

不同采收期赤芍中6种有效成分的含量测定及其变化规律研究[△]

付士朋^{1*}, 沈宏伟², 王谦博³, 李俊萍¹, 王 聪¹, 郭盛磊^{1,4}, 王振月^{1#} (1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040; 2. 江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214400; 3. 广东药科大学附属第一医院药学部, 广州 510000; 4. 黑龙江珍宝岛药业博士后科研工作站, 哈尔滨 158400)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)04-0441-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.04.10

摘要 目的: 建立同时测定不同采收期赤芍中6种有效成分含量的方法, 并探讨其变化规律, 以确定最佳采收期。方法: 采用高效液相色谱法测定样品中没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、苯甲酰芍药苷的含量并进行主成分分析。色谱柱为 Thermo C₁₈, 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(梯度洗脱), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 230 nm, 柱温为 35 ℃, 进样量为 10 μL。结果: 上述6种成分的质量浓度线性范围分别为 0.013 2~0.25 mg/mL ($r=0.999 2$)、0.013 2~0.25 mg/mL ($r=0.999 9$)、0.026 8~0.51 mg/mL ($r=0.999 7$)、0.42~8.01 mg/mL ($r=0.999 2$)、0.016~0.31 mg/mL ($r=0.999 4$)、0.02~0.38 mg/mL ($r=0.999 8$); 定量限分别为 0.009 3、0.008 5、0.016 3、0.021 7、0.011 3、0.017 4 mg/mL, 检测限分别为 0.003 3、0.002 7、0.005 4、0.007 3、0.003 8、0.005 9 mg/mL; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2%; 加样回收率为 96.01%~99.43% (RSD=1.23%, $n=9$)、97.95%~100.45% (RSD=0.79%, $n=9$)、97.98%~100.11% (RSD=0.68%, $n=9$)、98.83%~100.09% (RSD=0.65%, $n=9$)、98.58%~100.95% (RSD=1.35%, $n=9$)、96.28%~103.26% (RSD=1.76%, $n=9$)。赤芍药材(根)中上述6种成分的含量分别为 0.016%~0.057%、0~0.067%、0.207%~0.640%、2.350%~5.887%、0.030%~0.245%、0.054%~0.381%。5月30日采收的赤芍药材折干率最低(约33%), 9月15日折干率最高(约49%)。7~10月采收的赤芍叶中没食子酸、芍药内酯苷的含量均高于根部。主成分分析结果显示, 前2个主成分的方差贡献率分别为 71.845%、18.170%, 累积方差贡献率为 90.015%; 综合得分较高的月份为 5~6月、9~10月。结论: 所建含量测定方法简便、准确, 重复性、精密度较好, 可用于测定不同采收期赤芍药材中6种有效成分的含量测定; 赤芍药材的最佳采收期为 9月30日~10月15日, 叶可在 7月15日前后采收。

关键词 赤芍; 根; 叶; 采收期; 高效液相色谱法; 含量测定; 变化规律; 主成分分析

Study on Content Determination of 6 Active Ingredients in *Paeonia lactiflora* during Different Harvesting Periods and Their Variation

FU Shipeng¹, SHEN Hongwei², WANG Qianbo³, LI Junping¹, WANG Cong¹, GUO Shenglei^{1,4}, WANG Zhenyue¹ (1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of TCM, Harbin 150040, China; 2. Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Jiangyin 214400, China; 3. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, China; 4. Postdoctoral Programme of Heilongjiang ZBD Pharmaceutical Co., Ltd., Harbin 158400, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish the method for content determination of 6 active ingredients in *Paeonia lactiflora* during different harvest periods, and to investigate its variation rules so as to determine the optimal harvesting period. **METHODS:** HPLC method was adopted to determine the contents of gallic acid, catechin, alibiflorin, paeoniflorin, benzoic acid and benzoylpaeoniflorin, and principal component analysis was conducted. The determination was performed on Thermo C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 230 nm, and column temperature was 35 ℃. The sample size was 10 μL. **RESULTS:** The linear range of the above 6 ingredients were 0.013 2-0.25 mg/mL ($r=0.999 2$), 0.013 2-0.25 mg/mL ($r=0.999 9$), 0.026 8-0.51 mg/mL ($r=0.999 7$), 0.42-8.01 mg/mL ($r=0.999 2$), 0.016-0.31 mg/mL ($r=0.999 4$), 0.02-0.38 mg/mL ($r=0.999 8$), respectively. The limits of quantification were 0.009 3, 0.008 5, 0.016 3, 0.021 7, 0.011 3, 0.017 4 mg/mL, and the limits of detection were 0.003 3, 0.002 7, 0.005 4, 0.007 3, 0.003 8, 0.005 9 mg/mL. RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2%. The recoveries were 96.01%-99.43% (RSD=1.23%, $n=9$), 97.95%-100.45% (RSD=0.79%, $n=9$), 97.98%-100.11% (RSD=0.68%, $n=9$), 98.83%-100.09% (RSD=0.65%, $n=9$), 98.58%-100.95% (RSD=1.35%, $n=9$), 96.28%-103.26% (RSD=1.76%, $n=9$). The contents of above 6 ingredients in Radix Paeoniae Rubra (roots) were 0.016%-0.057%, 0-0.067%, 0.207%-0.640%, 2.350%-5.887%, 0.030%-0.245%, 0.054%-0.381%, respectively. On May 30th, the drying rate of Radix Paeoniae Rubra was the lowest (about 33%), and on Sept.

