

# 牡荆不同部位中牡荆素的积累动态和分布特性研究

罗娅君,边清泉,李雪,蒋云福,夏代莲(绵阳师范学院化学与化学工程学院,四川 绵阳 621000)

**摘要:**目的 研究不同采收期牡荆不同部位中牡荆素的积累动态规律和分布特性。方法 采用超声波提取法提取牡荆素,高效液相色谱法测定牡荆不同部位中牡荆素的含量,色谱柱:菲罗门柱(4.6 mm×150 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(4:6),流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长为340 nm,柱温35℃,进样量5 μL。结果 牡荆茎、花中牡荆素含量极少,牡荆叶中牡荆素的含量在不同生长时期有明显的变化规律。6~7月含量最高(1.380%~1.465%),随着牡荆花的盛开和牡荆子的形成到成熟,牡荆叶中牡荆素的含量逐渐降低,9~10月含量最低(0.720%~0.751%)。随着牡荆籽的成熟,牡荆籽中含量逐渐增加(0.435%~1.231%)。结论 牡荆不同部位牡荆素的含量随采收期不同而变化,为确定牡荆适宜采收期和药用部位提供了实验依据。

**关键词:**牡荆;牡荆素;高效液相色谱法;积累动态;分布特性

**doi:**10.11669/cpj.2013.11.006 **中图分类号:**R284 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-2494(2013)11-0860-04

## Accumulation Dynamics and Distribution Characters of Vitexin in Different Parts of *Vitex negundo* var. *cannabifolia*

LUO Ya-jun, BIAN Qing-quan, LI Xue, JIANG Yun-fu, XIA Dai-lian(*The Department of Chemistry and Chemical Engineering, Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the accumulation dynamics and distribution law of vitexin during the whole year period in different parts of *Vitex negundo* var. *cannabifolia* (Sieb. et Zucc.). **METHODS** Vitexin was obtained by ultrasonic extraction, and its content was determined by HPLC. Filodoor column (4.6 mm×150 mm,5 μm) was used. Methanol-water (volume ratio of 4:6) was used as the mobile phase at a flow rate of 1 mL·min<sup>-1</sup>. The UV detective wavelength was set at 340 nm, injection volume was 5 μL, and the column temperature was set at 35℃. **RESULTS** The content of vitexin was low in *vitex negundo* branches and flowers, and had obvious regularity in different growth periods of *Vitex negundo* leaves. The content of vitexin was the highest (1.380% - 1.465%) in June and July. Along with the blooming and formation of *negundo* chastetree to their maturation, the content of vitexin in *Vitex negundo* leaves decreased. Its content was the lowest (0.720% - 0.751%) in September and October. The content of vitexin in *Vitex negundo* seeds increased(0.435% - 1.231%) with seed maturation. **CONCLUSION** The content of vitexin in different parts of *Vitex negundo* presents a regular change in different periods. The detection of vitexin in different growth periods provides experimental basis for the selection of best collection phase and medical parts.

**KEY WORDS:** *Vitex negundo* var. *cannabifolia*; vitexin; HPLC; accumulation dynamics; distribution law

牡荆素具有防癌抗肿瘤、活血化瘀、理气通脉、抗炎、解痉、降压等作用,在治疗心血管疾病方面有着广泛的市场前景<sup>[1-4]</sup>。目前国内外主要把山楂<sup>[5-6]</sup>、小叶榕<sup>[7]</sup>、乌韭<sup>[8]</sup>、千针万线草<sup>[9]</sup>作为研究对象,从中提取牡荆素,但这些植物的牡荆素含量非常低。牡荆[*Vitex negundo* var. *cannabifolia*(Sieb. et Zucc.)]为马鞭草科牡荆属植物,为传统药用植物,分布广泛<sup>[10]</sup>,但主要在北方普遍生长,在南方却零散分布,处于野生状态。为更好的开发牡荆,寻找牡荆素新的药源,笔者采用高效液相色谱法测定了不

同采收期牡荆茎、叶、花、籽中牡荆素的含量,对同一时期不同部位牡荆素含量变化做积累动态分析,以期为牡荆药用价值的进一步开发利用提供科学依据和良好的理论指导,也为不同时期牡荆不同部位中牡荆素含量比较提供数据支持。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

LC-6AD型高效液相色谱仪(日本岛津公

基金项目:四川省教育厅重点项目(092A180);绵阳师范学院学科建设项目(2012A16)

作者简介:罗娅君,女,博士,教授 研究方向:现代分离分析方法 Tel: (0816)2200819 E-mail:luolaowu@126.com

司,包括 SPD-10AUP 检测器,CLASS-vp5.0 色谱数据处理工作站,CTD-6A 色谱柱温箱);FW-177 中草药高速粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);KQ-250DE 型医用超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);FA1004N 电子分析天平(上海菁海仪器有限公司);SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器(上海新诺仪器设备有限公司);0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤头。

