

柴达木枸杞化学成分的测定

吴有锋^{1,2}, 马世震^{1*}, 谭亮¹, 冯海生¹, 李彩霞¹

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 中国科学院藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 目的 测定柴达木枸杞 *Lycii Fructus* 化学成分的含有量。方法 分光光度法测定多糖、总黄酮、类胡萝卜素含有量, HPLC 法测定甜菜碱和东莨菪内酯含有量, 凯氏定氮法测定蛋白质含有量, 再进行主成分分析。结果 6 个产地样品中类胡萝卜素、甜菜碱、东莨菪内酯含有量有显著差异 ($P < 0.05$), 而多糖、总黄酮、蛋白质含有量无显著差异 ($P > 0.05$)。3 个采摘期样品中各成分含有量也均无显著差异 ($P > 0.05$)。德令哈市产样品的主成分综合得分最高, 乌兰县产者次之。结论 德令哈市产柴达木枸杞的质量最优。

关键词: 柴达木枸杞; 多糖; 总黄酮; 类胡萝卜素; 甜菜碱; 东莨菪内酯; 蛋白质; 主成分分析;

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)05-0984-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.05.021

Determination of chemical constituents in *Lycii Fructus* from Qaidam Basin

WU You-feng^{1,2}, MA Shi-zhen^{1*}, TAN Liang¹, FENG Hai-sheng¹, LI Cai-xia¹

(1. Chinese Academy of Science Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Chinese Academy of Science Northwest Institute of Plateau Biology, Xining 810008, China; 2. University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

ABSTRACT: AIM To determine the contents of chemical constituents in *Lycii Fructus* from Qaidam Basin.

METHODS Spectrophotometry was adopted in the content determination of polysaccharides, total flavonoids and carotenoid. HPLC was applied to the content determination of betaine and scopoletin. Kjeldahl method was used for the content determination of protein. Then principal component analysis was performed. **RESULTS** The contents of carotenoid, betaine and scopoletin in samples from six growing areas showed obvious differences ($P < 0.05$), while those of polysaccharides, total flavonoids and protein exhibited no obvious differences ($P > 0.05$). The contents of various constituents in samples at three picking time also had no obvious differences ($P > 0.05$). The comprehensive score of principal components of samples from Delingha City was the highest, followed by that from Ulan County. **CONCLUSION** The quality of *Lycii Fructus* from Qaidam Basin from Delingha City is the best.

KEY WORDS: *Lycii Fructus* from Qaidam Basin; polysaccharides; total flavonoids; carotenoid; betaine; scopoletin; protein; principal component analysis

枸杞为茄科枸杞属的落叶小灌木^[1], 其成熟干燥的果实是我国传统的名贵中药材, 而柴达木枸杞又名柴杞, 主要出产于柴达木盆地, 其所含的多糖、类胡萝卜素、氨基酸等成分高于其他地区^[2]。现代研究表明, 枸杞具有补肾养肝、润肺明目、增

强免疫力^[3]、防衰老、抗肿瘤^[4]、抗氧化^[5]、抗疲劳、协同防癌等多种药理作用^[6], 这与上述活性成分密切相关。

本实验将采用 HPLC 法测定柴达木枸杞甜菜碱和东莨菪内酯含有量, 分光光度法测定多糖、总黄

收稿日期: 2016-08-24

基金项目: 中国科学院藏药现代化重点实验室项目 (Y4496110Z1)

作者简介: 吴有锋 (1989—), 男, 硕士生, 研究方向为药材质量标准和药物分析。Tel: 18409784983, E-mail: wuyoufeng14@mails.ucas.ac.cn

* 通信作者: 马世震 (1963—), 男, 博士, 硕士生导师, 研究方向为植物化学和新产品研发。Tel: 13709763487, E-mail: szma@nwipb.cas.cn

酮和类胡萝卜素含有量,凯氏定氮法测定蛋白质含有量。再通过 SPSS 19.0 软件,分析了不同产地、采摘期柴达木枸杞的化学成分,以主成分分析综合评价其质量,为该药材的品质评价和质量控制提供一定理论基础和科学依据。

