

# 四倍体药蒲公英和二倍体山西多裂蒲公英中咖啡酸含量的比较

刘红霞 高培芳 赵晓明 张金桐

(山西农业大学, 山西, 030801)

**摘 要** 本文采用四倍体药蒲公英和二倍体多裂蒲公英为材料,通过 HPLC 法测定并比较两种蒲公英中咖啡酸的含量,以大力推广产量高,抗逆性强,药用活性成分高的优质多倍体蒲公英新品种。HPLC 所采用的色谱柱为 Apollo C18 柱(150mm ×4.6mm, 5μm),流动相为甲醇-磷酸盐缓冲液(pH 4.0)(23:77);柱温 40℃;流速 0.9mL/min,检测波长为 327nm。二倍体山西多裂蒲公英中咖啡酸含量仅为 0.105%,四倍体药蒲公英中咖啡酸含量高达 0.29%,比前者多 176.1%。四倍体药蒲公英中咖啡酸含量高,是一种值得推广的优质多倍体蒲公英新品种。

**关键词** 四倍体药蒲公英 二倍体蒲公英 咖啡酸 HPLC

## 1 前 言

蒲公英为菊科(Compositae)菊苣族(Cichorieae),蒲公英属(Taraxacum)植物。蒲公英全草含蒲公英甾醇乙酸酯、蒲公英赛醇、蒲公英苦素及咖啡酸、绿原酸、菊糖、果胶、胆碱等<sup>[1]</sup>,具有广谱抑菌、利胆保肝、抗胃损伤以及抗肿瘤等作用<sup>[2]</sup>。“铭贤 1 号”是经过多年努力培育出的巨大型四倍体高产蒲公英,田永生等对四倍体和二倍体蒲公英不同部位的几个生理指标进行了测定和比较,包括类黄酮、异黄酮、Vc、可溶性糖含量、SOD、POD 和 CAT 等,得出四倍体药蒲公英的这些指标比二倍体蒲公英有所增加,表现出较强的抗性基础<sup>[3]</sup>。为了进一步明确药材有效成分的变化情况,我们采用高效液相色谱法对其主要药用成分咖啡酸含量进行测定,与二倍体山西多裂蒲公英含量进行比较,并对其提取方法进行筛选。

## 2 材料和方法

### 2.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(LC-100 高压恒流泵,紫外检测器);Apollo C18 色谱柱(150mm ×4.6mm, 5μm),色谱工作站为上海伍丰工作站。四倍体药蒲公英、二倍体山西多裂蒲公英均在相同条件下栽培,在相同生长发育时期采集于山西农业大学天然药用

生物研究所。咖啡酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱醇;磷酸、磷酸氢二钠为分析纯;水为双蒸水。

### 2.2 色谱条件

色谱柱: Apollo C18 柱(150mm ×4.6mm, 5μm),流动相:甲醇-磷酸盐缓冲液(称取磷酸二氢钠 1.56g,加水使溶解成 1000mL,用 1%磷酸将 pH 调节为 4.0)(23:77);柱温 40℃;流速 0.9mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 327nm<sup>[4]</sup>。在此色谱条件下,样品中咖啡酸与其他成分的峰能够达到基线分离。对照品和样品的色谱图见图 1。从图中可以看出,在此色谱条件下,咖啡酸的保留时间处并没有其它物质干扰。

### 2.3 对照品溶液的制备

精密称取咖啡酸对照品适量,用甲醇定容到 10mL 的容量瓶中,配成浓度为 0.08 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

### 2.4 标准曲线绘制

将上述对照品溶液梯度稀释为 0.08、0.06、0.04、0.02、0.01 mg·mL<sup>-1</sup>,分别吸取 10μL 进样,在上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为横坐标,以咖啡酸对照品含量为纵坐标,绘制标准曲线(见图 2),其回归方程为  $Y = 976108X - 133015$ ,  $R = 0.9997$ 。咖啡酸在进样量为 0.08~1.6μg 时呈良好的线性关系。

