

不同生长期杠柳各部位活性成分的累积变化

张春艳, 李国辉, 李天祥*, 李庆和, 张伯礼

天津中医药大学, 天津 300193

摘要:目的 考察一年内不同生长期杠柳各部位(根皮、根木质部、茎皮、茎木质部和叶)中主要活性成分杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛的量, 研究其动态累积变化规律, 确定其最佳采收期。方法 每月平行采样 2 次, 超声提取法制备样品, RP-HPLC 法测定杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛的量。结果 杠柳各部位成分累积动态变化曲线呈“双峰”型, 其中茎皮中杠柳毒苷的量最高可达 1.400%; 根皮中 4-甲氧基水杨醛累积量最高达 0.781%, 而其他部位均低于 0.2%。结论 整个生长周期杠柳各部位中两种成分的累积变化呈一定的规律性, 其变化可能与不同生长阶段及相应的生理代谢活动等密切相关; 茎皮和根木质部均可作为提取杠柳毒苷的新药用部位, 最佳采收期为生长期。

关键词: 杠柳; 不同生长期; 4-甲氧基水杨醛; 杠柳毒苷; 最佳采收期

中图分类号: R282.21 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)12-2508-04

Accumulative changes of active components in different parts of *Periploca sepium* at various growth periods

ZHANG Chun-yan, LI Guo-hui, LI Tian-xiang, LI Qing-he, ZHANG Bo-li

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Key words: *Periploca sepium* Bge.; various growth periods; 4-methoxy salicylaldehyde; periplocin; best collection time

杠柳 *Periploca sepium* Bge. 是萝藦科杠柳属植物, 其根皮为传统中药材香加皮 *Periplocae Cortex*, 具有利尿消肿、祛风湿、强筋骨、抗癌的功效^[1-2]。现代药理学研究表明, 香加皮可治疗慢性充血性心力衰竭, 特别是对难治性心衰较地戈辛有明显优势^[3], 其中强心苷成分主要为杠柳毒苷^[4-5]。目前香加皮的需求量日趋增加, 杠柳临床仅以根皮入药, 其余部位均被弃去。随着新药理作用的不断发现, 仅以 4-甲氧基水杨醛^[6]单一指标成分进行质量评价, 颇显不足。前期的研究表明, 杠柳各部位均含有以上 2 种成分^[7]。因此, 为全面评价杠柳的质量, 研究其不同部位的药用价值, 扩大药源, 提高或保证药材质量, 本课题组将此杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛作为考察指标, 全面研究杠柳不同部位中 2 种成分的累积变化规律, 阐明其合成趋势, 为进一步寻找杠柳的新药用部位及确定最佳采收期提供理论依据。

1 材料与仪器

杠柳毒苷对照品, 自制(质量分数大于 98%); 4-甲氧基水杨醛对照品(批号 0790-200202)购于中

国药品生物制品检定所; 乙腈、甲醇为色谱纯, 冰醋酸为分析纯(天津市江天化工技术有限公司); 娃娃哈纯净水(天津娃娃哈饮料有限公司)。样品均采自天津蓟县下营镇, 2011 年 5 月至 11 月每月平行采样 2 次, 经天津中医药大学李天祥副教授鉴定为萝藦科植物杠柳 *Periploca sepium* Bge. 的干燥根皮、根木质部、茎皮、茎木质部和叶。

LabAlliance Series III 型高效液相色谱仪(LabAlliance Model 500 UV 检测器); FA 2104N 电子天平(上海菁海仪器有限公司); BX 7200 LHP 型超声波清洗器及 DFZ—6050 型真空干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

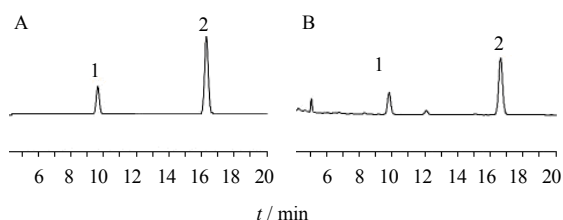
色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-甲醇-水-36%冰醋酸(27:13:60:1), 等度洗脱 20 min; 体积流量 1 mL/min; 柱温为室温; 进样量 20 μL; 检测波长 220 nm。色谱图见图 1。

收稿日期: 2012-02-03

基金项目: 天津市应用基础及前沿技术研究计划(10YFYBJC11200); 天津市科技支撑计划重大项目(10ZCZDSY12400)

