

中药淫羊藿主要资源种类木兰花碱含量的研究

高敏, 刘京晶, 孙欣光, 黄文华, 郭宝林*, 肖培根

(中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的: 研究木兰花碱在淫羊藿主要资源种类中的含量状况。方法: 超声提取, HPLC 含量分析。结果: 淫羊藿叶片中木兰花碱质量分数在 0.002 9% ~ 1.688%。结论: 淫羊藿中木兰花碱含量呈现种间较大差异和种内较为稳定的特性; 朝鲜淫羊藿中木兰花碱含量最高, 心叶淫羊藿含量最低。

[关键词] 淫羊藿; 木兰花碱; 含量

木兰花碱是被子植物多心皮类普遍存在的成分, 且具有广泛的生理活性, 如抗炎、抗氧化作用^[1-2], 用作神经肌肉阻滞剂, 脂肪氧合酶抑制剂, 还具有细胞毒性、免疫抑制及抗菌等活性^[3]。本文对《中国药典》和《贵州省中药材、民族药材标准》收载的 8 种淫羊藿 (也是当前淫羊藿药材的主要资源种类^[4]): 淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim., 箭叶淫羊藿 *E. sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim., 柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim., 朝鲜淫羊藿 *E. koreanum* Nakai, 巫山淫羊藿 *E. wushanense* T. S. Ying, 粗毛淫羊藿 *E. acuminatum* Franch., 天平山淫羊藿 *E. myrianthum* Stearn 和 黔岭淫羊藿 *E. leptorrhizum* Stearn., 使用 HPLC 技术测定其叶片中木兰花碱的含量, 为淫羊藿药材的质量综合评价提供一定的依据。

1 材料

Waters 2695-2996 高效液相色谱仪、Empower 色谱工作站、Agela C₁₈ MP 色谱柱、KQ-250DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)、电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

木兰花碱 (北京慧德易科技有限责任公司, 经 HPLC 在 222 nm 处面积均一化检验, 纯度大于 99%), 磷酸二氢钾 (分析纯)、乙腈 (色谱纯, Merck)、水。淫羊藿药材由本所郭宝林研究员鉴定。

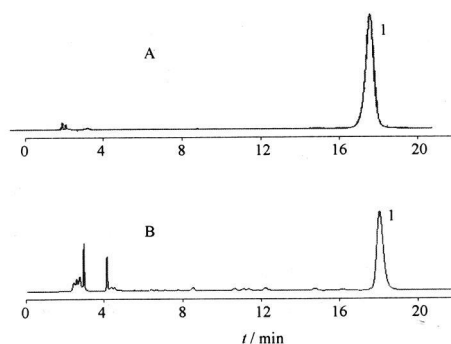
2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agela C₁₈ MP 色谱柱 (4.6 mm ×

250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.5 mol·L⁻¹ KH₂PO₄ 溶液 (14: 86); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 进样量 10 μL; 柱温 25 °C; 检测波长 222 nm。

2.2 对照品溶液制备 精密称取木兰花碱对照品 1.11 mg 甲醇溶解并定容至 10 mL, 得到 0.111 g·L⁻¹ 木兰花碱对照品溶液 I, 再稀释 5 倍, 得到 0.022 2 g·L⁻¹ 对照品溶液 II, 将对照品溶液 II 稀释 10 倍, 得到 0.002 22 g·L⁻¹ 对照品溶液 III。色谱图见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. 木兰花碱。

图 1 对照品及样品 HPLC 图

2.3 样品溶液制备 精密称取淫羊藿叶片粉末 (过 60 目筛) 0.5 g 置于具塞锥形瓶中, 加入 70% 甲醇 20 mL, 称重, 超声 60 min 静置冷却至室温后补足失重, 0.45 μm 滤膜过滤, 取续滤液即可。

2.4 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 III 2, 8, 10 μL, 对照品溶液 II 2, 4, 6, 10 μL, 对照品溶液 I 4, 6, 8, 10 μL, 按 2.1 色谱条件进行分析。以进样量 (X) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标进行回归, 得到回归方程: $Y = 7.0 \times 10^6 X + 18\,319$ ($r =$