1 材料与仪器

柴达木枸杞于2015年8月至10月采集(具体信息见表1),经中国科学院西北高原生物研究所马世震研究员鉴定为正品。将所收集的药材干燥($<50\text{ }^{\circ}\text{C}$)、粉碎后,装入密封袋中密封,置于干燥器中备用。

表1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

编号	采集地	采集时间	海拔/m	经度	纬度
1	都兰县夏日哈镇沙珠玉村	2015.8	3 056	98°02'45.5"	36°27'37.6"
2	都兰县夏日哈镇沙珠玉村	2015.9			
3	都兰县夏日哈镇沙珠玉村	2015.10			
4	都兰县宗加镇哈西瓦村	2015.8	2 776	96°14'51.7"	36°23'51.8"
5	都兰县宗加镇哈西瓦村	2015.9			
6	都兰县宗加镇哈西瓦村	2015.10			
7	诺木洪一大队	2015.8	2 831	96°27'29.1"	36°23'27.5"
8	诺木洪一大队	2015.9			
9	诺木洪一大队	2015.10			
10	格尔木市园艺场	2015.8	2 800	94°55'50.7"	36°24'26.7"
11	格尔木市园艺场	2015.9			
12	格尔木市园艺场	2015.10			
13	德令哈市怀头他拉镇东滩村	2015.8	2 836	96°46'36.8"	37°19'28.0"
14	德令哈市怀头他拉镇东滩村	2015.9			
15	德令哈市怀头他拉镇东滩村	2015.10			
16	乌兰县赛什克乡兴乐村	2015.8	2 977	98°38'56"	36°94'54"
17	乌兰县赛什克乡兴乐村	2015.9			
18	乌兰县赛什克乡兴乐村	2015.10			

葡萄糖(批号110833-201205)、芦丁(批号100080-200707)、甜菜碱(批号15042417)、东莨菪内酯(批号110768-200504)对照品(中国食品药品检定研究院)。乙腈、甲醇为色谱纯(山东禹王实业有限公司);无水乙醇、石油醚(沸点 $60\sim 90\text{ }^{\circ}\text{C}$)、甲醇、盐酸、苯酚、硫酸、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、浓硫酸均为分析纯(天津市百世化工有限公司);超纯水、Sevag 试剂(三氯甲烷:正丁醇=4:1)、混合催化剂(硫酸铜:硫酸钾=1:5)均为自制。

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配置 DAD 检测器; Varian Cary 300Bio 型紫外-可见分光光度计(美国 Varian 公司); Kjeltac 8400 全自动凯氏定氮仪(德国福斯公司); AG135 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); UPE-II 40L 超纯水机(上海优普实业有限公司); SL-500A 高速多功能粉碎机(浙江省永康市松青五金厂); HH-S4 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司); TGL-16C 离心机(上海安亭科学仪器厂); RV-10 旋转蒸发仪(德国 IKA 公司)。

2 方法

2.1 多糖含有量测定

2.1.1 对照品溶液制备 精密称取葡萄糖对照品 9.52 mg,置于 100 mL 量瓶中,超纯水溶解,稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度 0.095 2 mg/mL 的对照品溶液。

2.1.2 标准曲线绘制 精密移取对照品溶液 0.1、0.3、0.5、0.7、1.0 mL,置于 25 mL 具塞试管中,加超纯水补至 2.0 mL,摇匀,加入 5% 苯酚溶液 1 mL 混匀后,缓慢加入 5 mL 浓硫酸,摇匀后冷却到室温,进行显色反应,以相应试剂为空白,采用紫外-可见分光光度计在 490 nm 波长处进行测定^[7]。以对照品溶液的质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(Y)进行回归,得标准曲线为 $Y = 14.403X + 0.024$ ($r = 0.9997$)。

2.1.3 测定方法 精密称取样品 0.500 g,置于 150 mL 锥形瓶中,加 75% 乙醇超声提取 1 h,过滤,75% 乙醇洗涤滤渣 2~3 次,转移至锥形瓶中,加水 100 mL,置于加热板上加热煮沸 1 h,冷却至室温,将内容物转移至 250 mL 量瓶中,加超纯水