作者简介: 张春艳(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制与资源开发。Tel: 13820748144 E-mail: chunchun2746@126.com

*通讯作者 李天祥 Tel: (022)59596292 E-mail: litianxiang612@sina.com



1-杠柳毒苷 2-4-甲氧基水杨醛
1-periplocin 2-4-methoxy salicylaldehyde

图1 对照品 (A) 和样品 (B) 的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and samples (B)

2.2 对照品溶液的制备

精密称取各对照品适量, 加甲醇溶解并定容至 10 mL, 摇匀, 得杠柳毒苷 94.7 $\mu\text{g/mL}$ 、4-甲氧基水杨醛 217.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

各样品于 40 $^{\circ}\text{C}$ 减压干燥 4 h, 粉碎, 过 60 目筛。取粉末 0.25 g, 精密称定, 加 50% 甲醇 20 mL, 超声提取 60 min, 放冷, 用 50% 甲醇定容至 25 mL, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系考察

精密量取对照品母液适量, 用甲醇稀释成杠柳毒苷分别为 2.36、4.72、18.88、37.76、47.20、84.96 $\mu\text{g/mL}$, 4-甲氧基水杨醛分别为 0.87、1.74、3.48、5.22、8.70、13.91 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液。按“2.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积为纵坐标 (Y), 进

样量为横坐标 (X) 进行线性回归, 回归方程分别为: 杠柳毒苷 $Y=73\ 636X+5\ 555.1$, $r=0.999\ 8$; 4-甲氧基水杨醛 $Y=4\ 4261X+5\ 256.7$, $r=0.999\ 8$; 二者分别在 0.05~1.70 μg 、0.02~0.28 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 测定, 杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛峰面积的 RSD 分别为 0.77%、0.52%。

2.6 重复性试验

取同一样品 6 份, 精密称定, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛质量分数的 RSD 分别为 2.14%、1.09%。

2.7 稳定性试验

取供试品溶液 10 h 内每隔 2 h 进样测定, 杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛峰面积的 RSD 分别为 1.9%、1.5%, 表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验

取已测定的样品 6 份, 精密称定, 分别加入各对照品适量, 制备供试品溶液, 进样测定, 杠柳毒苷、4-甲氧基水杨醛的平均回收率分别为 100.38%、100.00%, RSD 分别为 2.27%、2.94%。

2.9 样品测定

取样品适量, 精密称定, 按“2.3”项下方法制备, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算质量分数, 结果见表 1 及图 2、3。

表 1 不同生长期杠柳各部位中杠柳毒苷和 4-甲氧基水杨醛的量 ($n=3$)

Table 1 Determination of periplocin and 4-methoxy salicylaldehyde in different parts of *P. sepium* at various growth periods ($n=3$)

采集时间	杠柳毒苷 / %				4-甲氧基水杨醛 / %			
	根皮	根木质部	茎皮	茎木质部	根皮	根木质部	茎皮	茎木质部
2011-05-01	0.704	0.217	0.548	0.090	0.122	0.005	0.007	0.005
2011-05-15	0.224	0.128	1.159	0.123	0.179	0.013	0.010	0.004
2011-06-01	0.304	0.174	1.400	0.025	0.220	0.010	0.004	0.002
2011-06-15	0.977	0.273	0.716	0.070	0.144	0.011	0.005	0.003
2011-07-01	0.090	0.089	0.278	0.019	0.781	0.065	0.058	0.074
2011-07-15	0.025	0.026	0.395	0.026	0.464	0.053	0.063	0.031
2011-08-01	0.099	0.199	0.487	0.054	0.470	0.058	0.066	0.052
2011-08-15	0.284	0.299	1.350	0.126	0.327	0.015	0.043	0.008
2011-09-01	0.761	0.282	0.548	0.058	0.401	0.003	0.012	—
2011-09-15	0.025	0.061	0.591	0.100	0.667	0.005	0.025	—
2011-10-01	0.060	0.068	0.530	0.066	0.358	0.025	0.036	0.010
2011-10-15	0.042	0.125	0.475	0.121	0.322	0.051	0.024	0.011
2011-11-01	0.105	0.062	0.971	0.073	0.091	0.006	0.004	0.004
2011-11-15	0.136	0.075	0.567	0.057	0.102	0.008	0.008	0.005
平均	0.274	0.148	0.720	0.072	0.338	0.023	0.026	0.015