[稿件编号] 20101209009

[通信作者] * 郭宝林, Tel (010) 62895049, E-mail guobaolin010@163.com



0.999 8), 木兰花碱进样量在 0.004 44~ 1.11 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 取照品溶液 I, 按 2.1 的色谱条件测定, 连续进样 6 次, 测得色谱峰面积 RSD 0.63%, 表明系统精密度良好。

2.6 重复性试验 取朝鲜淫羊藿样品 19 号, 按 2.3 方法制备 5 份样品溶液, 依 2.1 的色谱条件测定, 计算木兰花碱含量, 其 RSD 1.8%, 表明重复性良好。

2.7 稳定性试验 取一份 2.6 项下制备的样品溶液, 按 2.1 色谱条件测定, 分别在 0 2 4 8 12 24 h 进样, 求得峰面积 RSD 0.28%, 表明供试样品溶液 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品粉末 500 mg 共 6 份, 加入 $0.307 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液 1 mL, 按 2.3 方法制备样品溶液, 再按 2.1 色谱条件测定, 计算木兰花碱的加样回收率为 98.73%, RSD 1.5%。

2.9 样品含量测定 精密称取各个淫羊藿样品粉末约 0.5 g 按 2.3 方法制备样品溶液, 按 2.1 色谱条件测定, 进样量 10 μL 。各样品木兰花碱含量测定结果见表 1。

3 讨论

由表 1 中结果可知, 淫羊藿不同物种木兰花碱的含量差异很大, 8 个种的叶片中木兰花碱含量可以大致分为 3 个级别: 朝鲜淫羊藿、天平山淫羊藿和粗毛淫羊藿含量较高, 一般高于 0.07%; 箭叶淫羊藿、黔岭淫羊藿、巫山淫羊藿和拟巫山淫羊藿含量次之; 柔毛淫羊藿和心叶淫羊藿含量最低, 一般不高于 0.02%。其中朝鲜淫羊藿含量最高, 心叶淫羊藿最低。

木兰花碱在淫羊藿中属于低含量成分, 但在种内的差异一般不超过 3 倍 (如箭叶淫羊藿、朝鲜淫羊藿、天平山淫羊藿、黔岭淫羊藿、拟巫山淫羊藿), 说明木兰花碱含量主要受遗传因素影响。木兰花碱从结构上属于苜基异喹啉生物碱, 主要存在于较原始的多心皮植物群中^[5], 其含量也可能具有化学分类意义。

在一些种中有个别样品木兰花碱高于其他样品 (如柔毛淫羊藿的 13 号样品, 巫山淫羊藿的 15 号样品), 或者低于其他样品 (如心叶淫羊藿的 28 号样品, 粗毛淫羊藿的 27 号样品)。这些异常含量样品

表 1 淫羊藿叶片中木兰花碱含量 ($n = 3$)

No	种名	采集日期	产地	木兰花碱含量 %
1	淫羊藿	2005-06-01	山西陵川	0.008 60
2	<i>Epimedium brevicornu</i>	2005-06-03	河南嵩县	0.002 91
3		2005-06-15	甘肃岷县	0.010 4
4		2009-06-13	甘肃礼县	0.011 5
5	箭叶淫羊藿	2003-04-17	湖南吉首	0.062 9
6	<i>E. sagittatum</i>	2005-03-28	安徽金寨	0.030 6
7		2005-04-04	安徽黄山	0.076 5
8		2005-04-27	浙江龙泉	0.027 8
9		2005-04-27	广西全州	0.034 1
10	柔毛淫羊藿	2004-04-17	陕西南郑	0.010 2
11	<i>E. pubescens</i> Maxim.	2005-05-04	四川巴中	0.016 0
12		2006-05-13	四川洪雅	0.015 8
13		2007-11-13	四川犍为	0.055 5
14		2009-06-11	甘肃成县	0.014 2
15	巫山淫羊藿	2004-04-09	湖北巴东	1.69
16	<i>E. wushanense</i> T. S. Ying	2004-04-18	四川通江	0.032 3
17		2005-05-03	四川巴中	0.049 2
18		2005-05-04	四川巴中	0.008 10
19	朝鲜淫羊藿	2005-08-21	吉林抚松	0.161
20	<i>E. koreanum</i>	2005-08-21	辽宁凤城	0.132
21		2008-08-16	东北	0.104
22		2008-08-17	东北	0.111
23	天平山淫羊藿	2003-03-31	贵州台江	0.135
24	<i>E. sagittatum</i>	2003-04-01	贵州剑河	0.180
25		2004-04-05	湖南桑植	0.0910
26	粗毛淫羊藿	2003-03-25	贵州紫云	0.075 0
27	<i>E. acuminatum</i>	2003-04-19	贵州松桃	0.015 0
28		2006-05-01	贵州大方	0.073 0
29		2006-05-01	四川叙永	0.124
30		2006-05-13	四川荣经	0.120
31	黔岭淫羊藿	2008-04-09	湖北建始	0.049 0
32	<i>E. leptorhizum</i>	2008-08-15	贵州龙里	0.030 0
33		2008-06-05	贵州惠水	0.023 0
34	拟巫山	2003-03-37	贵州雷山	0.050 0
35	<i>E. pseudowushanense</i>	2004-04-01	贵州龙里	0.061 0

