

## 山茱萸良种主要药用有效成分测定与质量评价

喻卫武, 黎章矩, 曾燕如, 戴文圣

(浙江林学院 浙江省现代森林培育技术重点实验室, 浙江 临安 311300)

**摘要:** 为明确山茱萸 *Cornus officinalis* 审定品种主要药用有效成分, 依据药用有效成分进一步筛选最符合栽培目标的品种。采集了应用产量指标选育的 9 个山茱萸品种母株完熟果实, 运用高效液相色谱法测定良种的主要有效成分马钱素、熊果酸和齐墩果酸, 并依据药用有效成分进行了品种质量比较。结果表明: 八月红、琅红、永安、里高、先锋、太平、玉柱红、大金枣和淳 86 等 9 个良种马钱素、熊果酸和齐墩果酸质量分数范围分别为 5.920 ~ 13.260, 1.013 ~ 4.771, 0.149 ~ 1.305 g·kg<sup>-1</sup>, 综合 3 个主要有效成分评价品种质量以琅红和淳 86 为最佳。得出山茱萸品种药用有效成分具有不一致性, 粗步选择出琅红和淳 86 为最符合栽培目标的品种。图 2 表 1 参 9

**关键词:** 中药学; 山茱萸; 良种; 药用有效成分; 质量评价

**中图分类号:** S722      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1000-5692(2009)02-0196-05

## Measurement of main effective medicinal ingredients of elite cultivars of *Cornus officinalis* and their quality evaluation

YU Wei-wu, LI Zhang-ju, ZENG Yan-ru, DAI Wen-sheng

(The Key Laboratory for Modern Silvicultural Technology of Zhejiang Province, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** Identification of main effective medicinal ingredients in approved cultivars of *Cornus officinalis* may further screen cultivars in line with cultivation objectives. Fully mature fruits were collected from 9 selectively bred cultivars of *C. officinalis* that were screened on the basis of yield indicators and their main effective ingredients, viz. ursolic acid, oleanolic acid, and colchicines, were measured using high performance liquid chromatography (HPLC), based on which a comparison was conducted among cultivars in terms of effective ingredient content-based quality. Results revealed that such 9 elite cultivars as 'August Red', 'Langhong', 'Yongan', 'Ligao', 'Xianfeng', 'Peace', 'Yuzhuhong', 'Big Golden-date', and 'Chun 86' ranged from 5.920 to 13.260 g·kg<sup>-1</sup> in ursolic acid, 1.013 to 4.771 g·kg<sup>-1</sup> in oleanolic acid, and 0.149 to 1.305 g·kg<sup>-1</sup> in colchicine. In terms of all three ingredients together, 'Langhong' and 'Chun 86' were best in quality. One cultivar was different from another in the content of effective medicinal ingredients. 'Langhong' and 'Chun 86' were the preliminarily selected cultivars in line with cultivation objectives. [Ch, 2 fig. 1 tab. 9 ref.]

**Key words:** traditional Chinese medicine; *Cornus officinalis*; elite cultivar; effective medicinal ingredient; quality evaluation

山茱萸 *Cornus officinalis* 是山茱萸科 Cornaceae 山茱萸属 *Cornus* 的一种传统的珍贵中药材, 临床用于治疗内热消渴、眩晕耳鸣、腰膝酸痛、阳痿遗精和大汗虚脱等<sup>[1]</sup>, 为六味地黄丸等多个汉方主要用药原料<sup>[2]</sup>, 还被开发成天然保健饮料<sup>[3]</sup>。浙江是全国两大主要产区之一, 出产的“杭萸肉”一直被

收稿日期: 2008-03-27; 修回日期: 2008-12-14

基金项目: 浙江省教育厅资助项目(2451001066); 浙江省现代森林培育技术重点实验室开放基金资助项目(200511)

作者简介: 喻卫武, 实验师, 从事经济林栽培与产品分析。E-mail: yww888@zjfc.edu.cn

中医学家认为是道地药材。黎章矩等<sup>[4]</sup>率先应用产量指标在浙江山茱萸种源内选育出多个山茱萸良种，并通过浙江省林木良种审定。熊果酸、马钱素和齐墩果酸是山茱萸的主要有效成分<sup>[5-6]</sup>。2000 版和 2005 版《中华人民共和国药典》分别以熊果酸和马钱素作为山茱萸质量控制指标。种源内单株间药用有效成分调查表明，同一区域内单株间在熊果酸、马钱素等有效成分上存在显著差异<sup>[7]</sup>。笔者测定了浙江省推广的 9 个山茱萸良种的药用有效成分马钱素、熊果酸和齐墩果酸，明确了各良种的药用有效成分，同时对 9 个良种进行了进一步的质量评价，筛选了最符合栽培目标的良种。

