植物资源与环境学报 2006, **15**(3): 75 - 76
Journal of Plant Resources and Environment

不同采收期宁夏枸杞叶中总黄酮含量的比较

文怀秀[1,2], 邵 赟[1,①], 蒋福全[1,2], 赵晓辉[1,2], 陶燕铎[1]
(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

Comparison of total flavonoid content in leaves of Lycium barbarum **at different picked times** WEN Huai-xiu[1,2], SHAO Yun[1,①], JIANG Fu-quan[1,2], ZHAO Xiao-hui[1,2], TAO Yan-duo[1] (1. Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xi'ning 810001, China; 2. The Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, **15**(3): 75 - 76

Abstract: The contents of total flavonoids in leaves of *Lycium barbarum* L. at different picked times were determined by RP-HPLC. It was showed that the content of total flavonoids in leaves was the highest (1.99%) in May and the second (1.36%) in August, and decreased sharply after September and went down to the lowest in October (0.36%). So the best picked time in Xi'ning City, Qinghai Province was early summer. Moreover, contents of three major aglycones, such as quercetin, kaempferol and isorhamntin, were compared. Consistently for all picked times, the content of quercetin was much higher than those of kaempferol and isorhamntin.

关键词: 宁夏枸杞叶; 总黄酮; 含量测定; 采收期
Key words: leaves of *Lycium barbarum* L.; total flavonoids; content determination; picked time
中图分类号: Q946.83; R282.2 **文献标识码**: A **文章编号**: 1004 - 0978(2006)03 - 0075 - 02

宁夏枸杞 (*Lycium barbarum* L.)的果实为常用的传统中药,其有效成分主要为黄酮类化合物。研究发现[1],黄酮类成分具有止咳、平喘、祛痰之功效,并能扩张冠状动脉及降低血胆固醇,有增强心脏收缩、减少心脏搏动数及明显的抗氧化等作用[2]。有研究表明[3],枸杞干叶中黄酮含量高于枸杞干果。因而,作者对不同采收时期青海产宁夏枸杞叶中总黄酮含量进行了测定和比较,以期为扩大黄酮类成分的药源及确定枸杞叶的最佳采收期提供一定的参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试枸杞叶分别于 5月、8月、9月和 10月中旬采自青海省西宁市西山植物园的同一批枸杞枝条,海拔 2 250 m,经高级工程师梅丽娟鉴定为宁夏枸杞 (*Lycium barbarum* L.)。

对照品槲皮素、山柰酚和异鼠李素均购自中国药品生物制品检定所。所用仪器包括: Waters 2996 DAD 检测器; Waters 515 高效液相色谱输液泵; Waters Empower色谱工作站; Waters色谱柱恒温箱; L ×J - II型离心沉淀机 (涟水电讯电机厂); RE - 52旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); DZKW - C型电子恒温水浴锅 (北京化玻联医疗器械公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品处理 枸杞叶采集后自然晾干,研碎,取 1 g样品粗粉置于索氏提取器中,加 V(石油醚) : V(氯仿) = 4 : 1混合液约 120 mL回流 2 h,弃去提取液,再加甲醇 120 mL回流提取 4 h,提取液减压浓缩至干,以 30 mL V(甲醇) : V(25%盐酸) = 4 : 1混合液溶解残渣, 80℃水浴回流 30 min[4],水解液过滤,滤液转移至 50 mL容量瓶中,以甲醇定容至刻度,摇匀,制成供试品溶液,待用。

1.2.2 RP - HPLC色谱条件 色谱柱: Thermo C_{18}柱 (250 mm ×4.6 mm); 流动相: V(MeOH) : V(0.1% H_3PO_4) = 50 : 50; 柱温 25℃, 流速 1.0 mL · min^{-1}, 检测波长 275 nm, 灵敏度 1.5 AUFS。

1.2.3 标准曲线绘制 分别精密称取于 105 ℃干燥至恒重的槲皮素、山柰酚和异鼠李素对照品 1.8、2.4和 1.5 mg,用色谱甲醇溶解并定容至 10 mL, 制成 3种对照品母液。从 3种对照品液中各吸取一定量,混合, 再加甲醇稀释, 摇匀, 制得槲皮素、山柰酚及异鼠李素浓度分别为 0.03、0.04和 0.025 mg · mL^{-1}的混合对照品溶液。

分别吸取混合对照品溶液 4、6、8、10和 12 μL进样测定,按上述 RP - HPLC色谱条件测得峰面积积分值,以峰面积积分值对进样量求得下列回归方程: 槲皮素含量 y = 22 037 484 848x + 1 526 670, r = 0.999 423, 槲皮素在 0.000 24～0.000 36 mg含量范围内呈良好的线性关系; 山柰酚含量 y = 32 721 202 703x - 2 448 876, r = 0.999 970, 山柰酚在 0.000 32～0.000 48 mg范围内呈良好的线性关系; 异鼠李素含量 y = 35 936 260 000x - 1 440 305, r = 0.999 275, 异鼠李素在 0.000 2～0.000 3 mg范围内呈良好的线性关系。