洗涤锥形瓶2~3次,洗涤液移入量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。精密移取2.0 mL,置于5 mL塑料离心管中,加Sevag试剂剧烈振荡使其充分混合,9 000 r/min转速下离心5 min,弃去中间变性蛋白层和下层有机层,水相继续重复上述操作至水相与有机相中间无变性蛋白出现为止^[8],按“2.1.2”项下方法测定多糖含量。

2.2 总黄酮含量测定

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取芦丁对照品14.40 mg,置于100 mL量瓶中,75%乙醇稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度0.144 0 mg/mL的对照品溶液。

2.2.2 标准曲线绘制 精密移取对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、6.0 mL,置于25 mL量瓶中,加5%亚硝酸钠溶液1.0 mL,混匀,放置6 min,再加10%硝酸铝溶液1.0 mL,摇匀,放置6 min,继续加40%氢氧化钠1.0 mL,75%乙醇稀释至刻度,摇匀,60℃水浴10 min,以不加芦丁的溶液为空白,在510 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标(Y),芦丁含量为横坐标(X)进行回归,得标准曲线为 $Y=0.462X-0.011$ ($r=0.9999$)。

2.2.3 测定方法 精密称取样品2.000 g,置于150 mL锥形瓶中,加75%乙醇30 mL,超声1 h,过滤至50 mL量瓶中,75%乙醇润洗滤纸2次,稀释至刻度,摇匀,移取2.0 mL滤液至25 mL量瓶中,按“2.2.2”项下方法测定总黄酮含量。

2.3 类胡萝卜素含量测定 精密称取样品1.000 g,置于150 mL具塞锥形瓶中,加入60 mL石油醚-无水乙醇混合溶液(2.6:1),摇匀,超声处理,冷却至室温,用盛有无水 Na_2SO_4 的漏斗过滤至100 mL棕色量瓶中,润洗锥形瓶和漏斗2~3次,定容,经适当稀释(确保吸光度在0.2~0.8范围内)后用紫外-可见分光光度计进行测定。实验全过程避光操作。计算类胡萝卜素含量时参考曲云卿等^[9]报道的方法并加以改进,公式如下。

$$m = \frac{1\,000 \times A \times V \times n}{2\,480 \times m_1}$$

式中, m 为类胡萝卜素含量, A 为吸光度, V 为溶液体积, n 为稀释倍数, m_1 为样品质量。

2.4 甜菜碱含量测定^[10]

2.4.1 Hypersil NH_2 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);以乙腈-水(83:17)为流动相,等度洗脱;体积流量0.7 mL/min;柱温30℃;检测波长195 nm;进样量5 μL 。

2.4.2 对照品溶液制备 精密称取甜菜碱对照品5.21 mg,置于10 mL量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度为521 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。

2.4.3 标准曲线绘制 精密移取对照品溶液,配制成260.5、130.25、65.13、32.56、16.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列溶液,取5 μL 注入色谱仪,在“2.4.1”项色谱条件下测定。以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,得标准曲线为 $Y=252.553X+4.592$ ($r=0.9997$),在0.081~1.303 μg 范围内线性关系良好。精密移取同一对照品溶液,在“2.4.1”项色谱条件下进样6次,测得峰面积RSD为2.21%,表明仪器精密度良好;取同一样品6份,按“2.4.4”项下方法制备供试品溶液,测得峰面积RSD为0.05%,表明该方法重复性良好;取同一供试品溶液,于0、2、4、8、16、24 h进样,测得峰面积RSD为1.63%,表明溶液在24 h内稳定性良好;精密称取甜菜碱含量已知的样品6份,加入一定量的对照品溶液,在“2.4.1”项色谱条件下测定,测得加样回收率为92.41%,RSD为1.30%。

