

藏药麻花秦艽花和线叶龙胆花中 10 种核苷类成分的含量分析

肖远灿^{1,2,3}, 董琦^{1,2,3}, 胡风祖^{1,2,3}, 杜玉枝^{1,2,3}, 魏立新^{1,2,3*} (1.中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2.青海省藏药药理学和安全性评价重点实验室, 西宁 810008; 3.中国科学院藏药研究重点实验室, 西宁 810008)

摘要: 目的 建立藏药麻花秦艽花和线叶龙胆花中同时测定胞嘧啶、胞苷、尿嘧啶、腺嘌呤、鸟嘌呤、尿苷、胸腺嘧啶、鸟苷、胸苷和腺苷 10 种核苷类成分含量的 HPLC-DAD 方法, 并对产自青海的 6 批次麻花秦艽花和 6 批次线叶龙胆花的这 10 种核苷成分进行含量测定和比较分析。方法 Bonus RP 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 甲醇-0.04%乙酸水溶液梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 260 nm, 进样量 20 μL。结果 10 种核苷类成分线性关系、精密性、稳定性、重复性均符合含量测定方法学的要求, 加样回收率为 95.1%~98.5%。不同产地线叶龙胆花中 10 种核苷类成分总含量 849.38~1 014.37 μg·g⁻¹, 麻花秦艽花为 256.27~822.52 μg·g⁻¹。腺苷、鸟苷、尿苷和胞苷在麻花秦艽花和线叶龙胆花中的含量均较高, 是其主要核苷成分, 而尿嘧啶、鸟嘌呤和胸苷在 2 种样品中含量均较低。结论 该法简便实用、重复性好, 适用于藏药麻花秦艽花和线叶龙胆花中 10 种核苷类成分的测定。青海不同产地 2 种藏药中 10 种核苷类成分的分析数据可为其质量控制和品质评价提供参考。

关键词: 麻花秦艽花; 线叶龙胆花; 核苷和碱基; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)01-0067-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.01.015

引用本文: 肖远灿, 董琦, 胡风祖, 等. 藏药麻花秦艽花和线叶龙胆花中 10 种核苷类成分的含量分析[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(1): 67-71.

Determination of 10 Nucleosides in Tibetan Medicine of Flower of *Gentiana Straminea* and Flower of *Gentiana Farreri*

XIAO Yuancan^{1,2,3}, DONG Qi^{1,2,3}, HU Fengzu^{1,2,3}, DU Yuzhi^{1,2,3}, WEI Lixin^{1,2,3*} (1.Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; 2.Qinghai Provincial Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Evaluation, Xining 810008, China; 3.Key Laboratory of Tibetan Medicine Research Academy of Science, Xining 810008, Chia)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC-DAD method for simultaneously determination of cytosine, cytidine, uracil, adenine, guanine, uridine, thymine, guanosine, thymidine and adenosine in Tibetan medicine of flower of *Gentiana straminea* and flower of *Gentiana farreri*. Determination and comparison the ten nucleoside compounds of the two Tibetan medicine samples which come from six different origins of Qinghai province. **METHODS** A Bonus RP column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used, methanol and 0.04% acetic acid solution was used as the mobile phase, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the column temperature was 35 °C and the detector wavelength was set at 260 nm with injection volumn of 20 μL. **RESULTS** Ten nucleoside compounds had good linear relationship, precision, stability, and repeatability according to the requirements of the quantitative analysis methodology. The recoveries of ten nucleoside compounds were 95.1%~98.5%. Furthermore, the total contents of the ten nucleoside compounds in different origins were 849.38~1 014.37 μg·g⁻¹ and 256.27~822.52 μg·g⁻¹ for the flower of *Gentiana farreri* and *Gentiana straminea* respectively. Adenosine, guanosine, uridine and cytidine were the main nucleoside compounds in the two Tibetan medicine samples which were higher than others in content, while uracil, guanine and thymidine were lower. **CONCLUSION** The developed HPLC-DAD method is simple, available, and has good repeatability, which is suitable for the determination of above ten nucleoside compounds of flower of *Gentiana straminea* and *Gentiana farreri*. Moreover, the quantitative data of ten nucleoside compounds in the two Tibetan medicine samples origin from Qinghai province can provide helpful information for the quality control and evaluation.

KEY WORDS: flower of *Gentiana straminea*; flower of *Gentiana farreri*; nucleosides and bases; content determination; HPLC

麻花秦艽花是一种常用藏药, 名为“解吉嘎保”, 是龙胆科植物麻花秦艽 *Gentiana straminea* Maxim 的干燥花, 具有祛风湿、清湿热、止麻痺、

清热解毒的功效, 用于风湿痹痛、筋脉痉挛、胃肠炎、肝炎、胆囊炎等的治疗^[1-3]。藏医临床上常常将麻花秦艽花作为白花龙胆花使用, 因而近年

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAI27B05); 青海省科技计划项目(2017-ZJ-Y08)

作者简介: 肖远灿, 男, 硕士, 助理研究员 Tel: (0971)6143765 E-mail: ycxiao@nwipb.cas.cn *通信作者: 魏立新, 男, 博士, 研究员 Tel: (0971)6143668 E-mail: lxwei@nwipb.cas.cn