**1.2 试剂**

牡荆素(上海永恒生物科技有限公司,经 HPLC 检测纯度 >98.5%);牡荆采自于绵阳森林公园,经中国科学院成都分院生物所植化研究室鉴定为牡荆 [*Vitex negundo* var. *cannabifolia* (Sieb. et Zucc)];甲醇、石油醚等试剂均为分析纯。

**2 方法与结果**

**2.1 对照品溶液的配制**

准确称取牡荆素对照品 22.8 mg 于 50 mL 烧杯中,用 20 mL 甲醇溶解后转至 50 mL 量瓶,稀释至刻度,超声至完全混匀,得质量浓度为 456  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液,备用。

**2.2 样品的预处理**

牡荆茎、叶、花和籽采自绵阳森林公园,洗净,自然风干,用粉碎机进行粉碎并过筛,备用。

**2.3 供试品溶液的制备**

精密称取经处理的样品(茎、叶、花、籽)各 5 g,加入 20 mL 甲醇超声提取 0.5 h,过滤,反复 3 次,合并滤液,减压浓缩得浸膏,加入石油醚经振荡静置分层除去叶绿素等脂溶性物质后,过滤,滤液用甲醇分别定容至 25 mL 量瓶中,摇匀。用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤头过滤,取续滤液待测。

**2.4 色谱条件**

色谱柱为菲罗门色谱柱(4.6 mm  $\times$  150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相为甲醇-水溶液(4:6),流速为 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,检测波长为 340 nm,柱温为 35  $^{\circ}\text{C}$ ,进样量为 5  $\mu\text{L}$ ,灵敏度为 0.050 AUFS,测定结果令人满意。牡荆素对照品的色谱图见图 1,紫外光谱图见图 2,牡荆各部位提取物的色谱图见图 3,4(其中 I 为目标组分);从图中可看出牡荆素的分离效果好。

**2.5 线性范围的考察及标准曲线的绘制**

精密吸取“2.1”项下制备的对照品溶液,稀释 10 倍后(45.6  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )分别进样 1,3,5,7,9  $\mu\text{L}$ ,重复测定 3 次,对相应色谱峰进行面积积分。以进样量 X( $\mu\text{g}$ )为横坐标,峰面积平均值 Y 为纵坐标,

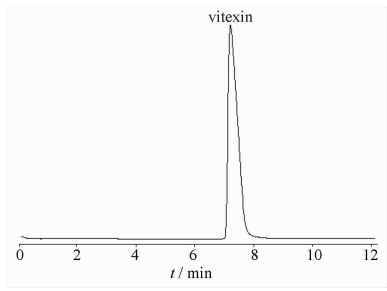


图 1 牡荆素对照品的色谱图  
Fig. 1 HPLC Chromatogram of vitexin reference standard

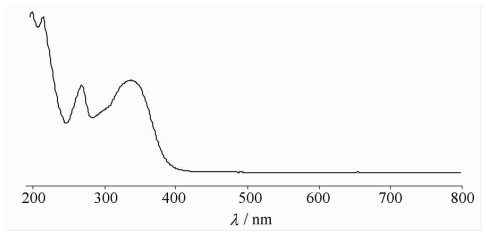


图 2 牡荆素对照品的紫外光谱图  
Fig. 2 UV Spectrum of vitexin reference standard

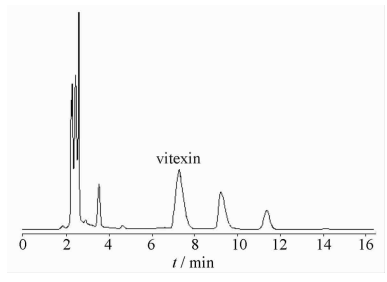


图 3 牡荆叶、籽提取物的色谱图  
Fig. 3 HPLC Chromatogram of extract of vitex leaves and seeds

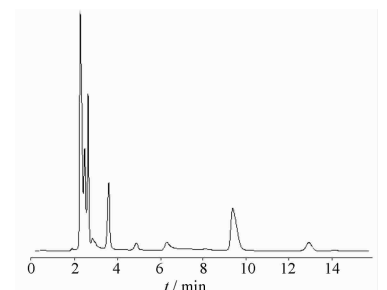


图 4 牡荆茎、花提取物的色谱图  
Fig. 4 HPLC Chromatogram of vitex branches and flowers

绘制标准曲线并计算线性回归方程:  $Y = 1.522 \times 10^4 + 1.237 \times 10^6 X$ ,  $r = 0.9997$ ,牡荆素在 0.0456 ~ 0.4094  $\mu\text{g}$  内与峰面积之间呈良好的线性关系。

