

# RP-HPLC 法测定美国不同产地野葛根和叶片中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的研究

杨雪芳<sup>1,2</sup>, 黄伟<sup>1\*</sup>, 丁建清<sup>1</sup>

(1. 中国科学院水生植物与流域生态重点实验室, 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 对采自美国的 8 个野葛种群的异黄酮类物质进行了定量分析。结果表明, 叶片中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量分别为 0.0950、0.698、0.110 mg/g, 但不同产地大豆苷和大豆苷元含量存在显著差异。在整个生长季节中, 3 种异黄酮类物质的含量均在 8 月份最高。根中 3 种异黄酮类物质的含量分别为 3.664、1.0302、0.3689 mg/g, 但不同产地之间无显著差异。此外, 美国种群中异黄酮类物质的含量均显著高于已报道的中国种群。本研究为充分利用国内外野葛资源, 确定合理采收时间, 挖掘野葛叶片的利用潜力奠定了一定的理论基础, 为葛藤新药源的开发利用提供了科学依据。

**关键词:** 野葛; 异黄酮类化合物; 资源收集和评价

中图分类号: R 282; R 284.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2013)04-0391-07

## Determination of Puerarin, Daidzin and Daidzein in Roots and Leaves of *Pueraria lobata* (Wild) Ohwi from United States by RP-HPLC

YANG Xue-Fang<sup>1,2</sup>, HUANG Wei<sup>1\*</sup>, DING Jian-Qing<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Aquatic Botany and Watershed Ecology, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** In this study, we measured three isoflavonoids in kudzu from eight populations in south-eastern United States. The concentrations of puerarin, daidzin and daidzein in the leaves were 0.0950 mg/g, 0.698 mg/g and 0.110 mg/g, respectively. The concentration of daidzin and daidzein was significantly different among populations. During the growing season, three isoflavonoids in the leaves were higher in August than in July and September. The concentrations of the three isoflavonoids in the roots were 3.664 mg/g, 1.0302 mg/g and 0.3689 mg/g, respectively. There were no significant differences in the three isoflavonoids among populations. Furthermore, the concentrations of the three isoflavonoids in kudzu from US populations were higher than those of Chinese populations, as reported in previous research. This study aimed to provide a theoretic and scientific basis for making full use of kudzu leaves, determining appropriate harvest times and the development and utilization of the puerarin leaves resource.

**Key words:** Kudzu; Isoflavonoids; Collection and evaluation

野葛 (*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi) 为豆科葛属植物, 多年生大型落叶攀缘藤本。野葛作为我国重要的药用植物资源应用历史悠久。《神农本草

经》和《本草纲目》中就有关于野葛入药的记载<sup>[1-3]</sup>。现代药理研究表明, 野葛中的主要药理活性成分为葛根素 (puerarin)、大豆苷 (daidzin) 和

收稿日期: 2012-11-30, 修回日期: 2013-04-03。

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-EW-J-20)。

作者简介: 杨雪芳 (1986 -), 女, 硕士研究生, 从事野葛入侵机制及生物防治的研究 (E-mail: yang\_xue\_fang1@126.com)。

\* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: huangwei0519@hotmail.com)。

大豆苷元(daidzein)<sup>[4-6]</sup>,具有改善心脑血管血液循环、扩张冠状动脉、防治骨质疏松、提高免疫力等作用<sup>[7-11]</sup>。因此,开展野葛种质资源的收集和评价对其综合开发利用具有重要意义。

野葛在我国分布极广,除新疆、西藏外,全国各省区几乎均有分布<sup>[12]</sup>。野葛于1876年引入美国,由于生态环境适宜,在美国东南部迅速扩展<sup>[13]</sup>。生态环境的变化显著影响植物体内异黄酮类物质的积累<sup>[14-17]</sup>。陕西凤县黄芪中所含黄芪甲苷的含量为0.4377 mg/g,而甘肃渭源仅为0.0113 mg/g<sup>[17]</sup>。此外,不同采收时间的植物中异黄酮类物质的含量也存在显著差异。广东紫珠中异黄酮含量在8月份最低(0.76%),11月最高(6.63%)<sup>[18]</sup>。国内外学者已对中国不同产地及不同采收时间野葛中异黄酮类物质的含量进行了研究<sup>[2,19-22]</sup>。然而,尚无关于美国不同产地野葛中异黄酮类物质含量的研究。因此,分析美国不同产地和不同采收期野葛中异黄酮类活性物质含量,有助于充分利用野葛资源。