[△] 基金项目: 国家科技重大专项和重点研发项目(No.GX17C006); 国家重点研发计划项目(No.2016YFC0500303-10); 黑龙江省博士后资助项目(No.LBH-Z17208)

* 硕士研究生。研究方向: 中药质量标准。电话: 0451-8726687。E-mail: 1196683291@qq.com

通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药资源学。电话: 0451-87266873。E-mail: wangzhen_yue@163.com

15th, the drying rate was the highest (about 49%). The contents of gallic acid and paeoniflorin in the leaves of *P. lactiflora* were higher than the root during Jul.-Oct. Results of principal component analysis showed that the variance contribution rates of the first two principal components were 71.845% and 18.170%, respectively; cumulative variance contribution rate was 90.015%. The months with higher comprehensive scores were May to Jun. and Sept. to Oct. CONCLUSIONS: Established method is simple, accurate, reproducible and precise. It can be used to determine the contents of 6 active ingredients in Radix Paeoniae Rubra during different harvest periods. Sept. 30th to Oct. 15th is the optimum harvesting periods for Radix Paeoniae Rubra, and leaves can be harvested around Jul. 15th.

KEYWORDS *Paeonia lactiflora*; Roots; Leaves; Harvesting period; HPLC; Content determination; Variation rule; Principal component analysis

赤芍为毛茛科芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)或川赤芍(*Paeonia vitchii* Lynch)的干燥根,具有清热凉血、散瘀止痛的功效^[1]。该药始载于《神农本草经》,被列为中品^[2],其药理活性成分主要包括酚酸类、单萜苷类及苯胺类成分^[2-3]。现代研究表明,该药具有调节免疫、解痉、抗炎、抗惊厥、改善心肺功能、抑制癌细胞增殖等作用^[4-6]。目前,有关赤芍的研究主要集中在药理作用、化学成分提取与分离等方面^[7-9],而对其最佳采收期的研究较少,仅有2015年版《中国药典》(一部)中规定赤芍可在春秋二季采挖^[1]。

同一地区药材因采收时间不同,其有效成分的含量也会存在差异,这对药材的质量有较大的影响,因此可通过有效成分含量的高低来确定最佳采收期^[9],以确保药材质量。本课题组在研究刺五加时发现,其叶中所含成分与根中基本一致^[10-11],提示中药不同部位的成分可能相似;同时,目前关于赤芍叶中有效成分的研究较少。为此,本研究从开发药材新的药用部位、避免资源浪费的角度出发,在探讨同一年不同月份内赤芍化学成分是否存在规律性变化的同时,比较了其根与叶中有效成分含量的动态变化规律,以确定赤芍的最佳采收期,旨在为其规范化种植与采收提供参考。

1 材料

1.1 仪器

e2695型高效液相色谱仪,包括四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Empower™ 3色谱工作站(美国Waters公司);FW100型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);AE240型十万分之一电子天平[梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司];H1650型台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);KM-822C型超声波清洗机(广州市科洁盟实验仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