**2.6 精密度实验**

准确量取 5  $\mu\text{L}$  牡荆素对照品溶液,按“2.4”项下色谱条件,平行测定 5 次,牡荆素平均峰面积为

3 022 485.6, RSD = 3.35% (n = 5), 表明本实验方法精密度良好。

## 2.7 稳定性考察

按“2.4”项下色谱条件,取同一供试品溶液,分别在0,40,80,120,160 min 平行进样分析,5次进样的平均峰面积为1 640 042.4, RSD 为1.18%。结果表明,牡荆素含量随放置时间的延长呈现逐渐降低的趋势,但在160 min 内基本保持稳定。

## 2.8 重现性实验

按“2.4”项下色谱条件,平行配制5份牡荆叶和牡荆籽供试品溶液,平行测定5次,计算牡荆素的质量分数,牡荆叶的RSD = 2.65%,牡荆籽的RSD = 2.48%。表明该方法重现性较好。

## 2.9 加标回收率实验

精密移取已知含量的供试品溶液0.5 mL,分别加入456  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的牡荆素对照品适量,0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤头过滤。进样5  $\mu\text{L}$ 依“2.4”色谱条件测定,重复3次。牡荆素的回收率范围为94.2% ~ 106.2%,平均回收率为99.86%, RSD = 4.54% (n = 3)。表明实验方法准确度较高,即此方法可行。回收率实验结果见表1。

## 2.10 含量测定

按“2.3”项下制备牡荆叶、牡荆籽供试品溶液,精密吸取5  $\mu\text{L}$ ,注入HPLC,在波长340 nm处检测,重复测定3次。求其吸收峰面积平均值,外标法计算牡荆素的含量。含量测定结果见表1,叶和籽的动态分析结果见图5。

表1 不同采收期牡荆叶、籽中牡荆素的含量. n = 3

Tab.1 Contents of vitexin in vitex leaves and seeds in different periods. n = 3

Date /month- day	Content (leaves) /%	Average Content (leaves)/%	RSD /%	Content (seed) /%	Average Content (seed)/%	RSD /%
4-6	-	0.948	-	-	0.924	-
4-20	-	-	-	-	-	-
5-20	0.938	-	1.35	-	-	-
6-30	1.465	-	0.61	-	-	-
7-31	1.380	-	4.61	-	-	-
8-16	0.925	-	5.83	0.435	-	3.45
8-30	0.805	-	2.54	0.546	-	4.76
9-16	0.720	-	4.96	0.778	-	0.89
9-30	0.726	-	5.63	0.975	-	1.47
10-16	0.734	-	3.60	1.180	-	1.85
10-30	0.751	-	1.82	1.231	-	2.62
11-16	1.037	-	4.64	1.128	-	3.56
12-1	-	-	-	1.126	-	2.78

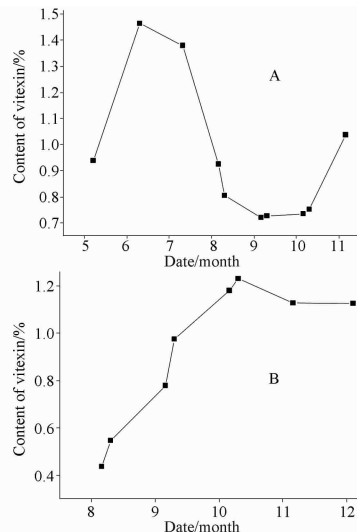


图5 不同采收期牡荆叶(A)和籽(B)中牡荆素的动态积累  
Fig.5 The accumulation dynamics of vitexin in vitex leaves (A) and seeds(B) in different periods

## 3 结论与讨论

### 3.1 波长选择

牡荆素的最大吸收波长分别为270、340 nm(图2)。充分考虑在270 nm处其他不明物组分也有一定吸收,将对测定产生干扰,导致测定误差。同时也兼顾各组分的检测灵敏度,因此选择340 nm为检测波长。

### 3.2 牡荆茎和花中牡荆素的含量

牡荆从3~4月开始发芽,7~8月开始开花,12月左右开始落叶,经检测,在不同采收期中,牡荆茎和花中几乎不能检测出牡荆素含量,牡荆素集中在牡荆叶和牡荆籽中。

### 3.3 牡荆叶中牡荆素动态积累分析

表2和图5(A)表明,牡荆叶中牡荆素的含量随着季节变化呈现一定的变化规律。在3~4月牡荆开始发芽至嫩叶初成,叶中牡荆素含量尚未形成,不能检出,在一年中牡荆叶生长最茂盛的6~7月牡荆素的含量最多(1.465% ~ 1.380%),随着花期开始到盛开,再至凋谢,以及牡荆籽生成,牡荆叶中的牡荆素的含量开始降低,在花期最茂盛的9月牡荆叶中牡荆素的含量最低(0.720% ~ 0.726%),至11月,牡荆籽成熟,叶中牡荆素的含量也有所增加(表2,图5A)。

### 3.4 牡荆籽中牡荆素动态积累分析

牡荆籽从花开至结果初期,已开始累积牡荆素,从8月至10月底为牡荆结籽至种籽成熟的过程,牡荆素呈现明显的上升趋势(0.435% ~ 1.231%),对