本研究通过比较美国不同产地野葛中葛根素、大豆苷及大豆苷元等异黄酮类物质的差异,旨在评估美国不同产地的野葛质量并确定合理的采收时间。本研究拟解决以下科学问题:(1)不同采收期野葛叶片中异黄酮类物质是否存在差异;(2)不同产地野葛叶片中异黄酮类物质是否存在差异;(3)不同产地野葛根中异黄酮类物质是否存在差异。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料

2011年10月,在美国特拉华州、佐治亚州、北卡罗来纳州、纽约州和宾夕法尼亚州采集8个野生野葛[*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi]种群的种子,保存于4℃冰箱。2012年4月,种子经石英砂打磨,20 mg/mL的激动素(Kinetin)溶液中浸泡24 h,种植于温室中培育。2个月后,每个种群选择长势一致的健康幼苗5棵,移栽到武汉植物园试验地。分别于7月、8月和9月摘取3片未被昆虫取食的健康叶片,9月收获地下根。植物材料均于60℃烘干,粉碎,过60目筛后备用。

### 1.2 仪器和试剂

试验所用仪器包括:DFT-50型微型植物试样粉碎机(温岭市林大机械有限公司),KQ-250B型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司),高效液相色谱仪(Thermo Scientific, ACCELA 600)。

甲醇和乙腈为色谱纯,水为超纯水。葛根素、大豆苷和大豆苷元标准品均购自上海绿源生物有限公司。0.45 μm有机过滤器用于样品的提取过滤。

### 1.3 活性成分含量测定

#### 1.3.1 HPLC 色谱条件

色谱分析所用的色谱柱为:ZORBAX Eclipse Plus C18柱(250 mm×4.6 mm 5-Micron)(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)。流动相为乙腈(A)和超纯水(B),进样量1 μL,根据文献<sup>[23,24]</sup>将梯度洗脱过程优化为:0~10 min,15% A;10~25 min,30% A;25~27 min,25% A;27~30 min,15% A。流速1.0 mL/min,柱温30℃,检测波长254 nm。

#### 1.3.2 标准曲线绘制

精密称取葛根素5.35 mg、大豆苷1.48 mg和大豆苷元1.84 mg,甲醇溶解,分别定容至5、10、10 mL<sup>[24]</sup>。分别取葛根素标准品溶液2.5 mL、大豆苷标准品溶液1.5 mL和大豆苷元标准品溶液0.3 mL置于25 mL容量瓶,加入5.7 mL甲醇,用超纯水定容,摇匀,作为葛根素、大豆苷和大豆苷元标准品混合母液。

稀释母液为7个浓度,再用甲醇分别补足溶液至1 mL。将7个梯度的混合液进行测定,以峰面积为横坐标(X),物质浓度(mg/mL)为纵坐标(Y),分别绘制3种异黄酮类物质的标准曲线并进行线性回归,葛根素: $Y = 1E - 08X + 0.0006$ ,  $r^2 = 0.9986$ ;大豆苷: $Y = 1E - 08X + 0.0093$ ,  $r^2 = 0.997$ ;大豆苷元: $Y = 6E - 09X + 0.0068$ ,  $r^2 = 0.9981$ 。结果显示标准品与峰面积之间有良好的线性关系。

