29%，说明本法的准确度良好。

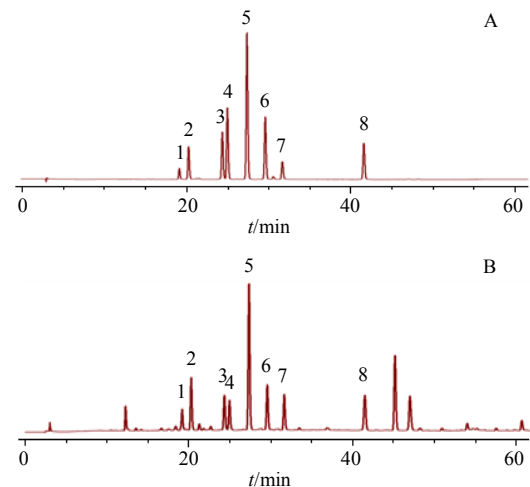
2.5 不同生长期和不同产地及不同部位各成分量比较

测定不同生长期颠茄草全草和采收期颠茄草不同批次药材不同部位东莨菪苷、绿原酸、槲皮素-3-*O*-

半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷、东莨菪内酯和芦丁的量，色谱图见图 1。结果见表 1、2。

3 讨论

颠茄草植株质量随生长时间呈上升趋势。东莨菪苷和东莨菪内酯质量分数在生长过程中呈上升趋势，5 月下旬达到高峰后下降，但整个植株中总量呈上升趋势；绿原酸量在生长过程中呈上升趋势，6 月下旬达到高峰；槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李



1-东莨菪苷 2-绿原酸 3-槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷 4-槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷 5-山柰素-3-*O*-半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷 6-山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷 7-东莨菪内酯 8-芦丁
1-scopolin 2-chlorogenic acid 3-quercetin-3-*O*-galactose-(6 → 1) rhamnose-7-*O*-glycosidase 4-quercetin-3-*O*-glucose-(6 → 1) rhamnose-7-*O*-glycosidase 5-kaempferide-3-*O*-galactose-(6 → 1) rhamnose-7-*O*-glycosidase 6-kaempferide-3-*O*-glucose-(6 → 1) rhamnose-7-*O*-glycosidase 7-scopoletin 8-rutin

图 1 对照品 (A) 和样品 (B) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of *Belladonna Herba*

表 1 颠茄草不同生长期 8 种成分测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Determination of contents in *Belladonna Herba* in different growing periods ($n = 3$)

采收时间	植株平均质量/g	质量分数(mg·g ⁻¹)							
		东莨菪苷	绿原酸	槲皮素-3- <i>O</i> -半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	山柰素-3- <i>O</i> -半乳糖-(6→1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	山柰素-3- <i>O</i> -葡萄糖-(6→1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	东莨菪内酯	芦丁
05-05	26.2	0.016	0.124	0.357	0.295	2.665	0.799	0.146	0.686
05-14	41.1	0.192	0.155	0.501	0.394	0.971	0.317	0.366	0.942
05-24	80.6	0.392	0.300	0.434	0.318	2.030	0.487	0.470	0.508
06-14	151.7	0.135	0.296	0.638	0.654	1.831	1.810	0.171	0.515
06-24	308.5	0.275	0.423	0.471	0.429	0.885	0.373	0.172	0.892
06-29	423.6	0.166	0.192	0.246	0.231	1.136	0.359	0.138	0.595

表 2 颠茄草不同产地及不同部位各成分测定结果 ($n=3$)Table 2 Determination of contents in *Belladonna Herba* in various parts ($n=3$)