2.4.4 测定方法 精密称取样品1.000 g,置于50 mL锥形瓶中,加20 mL水超声45 min,过滤至25 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,移取1.0 mL滤液至7 mL离心管中,精密加入无水乙醇4.0 mL,摇匀,置于4℃冰箱中过夜,次日离心,上清液经0.45 μm 微孔滤膜过滤,进样分析。

2.5 东莨菪内酯含量测定^[11]

2.5.1 色谱条件 Agilent Zorbax XDB- C_{18} 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);以甲醇-0.05%(35:65)为流动相,等度洗脱;体积流量1 mL/min;柱温30℃;检测波长344 nm;进样量10 μL 。

2.5.2 对照品溶液制备 精密称取东莨菪内酯对照品1.50 mg,置于10 mL量瓶中,甲醇稀释至刻度,摇匀,即得质量浓度150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。

2.5.3 标准曲线绘制 精密移取对照品溶液,配制成37.50、18.75、6.25、3.13、1.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列溶液,取10 μL 注入色谱仪,在“2.5.1”项色谱条件下测定。以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行回归,得标准曲线为 $Y=4.122X+8.690$ ($r=0.9999$),在0.010~0.375 μg 范围内线性关系良好。精密移取同一对照品溶液,在“2.5.1”项色谱条件下进样6次,测得峰面积RSD为1.75%,表明仪器精密度良好;取同一

品6份,按“2.5.4”项下方法制备供试品溶液,测得峰面积RSD为0.27%,表明该方法重复性良好;取同一供试品溶液,于0、2、4、8、16、24h进样,测得峰面积RSD为1.74%,表明溶液在24h内稳定性良好;精密称取东莨菪内酯含量已知的样品6份,加入适量对照品溶液,在“2.5.1”项色谱条件下测定,测得加样回收率为96.38%,RSD为1.39%。

2.5.4 测定方法 精密称取样品0.500g,置于100mL圆底烧瓶中,加入甲醇-盐酸(4:1)溶液50mL,80℃水浴中回流提取1h,取出,放冷。将提取液过滤到圆底烧瓶中,减压浓缩至干,残渣用甲醇溶解,转移至10mL量瓶中,稀释至刻度,摇匀,0.45μm微孔滤膜过滤,进样分析。

2.6 蛋白质含量测定 精密称取样品0.600g,置于消化管中,加入混合催化剂2.0g,精密加入10mL浓硫酸,混匀,消煮炉上消化1h,消化温度420℃,取出,冷却至室温,按照全自动凯氏定氮仪常量程序进行测定,用0.0493mol/L盐酸标准溶液滴定吸收液,以溶液由蓝绿色变为暗红色为滴定终点。

3 结果

3.1 多糖含量 不同产地、采摘期柴达木枸杞多糖的含量均高于1.8%,符合《中国药典》标准。德令哈市产样品的多糖含量最高,为3.273%;乌兰县产最低,为2.469%。8月都兰县夏日哈镇产样品的多糖含量最高,为3.430%;9月都兰县宗加镇产最低,为2.133%。具体见表2。

3.2 总黄酮含量 诺木洪产样品的总黄酮含量最高,为0.574%;乌兰县产最低,为0.419%。8月诺木洪产样品的总黄酮含量最高,为0.643%;10月乌兰县产最低,为0.333%。具体见表2。

3.3 类胡萝卜素含量 德令哈市产样品的类胡萝卜素含量最高,为293.6mg/100g;都兰县宗加镇产最低,为202.2mg/100g。8月德令哈市产样品的类胡萝卜素含量最高,为355.1mg/100g;9月格尔木市产最低,为178.6mg/100g。具体见表2。

3.4 甜菜碱含量 不同产地、采摘期样品的甜菜碱含量均高于0.30%,符合《中国药典》标准。乌兰县产样品的甜菜碱含量最高,为0.900%;都兰县夏日哈镇产最低,为0.763%。

各采摘期不同样品的甜菜碱含量均依次为10月>8月>9月,10月乌兰县产最高,为1.210%;9月格尔木市产最低,为0.615%。具体见表2。

3.5 东莨菪内酯含量 都兰县宗加镇产样品的东莨菪内酯含量最高,为160.9mg/kg;德令哈市产最低,为110.4mg/kg。各采摘期不同样品的东莨菪内酯含量均依次为8月>9月>10月,8月都兰县宗加镇产最高,为201.8mg/kg;10月格尔木市产最低,为76.41mg/kg。具体见表2。