没食子酸对照品(批号:Y19M8C36143,纯度:≥98%)、儿茶素对照品(批号:Y89W8F4653,纯度:≥98%)、芍药内酯苷对照品(批号:Y25F8H30152,纯度:≥98%)、芍药苷对照品(批号:X12A8C33672,纯度:≥98%)、苯甲酸对照品(批号:Z18S7H21155,纯度:≥98%)、苯甲酰芍药苷对照品(批号:P02D7F26004,纯度:≥98%)均购自上海源叶生物科技有限公司;乙腈为

色谱纯,甲醇等其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

1.3 药材

11批赤芍样品(编号:S1~S11;其中,赤芍根以“赤芍药材”表示,叶以“赤芍叶”表示)均采集于黑龙江中医药大学药用植物园,经黑龙江中医药大学药学院王振月教授鉴定为毛茛科芍药(*P. lactiflora* Pall.)的干燥根或叶,样品信息来源见表1。赤芍药材采集后立即洗去泥沙,称定鲜质量,于40℃烘干,称定干质量。赤芍药材和赤芍叶粉碎后过40目筛,备用。

表1 样品信息

Tab 1 Information of samples

编号	品种	部位	采集时间	编号	品种	部位	采集时间
S1	芍药	根	2018年5月15日	S7	芍药	根、叶	2018年8月30日
S2	芍药	根	2018年5月30日	S8	芍药	根、叶	2018年9月15日
S3	芍药	根	2018年6月15日	S9	芍药	根、叶	2018年9月30日
S4	芍药	根、叶	2018年7月15日	S10	芍药	根、叶	2018年10月15日
S5	芍药	根、叶	2018年7月30日	S11	芍药	根、叶	2018年10月30日
S6	芍药	根、叶	2018年8月15日				

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Thermo Hypersil ODS-2 C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(B), 梯度洗脱(0~8 min, 5% A→9% A; 8~20 min, 9% A→10% A; 20~24 min, 10% A→13% A; 24~28 min, 13% A; 28~38 min, 13% A→16% A; 38~48 min, 16% A→23% A; 48~52 min, 23% A→30% A; 52~70 min, 30% A→70% A); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 35℃; 进样量: 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、苯甲酰芍药苷对照品适量,置于同一量瓶中,加甲醇溶解制成含上述6种成分质量浓度分别为0.25、0.25、0.51、8.01、0.31、0.38 mg/mL的混合对照品溶液。

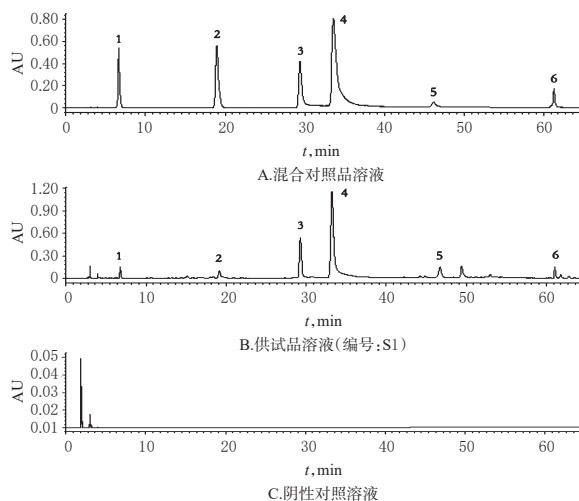
2.2.2 供试品溶液 取赤芍药材或赤芍叶粉末1 g,置于50 mL具塞锥形瓶中,加80%甲醇10 mL,称定质量,超声(功率:480 W,频率:40 kHz)提取45 min,再次称定质量,用80%甲醇补足减失的质量,以4 000 r/min离心3 min,取上清液,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,

即得。

2.2.3 阴性对照溶液 以80%甲醇为阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液(编号:S1)、阴性对照溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱图。结果,理论板数按芍药苷峰计不低于3 000,阴性对照无干扰,各成分分离度均大于3,详见图1。



注:1.没食子酸;2.儿茶素;3.芍药内酯苷;4.芍药苷;5.苯甲酸;6.苯甲酰芍药苷

Note: 1. gallic acid; 2. catechin; 3. alibiflorin; 4. paeoniflorin; 5. benzoic acid; 6. benzoylpaeoniflorin

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,用甲醇逐级稀释,制成不同质量浓度的系列线性工作溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(x , mg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,结果见表2。