编号	部位	质量分数($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)						东莨菪内酯	芦丁
		东莨菪苷	绿原酸	槲皮素-3- <i>O</i> -半乳糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	槲皮素-3- <i>O</i> -葡萄糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	山柰素-3- <i>O</i> -半乳糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷	山柰素-3- <i>O</i> -葡萄糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7- <i>O</i> -葡萄糖苷		
S1	根	0.686	0.034	—	—	—	—	0.186	0.000
	茎	0.247	0.017	0.214	0.376	0.264	0.150	0.090	0.073
	叶	0.079	0.449	1.175	1.478	7.602	2.749	0.260	0.470
	果	0.108	0.020	0.072	0.271	0.112	0.108	0.252	0.458
S2	根	0.954	0.053	—	—	—	0.019	0.313	0.000
	茎	0.095	0.017	0.204	0.473	0.266	0.271	0.062	0.176
	叶	0.024	0.567	1.666	2.193	5.052	2.313	0.119	1.628
	果	0.041	0.173	0.350	0.653	0.457	0.284	0.249	0.690
S3	根	0.324	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.150	0.000
	茎	0.185	0.010	0.030	0.042	0.046	0.023	0.110	0.057
	叶	0.017	0.104	0.227	0.139	1.339	0.207	0.112	1.006
	果	0.045	0.035	0.024	0.029	0.042	0.000	0.188	0.234
S4	根	0.462	0.123	—	—	—	—	0.375	0.000
	茎	0.080	0.023	0.121	0.162	0.127	0.088	0.086	0.063
	叶	0.028	0.876	2.272	2.159	7.617	7.783	0.191	1.362
	花	0.051	1.889	1.809	2.390	2.050	1.191	0.152	3.458
	果	—	0.316	0.480	0.547	0.484	0.183	0.202	1.802
S5	根	0.733	0.164	—	—	—	—	0.272	0.000
	茎	0.043	0.013	0.051	0.068	0.072	0.037	0.045	0.075
	叶	0.020	0.687	1.155	1.033	6.293	1.956	0.169	1.786
	花	0.000	1.252	0.859	0.695	1.363	0.412	0.216	2.173
	果	0.037	0.069	0.056	0.065	0.067	0.027	0.205	0.525

糖-7-*O*-葡萄糖苷在 6 月中旬达到高峰,槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷变化趋势一致,整个植株总量在 6 月下旬达到平衡;山柰素-3-*O*-半乳糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷量幼苗期较高,略呈下降趋势,但随植株生长,整个植株中的总量呈上升趋势;芦丁在整个植株中的总量呈上升趋势,6 月下旬达到平衡。

东莨菪苷主要分布于根部;绿原酸以叶和花中的量较高;槲皮素-3-*O*-半乳糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷和槲皮素-3-*O*-葡萄糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷主要分布在叶和花中,根部几乎不含;山柰素-3-*O*-半乳糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷和山柰素-3-*O*-葡萄糖-(6 $\rightarrow$ 1) 鼠李糖-7-*O*-葡萄糖苷在叶中的量较高,花中其次,根部几乎不含;东莨菪内酯在各部位都有分布;芦丁在叶花果中的量较高,根部几乎不含。各成分在茎中的量均较低。

测定结果显示,颠茄草不同部位中各成分的量差异较大,因此,在评价颠茄草质量时,各部位不能或缺,在药材采购和使用过程中应注意颠茄草的

完整性。湖南产颠茄草各成分的动态变化与该产地采收期确定为 6 月中下旬基本吻合。

参考文献

- [1] 韩 枫. 东莨菪内酯的药理活性和药动学研究进展 [J]. 中国药房, 2011, 22(31): 2971-2972.
- [2] 陈一村, 蔡聪艺, 冀 宾, 等. 东莨菪亭和橙皮素联用的镇痛效果定量分析 [J]. 癌变·畸变·突变, 2010, 22(3): 230-232.
- [3] 宋必卫, 田 薇, 陈志武, 等. 芦丁镇痛作用部位和机制的研究 [J]. 安徽医科大学学报, 1996, 31(1): 1-3.
- [4] 陈会良. 中药镇痛有效成份的研究进展 [J]. 安徽科技学院学报, 2012, 26(3): 11-14.
- [5] 肖 娜, 周贤梅. 中草药生物碱对呼吸系统作用研究进展 [J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(3): 515-516.
- [6] 张彩霞. 洋金花的药理作用及临床应用进展 [J]. 中草药, 2006, 37(增刊): 355-356.
- [7] Huang W, Gao J, Zhang W T. Simultaneous determination of tropane alkaloids in different fractions of *Herba Belladonnae* collected in various seasons by HPLC method [J]. *Asian J Chem*, 2013, 25(16): 8967-8970.