#### 1.3.3 供试样品溶液制备

精密称取野葛样品200 mg,加入10 mL甲醇,超声30 min,摇匀冷却,离心取上清液减压浓缩至干,加入2 mL甲醇溶解,经0.45 μm的滤膜过滤,

滤液置于特定进样品中密封,用于 HPLC 测定。

1.4 数据分析方法

1.4.1 化学物质含量计算方法

化学物质含量计算公式如下:

$$E_1=\frac{10C_1}{M}, E_2=\frac{10C_2}{M}, E_3=\frac{10C_3}{M}.$$

式中,  $E_1$ 、 $E_2$ 、 $E_3$  分别代表葛根素、大豆苷和大豆苷元的提取率(mg/g),  $C_1$ 、 $C_2$  和  $C_3$  分别代表葛根素、大豆苷和大豆苷元的进样浓度(mg/mL);  $M$  为样品质量(g)。

1.4.2 统计分析方法

采用重复测量方差分析(Repeated-measures ANOVAs)比较不同产地野葛叶片中3种异黄酮类物质含量的季节变化;单因素方差分析(One-way ANOVA)的方法比较不同产地野葛根中异黄酮类物质的差异;成对  $t$  检验(student's  $t$  tests)比较不同器官中异黄酮类物质含量的差异。试验数据用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。作图采用 SigmaPlot 10.0。

2 结果与分析

2.1 不同产地野葛叶片中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的季节变化

不同产地野葛叶片中葛根素平均含量为  $0.095 \pm 0.016$  mg/g, 无显著差异(表1)。采收时间显著影响葛根素的含量(表1)。8月份葛根素的含量最高(平均为  $0.161 \pm 0.043$  mg/g), 7月份含量最低(平均为  $0.0084 \pm 0.005$  mg/g)。野葛产地和收获

时间对葛根素含量无显著交互作用(表1, 图1)。

野葛产地和收获时间及其交互作用均显著影响大豆苷和大豆苷元的含量(表1)。种群 DE-2 大豆苷含量最高( $1.5163 \pm 0.447$  mg/g), 种群 GA-1 大豆苷元含量最高( $0.2698 \pm 0.957$  mg/g), 而种群 NC-3 中这两种物质含量均为最低(大豆苷:  $0.2734 \pm 0.103$  mg/g, 大豆苷元:  $0.0728 \pm 0.086$  mg/g)。随着生长时间的变化, 种群 DE-1、NC-1、NC-2、NC-3、NY-1 和 PA-1 大豆苷和大豆苷元的含量在8月份达到最大值, 而后显著下降(图1: A, D, E, F, G, H)。但是, 种群 DE-2 大豆苷(图1: B)和种群 GA-1 大豆苷元在8月份之后仍显著增加(图1: C)。