## 1 样品采集区概况

试验样品采集自浙江省临安市、淳安县山茱萸集中分布区。地处 29°11' ~ 30°02'N, 118°20' ~ 119°20'E, 年平均气温为 17.8 °C, 极端最低气温为 -15.1 °C, 极端最高气温为 40.7 °C, 平均降水量 1 425.7 mm, 海拔 550 ~ 800 m, 是传统的山茱萸产区。

## 2 材料与方法

### 2.1 采样方法

选择八月红、琅红、永安、里高、先锋、太平、玉柱红、大金枣和淳 86 等 9 个良种母株形态完全成熟的果实，采后冷冻保存。

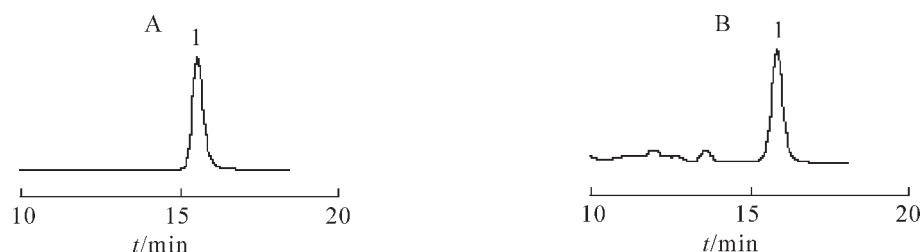
### 2.2 仪器与试剂

Waters™600 二元泵(沃特斯公司)，手动进样，Waters™486 紫外检测器，HS2000 液相色谱工作站(英谱公司)，Milli-Q 超纯水装置。马钱素、熊果酸、齐墩果酸标准品由上海君创生物科技有限公司提供，质量分数不低于 980 g·kg<sup>-1</sup>。水为超纯水；甲醇(天津四友公司)为色谱纯；其他试剂均为分析纯；流动相过 0.45 μm 滤膜。

### 2.3 马钱素测定

马钱素测定参照 2005 版《中华人民共和国药典》方法<sup>[8]</sup>。

2.3.1 色谱条件 色谱柱：Waters Sunfire C18 柱(4.6 × 250 mm, 5 μm)；流动相甲醇：水为 30 : 70；检测波长：231 nm；柱温 25 °C；流量：0.8 mL·min<sup>-1</sup>。在此条件下，马钱素与其他组分均能达到良好分离(分离度大于 1.5。图 1)。



A. 马钱素对照品；B. 供试样品；1. 马钱素

图 1 马钱素对照品及供试样品色谱图

Figure 1 Control and tested sample of colchicine by HPLC

2.3.2 线性关系考察 取 0.48 g·kg<sup>-1</sup> 马钱素对照品溶液，分别进样 2, 4, 6, 8, 10 μL, 以标准品质量  $x(\mu\text{g})$  为横坐标，峰面积  $y(\text{mV}\cdot\text{s})$  为纵坐标，绘制标准曲线，计算回归方程为  $y = 1.556 \times 10^9 x - 1.677 \times 10^5$ , 相关系数为 0.999 4 ( $n - 1 = 4$ ,  $\alpha = 0.01$ ,  $r = 0.917$ ), 表明马钱素在 0.96 ~ 4.8 μg 范围内进样量与峰面积线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液，进样 10 μL, 重复 5 次，按马钱素峰面积进行计算得峰面积的变异系数为 1.25%。

2.3.4 稳定性试验 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 精密吸取供试品溶液 20 μL 进样，按马钱素峰面积

进行计算得变异系数为 1.30%。

2.3.5 重现性试验 精密称定同一批样品, 按供试品溶液制备方法分别制备 5 份供试品溶液, 进行重复性实验, 按马钱素峰面积进行计算得峰面积的变异系数为 1.47%。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取马钱素对照品 2.0 mg, 加入精密称量的 0.5 g 已知含量的山茱萸样品粉末中, 按马钱素供试品溶液的配制方法制备样品溶液, 进样 20  $\mu\text{L}$ , 重复 3 次, 计算平均加样回收率为 98.6%, 变异系数 3.20%。