收稿日期: 2006 - 03 - 20
基金项目: 中国科学院知识创新领域前沿资助项目 (编号: CXLY - 2002 - 9)
作者简介: 文怀秀 (1981 -), 女, 青海平安人, 硕士研究生, 研究方向为中药新药研究与开发。
①通讯作者

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2.4 精密度、重复性和加样回收率测定 精密度测定:分别吸取混合对照品溶液 10 μL,在上述 RP-HPLC色谱条件下重复进样 5次,测得峰面积积分值,求得槲皮素、山柰酚和异鼠李素的 RSD值分别为 1.84%、2.05%和 1.97%。

重复性测定:称取样品粗粉 5份,每份 1 g,分别按样品处理方法提取总黄酮,制得供试品溶液,分别吸取 10 μL进样,测得峰面积积分值,求得槲皮素、山柰酚和异鼠李素的 RSD值分别为 1.99%、2.38%和 2.23%。

平均加样回收率测定:取已知黄酮含量的样品(5月份采集)粗粉 5份,各精密称取 0.2 g,分别加入槲皮素、山柰酚和异鼠李素对照品母液 10、1.5和 7.5 mL(分别相当于含标准品 1.53、0.036和 0.02 mg),按样品处理方法提取,制得供试品溶液,分别进样 10 μL,测得峰面积积分值,求得槲皮素、山柰酚和异鼠李素的平均加样回收率分别为 101.25%、99.01%和 99.94%。

1.2.5 样品含量测定 取供试品溶液用直径为 0.45 μm的微孔滤膜过滤,分别进样 10 μL,按上述 RP-HPLC色谱条件进行测定,测得峰面积积分值,代入相应的回归方程中计算,即得样品中槲皮素、山柰酚和异鼠李素 3种甙元的含量[5]。总黄酮含量计算公式为:总黄酮醇苷含量 = (槲皮素含量 + 山柰酚含量 +异鼠李素含量) ×2.51。

2 结果和分析

不同采收期宁夏枸杞叶中总黄酮含量及槲皮素、山柰酚和异鼠李素 3种苷元的含量均有明显差异,结果见表 1。

由表 1可以看出,宁夏枸杞叶中含有丰富的黄酮类成分,其含量随生长时间的不同呈现出一定的变化规律。

通过对 5月、8月、9月和 10月 4个不同采收期宁夏枸杞叶中总黄酮含量的比较,发现 5月份采集的宁夏枸杞叶中总黄酮含量最高,8月次之,入秋后其总黄酮含量明显降低,至 10月份宁夏枸杞叶中黄酮类成分含量最低。因此,在青海西宁市宁夏枸杞叶最佳采收期为夏初。

对 3种主要苷元含量的比较分析表明,槲皮素含量明显高于山柰酚和异鼠李素的含量,后两者在总黄酮含量中所占比例较小。

表 1 不同采收期青海西宁产宁夏枸杞叶中总黄酮和 3种主要苷元的含量

Table 1 Contents of total flavonoids and three major aglycones in *Lycium barbarum* **L. leaves at different picked times in Xining City, Qinghai Province**

采收时间 Picked time	总黄酮含量/% Content of total flavonoids	苷元含量/% Content of aglycone		
		槲皮素 Quercetin	山柰酚 Kaempferol	异鼠李素 Isorhamnetin
5月 May	1.99	0.765	0.018	0.010
8月 August	1.36	0.532	0.006	0.002
9月 September	0.65	0.241	0.014	0.005
10月 October	0.36	0.103	0.026	0.015

另外,通过实验还发现,在样品的处理过程中,以 V(石油醚) :V(氯仿) = 4 :1混合液脱脂较石油醚单一溶剂效果更佳。经甲醇回流处理的提取液挥干时宜使用减压浓缩,实验证明高温浓缩对黄酮类成分有明显的破坏作用。

传统中药对枸杞的应用大多集中在枸杞子上,对枸杞叶中的黄酮含量测定尚少见报道。作者利用 RP-HPLC法测定了宁夏枸杞叶中的总黄酮含量,建立了简便、灵敏的含量测定方法,取得了较为满意的结果,对进一步开发枸杞的药用功能及扩大黄酮类药物的药源提供了一定的参考依据。

参考文献:

[1] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996. 265.

[2] 张 颖, 张立睦, 周红英, 等. 不同产地枸杞子中黄酮含量的测定[J]. 中国中医药科技, 2004, 11(2): 102-103.

[3] 李国莉, 黄元庆. 宁夏枸杞不同组分黄酮含量分析[J]. 宁夏医学院学报, 1995, 17(2): 114-115.

[4] 苑可武, 孟宪惠, 徐文豪. 银杏叶中黄酮含量的季节性变化[J]. 中草药, 1997, 28(4): 211-212.

[5] 施荣富, 王春红, 李永海. 沙棘叶黄酮含量及变化规律研究[J]. 国际沙棘研究与开发, 2003, 1(1): 40-44.

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net