基金项目: 山西省科技攻关项目“植物源杀菌剂的研究”(412538)。

作者简介: 刘红霞,女,1983 年 3 月出生,山西农业大学教师,主要从事中药有效成分研究。E-mail: liuhongxia0311@163.com.cn

通讯作者: 张金桐,山西农业大学教授,主要从事昆虫性信息素和中药有效成分的研究。

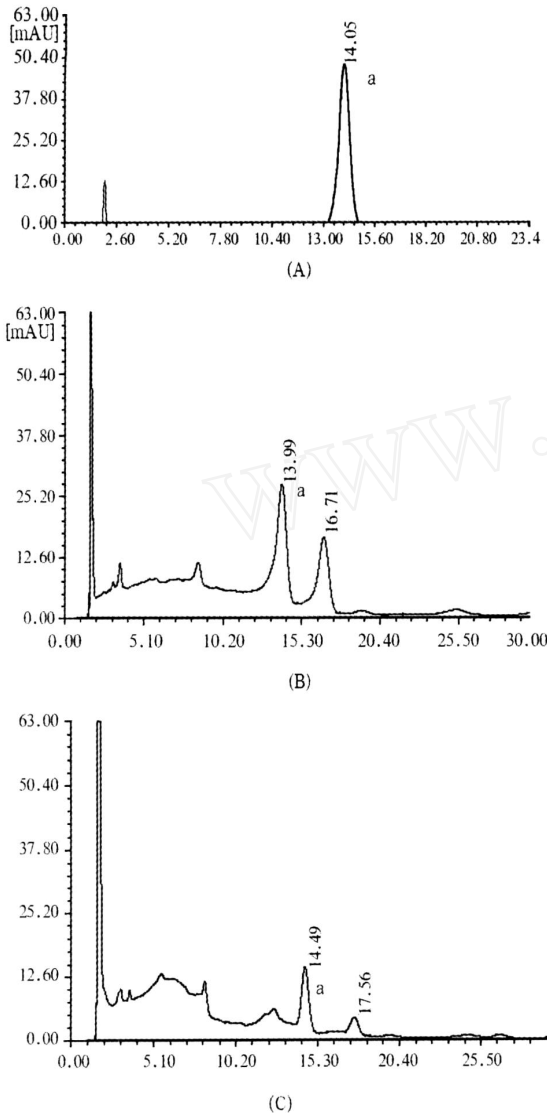


图1 对照品及样品色谱图

A. 咖啡酸对照品色谱图 B. 四倍体药蒲公英中咖啡酸色谱图  
C. 二倍体山西多裂蒲公英中咖啡酸图中 a. 咖啡酸

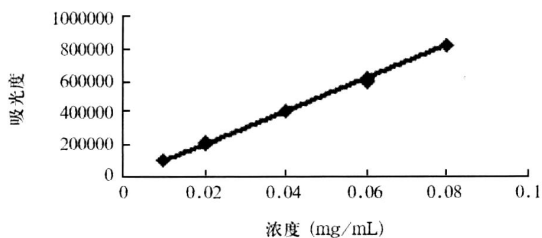


图2 咖啡酸标准曲线图

## 2.5 供试品溶液制备

分别精密称取干燥的两种蒲公英粉末各 1g, 置 50mL 具塞锥形瓶中, 加入无水甲醇 30mL, 于避光

处放置 12h, 超声波处理 30min, 滤至 50mL 量瓶中, 用无水甲醇洗涤并稀释至刻度, 摇匀, 即为供试品溶液(C)。同时用甲醇索氏提取法(S)和甲醇冷浸法(L)提取, 也作为供试品溶液(S)、(L)。

## 3 结果与讨论

### 3.1 稳定性试验

对同一供试品分别于制备后 0、2、8、24、48h 测定咖啡酸峰面积, 结果  $RSD = 1.28\%$ , 表明样品在 48h 内具有良好的稳定性。

### 3.2 精密度试验

取配置好的咖啡酸对照品溶液, 重复进样 5 次, 测得峰面积的  $RSD = 1.04\%$ , 表明方法重复性良好。

### 3.3 重复性试验

准确称取同一样品共 5 份, 每份 1g, 按供试品溶液制备项操作, 测定其峰面积,  $RSD$  为  $1.37\%$ , 表明方法重复性良好。

### 3.4 加样回收率试验

精密称取已知含量的蒲公英样品 5 份, 每份 1g, 加对照品适量, 按供试品溶液制备项操作, 测定并计算回收率, 结果见表 1。

表1 咖啡酸加样回收率 ( $n = 5$ )

| 样品含量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 测得量<br>( $\mu\text{g}$ ) | 回收率<br>(%) | 平均值<br>(%) | RSD<br>(%) |
|---------------------------|--------------------------|------------|------------|------------|
| 0.295                     | 0.374                    | 98.8       | 99.3       | 1.01       |
| 0.287                     | 0.368                    | 101.3      |            |            |
| 0.305                     | 0.384                    | 98.8       |            |            |
| 0.289                     | 0.367                    | 97.5       |            |            |
| 0.291                     | 0.371                    | 100.0      |            |            |

注: 对照品加入量均为  $0.08\mu\text{g}$ 。

### 3.5 样品含量测定

取供试品溶液  $20\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪测定, 每个样品重复测定 5 次, 记录数据。样品中咖啡酸含量测定结果见表 2。

从表 2 可以看出, 用甲醇冷浸法、甲醇索氏提取法及甲醇超声波提取法制备的蒲公英提取液中咖啡酸的含量差异较大, 其中超声波提取法提取的咖啡酸含量较高, 主要是由于超声波能击碎细胞壁, 使细胞中的组分更充分地进入到溶液中, 从而达到提取的目的<sup>[4]</sup>。