## 2.4 熊果酸、齐墩果酸的测定

测定方法参考《山茱萸有效成分的测定及其指纹图谱研究》<sup>[5]</sup>。

2.4.1 色谱条件 色谱柱: Waters Sunfire C18 柱(4.6  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相为甲醇: 体积分数 0.4% 磷酸 = 85:15; 检测波长: 210 nm; 流速: 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ; 在此条件下, 熊果酸、齐墩果酸与其他组分均能达到良好分离(分离度大于 1.5, 齐墩果酸、熊果酸保留时间分别为 18.273 和 19.440 min, 图 2)。

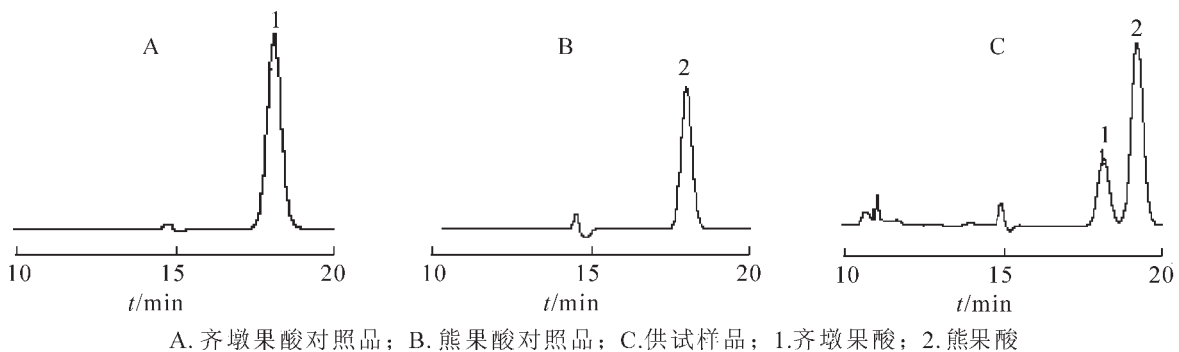


图 2 齐墩果酸、熊果酸对照品及供试样品色谱图

Figure 2 Control of ursolic acid and oleanolic acid and tested sample by HPLC

2.4.2 线性关系考察 取 0.98  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  齐墩果酸和 0.97  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  熊果酸对照品溶液, 分别进样 2, 4, 6, 8, 10  $\mu\text{L}$ , 以标准品质量  $x(\mu\text{g})$  为横坐标, 峰面积  $y(\text{mV}\cdot\text{s})$  为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算熊果酸标准品回归方程为  $y = 4.607 \times 10^8 x - 5.694 \times 10^4$ , 相关系数为 0.999 8 ( $n - 1 = 4$ ,  $\alpha = 0.01$ ,  $r = 0.917$ )。这表明熊果酸在 1.94 ~ 9.7  $\mu\text{g}$  范围内进样量与峰面积线性关系良好, 齐墩果酸在 1.96 ~ 9.80  $\mu\text{g}$  范围内进样量与峰面积线性关系良好。

2.4.3 精密度试验 分别精密吸取熊果酸和齐墩果酸对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 重复进样 5 次, 按熊果酸和齐墩果酸峰面积进行计算得峰面积的变异系数分别为 1.06% 和 1.32%。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 时进样, 按熊果酸和齐墩果酸峰面积进行计算得峰面积的变异系数分别为 1.69% 和 1.02%。

2.4.5 重现性试验 精密称定同一批样品, 按供试品溶液制备方法分别制备 5 份供试品溶液, 进行重复性实验, 按齐墩果酸、熊果酸峰面积计算得齐墩果酸、熊果酸峰面积的变异系数分别为 2.83% 和 2.75%。

2.4.6 加样回收率试验 取已知含量的各样品 1.0 g 左右, 精密加入 2.0 mg 齐墩果酸和熊果酸对照品, 按熊果酸、齐墩果酸供试品溶液的配制方法制备样品溶液, 3 次重复, 进样 20  $\mu\text{L}$ , 计算齐墩果酸平均加样回收率为 96.6%(3.8%), 熊果酸的平均加样回收率 96.3%(2.9%)。