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equation and linear range

待测成分	回归方程	r	线性范围,mg/mL
没食子酸	$y=6 \times 10^4 x - 288\ 588$	0.999 2	0.013 2~0.25
儿茶素	$y=4 \times 10^4 x - 828\ 316$	0.999 9	0.013 2~0.25
芍药内酯苷	$y=4 \times 10^4 x - 46\ 145$	0.999 7	0.026 8~0.51
芍药苷	$y=1 \times 10^4 x + 3 \times 10^6$	0.999 2	0.42~8.01
苯甲酸	$y=6 \times 10^4 x - 739\ 164$	0.999 4	0.016~0.31
苯甲酰芍药苷	$y=1 \times 10^4 x + 622\ 465$	0.999 8	0.02~0.38

2.5 定量限与检测限考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,用甲醇倍比稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算定量限、检测限。结果,没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、苯甲酰芍药苷的定量限分别为0.009 3、0.008 5、0.016 3、0.021 7、0.011 3、0.017 4 mg/mL,检测限分别为0.003 3、0.002 7、0.005 4、

0.007 3、0.003 8、0.005 9 mg/mL。

2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、苯甲酰芍药苷峰面积的RSD分别为0.63%、0.65%、0.38%、0.54%、0.83%、0.97% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:S1)适量,分别于室温放置0、2、4、8、12 h时,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、苯甲酰芍药苷峰面积的RSD分别为0.63%、0.76%、0.53%、0.66%、0.71%、0.65% ($n=5$),表明供试品溶液在室温下放置12 h内基本稳定。

2.8 重复性试验

取赤芍药材粉末(编号:S1)1 g,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算样品中6种成分的含量。结果,没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酸、苯甲酰芍药苷含量的RSD分别为1.13%、1.11%、1.22%、1.34%、1.28%、1.34% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的赤芍药材粉末(编号:S1)1 g,共6份,分别按各已知含量的50%、100%、150%比例加入各单一对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果表明,本方法准确度良好,详见表3。

2.10 赤芍药材样品含量测定

取11批赤芍药材粉末各1 g,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并按标准曲线法计算样品中6种成分的含量。每样品平行测定3次,取平均值,结果见表4。

2.11 不同采收期赤芍药材折干率的动态变化

计算不同采收期赤芍药材的折干率:折干率=(干质量/鲜质量) $\times 100\%$ 。折干率越高表示药材所含水份越少^[12]。以采收期(x)为横坐标、折干率(y ,%)为纵坐标绘制折干率动态变化柱状图,结果见图2。由图2可知,不同采收期赤芍药材的折干率存在差异,其中5—10月采收的赤芍药材折干率总体呈上升趋势;8月30日—10月15日折干率均大于48%,并在9月15日达到最高值,约为49%;5—6月折干率较低,在5月30日达最低,约为33%。

2.12 不同采收期赤芍药材中有效成分的动态变化

以采收期(x)为横坐标、有效成分含量(y ,%)为纵坐标,绘制有效成分含量动态变化折线图,结果见图3、图4(因芍药苷含量过大,约为其他成分的10倍,在图中会影响整体视图效果,故将芍药苷含量缩小10倍,缩小后不影响含量变化趋势。由于芍药内酯苷、芍药苷、苯

甲酰芍药苷的含量变化趋势相似,且儿茶素、没食子酸含量较低,所以6种成分无法在同一图中展示,故分别作图分析)。

表3 加样回收率试验结果(n=9)
Tab 3 Results of recovery tests(n=9)

