

## 不同采集时间野葛不同部位总黄酮和葛根素含量比较

刘逢芹<sup>1</sup>, 李宏建<sup>1</sup>, 周扬星<sup>2</sup>, 李贵海<sup>3,①</sup>

(1. 山东省千佛山医院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250014;

3. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014)

**Comparison on contents of flavonoids and puerarin from different parts of *Pueraria lobata* in different gathering times** LIU Feng-qin<sup>1</sup>, LI Hong-jian<sup>1</sup>, ZHOU Yang-xing<sup>2</sup>, LI Gui-hai<sup>3,①</sup> (1. Department of Pharmacy, Shandong Province Qianfoshan Hospital, Ji'nan 250014, China; 2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China; 3. Department of Pharmacology, Shandong Academy of Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(2): 79-80

**Abstract:** The contents of flavonoids and puerarin in *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi were measured by UV-spectrophotometry and HPLC. The results showed that contents of flavonoids and puerarin in *P. lobata* were related to different parts and gathering season. The flavonoids and puerarin content from vines gathered in autumn and winter were the highest, reached to 5.18% - 6.12% and 0.982% - 1.718% respectively. The vine is regarded as the available medicinal resources and is worth exploiting.

**关键词:** 野葛; 总黄酮; 葛根素; 紫外分光光度法; 高效液相色谱法

**Key words:** *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi; flavonoids; puerarin; UV-spectrophotometry; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2006)02-0079-02

临床常用药材葛根来源于野葛 [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] 的干燥根, 含有多种异黄酮化合物, 市场需求量较大, 资源比较紧张。过度无序的采挖不仅使其野生资源面临枯竭的危险, 也造成了产地区域生态环境的破坏。有研究表明, 野葛地上部位含有的成分与葛根基本相同<sup>[1]</sup>。为寻求利用野葛地上藤茎部位替代葛根药用的可行性, 作者用紫外分光光度法和高效液相色谱法分析了不同时间采集的野葛不同部位的总黄酮和葛根素含量, 为进一步扩大和开发野葛的药用新资源提供参考依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

于2003年10月和2004年2月、6月、10月、11月和12月分别采集野葛的根、藤及叶, 采集地点位于山东省济南市南部丘陵地区。根和藤切成1~2 mm的薄片, 自然干燥, 研成细末, 过20目筛备用; 叶(包括叶柄)剪成0.5~1 cm宽的细条, 自然干燥, 研成细末, 过20目筛备用。

取样品粉末1.0 g, 精密称定, 加95%乙醇250 mL加热回流1.5 h, 过滤后用95%乙醇定容至250 mL。精密量取1 mL, 加水稀释至10 mL作为样品溶液。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 紫外分光光度法测定总黄酮含量<sup>[2]</sup>

1.2.1.1 对照品溶液的配制 精密称取葛根素对照品(中国药品生物制品检定所, 编号为110752-200209)5.3 mg, 加95%乙醇溶解并定容至25 mL, 作为标准品溶液。

1.2.1.2 测定波长的确定 测定标准品溶液和样品溶液在

200~400 nm范围内的吸光度, 最大吸收峰均在250 nm处, 且图谱基本相同, 故选择250 nm为测定波长。

1.2.1.3 标准曲线绘制 精密量取标准品溶液0.2、0.4、0.6、0.8和1.0 mL, 加95%乙醇至1.0 mL, 用水定容至10 mL, 摇匀, 以1.0 mL 95%乙醇加水稀释至10 mL为空白对照溶液, 于250 nm处测其吸收度, 以浓度(C)为横坐标、吸收度(A)为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程  $A = 64.56132C + 0.01544$ ,  $r = 0.9999$ 。

1.2.1.4 精密度实验 多次精密吸取同一份野葛藤样品溶液, 依照标准曲线测定方法测定, RSD为0.07% ( $n = 6$ ), 表明本方法精密度较高。

1.2.1.5 稳定性实验 精密吸取对照品溶液1.0 mL, 用水稀释至10 mL, 依照标准曲线测定方法每隔30 min测定1次, RSD为1.0478% ( $n = 6$ )。表明供试溶液在3 h内稳定。

1.2.1.6 重现性实验 取同一份野葛藤样品, 分别制成5份样品溶液, 依照标准曲线测定方法测定, RSD为4.3% ( $n = 5$ ), 表明本方法重现性良好。

1.2.1.7 加样回收实验 精密称取已知总黄酮含量的野葛藤样品溶液5份, 加入葛根素对照品, 按样品溶液制备方法处理, 制成加样回收供试品液, 按标准曲线测定方法测定, 平

收稿日期: 2005-11-02

基金项目: 国家中医药管理局科研项目(04-05ZL13)和山东省科学技术委员会攻关计划项目(032020106)

作者简介: 刘逢芹(1960-), 女, 山东济南人, 大学, 主任药师, 主要从事中药质量控制及制剂研究。

① 通讯作者 E-mail: xh2928@sohu.com

均回收率为 104.08%,  $RSD$  为 1.3% ( $n=5$ )。

1.2.1.8 样品含量测定 取样品溶液按标准曲线测定方法测定 250 nm 处的吸光度, 根据标准曲线计算总黄酮含量。

1.2.2 HPLC 法测定葛根素含量<sup>[3]</sup>

1.2.2.1 色谱条件 Diamonsil(钻石)  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相  $V$ (甲醇):  $V$ (水) = 40:60, 柱温 35°C 恒温, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 250 nm, 柱压 1 400 psi, 理论塔板数按葛根素峰计算为 3 000。在此色谱条件下, 取标准品和样品溶液分别进样 20  $\mu$ L, 所得 HPLC 图谱表明野葛提取物中葛根素色谱峰与其他组分色谱峰能得到很好的分离, 无干扰。