3.6 蛋白质含量 德令哈产样品的蛋白质含量最高,为12.59%;都兰县宗加镇产最低,为10.39%。10月乌兰县产样品的含量最高,为13.63%;9月格尔木市产最低,为8.969%。具体见表2。

表2 各成分含量测定结果(n=3)

Tab. 2 Results of content determination of various constituents (n=3)

编号	多糖/ %	总黄酮/ %	类胡萝卜素/ (mg·100g ⁻¹)	甜菜碱/ %	东莨菪内酯/ (mg·kg ⁻¹)	蛋白质/ %
1	3.430	0.584	238.9	0.707	146.0	10.94
2	2.491	0.603	226.1	0.634	137.9	11.34
3	2.218	0.335	211.4	0.948	94.84	13.47
4	3.863	0.509	184.0	0.821	201.8	10.08
5	2.133	0.444	220.0	0.663	188.5	9.780
6	2.246	0.379	202.7	0.856	92.36	11.32
7	2.636	0.643	300.0	0.806	144.3	12.03
8	2.873	0.538	211.0	0.676	128.6	11.34
9	2.413	0.540	272.5	0.836	82.76	11.68
10	3.266	0.478	249.0	0.811	166.8	10.91
11	2.669	0.442	178.6	0.615	126.3	8.969
12	2.520	0.454	232.1	0.877	76.41	11.72
13	3.079	0.454	355.1	0.773	145.3	13.34
14	3.290	0.446	209.3	0.900	103.3	12.34
15	3.451	0.447	316.5	0.969	82.65	12.09
16	2.730	0.425	321.5	0.848	159.5	12.09
17	2.266	0.498	242.9	0.641	90.99	10.53
18	2.412	0.333	228.2	1.210	90.31	13.63

3.7 主成分分析

3.7.1 相关系数矩阵 为了消除各变量之间量纲和数值数量级上的差别,将原始数据标准化后,用SPSS 19.0软件进行主成分分析,所得相关系数矩阵见表3。由表可知,各成分两两之间有较强的相关系数,70%的绝对值大于0.3,可解释变量之间的关系。

3.7.2 主成分数量确定 根据表3数据,采用主成分分析法计算该矩阵的特征值和特征向量,结果见表4。由表可知,特征值大于0.9的主成分有3个,分别用Z₁~Z₃表示,其累积贡献率

表3 各成分相关系数矩阵

Tab.3 Correlation coefficient matrices of various constituents

成分	多糖	总黄酮	类胡萝卜素	甜菜碱	东莨菪内酯	蛋白质
多糖(X ₁)	1.000	0.262	0.118	0.040	0.362	-0.085
总黄酮(X ₂)	0.262	1.000	0.153	-0.582	0.320	-0.333
类胡萝卜素(X ₃)	0.118	0.153	1.000	0.146	-0.018	0.480
甜菜碱(X ₄)	0.040	-0.582	0.146	1.000	-0.421	0.719
东莨菪内酯(X ₅)	0.362	0.320	-0.018	-0.421	1.000	-0.424
蛋白质(X ₆)	-0.085	-0.333	0.480	0.719	-0.424	1.000

达82.095%。

表4 主成分特征值和方差贡献率

Tab.4 Characteristic values and variance contribution rates of principal components

成分	特征值	方差贡献率/%	方差累计贡献率/%
1	2.526	42.107	42.107
2	1.430	23.839	65.946
3	0.969	16.149	82.095
4	0.591	9.847	91.942
5	0.326	5.434	97.377
6	0.157	2.623	100.000