待测成分	已知含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
没食子酸	23.53	11.77	35.23	99.41	98.33	1.23
	23.51	11.77	34.81	96.01		
	23.54	11.77	35.17	98.81		
	23.54	23.54	46.18	96.18		
	23.55	23.54	46.84	98.94		
	23.54	23.54	46.64	98.13		
	23.53	35.30	58.63	99.43		
	23.54	35.30	58.42	98.81		
	23.51	35.30	58.55	99.26		
儿茶素	58.96	29.20	87.88	99.04	99.35	0.79
	58.97	29.20	88.07	99.66		
	58.96	29.20	88.12	99.86		
	58.93	58.93	117.76	99.83		
	58.94	58.93	116.94	98.42		
	58.92	58.93	116.64	97.95		
	58.94	88.41	146.15	98.64		
	58.93	88.41	147.74	100.45		
	58.94	88.41	147.58	100.26		
芍药内酯苷	246.54	123.27	368.81	99.19	99.25	0.68
	246.54	123.27	367.97	98.51		
	246.54	123.27	368.44	98.89		
	246.57	246.57	491.09	99.17		
	246.56	246.57	492.37	99.69		
	246.57	246.57	492.46	99.72		
	246.52	396.78	643.46	100.04		
	246.53	396.78	635.28	97.98		
	246.55	396.78	643.76	100.11		
芍药苷	3 413.37	1 706.69	5 118.99	99.94	99.57	0.65
	3 413.38	1 706.69	5 120.93	100.05		
	3 413.36	1 706.69	5 121.57	100.09		
	3 413.38	3 413.38	6 823.67	99.91		
	3 413.37	3 413.38	6 803.75	99.33		
	3 413.37	3 413.38	6 803.56	99.32		
	3 413.36	5 120.04	8 525.43	99.84		
	3 413.35	5 120.04	8 473.33	98.83		
	3 413.36	5 120.04	8 473.56	98.83		
苯甲酸	94.25	47.13	141.83	100.95	99.33	1.35
	94.24	47.13	141.68	100.66		
	94.25	47.13	141.61	100.49		
	94.25	94.25	187.50	98.94		
	94.23	94.25	188.97	100.52		
	94.23	94.25	188.66	100.19		
	94.22	141.33	234.55	99.29		
	94.24	141.33	233.57	98.58		
	94.23	141.33	233.62	98.63		
苯甲酰芍药苷	107.41	53.71	159.12	96.28	99.11	1.76
	107.42	53.71	160.13	98.14		
	107.42	53.71	162.88	103.26		
	107.38	107.38	213.76	99.07		
	107.39	107.38	213.97	99.25		
	107.38	107.38	213.86	99.16		
	107.41	161.12	265.53	98.14		
	107.43	161.12	267.55	99.38		
	107.43	161.12	267.49	99.34		

表4 赤药药材样品含量测定结果(n=3, %)

Tab 4 Results of content determination of Radix Paeoniae Rubra samples(n=3, %)

编号	部位	没食子酸	儿茶素	芍药内酯苷	芍药苷	苯甲酸	苯甲酰芍药苷
S1	根	0.057	0.067	0.640	5.887	0.036	0.381
S2	根	0.053	0.058	0.536	5.840	0.030	0.234
S3	根	0.048	0.039	0.438	3.725	0.071	0.316
S4	根	0.028	0	0.412	2.891	0.111	0.226
S5	根	0.025	0	0.339	2.895	0.245	0.215
S6	根	0.017	0	0.210	2.581	0.135	0.125
S7	根	0.016	0	0.284	2.487	0.157	0.143
S8	根	0.019	0.040	0.323	2.350	0.076	0.152
S9	根	0.036	0.060	0.274	3.110	0.099	0.185
S10	根	0.022	0.058	0.248	3.401	0.093	0.166
S11	根	0.028	0.040	0.207	2.486	0.089	0.054

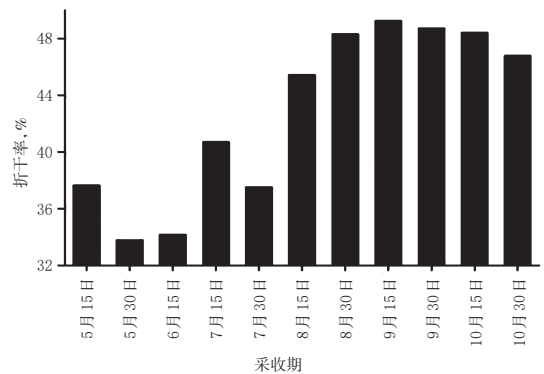


图2 不同采收期赤药药材折干率的动态变化

Fig 2 Dynamic change of drying rate of Radix Paeoniae Rubra during different harvesting periods