2.2 不同产地野葛根中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的比较

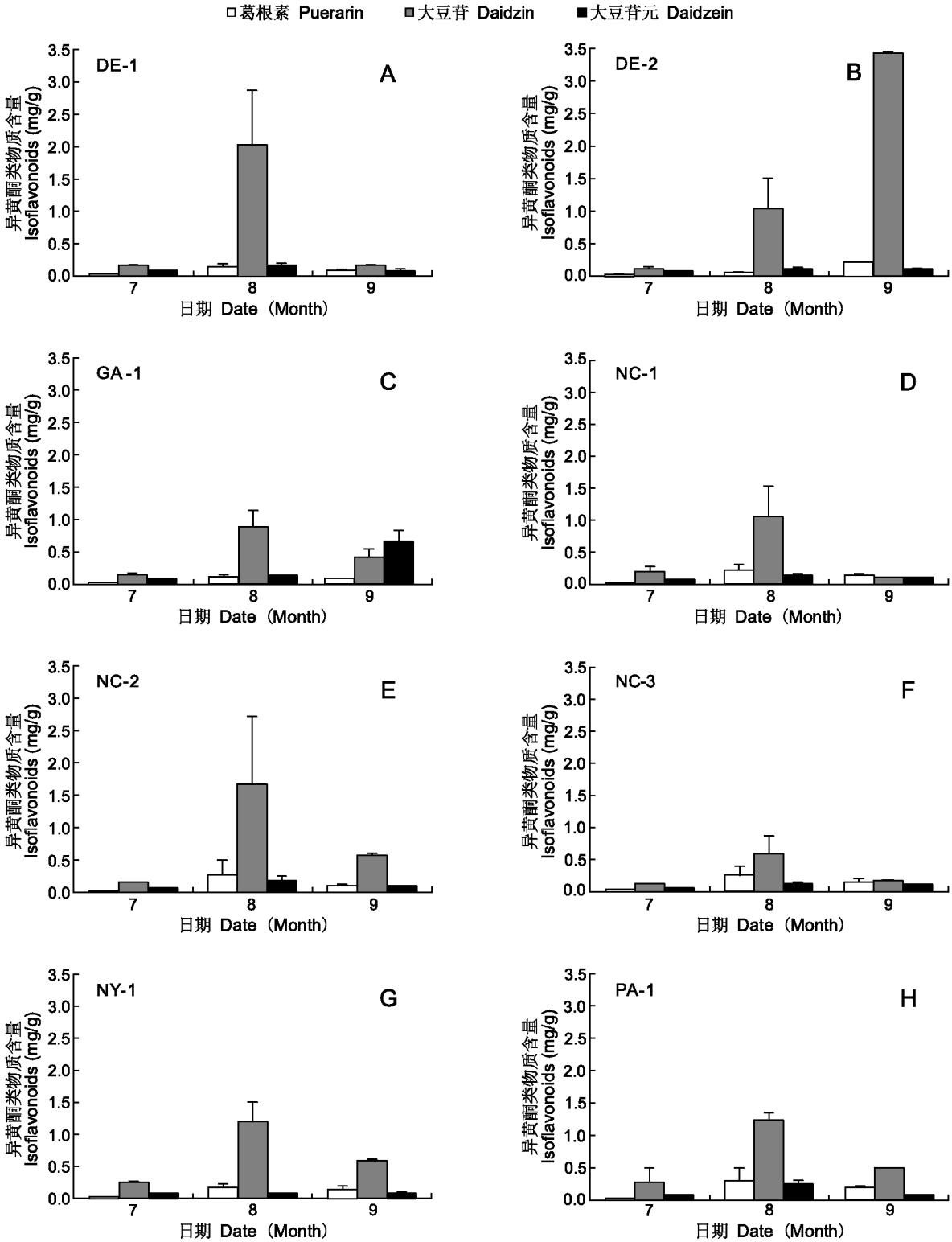
不同产地野葛根中葛根素、大豆苷及大豆苷元3种异黄酮类物质的含量均无显著差异(表2, 图2)。平均值分别为  $3.664 \pm 0.616$  mg/g、 $1.0302 \pm 0.199$  mg/g、 $0.3689 \pm 0.060$  mg/g。

2.3 野葛不同器官中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的比较

野葛根中的葛根素含量平均为  $3.664 \pm 0.616$  mg/g, 显著高于叶片的含量  $0.1157 \pm 0.014$  mg/g ( $p < 0.0001$ )。根中大豆苷元的含量( $0.3689 \pm 0.060$  mg/g)显著高于叶片中该物质的含量( $0.1463 \pm 0.038$  mg/g) ( $p < 0.001$ )。大豆苷在野葛地上(叶)与地下(根)部分的积累无显著差异( $p = 0.2785$ )。

表1 不同产地野葛叶片中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的季节变化  
Table 1 Content of puerarin, daidzin and daidzein in kudzu leaves from eight US populations in different gathering times

| 效应<br>Effect           | 葛根素 Puerarin |              |          |               |               | 大豆苷 Daidzin  |          |               |               | 大豆苷元 Daidzein |          |               |               |
|------------------------|--------------|--------------|----------|---------------|---------------|--------------|----------|---------------|---------------|---------------|----------|---------------|---------------|
|                        | 自由度<br>df    | 离差平方和差<br>SS | 均方<br>MS | F值<br>F value | p值<br>p value | 离差平方和差<br>SS | 均方<br>MS | F值<br>F value | p值<br>p value | 离差平方和差<br>SS  | 均方<br>MS | F值<br>F value | p值<br>p value |
| 产地<br>Pop.             | 7            | 0.08         | 0.01     | 0.45          | 0.8573        | 12.01        | 1.72     | 2.7           | 0.0312        | 0.37          | 0.05     | 8.4           | <0.0001       |
| 误差<br>Error            | 25           | 0.59         | 0.02     |               |               | 15.85        | 0.63     |               |               | 0.16          | 0.01     |               |               |
| 时间<br>Time             | 2            | 0.4          | 0.2      | 7.63          | 0.0013        | 16.81        | 8.4      | 13.31         | <0.0001       | 0.13          | 0.07     | 9.22          | 0.0004        |
| 交互作用<br>Time × Pop.    | 14           | 0.19         | 0.01     | 0.51          | 0.9164        | 29.58        | 2.11     | 3.35          | 0.0008        | 0.81          | 0.06     | 8.12          | <0.0001       |
| 误差(时间)<br>Error (Time) | 50           | 1.32         | 0.03     |               |               | 31.56        | 0.63     |               |               | 0.36          | 0.01     |               |               |

