

## HPLC 法测定不同采集时期的北缬草中生理活性成分含量

李美阳 (延边大学农学院, 吉林延吉 133002)

**摘要** [目的]测定不同采集时期的北缬草中生理活性成分含量,以确定北缬草根茎的最佳采集时期。[方法]采用 HPLC 法测定不同时期采集的北缬草根茎中的主要生理活性成分缬草三酯类成分和缬草烯酸类成分的含量。[结果]9 月份采集的北缬草根中缬草烯酸类总含量最高,为 13.125 mg/g,其次为 7 月份采集的;缬草三酯类成分以 4 月采集的根茎中最高,9 月份采集的含量较高。[结论]该方法确定了北缬草根茎的最佳采集时期,为北缬草的开发利用提供了依据。

**关键词** 北缬草(*Valeriana fauriei* Briq.); 缬草三酯; 缬草烯酸

中图分类号 S567.23\*9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)02-00604-02

Active Ingredients Content in *Valeriana fauriei* at Different Acquisition Periods by HPLC Method

LI Mei-yang (Agricultural College of Yanbian University, Yanji, Jilin 133002)

**Abstract** [Objective] To determine the active ingredients in *Valeriana fauriei* at different acquisition periods and obtain the optimal acquisition period for root and stem of *V. fauriei*. [Method] The main active ingredients valepotriates and valerenic acids in root and stem of *V. fauriei* at different acquisition period were determined by HPLC method. [Result] The results revealed that total content of valerenic acids in *V. fauriei* roots collected in September reached the maximum 13.125mg/g, followed by a higher content of collection in July, valepotriates content in *V. fauriei* roots collected in April reached the maximum, followed by higher content of collection in September. [Conclusion] The study determined the optimal acquisition period of *V. fauriei* root, which will provide basis for development and utilization of *V. fauriei*.

**Key words** *Valeriana fauriei* Briq.; Valepotriates; Valerenic acids

北缬草(*Valeriana fauriei* Briq.)为败酱科(Valerianaceae)缬草属(*Valeriana*)多年生草本植物,以根茎入药。缬草属植物全世界约 250 余种,广泛分布于美洲、欧洲和亚洲的北温带地区<sup>[1]</sup>。缬草性平、味辛,具有镇静安神、解痉止痛、抗抑郁和抗肿瘤等功效。

缬草根茎长期以来一直作为温和的镇静安神催眠药,药用价值在世界上受到高度的重视,是欧美销售额最高的天然药物之一<sup>[2]</sup>。20 世纪 90 年代我国高校科研机构开始重视缬草的研究和开发。欧美学者认为,缬草三酯和缬草烯酸类化合物是起镇静作用的有效成分,并以缬草烯酸作为缬草及其提取物的质量衡量标准<sup>[3-4]</sup>。国内的大部分研究趋向于化学成分与药理活性方面,而关于随采集时期北缬草有效生理活性成分变化的研究鲜有报道。研究的目的是掌握不同生长周期北缬草的主要生理活性成分缬草三酯类和缬草烯酸类成分的变化规律,寻找最佳采集时期,以期缬草的种植和确定合理采集时期提供可参考的理论与科学依据。

## 1 材料与方

## 1.1 材料

**1.1.1 研究对象。**北缬草,采自东北,从 4 月中旬开始到 9 月中旬每月采集 1 次样品,每次采集 3~5 株根茎。

**1.1.2 主要仪器。**Waters 600 高效液相色谱仪, Waters 996 检测器, Waters 717 自动进样器,均购自美国 Waters 公司。

**1.1.3 主要试剂。**缬草素(valtrate)、乙酰缬草素(acevaltrate)、异缬草三酯(isovaltrate)、缬草烯酸(valerenic acid)、乙酰基缬草烯酸(acetoxyl valerenic acid)和羟基缬草烯酸(hydroxyl valerenic acid)等对照品,由荷兰格罗宁根大学提供。

## 1.2 方法

**1.2.1 色谱条件。**色谱柱为  $\mu$ Bondapak<sup>TM</sup> C<sub>18</sub> (3.9 mm × 300

mm, 5  $\mu$ m); 起初由流动相 A(水-乙腈-磷酸(80:20:0.05, V/V/V), 40 min 后换成流动相 B(水-乙腈-磷酸(20:80:0.05, V/V/V), 流速为 1 ml/min; 缬草素类检测波长为 256 nm; 缬草烯酸类检测波长为 220 nm, 进样量为 20  $\mu$ l。