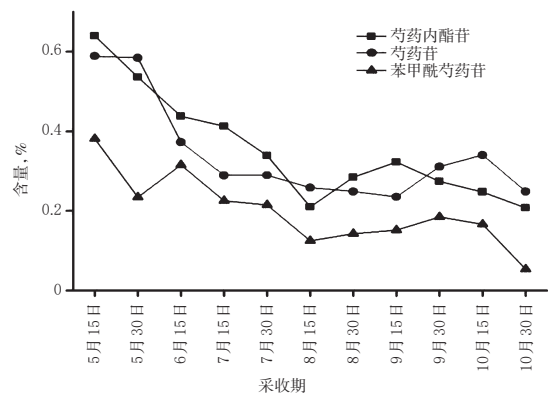


图3 不同采收期赤药药材中芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酰芍药苷的含量动态变化

Fig 3 Dynamic change of the contents of alibiflorin, paeoniflorin and benzoylpaeoniflorin in Radix Paeoniae Rubra during different harvesting periods

从图3可知,5—10月采收的赤药中芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酰芍药苷含量波动幅度较大,总体呈现下降趋势。5月15日采收的赤药药材中芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酰芍药苷含量均为最高,分别为0.640%、5.887%、0.381%;10月30日采收的赤药药材中芍药内酯苷、苯甲酰芍药苷含量最低,分别为0.207%、0.054%;

芍药苷在9月15日时为最低值,为2.350%。8—10月含量波动幅度较5—7月平缓;10月30日采收的赤芍药材中的3种成分均又出现下降趋势,苯甲酰芍药苷含量下降明显。

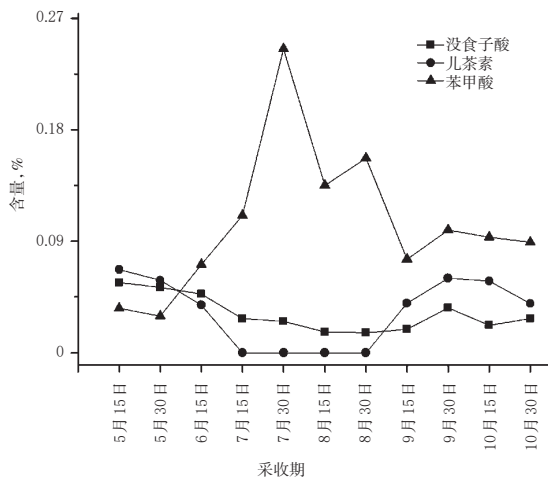


图4 不同采收期赤芍药材中没食子酸、儿茶素、苯甲酸的含量动态变化

Fig 4 Dynamic change of the contents of gallic acid, catechin and benzoic acid in Radix Paeoniae Rubra during different harvesting periods

从图4可知,5—10月采收的赤芍药材中没食子酸含量波动幅度较小,儿茶素、苯甲酸含量波动幅度相对较大。5月15日采收的赤芍药材中没食子酸、儿茶素含量均为最高,分别为0.057%、0.067%;但7月15日—8月30日采收的赤芍药材中未检测到儿茶素;7月30日采收的赤芍药材中苯甲酸含量最高,为0.245%。

2.13 不同采收期赤芍药材与赤芍叶中有效成分的含量变化

取8批赤芍样品(因5—6月赤芍无叶子长出,故仅测定S4~S11批赤芍药材与赤芍叶中的有效成分)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定6种有效成分的含量。结果,赤芍叶中仅检测到没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷4种有效成分(因7月30日—9月15日采收的赤芍叶中苯甲酰芍药苷含量较低;7月15日赤芍叶中芍药苷的含量最高,为2.010%,而9月15日—10月30日采收的赤芍叶中芍药苷含量较低。故仅对没食子酸、芍药内酯苷含量进行比较),结果见图5、图6。

由图5可知,7—10月采收的赤芍叶中没食子酸的平均含量均高于赤芍药材,7月15日样品达最大值(0.251%,约为同期赤芍药材的8.96倍),且呈下降趋势,于9月30日达到最低,为0.029%;赤芍药材中该成分于10月15日达到最高(0.036%),于8月30日达最低(0.016%);10月时,赤芍叶中没食子酸含量开始增加,赤芍药材中该成分略有下降。

由图6可知,7—10月采收的赤芍叶中芍药内酯苷

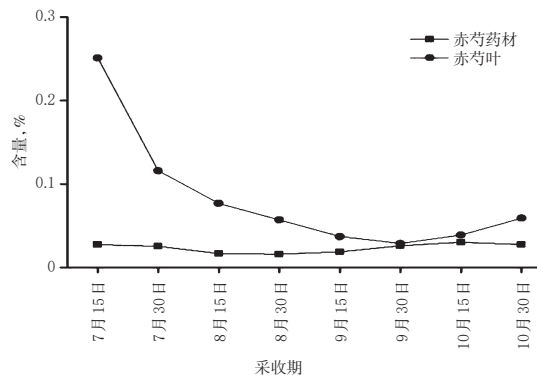


图5 不同采收期赤芍药材与赤芍叶中没食子酸的含量变化

Fig 5 The content change of gallic acid in Radix Paeoniae Rubra and leaves of *P. lactiflora* during different harvesting periods