## 2.5 良种质量评价方法

单因子评价: 以良种单个药用有效成分高低评价良种质量。综合评价: 3 种药用有效成分中, 熊果酸、马钱素分别是 2000 版和 2005 版《中华人民共和国药典》中的山茱萸质量控制指标为主因子指标, 设置评价权重均为 0.4, 齐墩果酸作为次因子指标, 设置评价权重为 0.2, 熊果酸、齐墩果酸和马钱素产区平均含量综合评价得分分别为 0.4, 0.2 和 0.4, 以良种单个药用有效成分与产区平均药用有

效成分的比值作为评价相对值，相对值乘以成分权重为单个成分的评价得分，3 种成分评价得分和为良种综合评价得分。

### 3 结果与分析

#### 3.1 良种药用有效成分分布与单因子评价

从表 1 中数据可以得出，依据产量遗传增益选育的 9 个良种在马钱素、熊果酸和齐墩果酸等 3 种药用有效成分质量分数上存在明显差异：马钱素质量分数变异幅度为  $5.92 \sim 13.26 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，最大值为最小值的 2.24 倍；熊果酸质量分数变异幅度为  $1.01 \sim 4.77 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，最大值为最小值的 4.71 倍；齐墩果酸质量分数变异幅度为  $0.15 \sim 1.31 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，最大值为最小值的 8.73 倍。依据药用有效成分熊果酸评价，良种品质从高到低依次是琅红、淳 86、玉柱红、永安、大金枣、太平、先锋、八月红和里高；依据药用有效成分齐墩果酸评价，良种品质从高到低依次是琅红、淳 86、太平、玉柱红、永安、先锋、大金枣、八月红和里高；依据药用有效成分马钱素评价，良种品质从高到低依次是八月红、先锋、大金枣、淳 86、永安、玉柱红、琅红、太平和里高。

#### 3.2 良种质量综合评价

参考《山茱萸道地产区药用有效成分变异与性状相关研究》<sup>[9]</sup>，浙江山茱萸熊果酸、齐墩果酸、马钱素产区质量分数分别为 2.373, 0.572 和  $13.330 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，依照良种综合评价方法，得到综合评价结果如表 1。据良种综合评价得分，良种品质从高到低依次是琅红、淳 86、大金枣、先锋、永安、玉柱红、八月红、太平和里高。其中琅红和淳 86 依据药用有效成分综合评价得分明显高于产区平均值，为产量和品质双高的良种，里高、太平和八月红等 3 个良种药用有效成分综合评价得分较低。

表 1 良种药用有效成分测定与质量评价结果

Table 1 Colechicine, ursolic acid and oleanolic acid measured, and a comprehensive evaluation of medically effective ingredients in elite cultivars

山茱萸 良种	熊果酸			齐墩果酸			马钱素			综合评价 总分值
	绝对值/ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	相对值	评价分值	绝对值/ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	相对值	评价分值	绝对值/ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	相对值	评价分值	
八月红	1.747	0.73	0.29	0.422	0.74	0.15	13.260	1.00	0.40	0.84
琅红	4.771	2.01	0.80	1.305	2.28	0.46	7.090	0.53	0.21	1.47
永安	2.399	1.01	0.40	0.587	1.03	0.21	10.040	0.75	0.30	0.91
里高	1.013	0.42	0.17	0.149	0.26	0.05	5.920	0.45	0.18	0.40
先锋	2.166	0.91	0.36	0.525	0.92	0.18	12.760	0.96	0.38	0.92
太平	2.205	0.93	0.37	0.642	1.12	0.22	6.790	0.51	0.20	0.79
玉柱红	2.746	1.16	0.46	0.587	1.03	0.21	7.980	0.60	0.24	0.91
大金枣	2.376	1.00	0.40	0.496	0.87	0.17	12.420	0.93	0.37	0.94
淳 86	3.829	1.61	0.60	1.001	1.75	0.35	11.970	0.90	0.36	1.35

