

藏药麻花苳中四种苦苳类化学成分的 HPLC 测定

孙 菁^{1,3}, 陈桂琛^{*1}, 李玉林^{1,3}, 赵先恩², 王洪伦^{1,3}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2. 山东省曲阜师范大学化学学院, 曲阜 273165; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘 要 :建立了藏药麻花苳中龙胆苦苳(gentiopicroside)、落干酸(loganic acid)、獐牙菜苦苳(swertiamarin)和獐牙菜苳(sweroside)4种苦苳类成分的 HPLC 分析方法。色谱柱为 Eclipse XDB-C₈(4.6 mm i. d. × 150 mm, 5 μm), 流动相为体积分数 5% 乙腈 + 10 mmol/L 甲酸 ~ 95% 乙腈水溶液, 检测波长为 240 nm。结果表明, 该方法具有良好的线性关系和回收率, 为麻花苳中苦苳类成分的进一步开发利用提供了科学依据。

关键词 :藏药; 麻花苳; 龙胆苦苳; 落干酸; 獐牙菜苦苳; 獐牙菜苳; HPLC

中图分类号 :O657.7 文献标识码 :A 文章编号 :1000-0720(2006)05-028-04

麻花苳(*Gentiana straminea* Maxim.)为龙胆科(Gentianaceae)龙胆属草本植物,是一种多年生高山植物^[1],主要分布于青藏高原,海拔范围为 2000 ~ 4950 m^[2]。麻花苳以根入药,为常用的重要藏药解吉类植物之一,具有散风祛湿、清热利胆、舒筋止痛等功效^[3]。其根中有效成分为环烯醚萜苳类^[4],主要包括龙胆苦苳、獐牙菜苦苳等。对麻花苳根中苦苳类化学成分的研究由来已久^[4,6-10],但大部分都集中于龙胆苦苳与落干酸两种成分^[5,11,12],尚未有关于 4 种苦苳类成分,即龙胆苦苳(gentiopicroside,代号 S1)、落干酸(loganic acid,代号 S2)、獐牙菜苦苳(swertiamarin,代号 S3)、獐牙菜苳(sweroside,代号 S4)同时测定的报道。本文应用 HPLC 分析方法,对麻花苳根中上述 4 种有效成分进行了定量分析,以期对麻花苳中苦苳类有效成分的进一步利用提供科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂及材料

Agilent1100 型高效液相色谱仪(Agilent 公司):配备有四元梯度泵,在线真空脱气机,DAD 检测器,100 位自动进样器;KQ-200B 型数控超声波清

洗器(昆山市超声仪器有限公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

龙胆苦苳、獐牙菜苦苳对照品由中国药品生物制品检定所(批号分别为 110770-200308、110785-200203),落干酸、獐牙菜苳对照品由中国科学院西北高原生物研究所李玉林副研究员提供;乙腈(德国 Merck 公司)为色谱纯;其它试剂皆为分析纯。

野生麻花苳材料(根部)于 2004 年 9 月底采自四川西北部若尔盖、青海的门源县、班玛县、刚察县、玛沁县 5 个地点。

1.2 色谱条件

色谱柱:Eclipse XDB-C₈(4.6 mm i. d. × 150 mm, 5 μm)。流动相 A:体积分数 5% 乙腈和 10 mmol/L 的甲酸水溶液,B:体积分数 95% 的乙腈水溶液。流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μL,检测波长为 240 nm,柱温 30 °C。梯度洗脱程序为:0 ~ 20 min, B 为 0 ~ 100%。对照品 HPLC 分离图见图 1(a)。

1.3 对照品溶液及样品制备

对照品溶液的制备:分别准确称取龙胆苦苳

* 收稿日期:2005-06-24;修订日期:2005-09-06

基金项目:国家中西部专项(2001BA901A47);中国科学院知识创新工程领域前沿项目(CXLY-2002-08)资助

作者简介:孙 菁(1976-),女,博士研究生

(S1)、落干酸(S2)、獐牙菜苦苷(S3)和獐牙菜苷(S4)对照品,用甲醇超声溶解配成质量浓度为 S1 1.92 mg/mL、S2 0.77 mg/mL、S3 1.20 mg/mL、S4 0.17 mg/mL 的对照品溶液。