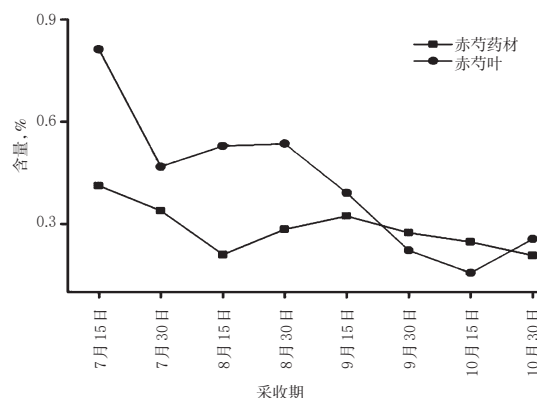


图6 不同采收期赤芍药材与赤芍叶中芍药内酯苷的含量变化

Fig 6 The content change of paeoniflorin in Radix Paeoniae Rubra and leaves of *P. lactiflora* during different harvesting periods

的平均含量均高于赤芍药材,7月15日为最大值(0.812%,约为同期赤芍药材的2倍),且呈下降趋势;于10月15日达到最低(0.156%);赤芍药材中该成分于7月15日达到最高(0.412%),于10月30日达最低(0.207%);10月时,赤芍叶中芍药内酯苷含量开始增加,赤芍药材中该成分略有下降。

2.14 主成分分析

由于6个指标性成分含量差异较大,故采用SPSS 20.0软件进行标准化处理后,进行主成分分析,结果见表5。由表5可知,前2个主成分的特征值均大于1,且累积方差贡献率为90.015%,提示这2个主成分可反映赤芍药材的全部信息,故取前2个主成分特征值计算相应的特征向量^[13],得到第1主成分=0.952×没食子酸含量+0.712×儿茶素含量+0.899×芍药内酯苷含量+0.941×芍药苷含量-0.731×苯甲酸含量+0.818×苯甲酰芍药苷含量;第2主成分=0.060×没食子酸含量-0.618×儿茶素含量+0.370×芍药内酯苷含量+0.073×芍药苷含量+0.570×

苯甲酸含量+0.487×苯甲酰芍药苷含量。综合得分=第1主成分×0.718+第2主成分×0.182^[4],结果见表6。由表6可知,综合得分较高的月份为5—6月、9—10月。

表5 主成分分析结果

Tab 5 Analysis result of principal component

主成分	初始特征值			被提取的载荷平方和		
	成分特征值	方差贡献率, %	累积方差贡献率, %	成分特征值	方差贡献率, %	累积方差贡献率, %
1	4.311	71.845	71.845	4.311	71.845	71.845
2	1.090	18.170	90.015	1.090	18.170	90.015
3	0.264	4.401	94.416			
4	0.187	3.118	97.534			
5	0.103	1.724	99.258			
6	0.045	0.742	100			

表6 不同采收期赤芍药材主成分因子得分

Tab 6 Principal component factor scores of Radix Paeoniae Rubra during different harvesting periods

采收时间	第1主成分	第2主成分	综合得分	排序
2018年5月15日	6.554	0.852	4.861	1
2018年5月30日	6.282	0.740	4.645	2
2018年6月15日	4.281	0.618	3.187	3
2018年7月15日	3.383	0.547	2.528	7
2018年7月30日	3.408	0.591	2.555	6
2018年8月15日	2.835	0.413	2.110	9
2018年8月30日	2.843	0.454	2.124	8
2018年9月15日	2.728	0.392	2.030	10
2018年9月30日	3.474	0.449	2.576	5
2018年10月15日	3.690	0.450	2.731	4
2018年10月30日	2.690	0.320	1.989	11