“—” 质量分数低于 0.001%

“—” shows the content less than 0.001%

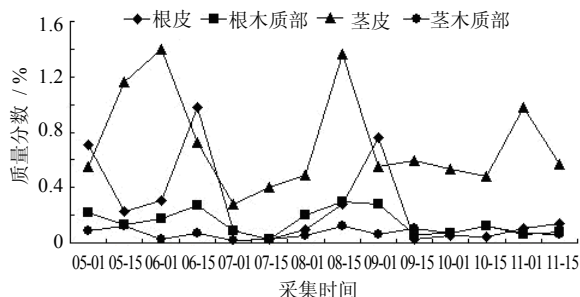


图2 5~11月杠柳各部位中杠柳毒苷的累积变化

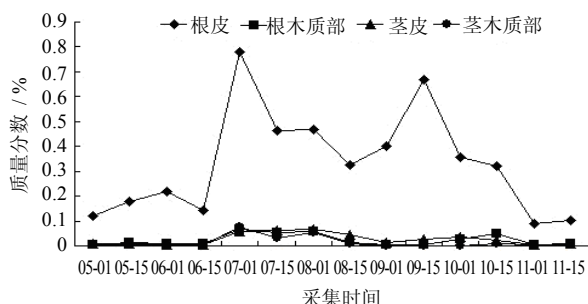
Fig. 2 Accumulative changes of periplocin in different parts of *P. sepium* at various growth periods

图3 5~11月杠柳各部位中4-甲氧基水杨醛的累积变化

Fig. 3 Accumulative changes of 4-methoxy salicylaldehyde in different parts of *P. sepium* at various growth periods

杠柳整个生长周期中,各部位2种活性成分累积量的变化趋势基本一致,均出现2次高峰,变化曲线呈“双峰”型:除根皮外,各部分中的杠柳毒苷量的累积大多在6月15日(生长期)和8月15日(盛花期)分别达高峰值;其中根皮的平均量为0.274%,根木质部、茎皮在适宜采收期可达0.299%、1.400%。4-甲氧基水杨醛量的累积,根皮于7月1日(生长期)和9月15日(果期)出现高峰,最高质量分数为0.781%;其他部位累积变化不明显,且质量分数均低于0.2%。

3 结果分析

3.1 杠柳叶中活性成分的累积量分析

《中国药典》2010年版规定4-甲氧基水杨醛的质量分数不少于0.2%,尚未规定杠柳毒苷质量分数^[1]。据相关文献记载杠柳根皮中杠柳毒苷量差异很大,为0.006%~1.215%^[6]。本实验杠柳叶中杠柳毒苷最高质量分数为0.003%,4-甲氧基水杨醛最高为0.014%,两者均很低,故其数据未列出,且不予考虑。

3.2 杠柳各部位活性成分动态累积规律一致性分析

结果表明,除杠柳叶外,杠柳大多部位与根皮

中活性成分累积变化趋势基本一致。分析其原因可能为根是合成次生代谢产物的部位,其代谢产物通过输导组织输送到各个部位中^[8]。随着根部活性成分累积量的变化,其他药用部位也发生相应变化。因此,以根皮中次生代谢产物的动态变化为基础,各部位呈现一致性的累积趋势。

3.3 杠柳各部位活性成分累积变化曲线呈“双峰”型的成因分析

结合上述研究结果,分析该变化趋势可能是因为6月1日至7月1日,气温较高,杠柳枝繁叶茂,新陈代谢旺盛,次生代谢产物合成累积量较多,杠柳的多数部位在此期间出现第一个累积高峰。随着盛夏到来,植物开花结果,消耗大量物质,导致代谢产物累积量骤降;8月15日至9月15日天气逐渐变冷,杠柳生长缓慢,累积量相对增加,出现第二个累积高峰。10月1日开始,天气变冷,植株开始枯萎,其合成代谢逐渐减弱或几乎停止,代谢产物累积量随之减少:杠柳毒苷降至某一水平后上下波动,而4-甲氧基水杨醛为挥发性成分,其累积量一直缓慢减少。由此可知,杠柳活性成分的累积趋势可能与不同发育阶段及相应的生理代谢活动等相关,此方面内容有待进一步研究。

4 讨论

药材质量优劣取决于活性成分的累积量。本研究结果表明不同部位中活性成分累积量差异较大;其中根皮中2种成分质量分数均相对较高,证实了我国传统中医药理论关于杠柳根皮入药的合理性。然而,基于杠柳毒苷,茎皮平均质量分数是根皮的2.6倍;根木质部在8月份(盛花期)略高于根皮的平均值。故茎皮和根木质部可作为提取杠柳毒苷的新药用部位,以扩大药源,但二者药效尚不明确,仍需作相关研究加以佐证。