样品溶液的制备:将采集到的麻花苳根部用超纯水洗净,凉干,研成细粉,准确称取 0.2 g,加甲醇 10 mL,于 60 °C 超声提取 30 min,超声频率为 60 KHz;冷至室温后过滤,滤液置于 25 mL 容量瓶

中,用甲醇定容,摇匀备用。

2 结果与讨论

2.1 线性关系

对一系列对照品混合液进行分析测定,按照上述色谱条件测定 4 种成分各自的峰面积,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标绘制标准曲线,得到 4 种苦苷类成分的回归方程(表 1)。

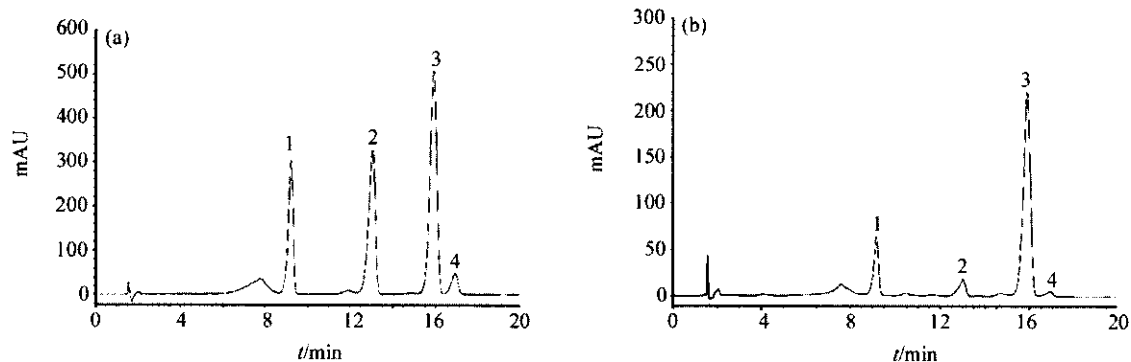


图 1 对照品及样品的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of standards and samples

(a) 对照品的 HPLC 图谱;(b) 样品的 HPLC 图谱

1、2、3、4 分别为 S2、S3、S1 和 S4。下同

表 1 4 种苦苷类成分的回归方程及参数

Tab. 1 Linear equations and factors of four iridoid glycosides

| 化合物 | 线性范围 $m/\mu\text{g}$ | 线性方程 | 相关系数 r | 检出限 $\rho(\mu\text{g/mL})$ |
|-----|----------------------|-------------------------------|----------|----------------------------|
| S1 | 0.60 ~ 19.20 | $y = 6015.90892x + 106.46768$ | 0.99997 | 6.98E-04 |
| S2 | 0.24 ~ 7.68 | $y = 6383.99495x + 40.122864$ | 0.99996 | 4.29E-04 |
| S3 | 0.38 ~ 12.02 | $y = 6058.4701x + 55.730207$ | 0.99998 | 6.30E - 04 |
| S4 | 0.05 ~ 1.66 | $y = 6535.95404x + 10.817206$ | 0.99998 | 6.24E - 04 |

2.2 精密度

对对照品溶液进行精密度实验,每次进样 10 μL ,重复 5 次,得 S1 峰面积的 RSD 为 1.06%,S2 为 1.89%,S3 为 1.85%,S4 为 2.05%。

2.3 重复性实验

准确称取同一批样品,按照供试品溶液制备方法,得到 5 份供试品溶液,测定结果 RSD:S1 为 0.21%,S2 为 0.92%,S3 为 0.39%,S4 为 3.71%。

2.4 加样回收率实验

取已知含量的药材适量,加入一定量的对照

品混合溶液,按照样品处理方法制备并进样 10 μL ,重复进样 3 次,计算各对照品的加样回收率,得到 S1、S2、S3 和 S4 的回收率分别为 95.63%、99.21%、100.30% 和 98.45%。