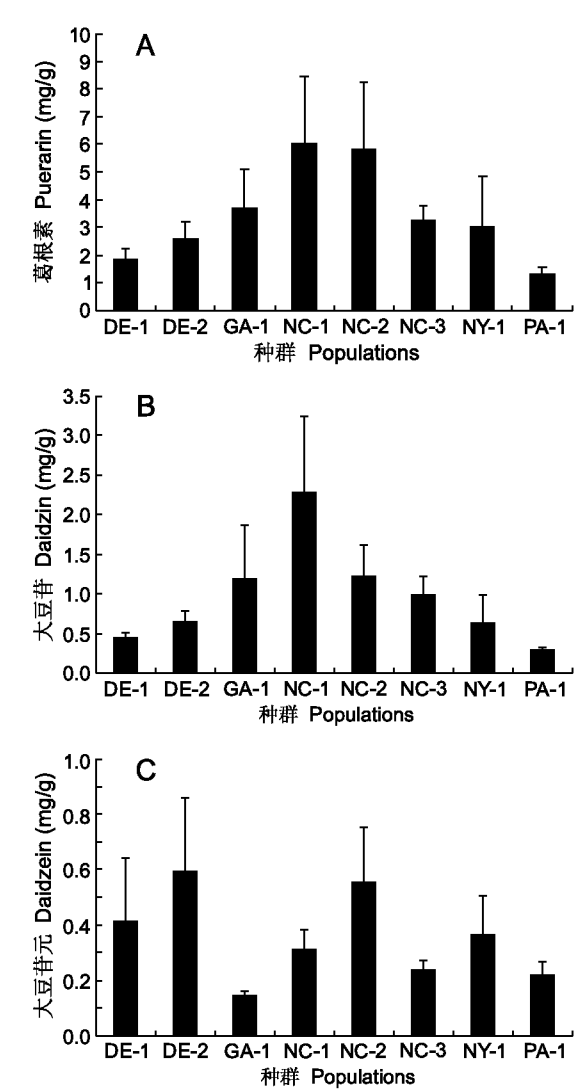


DE-1 和 DE-2 为采自特拉华州的种群；GA-1 为采自佐治亚州的种群；NC-1、NC-2、NC-3 为采自北卡罗来纳州的种群；NY-1 为采自纽约州的种群；PA-1 为采自宾夕法尼亚州的种群。  
The seeds of DE-1 and DE-2 were collected from Delaware; GA-1 was collected from Georgia; NC-1, NC-2 and NC-3 were collected from North Carolina; NY-1 was collected from New York; PA-1 was collected from Pennsylvania.

图 1 不同产地野葛叶片中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的季节变化  
Fig. 1 Comparison of isoflavonoid content from different US populations in different gathering times