表 2 样品中咖啡酸的含量 (n = 5)

| 样品名称          | 峰面积      | 咖啡酸含量 (%) | RSD (%) |
|---------------|----------|-----------|---------|
| 四倍体药蒲公英(C)    | 120913.9 | 0.290     | 1.88    |
| 四倍体药蒲公英(S)    | 100195.7 | 0.250     | 0.92    |
| 四倍体药蒲公英(L)    | 96037.8  | 0.190     | 0.76    |
| 二倍体山西多裂蒲公英(C) | 42607.9  | 0.105     | 0.70    |
| 二倍体山西多裂蒲公英(S) | 39654.6  | 0.091     | 1.02    |
| 二倍体山西多裂蒲公英(L) | 37056.2  | 0.083     | 1.07    |

注: C - 甲醇超声法处理 S - 甲醇索氏提取法处理  
L - 甲醇冷浸法处理

从表 2 还可看出,四倍体药蒲公英中咖啡酸含量高达 0.290%,比二倍体山西多裂蒲公英中咖啡酸含量(0.105%)多 176.1%,达到中国药典 2005 年版关于蒲公英药材中咖啡酸含量不得少于 0.020%的规定<sup>[5]</sup>。四倍体药蒲公英中咖啡酸含量较高的原因主要是由于多倍体植株染色体加倍,导致次生代谢产物含量的增加,所以有效成分增加。

### 3.6 讨论

本实验采用甲醇冷浸法、甲醇索氏提取法及甲醇超声波提取法对蒲公英中的咖啡酸进行提取,其中超声波提取法的效果最好,且操作简便、快速。郭晓欧等曾采用此方法提取栀子中的绿原酸<sup>[6]</sup>,吴少雄等则采用超声波法提取大花红景天中的有效成分<sup>[7]</sup>。

从样品测定结果可见,四倍体药蒲公英中咖啡酸的含量成倍增加。多倍体植株由于染色体加倍,往往表现为营养体根、茎、叶为巨大型,即根、茎、叶的产量高。由于营养物质主要集中于营养体,所以

可以满足药材生产的要求。另一方面植物染色体倍性的变化往往会导致次生代谢产物含量的增加,例如怀牛膝同源四倍体中蜕皮激素较原植物高出 10 倍之多<sup>[8]</sup>,四倍体白芷的药用成分欧前胡素含量比原植物高出近 2 倍<sup>[9]</sup>。本试验的结果与以上结论互相印证,为推广产量高、抗逆性强、药用成分高的优质多倍体蒲公英新品种提供了依据。

因为咖啡酸为有机酸,故选用酸性流动相可抑制电离,使峰形稳定,分离度好<sup>[10]</sup>。本实验参考《中国药典》2005 年版蒲公英项,用流动相甲醇-磷酸盐缓冲液(25:75)进行洗脱,样品中咖啡酸峰形较好,与其他组分均可达到基线分离。

### 参考文献

- 1 凌云,鲍燕燕,张永林. 中草药杂志, 2000, 31: 10
- 2 吴艳玲,朴惠善. 时珍国医国药, 2004, 15(8): 519-520
- 3 田永生,赵晓明. 中国农学通报, 2007, 23(6): 346-348
- 4 肖蕾,胡松青,李琳. 中药材, 2002, 25(11): 826-828
- 5 国家药典委员会. 中华人民共和国药典,一部(第1版). 北京:化学工业出版社, 2005: 244
- 6 郭晓欧. 中国中医杂志, 1996, 21(10): 620-621
- 7 吴少雄,李琳,殷建忠等. 食品科技, 2006, (1): 46-49
- 8 吕世民,梁可钧,葛传吉等. 中药通报, 1988, 13(7): 395-396
- 9 彭菲,张胜,刘塔斯等. 中国中药杂志, 2002, 27(6): 426-428
- 10 曾秋华,唐晓晖. 中国药业, 2007, 16(3): 26-27

收稿日期: 2009-03-23

**Comparison of caffeic acid contents in tetraploidy taraxacum officinale and diplontic taraxacum dissectum.** Liu Hongxia, Gao Peifang, Zhao Xiaoming, Zhang Jintong (Shanxi Agricultural University, Taiyuan, 030801)

A high performance liquid chromatographic method was established for determination of caffeic acid contents in tetraploidy taraxacum officinale and diplontic taraxacum dissectum. An Appollo C18 column (150mm × 4.6mm, 5μ) was used with CH<sub>3</sub>OH-PB (pH 4.0, 23:77) as mobile phase, detection at 327nm, column temperature of 40 °C, and flow rate of 0.9mL/min. The results showed that the caffeic acid content in tetraploidy taraxacum officinale was 0.29%, and in diplontic taraxacum dissectum it was only 0.105%. The former was 176.1% higher than the latter. The comparison is helpful for promoting high quality tetraploidy strain.