2.5 样品测定

将制得的样品液在相同条件下作 HPLC 分析,重复进样 5 次,样品 HPLC 见图 1(b)。根据对照品的保留时间和紫外吸收图确定峰的位置(紫外吸收图见图 2),利用线性方程计算 4 种苦苷类成分的含量(表 2)。

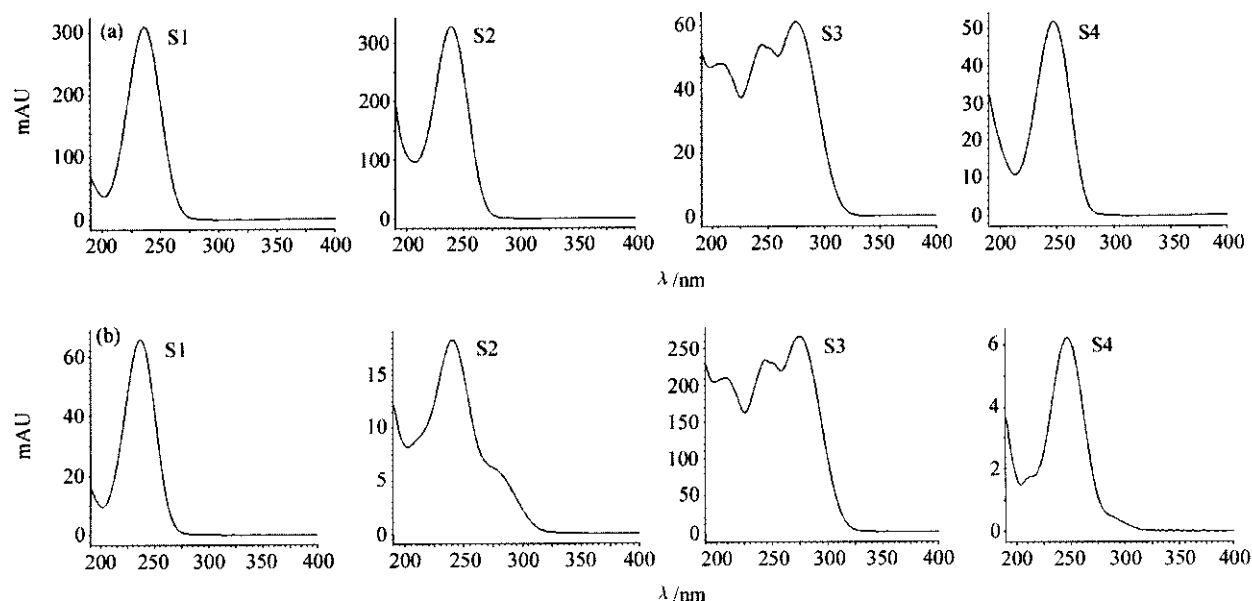


图 2 对照品及样品的紫外光谱图

Fig. 2 UV spectra of standards and samples

(a) 对照品中 4 种苦苣苷类成分 ;(b) 样品中 4 种苦苣苷类成分

表 2 麻花苣根中苦苣苷类成分的测定结果 (n = 5)

Tab. 2 Contents of iridoid glycosides in *Gentiana straminea* roots

| 采集地点 | 化合物 w/% | | | | |
|-------|----------------|---------------|---------------|---------------|--------|
| | S1 | S2 | S3 | S4 | S 总和 |
| 四川若尔盖 | 10.305 ± 0.004 | 1.826 ± 0.004 | 0.782 ± 0.004 | 0.221 ± 0.007 | 13.134 |
| 青海门源 | 9.536 ± 0.012 | 0.978 ± 0.009 | 0.538 ± 0.008 | 0.106 ± 0.014 | 11.158 |
| 青海班玛 | 9.680 ± 0.005 | 0.727 ± 0.003 | 0.655 ± 0.008 | 0.250 ± 0.003 | 11.312 |
| 青海刚察 | 6.590 ± 0.006 | 1.023 ± 0.003 | 0.482 ± 0.007 | 0.301 ± 0.004 | 8.396 |
| 青海玛沁 | 10.727 ± 0.003 | 0.859 ± 0.004 | 0.643 ± 0.006 | 0.412 ± 0.003 | 12.641 |
| 平均 | 9.368 ± 0.727 | 1.083 ± 0.193 | 0.620 ± 0.052 | 0.258 ± 0.050 | - |