**1.2.2 供试品溶液制备。**将采摘的北缬草洗净,真空冷冻干燥后粉碎。精密称取 1.000 g 北缬草干燥根粉,加 30 ml 无水甲醇,超声提取 30 min,离心 5 min,取上清液后残留物中再加入 15 ml 无水甲醇,用同样的方法重复提取,把提取 3 次后的上清液加到一起,蒸发后加 3 ml 无水甲醇定容,并经 0.2  $\mu$ m 膜过滤,即得样品溶液。

**1.2.3 对照品溶液的制备。**准确称取缬草素、乙酰缬草素、异缬草三酯、缬草烯酸、乙酰基缬草烯酸、羟基缬草烯酸的对照品适量,加无水甲醇溶液,制成浓度为 0.1 mg/ml 的溶液,作为对照品溶液。

**1.2.4 不同采集时期的北缬草中生理活性成分分析。**取供试品溶液和对照品溶液适量,在“1.2.1”色谱条件下进行分析。

表 1 不同采集时期缬草烯酸类成分含量比较 mg/g

月份	羟基缬草烯酸	乙酰基缬草烯酸	缬草烯酸	总含量
4	0.095 ± 0.001	1.178 ± 0.006	0.568 ± 0.003	1.841
5	0.383 ± 0.094	2.342 ± 0.578	0.037 ± 0.001	2.762
6	0.348 ± 0.122	3.127 ± 0.655	0.073 ± 0.004	3.548
7	1.633 ± 0.032	5.805 ± 0.154	0.139 ± 0.016	7.577
8	0.229 ± 0.006	1.224 ± 0.712	0.048 ± 0.003	1.501
9	1.160 ± 0.220	11.702 ± 0.082	0.263 ± 0.036	13.125

## 2 结果与分析

**2.1 缬草烯酸类成分含量的比较** 由表 1 可知,开花前(7 月)羟基缬草烯酸含量最高,开花后含量逐渐下降,花凋谢后(9 月)含量有所上升。乙酰基缬草烯酸在 9 月含量最高,4 月至 7 月含量逐渐上升,在 8 月有所下降。缬草烯酸含量在

4 月最高,其次为 9 月。缬草烯酸类成分在 9 月含量最高,7 月次之,4~7 月的逐渐上升,8 月的含量最低。

**2.2 缬草三酯类成分含量的比较** 由表 2 可知,缬草三酯类的缬草素和乙酰缬草素在 4 月含量最高,4 月至 6 月逐渐下降,7 月含量有所上升,8 月下降,9 月又有所上升。异缬草

三酯成分均在 9 月采集的含量最高,其次为开花前的 7 月含量较高。地戊曲酯成分只在 4 月份采集的样品中测出,其他月份的样品中均没有检测到此成分。缬草三酯类成分含量在 4 月最高,其次为 9 月。

表 2 不同采集时期缬草三酯类成分含量比较

月份	缬草素	乙酰缬草素	异缬草三酯	地戊曲酯	总含量
4	0.361 ± 0.008	0.162 ± 0.005	0.054 ± 0.003	0.191 ± 0.009	0.768
5	0.009 ± 0.001	0.070 ± 0.002	0.054 ± 0.003	-	0.133
6	0.003 ± 0.000	0.003 ± 0.000	0.009 ± 0.000	-	0.015
7	0.102 ± 0.015	0.026 ± 0.002	0.046 ± 0.008	-	0.174
8	0.036 ± 0.002	0.015 ± 0.001	0.017 ± 0.003	-	0.068
9	0.196 ± 0.012	0.095 ± 0.013	0.080 ± 0.008	-	0.371

### 3 结论与讨论

中药材所含化学成分复杂多样,很难以单一成分作为标准来评价药材质量。试验选择缬草烯酸类(valerenic acids)和缬草三酯类(Valepotriates)是因为国际上倾向于此类成分为主要药理成分。试验结果表明,缬草烯酸类成分在 9 月含量最高,7 月次之。缬草三酯类成分含量在 4 月最高,其次为 9 月。因此,北缬草根茎的最佳采集时期为 9 月。

#### 参考文献

[1] LEATHWOOD P,CHAUFFARD F,HECK E,et al. Aqueous extract of va-

(上接第 498 页)