适宜采收期是影响中药材产量和质量的重要因素之一^[9],最佳采收期取决于有效成分的累积量,而有效成分的动态累积变化与植物各生长发育阶段之间有着必然的内在联系。中医药传统理论药材的采收期以季节为单位,但我国南北地域性跨度大,故以季节为单位无法准确判断有效成分累积量最大的时间点。因此,本研究根据植物各器官在不同生长阶段呈现不同的性状特征,提出以植物不同生长发育期来划分药材采收期的新思路。基于上述观点,结合杠柳各生长发育期、所对应的具体月份及有效成分累积变化,来阐明三者之间的内在联系:5月

杠柳萌动发芽(发芽期);6、7月枝繁叶茂,其生物量逐渐增大(生长期),活性成分累积量第一次达高峰;8、9月初开花育果(盛花期),植物生长开始减慢;8月末至9月初果实成熟(果期),消耗量骤降,其累积量相对增加,再次出现累积高峰;10月末至11月植株逐渐凋萎(枯萎期)直至静止(生长相对静止期),完成一个生长周期。由此可得,茎皮、根皮和根木质部的最佳采收期为生长期;其次为果期,与传统根类药材的适宜采收期有所出入^[10],可能是杠柳果实小而少,对次生代谢产物的累积影响不大。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2010.
- [2] 张静,杨光,单保恩,等.杠柳苷对H₂₂荷瘤小鼠的抑瘤作用及其机制研究[J].中草药,2010,41(8):1307-1311.
- [3] 徐利强,卢红,张雅莉.北五加皮合剂治疗慢性充血性心力衰竭147例临床观察[J].云南中医中药杂志,1998,19(4):29-30.
- [4] 刘虹,潘桂湘,高秀梅,等.HPLC法测定香加皮中杠柳毒苷的含量[J].中草药,2004,35(5):578.
- [5] Zhang J, Gao W Y, Wang J, et al. Improvement of growth and periplocin yield of *Periploca sepium* adventitious root cultures by altering nitrogen source supply [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(3): 226-231.
- [6] 田俊生,李天祥,刘虹,等.HPLC法测定不同产地香加皮中杠柳毒苷的含量[J].中药材,2006,29(8):799.
- [7] 刘虹,杨虹,郭俊华,等.杠柳不同部位的杠柳毒苷含量[J].中药材,2006,29(7):656.
- [8] 张坚,高文远,李兴林,等.杠柳组培苗的诱导及其次生代谢产物杠柳毒苷动态积累的研究[J].中国中药杂志,2010,35(18):2392-2394.
- [9] 李化,黄璐琦,杨滨.论植物物候学指导中药材采收期的研究[J].中国药学杂志,2008,43(19):1441.
- [10] 康廷国.中药鉴定学[M].北京:中国中医药出版社,2003.

天津中草药杂志社售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于2009年8月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines*、《现代药物与临床》(2009年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿,欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本:1974—1975年、1976年、1979年、1988—1993年(80元/年),1996、1997年(110元/年),1998年(120元/年),1999年(135元/年),2000年(180元/年),2001—2003年(200元/年),2004年(220元/年),2005年(260元/年),2006—2008年(280元/年),2009年(400元/年),2010年(400元/年),2011年(550元/年)。

《中草药》增刊:1996年(50元),1997年(45元),1998年(55元),1999年(70元),2000、2001年(70元),2002—2007年(65元/年),2008、2009年(55元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者,购买增刊7折优惠,款到寄刊。

***Chinese Herbal Medicines* 合订本:**2010年(150元/年),2011年(150元/年)。

《现代药物与临床》合订本:2009年(120元/年),2010年(120元/年),2011年(120元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本:1996—2008年(80元/年),2006—2008年(90元/年)。

《药物评价研究》2009年单行本每册15元,2010年合订本(120元/年),2011年(120元/年)。

《中文科技资料目录·中草药》:1993—2006年合订本(全套2040元),2007—2008年单行本,每册定价30元,全年订价210元(6期+十年索引)。

天津中草药杂志社

地址:天津市南开区鞍山西道308号

邮编:300193

电话:(022)27474913 23006821

传真:(022)23006821

电子信箱:zcy@tipress.com

网址:www.中草药杂志社.中国

www.tipress.com(在线投稿)

开户银行:兴业银行天津南开支行

账号:44114010010081504

户名:天津中草药杂志社