3.7.3 主成分表达式 将各变量的标准化数据代入线性组合方程,得到方程分别为 $Z_1 = -0.282X_1 - 0.677X_2 + 0.265X_3 + 0.861X_4 - 0.684X_5 + 0.842X_6$ 、 $Z_2 = 0.641X_1 + 0.4X_2 + 0.781X_3 + 0.139X_4 + 0.29X_5 + 0.383X_6$ 、 $Z_3 = 0.616X_1 - 0.394X_2 - 0.437X_3 + 0.369X_4 + 0.312X_5 - 0.098X_6$ 。由此可知,第一主成分在甜菜碱和蛋白质上有较大的载荷系数,即与甜菜碱和蛋白质有较强的相关性;第二主成分在类胡萝卜素和多糖上有较大的载荷系数,即与类胡萝卜素和多糖有较强的相关性;第三主成分在多糖和甜菜碱上有较大的载荷系数,即与多糖和甜菜碱有较强的相关性。

3.7.4 主成分综合得分 根据“3.7.3”项下结果,建立综合得分方程为 $Z = 0.421Z_1 + 0.238Z_2 + 0.161Z_3$,以其计算不同产地、采摘期柴达木枸杞的综合得分,结果见表5,可知3、15、18号样品得分较高,2、5、11号样品较低。综合分析,可认为德令哈市产样品的质量最优,乌兰县产次之。

4 讨论与结论

由于气候、纬度、地理环境、光照和水肥等多种因素的影响,不同产地的柴达木枸杞的多糖、总黄酮、蛋白质含量存在一定的差异,而类胡萝卜素、甜菜碱、东莨菪内酯含量的差异更为显著,同时不同采摘期样品中各成分也存在一定差异,但

表5 主成分综合得分

Tab.5 Comprehensive scores of principal components

编号	Z ₁	Z ₂	Z ₃	Z	排序
1	-2.630	1.125	0.289	-0.793	12
2	-2.340	-0.179	-1.104	-1.205	16
3	3.896	-1.394	0.203	1.341	3
4	-3.477	0.721	2.451	-0.897	14
5	-2.690	-1.543	-0.141	-1.523	17
6	1.545	-2.051	0.028	0.167	8
7	-0.993	1.777	-1.337	-0.211	10
8	-1.704	-0.271	-0.177	-0.810	13
9	0.841	0.034	-1.287	0.155	9
10	-1.427	0.825	0.924	-0.256	11
11	-2.909	-2.291	0.320	-1.719	18
12	1.628	-0.869	-0.355	0.421	7
13	1.232	2.692	-0.587	1.065	4
14	1.214	0.121	1.044	0.708	5
15	2.292	1.849	0.314	1.455	2
16	0.819	1.381	-0.179	0.645	6
17	-0.958	-1.288	-1.339	-0.925	15
18	5.607	-0.634	0.903	2.355	1

均不显著,其中甜菜碱含量依次为10月>8月>9月,东莨菪内酯含量依次为8月>9月>10月。同时,各批样品中多糖和甜菜碱的含量都符合2015版《中国药典》要求。现代研究认为,对于中草药或植物药来说,单一化学成分的含量不足以证明其药用价值,故本研究选择多种化学成分作为指标来评价柴达木枸杞的质量,更为科学合理。

参考文献:

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社,1985.
- [2] 叶英,索有瑞,韩丽娟,等. 柴达木枸杞研究开发现状及产业前景分析[J]. 食品工业,2014,35(2): 210-213.
- [3] Wang J, Hu Y, Wang D, et al. Sulfated modification can enhance the immune-enhancing activity of *Lycium barbarum* polysaccharides[J]. *Cell Immunol*, 2010, 263(2): 219-223.
- [4] Mao F, Xiao B, Jiang Z, et al. Anticancer effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on coloncancer cells involves G0/G1 phase arrest[J]. *Med Oncol*, 2011, 28(1): 121-126.
- [5] Wang C, Chang S, Inbaraj B S, et al. Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity[J]. *Food Chem*, 2010, 120(1): 184-192.
- [6] Amagase H, Farnsworth N R. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji) [J]. *Food Res Int*, 2011, 44(7): 1702-1717.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