### 4 结论与讨论

依据产量遗传增益选育的良种的主要活性成分差异明显，马钱素、熊果酸和齐墩果酸质量分数变异幅度分别为  $5.92 \sim 13.26$ ,  $1.013 \sim 4.771$  和  $0.149 \sim 1.305 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。9 个良种中有 5 个良种的熊果酸和齐墩果酸质量分数高于产区平均值，而良种马钱素质量分数均低于产区平均值，药材栽培最终目标物是有效药用成分，有必要引入质量指标，对根据产量性状选育的良种进行复选。

按熊果酸和齐墩果酸单个药用有效成分评价良种药材质量，以琅红为最高，按马钱素单个药用有效成分评价良种药材质量以八月红为最高。以 3 种药用有效成分对良种综合评价，琅红和淳 86 药材

品质高于产区平均品质。中药药效是多组分综合作用的结果,综合产量和品质性状,粗选出琅红和淳86为最符合栽培目的的推广良种。良种主要经济指标:琅红产量遗传增益54.8%<sup>[2]</sup>,马钱素、熊果酸和齐墩果酸质量分数分别为7.090, 4.771和1.305 g·kg<sup>-1</sup>;淳86产量遗传增益51.8%<sup>[2]</sup>,马钱素、熊果酸和齐墩果酸质量分数分别为11.970, 3.829和1.001 g·kg<sup>-1</sup>,但上述主要活性成分的遗传稳定性尚需进一步开展子代或无性系测定。

#### 参考文献:

- [1] 黎章矩, 钱莲芳, 李泽民, 等. 山茱萸的药用、营养价值和开发前景[J]. 浙江林学院学报, 1992, **9** (3): 364 - 370.  
LI Zhangju, QIAN Lianfang, LI Zemin, *et al.* Medicinal and nutritive values of *Cornus officinalis* fruit and prospects for development [J]. *J Zhejiang For Coll*, 1992, **9** (3): 364 - 370.
- [2] 张兰桐, 袁志芳, 杜英峰, 等. 山茱萸的研究近况及开发前景[J]. 中草药, 2004, **35** (8): 952 - 955.  
ZHANG Lantong, YUAN Zhifang, DU Yingfeng, *et al.* Recent development and prospect of *Cornus officinalis* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 2004, **35** (8): 952 - 955.
- [3] 傅深渊, 黎章矩, 汪祖潭. 山茱萸汁天然保健饮品总皂甙的测试[J]. 浙江林学院学报, 1998, **15** (1): 105 - 107.  
FU Shenyuan, LI Zhangju, WANG Zutan. Study on the gross saponins in natural beverage of *Cornus officinalis* [J]. *J Zhejiang For Coll*, 1998, **15** (1): 105 - 107.
- [4] 黎章矩, 钱莲芳, 戴文圣, 等. 山茱萸优良无性系选育[J]. 浙江林学院学报, 2003, **20** (4): 331 - 335.  
LI Zhangju, QIAN Lianfang, DAI Wensheng, *et al.* Selection and breeding of superior clones of *Cornus officinalis* [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2003, **20** (4): 331 - 335.
- [5] 王花红. 山茱萸有效成分的含量测定及其指纹图谱研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2004.  
WANG Huahong. *Studies on Fingerprints and Content Determination of Active Components of Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2004.
- [6] 周兆祥. 山茱萸果实的化学成分[J]. 浙江林学院学报, 1988, **5** (1): 63 - 69.  
ZHOU Zhaoxiang. Chemical ingredients in the fruit of *Cornus officinalis* [J]. *J Zhejiang For Coll*, 1988, **5** (1): 63 - 69.
- [7] 陈随清, 王利丽, 杨晋, 等. 不同栽培品种山茱萸药材的化学质量评价[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, **8** (2): 68 - 73.  
CHEN Suiqing, WANG Lili, YANG Jin, *et al.* Assessment of chemical quality of different cultivated varieties of *Cornus officinalis* [J]. *World Sci Technol Modern Chin Med Mater Med*, 2006, **8** (2): 68 - 73.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2005年版一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 23.
- [9] 喻卫武, 符庆功, 戴文圣, 等. 山茱萸道地产区药用有效成分变异与性状相关研究[J]. 中国中药杂志, 2008, **33** (23): 25 - 29.  
YU Weiwu, FU Qinggong, DAI Wenshen, *et al.* A study on the correlation between effective ingredients of the dogwood fruit from genuine producing regions and traits [J]. *China J Chin Materia Med*, 2008, **33** (23): 25 - 29.