注：表中数值取自平均值与标准误差 (n = 5)

3 小结

分别测定了 5 个野外麻花苣种的根部 4 种苦苣苷类成分,结果表明 4 种苦苣苷类成分中以 S1 含量最高。就其平均值而言, S1 含量分别为 S2、S3、S4 含量的 8.65 倍、15.11 倍、36.31 倍。鉴于 S1 的含量远远高于其他 3 种苦苣苷类成分,可考虑利用麻花苣中的 S1 来开发新的药源。同时,不同采集地点的样品中其苦苣苷类成分的含量也各有差异,以四川若尔盖、青海玛沁所采集样品中苦苣苷类成分的含量较高。生态环境是化学物质形成和变异的重要因素,药用植物中有效成分的形成和积累与

其生态环境息息相关^[13]。这说明在考虑综合利用麻花苣中苦苣苷类成分时,不同采样地点、野生药材的不同环境都是需要考虑的问题。

此外,本实验建立了 HPLC 法分析测定麻花苣根中 4 种苦苣苷类有效成分,该方法精密度高,重现性好,并且快捷、准确、可控,为进一步系统研究和开发利用麻花苣根中苦苣苷类有效成分提供了可靠的分析方法。

参考文献

[1] Ho Ting-nong, Liu Shang-wu. A worldwide monograph of

- Gentiana. Beijing: Science Press, 2001, 176
- [2] 何廷农(主编). 中国植物志(第 62 卷), 北京: 科学出版社, 1988, 62
- [3] 杨永昌, 藏药志. 西宁: 青海人民出版社, 1991, 9
- [4] 纪兰菊, 孙洪发, 丁经业等. 高原生物学集刊, 1992, 11: 113
- [5] 林鹏程, 冶兆辉, 卢永昌等. 中药材, 2004, 27(11): 819
- [6] 郭亚健, 陆蕴如. 药物分析杂志, 1983, 3(5): 268
- [7] 罗集鹏, 楼之岑. 药物分析杂志, 1985, 5(1): 7
- [8] 罗集鹏, 楼之岑. 中草药, 1986, 17(4): 1
- [9] 宋万志. 中药通报, 1986, 11(1): 3
- [10] 纪兰菊, 廖志新, 孙洪发. 高原生物学集刊, 2002, 15: 243
- [11] 孙文基, 沙振方, 高海等. 药物分析杂志, 1994, 14(1): 41
- [12] 纪兰菊, 马玉花, 陈桂琛等. 西北植物学报, 2004, 24(2): 292
- [13] 陶曙红, 吴凤镔. 天然产物研究与开发, 2003, 15(2): 174

Determination of four iridoid glycosides in tibetan medicine *Gentiana straminea* Maxim. by HPLC

SUN Jing^{1,3}, CHEN Gui-chen^{*1}, LI Yu-lin^{1,3}, ZHAO Xian-en² and WANG Hong-lun^{1,3} (1. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008; 2. Department of Chemistry, Qufu Normal University, Qufu 273165; 3. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039), Fenxi Shiyanshi, 2006, 25(5): 28 ~ 31

Abstract: The contents of four iridoids (gentiopicroside, loganic acid, swertiamarin, sweroside) in *Gentiana straminea* were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The analysis was performed on Eclipse XDB-C₈ (4.6 mm i. d. × 150 mm, 5 μm) column, eluted with the solution of 0.01 mol/L methanoic acid with 5% acetonitrile and 95% acetonitrile and with UV detection at 240 nm. All calibration curves indicated good linear regression ($r \geq 0.9999$) within test ranges.

Keywords: Tibetan medicine; *Gentiana straminea* Maxim.; Gentiopicroside; Loganic acid; Swertiamarin sweroside; HPLC