一种理想而有效的方法。该试验通过 RAPD 及 SSR 技术,对所获杂种的真实性进行了鉴定,结果表明这 2 种方法的结合可有效地鉴定核果类果树远缘杂交种,在核果类远缘杂交育种中可作为一种有效稳定的方法加以利用。

在李、杏种间远缘杂种分子鉴定时,还发现有些杂种扩增的条带数与父母本相比有增多或减少的现象,许多研究人员在其他植物的杂种鉴定中也报道了类似的结果<sup>[14]</sup>,分析其原因可能是由于杂交引起的染色体重排或消除,亦或是远缘杂交造成了杂种基因组 DNA 含量和结构改变。而对于文中李、杏杂种所存在的这些差异,可能是外源基因的渗入引起的变化,其具体机理有待于进一步研究确定。

#### 参考文献

- [1] 张加延. 我国李杏种质资源调查研究的突破性进展[J]. 园艺与种苗, 2011(2):7-10,37.
- [2] 王尚堃,张传来. 杂交杏李研究进展[J]. 北方园艺,2012(16):194-200.
- [3] 李再云,华玉伟,葛贤宏,等. 植物远缘杂交中的染色体行为及其遗传与进化意义[J]. 遗传,2005,27(2):315-324.
- [4] 尚霄丽,朱更瑞,李靖,等. 李属种间杂交亲和性及胚培养研究[J]. 果树学报,2009(6):826-829.
- [5] 李芳东,乌云塔娜,杜红岩. 杏李种间杂交新品种“味王”胚培养与植株

再生[J]. 中南林业科技大学学报:自然科学版,2008,28(3):18-22.

- [2] 周成河,吴云,吴志江. 缬草田杂草防除技术的研究[J]. 安徽农业科学,2006,34(15):3740.
- [3] 黄仁泉,张立,杨建丽. 不同种缬草中缬草三酯和缬草烯酸类成分的 HPLC 分析和比较[J]. 中草药,2002,33(11):1000-1001.
- [4] LI M Y,AHN J C,KIM K S,et al. Comparison of Valerenic Acids and Valepotriates Production According to the Culture Conditions for Cultured Roots of *Valeriana fauriei* var. *dasycarpa* Hara [J]. Korean J Medicinal Crop Sci,2006,14(2):101-106.

- [6] 陈学森,王志刚,周荣永. 果树杂交去雄方法的研究[J]. 山东农业大学学报,1989,20(3):21-26.
- [7] 何天明,陈学森,高疆生,等. 新疆栽培杏群体遗传结构的 SSR 分析[J]. 园艺学报,2006,33(4):809-812.
- [8] 陈勇,雷天刚,何永睿,等. 柑橘杂种材料鉴定研究进展[J]. 安徽农业科学,2012,40(16):8825-8827.
- [9] 刘梦培,傅大立,李芳东,等. 华仁杏杂种鉴定及遗传变异分析[J]. 林业科学研究,2012,25(1):88-92.
- [10] 杨红花,秦宏伟. 樱桃种间杂种成熟胚培养及 RAPD 鉴定[J]. 西北植物学报,2009(6):1097-1103.
- [11] MEI Z Q,LI C H,GONG S. RAPD Analysis of *Litchi chinensis* Sonn. from Different Origins of China[J]. Agricultural Science & Technology,2012,13(1):64-67.
- [12] FENG Y,ZHANG Z J,ZHANG S L,et al. Development of Walnut EST-SSR Markers and Primer Design[J]. Agricultural Science & Technology,2011,12(12):1810-1813.
- [13] HAN J C,LIU G J,CHANG R F,et al. Study on SSR Markers Linked to Flesh Color around the Stone of *Prunus persica* (L.) Batsch[J]. Agricultural Science & Technology,2012,13(5):962-964.
- [14] 张连全,刘登才,颜泽洪,等. 远缘杂交早代稳定小麦导入了外源 DNA 片段并发生了 DNA 重排[J]. 中国科学(C 辑),2005,35(4):318-325.
- [15] 刘梦培,傅大立,李芳东,等. 华仁杏 ISSR-PCR 反应体系的正交优化分析[J]. 华北农学报,2011(2):128-132.
- [16] 张加延. 我国李杏种质资源利用和产业开发[J]. 园艺与种苗,2011(3):1-6.