3 讨论

赤芍中含有多种有效成分,其中儿茶素具有抗氧化、抗诱变、抗光学损伤、清除自由基等作用^[7];芍药内酯苷具有镇痛、镇静、抗惊厥、护肝等作用^[8];芍药苷具有抗肿瘤、抗抑郁、免疫调节等作用^[9]。可见,单一成分难以评价赤芍药材的整体质量,故本研究对赤芍药材中6种有效成分的含量同时进行了测定。

不同采收期赤芍药材中没食子酸、儿茶素、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酰芍药苷含量在5月时达到最高值,随后开始下降并在8、9月达到最低,之后出现上升趋势;9—10月波动幅度相对较小。其中,苯甲酸呈现先上升后下降的趋势,于7月达到最大值,这与其他成分变化趋势相反,但原因尚不明确,需进一步研究。不同采收期赤芍药材与赤芍叶中所含有效成分的变化规律不明显,赤芍叶中有效成分较少,仅检测到没食子酸、芍药内酯苷、芍药苷、苯甲酰芍药苷,但叶中没食子酸、芍药内酯苷的含量均普遍高于根部(赤芍药材);赤芍叶中芍药苷含量在7月15日最高,为2.010%(此时含量符合药典标准^[1]),而后逐渐降低,因此建议7月15日前后可在保证赤芍药材正常生长的情况下适当采收赤芍叶作为提取芍药苷的原料。

主成分分析结果显示,5—6月、9—10月的综合得分较高,且8月30日—10月15日赤芍药材的折干率较高,各成分含量波动较平缓,且含量相对较高,故9月30—10月15日为赤芍药材的最佳采收期。

综上,本研究所建含量测定方法简便、准确,重复性、精密性较好,可用于测定不同采收期赤芍药材中6种有效成分的含量测定;赤芍药材的最佳采收期为9月30日—10月15日,叶则可在7月15日前后采收。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:158.
- [2] 孙星衍,孙冯翼.神农本草经[M].北京:科学技术文献出版社,2008:60.
- [3] 丁雯,钱大玮,刘培,等.不同提取溶剂对当归赤芍药对主要活性成分溶出率的影响[J].中国中药杂志,2012,37(7):916-919.
- [4] SHI YH, ZHU S, GE YW, et al. Monoterpene derivatives with anti-allergic activity from red peony root, the root of *Paeonia lactiflora*[J]. *Fitoterapia*, 2016, 108(11):55-61.
- [5] 陆小华,马骁,王建,等.赤芍的化学成分和药理作用研究进展[J].中草药,2015,46(4):595-602.
- [6] 杨玉,王帅,孟宪生,等.赤芍总苷对人肝癌SMMC-7721细胞迁移的影响及作用机制探讨[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(6):108-112.
- [7] 李瑞,李彦程,武玉卓,等.赤芍水提物化学成分的研究[J].中国中药杂志,2018,43(14):2956-2963.
- [8] 邓瑞雪,徐丽科,闫秘,等.不同生产厂家赤芍配方颗粒中单萜苷类化合物含量比较[J].中草药,2019,50(10):2332-2338.
- [9] 严辉,段金殿.我国药材采收现状的分析与探讨[J].中国现代中药,2009,11(8):11-16.
- [10] 李俊萍,付士朋,王谦博,等.多指标综合评价刺五加叶适宜采收期的研究[J].中草药,2019,50(13):3187-3192.
- [11] 张爽,付士朋,刘悦,等. HPLC法分析刺五加茎中原儿茶酸及苯丙素类成分动态累积规律研究[J].天然产物研究与开发,2018,30(8):1410-1414.
- [12] 魏云洁,刘兴权,孔祥义,等.成龄伊贝母不同物候期总生物碱含量及折干率测定[J].中国林副特产,1998(1):12.
- [13] NORUSIS M. *SPSS 16.0 statistical procedures companion*[M]. New Jersey:Prentice Hall Press,2008:21-23.
- [14] 夏云岭,张振凌,张洪坤,等. HPLC法同时测定半枝莲饮片中4种黄酮类成分的含量及主成分分析[J].中国药房,2019,30(20):2839-2844.
- [15] 王成龙.基于白芍养血柔肝功效的芍药苷、芍药内酯苷药理作用研究[D].北京:北京中医药大学,2017.
- [16] 冯伟科,郭平.芍药苷药理作用研究进展[J].山东中医杂志,2019,38(1):105-108.

(收稿日期:2019-08-22 修回日期:2019-12-27)

(编辑:陈宏)