注: 上述进样条件下巫山淫羊藿 15 号样品超出线性范围, 故将样品溶液稀释 5 倍进行检测。

是环境或者遗传的影响有待于进一步研究, 其中巫山淫羊藿的 15 号样品含量高于其他巫山淫羊藿样品约 50 倍, 也是含量最高的朝鲜淫羊藿的 10 倍, 表明该样品的特殊性, 巫山淫羊藿是一个种内形态多变的物种, 15 号样品的花序和花的形态和其他巫山淫羊藿样品有较大差异, 且淫羊藿苷类黄酮含量低, 也有明显区别^[6], 木兰花碱的含量性状有可能成为该类群的分类证据之一。

另外, 采收季节及不同部位等因素对淫羊藿中



木兰花碱含量影响的研究也在进行中。

[致谢] 贵州同济堂制药有限公司杨相波、陈德斌、李砾等同志协助采集实验样品。

[参考文献]

- [1] 汪灿, 伍城颖, 汪文涛, 等. HPLC 测定刺花椒中木兰花碱含量的研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 7(34): 922.
- [2] Tran Manh Hung, MinKyun Na, Byung sun Min, et al. Protective effect of magnoflorine isolated from on Cu^{2+} -induced oxidation of human low density lipoprotein[J]. Planta Med 2007, 73(12): 1281.

- [3] Zvedanar, Doslov-Kokorus, Ivanad, Ivanov, i, Milenar, Sin, i, etc. The HPLC determination of the content of the content of magnoflorine in *Epimedium alpinum* L[J]. J Serb Chem Soc 2006, 71(3): 251.
- [4] 郭宝林, 黄文华, 孙娥, 等. 淫羊藿药材和饮片市场调查[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(13): 1687.
- [5] 朱敏, 肖培根. 苜蓿异喹啉生物碱在木兰亚纲等植物类群中的分布[J]. 植物分类学报, 1991, 29(2): 142.
- [6] 裴利宽, 黄文华, 何天谷, 等. 中药淫羊藿主要资源种类药材质量的系统研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(21): 2217.

The HPLC determination of the content of magnoflorine in Main species of *Epimedium Herba*

GAO Min, LIU Jingjing, SUN Xinguang, HUANG Wenhua, GUO Baolin*, XIAO Peigen
(The Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking
Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective** To study the content of magnoflorine in main species of *Epimedium Herba*. **Method** Ultrasonic extraction, HPLC analysis. **Result** The content of magnoflorine of *Epimedium* leaves range between 0.002% and 1.688%. **Conclusion** The content of magnoflorine of *Epimedium* show large differences between species but relatively stable within the species. *E. koreanum* Nakai is the highest one and *E. brevicornu* is the lowest.

[Key words] *Epimedium*; magnoflorine; content

doi 10.4268/cjmm.20110104

[责任编辑 丁广治]

本刊重要启事

本刊已开通在线支付功能, 作者请登录本刊网站 www.cjmm.com.cn “作者中心”, 点击在线充值, 可以选择网上银行 (没开通网银功能的帐户可以选择信用卡充值) 和手机充值卡 2 种充值方式, 充值成功后系统会显示您的账号余额。然后您可以根据稿件状态和编辑部邮件通知来缴纳相应的费用, 如审稿费, 发表费等。如有疑问请咨询周驰编辑: 13810178861, 21310383@qq.com。