表 2 不同产地葛根中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的比较  
Table 2 Comparison of isoflavonoid content in kudzu roots from eight US populations

| 效应<br>Effect | 自由度<br>df | 葛根素 Puerarin |          |                |                | 大豆苷 Daidzin  |          |                |                | 大豆苷元 Daidzein |          |                |                |
|--------------|-----------|--------------|----------|----------------|----------------|--------------|----------|----------------|----------------|---------------|----------|----------------|----------------|
|              |           | 离差平方和差<br>SS | 均方<br>MS | F 值<br>F value | p 值<br>p value | 离差平方和差<br>SS | 均方<br>MS | F 值<br>F value | p 值<br>p value | 离差平方和差<br>SS  | 均方<br>MS | F 值<br>F value | p 值<br>p value |
| 产地 Pop.      | 7         | 85.99        | 12.28    | 0.98           | 0.4692         | 12.05        | 1.72     | 1.45           | 0.2313         | 0.71          | 0.1      | 0.83           | 0.5726         |
| 误差 Error     | 25        | 314.26       | 12.57    |                |                | 29.74        | 1.19     |                |                | 3.06          | 0.12     |                |                |



A：葛根素；B：大豆苷；C：大豆苷元。种群缩写见图1。  
A: Puerarin; B: Daidzin; C: Daidzein. Abbreviations of populations mentioned in Figure 2 are as shown in Figure 1.

图 2 不同产地葛根中葛根素、大豆苷和大豆苷元含量的比较

Fig. 2 Comparison of isoflavonoid content in roots from different populations of kudzu

3 讨论

植物的次级代谢产物多为药用植物的有效成

分，而次级代谢产物的含量与生态环境密切相关。生态环境的改变将导致相同品种药用植物次级代谢调控发生变化，从而影响药材的质量与药效<sup>[21,25-27]</sup>。本研究对采自美国不同产地的野葛不同生长时期的叶片及根中的葛根素、大豆苷及大豆苷元3种异黄酮类物质的含量进行分析。与以往研究相比，本研究首次发现来自美国的野葛根中异黄酮类物质的含量显著高于产自中国的野葛。

3.1 不同产地野葛叶片中异黄酮类物质含量的季节变化

药材所含的药用成分与采收时间密切相关<sup>[18,28,29]</sup>。目前，我国学者对产自中国野葛中葛根素、大豆苷及大豆苷元等异黄酮类物质的研究表明，这些物质的积累具有时间动态<sup>[30,31]</sup>，8月份异黄酮类物质积累量达到最大值，随后呈下降趋势<sup>[22,31]</sup>。本研究对来自美国的野葛进行调查分析得到与之一致的结果。因此，8月份是采收野葛叶片提取异黄酮类物质的最佳时期。

研究表明不同产地同种药材中药用成分的含量也存在显著差异<sup>[21]</sup>。我国湖南、云南、广西、甘肃等地的野葛中葛根素等异黄酮类物质的含量存在极大差异<sup>[22]</sup>。本研究结果表明，美国不同产地的野葛中仅大豆苷含量存在显著差异，而葛根素和大豆苷元含量在不同产地无显著差异。这可能是因为中国野葛的分布范围广泛，跨越不同的生态环境(25°N~42°N)，因此其体内次级代谢调控受到环境的影响较大。相对而言，美国野葛仅分布在东南部(36°N~41°N)，受环境变化影响比较小。

3.2 不同产地野葛根中异黄酮类物质的比较

美国不同产地野葛根中葛根素3种异黄酮类物质含量均没有显著差异，而裴莉昕等的研究认为，中国不同产地葛根中葛根素、大豆苷、大豆苷元这3类成分的含量有较大差别<sup>[2]</sup>。这同样可能是因为

野葛在中国的分布范围广, 环境变化大所导致的。

野葛生长年限对其块根中葛根素等活性物质的积累存在明显的影响。我国一年生野葛根中葛根素的含量较低, 约为 1.47%, 5 年生野葛根中葛根素含量达到最大值, 约为 3.95%<sup>[30]</sup>。本研究表明, 美国一年生野葛根中葛根素的含量为 3.66%, 接近于中国 5 年生葛根中葛根素的含量, 约为中国一年生野葛中葛根素含量的 2.5 倍。因此, 本研究结果为合理开发利用美国野葛, 尤其是葛根医药保健食品方面的开发研究提供了重要的理论依据<sup>[32]</sup>。