- [8] 谭亮, 冀恬, 耿丹丹, 等. ASE快速溶剂萃取与测定青海十六种高寒植物中多糖含量[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(12): 1992-1999.
- [9] 曲云卿, 张同刚, 刘敦华. 不同产地枸杞中主要类胡萝卜素的聚类分析[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 76-79.
- [10] 刘增根, 陶燕铎, 邵赞, 等. 柴达木枸杞和黑果枸杞中甜菜碱的测定[J]. 光谱实验室, 2012, 29(2): 694-697.
- [11] 曹静亚, 谭亮, 迟晓峰, 等. 柴达木栽培和野生枸杞子中东莨菪内酯含量的测定[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(12): 2004-2007.

酸枣仁黄酮 HPLC 指纹图谱建立及 2 种成分测定

杨旭, 冉瑞雪, 宋伟, 乔卫*

(天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

摘要: 目的 建立酸枣仁 *Ziziphi spinosae Semen* 黄酮 HPLC 指纹图谱, 并测定其中 2 种成分的含有量。方法 以斯皮诺素为参照峰, 建立 10 批样品的 HPLC 指纹图谱。酸枣仁黄酮甲醇提取物的分析采用 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.1% 醋酸, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 280 nm。结果 HPLC 指纹图谱中有 10 个共有峰, 并鉴定出其中 8 个 (维采宁-II、牡荆素葡萄糖苷、异斯皮诺素、斯皮诺素、6''-pyridyloylspinosin、6''-对羟基苯甲酰斯皮诺素、6''-阿魏酰斯皮诺素、6''-对香豆酰斯皮诺素)。斯皮诺素和 6''-阿魏酰斯皮诺素分别在 15.00 ~ 40.00 μg 和 5.00 ~ 14.00 μg 范围内线性关系良好, 平均加样回收率 (RSD) 分别为 100.5% (1.6%) 和 100.4% (1.6%)。结论 该方法准确、简单、可靠, 可用于酸枣仁黄酮的质量控制。

关键词: 酸枣仁; 黄酮; 斯皮诺素; 6''-阿魏酰斯皮诺素; HPLC 指纹图谱

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)05-0989-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2017.05.022

Establishment of HPLC fingerprints of flavonoids in *Ziziphi spinosae Semen* and determination of two constituents

YANG Xu, RAN Rui-xue, SONG Wei, QIAO Wei*

(Tianjin Municipal Key Laboratory of Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics; School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT: AIM To establish the HPLC fingerprints of flavonoids in *Ziziphi spinosae Semen* and to determine the contents of two constituents. **METHODS** With spinosin as a reference peak, the HPLC fingerprints of ten batches of samples were established. The analysis of methanol extract of flavonoids in *Ziziphi spinosae Semen* was performed on a 30 °C thermostatic Agilent TC-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% acetic acid flowing at 1 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 280 nm. **RESULTS** There were ten common peaks in the HPLC fingerprints, eight of which (vicenin-II, glucosylvitexin, isospinosin, spinosin, 6''-pyridyloylspinosin, 6''-p-hydroxybenzoylspinosin, 6''-feruloylspinosin and 6''-p-coumaroylspinosin) were identified. Spinosin and 6''-feruloylspinosin showed good linear relationships within the ranges of 15.00 - 40.00 μg and 5.00 - 14.00 μg, whose average recoveries (RSDs) were 100.5% (1.6%) and 100.4% (1.6%), respectively. **CONCLUSION** This accurate, simple and reliable method can be used for the quality control of flavonoids in *Ziziphi spinosae Semen*.

KEY WORDS: *Ziziphi spinosae Semen*; flavonoids; spinosin; 6''-feruloylspinosin; HPLC fingerprints

收稿日期: 2016-06-27

基金项目: 国家自然科学基金 (81173530); 天津市自然科学基金重点项目 (12YFJZJC08100)

作者简介: 杨旭 (1992—), 男, 硕士生, 研究方向为中药质量控制。E-mail: xiaovae201022@163.com

* 通信作者: 乔卫 (1968—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为药效物质基础及作用机制。E-mail: qiaowei@tmu.edu.cn