1.2.2.2 标准曲线绘制 称取葛根素对照品 4.7 mg, 加 95% 乙醇 10 mL 溶解, 用水定容至 25 mL, 配制成浓度为 18.8  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup> 的标准品溶液, 从中精密量取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 和 6.0 mL 分别用 30% 乙醇稀释定容至 10 mL, 按上述色谱条件测定吸收峰面积, 进样量 20  $\mu$ L。以浓度  $C$  ( $\mu$ g · mL<sup>-1</sup>) 为横坐标, 吸收度  $S$  为纵坐标绘制标准曲线, 计算出回归方程  $S = 57\ 322.787C - 2\ 027.734$ ,  $r = 0.999\ 8$ , 线性范围 0.752 ~ 9.024  $\mu$ g。

1.2.2.3 精密实验 精密吸取浓度为 18.8  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup> 的葛根素对照品溶液于上述色谱条件下测定, 进样量 20  $\mu$ L, 重复进样 6 次, 计算峰面积,  $RSD$  为 4.1%。

1.2.2.4 稳定性实验 精密吸取浓度为 18.8  $\mu$ g · mL<sup>-1</sup> 的葛根素对照品溶液 20  $\mu$ L 于 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 h 分别进样, 于上述色谱条件下测定, 计算峰面积,  $RSD$  为 2.75%, 表明供试溶液在 3 h 内稳定。

1.2.2.5 重现性实验 取同一份野葛藤样品分别制备成样品溶液 5 份, 依照上述色谱条件测定峰面积 ( $n=3$ ), 计算出样品中葛根素含量平均为 3.86%,  $RSD$  为 1.63%, 表明本方法重现性较好。

1.2.2.6 加样回收实验 精密称取已知浓度的样品 5 份, 分别精密加入等量葛根素对照品, 按样品溶液的制备方法制备, 测定峰面积 ( $n=3$ ), 平均加样回收率为 95.67%,  $RSD$  为 0.489 8%。

1.2.2.7 样品含量测定 取样品溶液, 按上述 HPLC 色谱条件测定, 根据标准曲线计算样品中的葛根素含量。

## 2 结果和分析

不同季节采集的野葛不同部位总黄酮和葛根素含量见表 1。

实验结果提示, 野葛的根部总黄酮含量最高, 而秋季以后采集的野葛藤也富含总黄酮成分。从表 1 中可以看出, 野葛藤的采集时间与总黄酮和葛根素含量关系密切, 以秋冬季采集的藤中含量最高, 这与葛根药材的采集期相符, 因此野

葛藤的采集期也应以秋冬季为佳; 藤的粗细与总黄酮和葛根素的含量也有一定的关系。野葛叶中的总黄酮含量较低, 仅为 2.29%, 在叶中没有检测出葛根素。

表 1 不同采集时间野葛不同部位的总黄酮和葛根素含量比较<sup>1)</sup>  
Table 1 Comparison of contents of flavonoids and puerarin from different parts of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi in different gathering times<sup>1)</sup>

部位 Part	采集时间 Gathering time	总黄酮 含量/% Content of flavonoids	葛根素 含量/% Content of puerarin
根 Root	2004-10	12.50	5.082
藤 Vine(>0.5 cm)	2004-02	4.72	1.693
藤 Vine(>0.5 cm)	2004-06	1.12	0.196
藤 Vine(1.0-2.5 cm)	2003-10	7.14	2.284
藤 Vine(<0.5 cm)	2003-10	5.18	0.982
藤 Vine	2004-12	6.12	1.718
叶 Leaf	2004-11	2.29	-

<sup>1)</sup> -: 未检测出 Undetectable

葛根含有多种异黄酮成分, 主要有葛根素(puerarin)、大豆苷(daidzin)、大豆苷元(daidzein)等。现代药理证实这些成分具有多种药理活性, 可降低心肌耗氧量, 增加冠脉、脑血管流量, 增加机体免疫力, 调节内分泌系统功能, 降低血糖等<sup>[3,4]</sup>, 在治疗心脑血管病和防治骨质疏松症等方面具有良好疗效。目前临床应用量较大, 资源日趋紧张, 因而开展对野葛其他部位的药用研究是十分必要的。

《中华人民共和国药典》(2005 版) 只收载野葛作为常用中药葛根的惟一植物来源。笔者的研究证实野葛的藤茎部位所含主要成分与葛根基本相同, 只是含量上有一定差异。因而, 深入开展野葛藤茎的药用研究对于拓宽葛根的药用资源及资源再利用有重要意义, 具有一定的经济效益和社会效益。

采用紫外法分光光度及 HPLC 法测定野葛地上部分总黄酮含量和葛根素含量, 方法准确、快速, 操作简便, 重现性好, 同时以野葛根部总黄酮和葛根素含量为对照, 客观地反应了野葛资源的质量情况, 可作为控制野葛藤提取物质量的质控方法。

### 参考文献:

- [1] 孟祥颖, 鲁歧, 赵英. 葛藤与葛根中异黄酮类成分的比较[J]. 植物资源与环境, 1996, 5(4): 26-28.
- [2] 阮建林, 张雯洁, 谷俊峰. 云南产葛根的葛根素及总黄酮含量测定[J]. 云南中医中药杂志, 2000, 21(3): 39-40.
- [3] 宋洪杰, 曾明, 胡晋红, 等. 葛属植物中 3 种异黄酮成分分析[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(4): 223.
- [4] 窦德明, 代维正, 陈振峰. 秦岭不同产地葛根中异黄酮含量的研究[J]. 中草药, 2002, 33(7): 663-664.