### 3.3 野葛不同器官异黄酮类物质的差异

美国野葛根中葛根素和大豆苷元的含量显著高于叶片, 这与已报道的葛根是野葛中有效活性物质富集的器官的结论相符<sup>[33,34]</sup>。目前, 对野葛的活性应用的研究主要集中在其块根部位<sup>[2,20,22,35]</sup>, 野葛藤中的化学物质也应当开发利用<sup>[24,33,34]</sup>。本研究首次发现美国产野葛叶片中大豆苷含量与根中含量无差异, 这表明在提取活性物质大豆苷的研究中, 野葛叶片与根具有同样的重要性, 甚至可以代替葛根作为大豆苷的主要提取来源, 为进一步合理利用野葛地上部分提取大豆苷提供了合理的依据, 从而可以尽量减少因利用葛根而带来的资源浪费以及采挖葛根造成的环境破坏。

## 4 结论

本研究通过比较美国不同产地野葛叶片及根中葛根素、大豆苷及大豆苷元含量的季节变化, 确定 8 月份为从野葛叶片中提取有效活性物质的最佳采收时间。同时, 研究结果首次发现美国不同产地野葛根中有效活性成分的含量没有显著差异, 但是均显著高于中国同龄葛根中相应物质的含量。这一结果为合理引种, 甚至从基因水平上进一步探索美国产地活性物质含量高的内在原因, 提高野葛的利用效率和经济价值提供了理论依据。

### 参考文献:

- [1] 张鹤山, 刘洋. 葛资源利用现状及发展前景[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(5): 69–70.
- [2] 裴莉昕, 陈随清, 纪宝玉, 董诚明, 冯卫生. 不同产地葛根药材的质量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(10): 24–26.
- [3] Lin T. Traditional Chinese medicine, e. g. used for relieving gout and rheumatism, includes Chinese yam, kudzu vine root, long pepper, *Houttuynia cordata*, *Torreya grandis*, pine nut, desert fruit, *Ginkgo*, *Polygonatum*, corncob, and *Rhodiola rosea*. CN102488842-A [P]. 13-Jun-2012.
- [4] Rong H J, Stevens J F, Deinzer M L, De Cooman L, De Keukeleire D. Identification of isoflavones in the roots of *Pueraria lobata* [J]. *Planta Med*, 1998, 64(7): 620–627.
- [5] Zhang D W, Dai S J, Liu W H, Li G H. Chemical constituents from the vines of *Pueraria lobata* [J]. *CJNM*, 2010, 8(3): 196–198.
- [6] He X, Blount J W, Ge S, Tang Y, Dixon R A. A genomic approach to isoflavone biosynthesis in kudzu (*Pueraria lobata*) [J]. *Planta*, 2011, 233(4): 843–855.
- [7] Chen C, Chen C, Wang Z, Wang L, Yang L, Ding M, Ding C, Sun Y, Lin Q, Huang X, Du X, Zhao X, Wang C. Puerarin induces mitochondria-dependent apoptosis in hypoxic human pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *Plos One*, 2012, 7(3): 1–9.
- [8] 赵瑛, 周游, 殷惠军, 张颖. 葛根素对脂肪细胞糖脂代谢作用研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2006, 22(4): 5–7.
- [9] Harborne J B, Williams C A. Advances in flavonoid research since 1992 [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(6): 481–504.
- [10] Waldron G E, Larson B M H. Kudzu vine, *Pueraria montana*, adventive in southern Ontario [J]. *Can Field Nat*, 2012, 126(1): 31–33.
- [11] Hu Q. Method of processing root of kudzu vine instant vermicelli, comprises e. g. preparing pulp by detecting qualified kudzu root, and self-ripening by modulating uniform slurry is sent to self forming machine. CN102511803-A [P]. 27-Jun-2012.
- [12] 陈雁, 肖杨. 外来物种葛藤的入侵与防控[J]. 现代农业科技, 2009(22): 307.
- [13] Frye M J, Hough-Goldstein J, Kidd K A. Response of kudzu (*Pueraria montana* var.

- lobata*) to different types and levels of simulated insect herbivore damage[J]. *Biol Control*, 2012, 61(1): 71–77.
- [14] 阎秀峰, 王洋, 李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系[J]. *生态学报*, 2007, 27(6): 2554–2562.
- [15] Schijlen E G, de Vos C H, van Tunen A J, Bovy A G. Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(19): 2631–2648.
- [16] 周艳, 邹学敏, 王维芬, 王友良, 杨丽萍. 不同产地大豆与绿豆中异黄酮及矿物质含量的分析[J]. *微量元素与健康研究*, 2011, 28(3): 37–39.
- [17] 段琦梅, 梁宗锁, 杨东风, 聂小妮, 刘婷. 不同产地黄芪药材质量的差异性分析[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2010, 38(10): 187–191.
- [18] 黄丽莉, 金小春, 朱培林. 不同采收期及不同部位的广东紫珠总黄酮含量分析[J]. *中国林副特产*, 2009(3): 10–12.
- [19] 刘逢芹, 李宏建, 周扬星, 李贵海. 不同采集时间野葛不同部位总黄酮和葛根素含量比较[J]. *植物资源与环境学报*, 2006, 15(2): 79–80.
- [20] 任亚东, 朱艳林. 不同产地葛根中总黄酮和葛根素的含量测定[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2008, 10(5): 160–161.
- [21] 鲁守平, 隋新霞, 孙群, 孙宝启. 药用植物次生代谢的生物学作用及生态环境因子的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2006, 18(6): 1027–1032.
- [22] 张蕾, 朱蓉贞, 潘扬, 马国祥. 不同品种及产地的葛根中葛根素含量的比较[J]. *中国中药杂志*, 1995, 20(7): 399–400.
- [23] Wu Y, Wang X, Fan E. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of puerarin and total isoflavones from *Puerariae lobatae* radix (*Pueraria lobata* (Wild.) Ohwi) with response surface methodology [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(5): 513–519.
- [24] 吴向阳, 仰玲玲, 仰榴青, 邹艳敏, 陆继明. RP-HPLC 法同时测定野葛的根、茎和叶中葛根素、大豆苷和大豆苷元的含量[J]. *食品科学*, 2009, 13(14): 248–252.
- [25] 黄璐琦, 陈美兰, 肖培根. 中药材道地性研究的现代生物学基础及模式假说[J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(6): 5–7.
- [26] 朱林. 影响中药质量的因素[J]. *才智*, 2012(21): 358.
- [27] 蒋妮, 覃柳燕, 李力, 缪剑华. 环境胁迫对药用植物次生代谢产物的影响[J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(8): 1528–1532.
- [28] 刘芬, 崔浪军, 何刚, 杨章民. 不同生长季节丹参营养器官中有效成分的动态变化[J]. *植物科学学报*, 2011, 29(1): 93–98.
- [29] 黄瑞松, 覃冬杰, 张鹏, 黄必奎, 陶尧平, 刘婧. 广西不同产地和不同采收期大叶钩藤中钩藤碱定量分析[J]. *中草药*, 2012, 43(1): 178–181.
- [30] 潘玲玲, 任江剑, 江建铭. 野葛葛根素积累动态的研究[J]. *中国现代中药*, 2011, 13(9): 15–17.
- [31] Frischknecht P M, Schuhmacher K, Muller-Scharer H, Baumann T W. Phenotypic plasticity of *Senecio vulgaris* from contrasting habitat types: growth and pyrrolizidine alkaloid formation[J]. *J Chem Ecol*, 2001, 27(2): 343–358.
- [32] Kayano S, Matsumura Y, Kitagawa Y, Kobayashi M, Nagayama A, Kawabata N, Kikuzaki H, Kitada Y. Isoflavone C-glycosides isolated from the root of kudzu (*Pueraria lobata*) and their estrogenic activities[J]. *Food Chem*, 2012, 134(1): 282–287.
- [33] 张德武, 戴胜军, 李贵海, 戴军贵. 野葛藤茎中的化学成分研究[J]. *中草药*, 2011, 42(4): 1389–1393.
- [34] 肖学凤, 高岚. HPLC 法测定不同产地葛根中葛根素的含量[J]. *中草药*, 2011, 32(3): 220.

(责任编辑: 王豫鄂)