有研究认为麻花秦艽花是白花龙胆花的来源之一^[4]。线叶龙胆(*Gentiana farreri* Balf. f.)又称蓝花龙胆,作为“邦见温保”使用,以全草或花入药,用于肝炎、肺炎、尿道感染等症的治疗^[5]。

核苷类成分广泛存在于生物体中,是重要的细胞活性成分,具有维持细胞生命的功能,还具有免疫调节、改善脑细胞代谢、调节中枢神经等多种生理活性,腺苷、尿苷等重要核苷类成分已作为药品、保健品和食品添加剂服务于人类健康^[6-7]。研究表明,补益类中药的补益功效与核苷类成分具有的生物活性存在一定的相关性^[8];苦碟子注射液具有的活血止痛、清热祛瘀作用与核苷类成分相关^[9];红花注射液中含有的多种核苷类成分可能是活性成分之一^[10]。此外,核苷类成分可能是复方守宫散抗肿瘤的主要活性成分,被作为质量控制研究的目标成分之一^[11];硫代核苷及其衍生物具有较高的抗肿瘤,抗病毒和抗菌方面的活性^[12]。

目前,麻花秦艽花和线叶龙胆花中核苷类成分的研究还未见报道,为深入开发麻花秦艽花和线叶龙胆花资源,探明麻花秦艽花和线叶龙胆花中核苷类成分的组成及含量,核苷类成分的系统研究十分必要。本实验采用 HPLC 建立了麻花秦艽花和线叶龙胆花中 10 种核苷类成分的含量分析方法,并对采自青海多地的样品进行了分析,为藏药麻花秦艽花和线叶龙胆花的深入开发和质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,配备 G1379A 在线脱气机、G1312A 二元高压泵、G1328A 手动进样器、G1316A 柱温箱、G1315B 二极管阵列检测器和 Chemstation 色谱工作站(美国 Agilent 公司); AG135 型电子分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司); PL203 型电子分析天平(上海 METTLER TOLEDO 公司); PS-60 型洁康牌超声波清洗仪(360 W, 40 KHz)(东莞市洁康超声波设备有限公司); T-25 型高速匀浆机(德国 IKA 公司); UPT-II-20L 型超纯水机(成都优普超纯科技有限公司)。

1.2 试剂

麻花秦艽花和线叶龙胆花样品采集自青海省境内多地,采集信息见表 1,样品经中国科学院西北高原生物研究所研究员卢学峰研究员鉴定为麻

花秦艽花和线叶龙胆花。

核苷对照品:尿嘧啶(批号:1000996074)、鸟苷(批号:1000880080)、胸苷(批号:101063335)、胸腺嘧啶(批号:1001031694)、胞苷(批号:1001028769)、腺嘌呤(批号:1000977038)、胞嘧啶(批号:101144695)均购自 Sigma 公司(Sigma-Alorich Co.美国),纯度均 $\geq 98.0\%$;尿苷(批号:887-200202)、鸟嘌呤(批号:140631-200904)、腺苷(批号:110879-200202)购自中国药品生物制品检定院,纯度均 $\geq 98.0\%$ 。甲醇,色谱纯(山东禹王试剂有限公司);自制超纯水(成都优普纯水机制);乙酸(分析纯,西安化学试剂厂)。

表 1 麻花秦艽花和线叶龙胆花样品信息

Tab.1 Sample information of flower of *Gentiana straminea* and flower of *Gentiana farreri*

编号	样品名	采集地点
LDH 1	麻花秦艽花	海晏县金银滩
LDH 2	麻花秦艽花	玉树县巴塘乡
LDH 3	麻花秦艽花	大通县大阪山
LDH 4	麻花秦艽花	祁连县八宝镇
LDH 5	麻花秦艽花	海北州门源县
LDH 6	麻花秦艽花	海晏县尕海
LDH 7	线叶龙胆花	玉树县热水沟
LDH 8	线叶龙胆花	玉树巴塘乡
LDH 9	线叶龙胆花	大通县大阪山
LDH 10	线叶龙胆花	海北州门源县
LDH 11	线叶龙胆花	门源县大阪山下
LDH 12	线叶龙胆花	海晏县尕海

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

分别精密称取 10 种核苷对照品适量,置于 10 mL 的量瓶中,用 20% 甲醇水溶液溶解并定容至刻度,混匀,配制成相应对照品贮备液,浓度分别为胞嘧啶 $0.592 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、胞苷 $0.570 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、尿嘧啶 $0.620 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、腺嘌呤 $0.640 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、鸟嘌呤 $0.542 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、尿苷 $0.480 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、胸腺嘧啶 $0.665 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、鸟苷 $0.583 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、胸苷 $0.685 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、腺苷 $0.734 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱内保存。临用前分别取 10 种核苷对照品贮备液适量混合均匀,即得混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

精密称取麻花秦艽花和线叶龙胆花样品粉末约 1.0 g 于 50 mL 锥形瓶中,精密加入 10% 甲醇水溶液 20 mL,混匀,浸泡 30 min;在 $20\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下高速匀浆 2 min;再超声提取 40 min,放冷后过滤并定容于 25 mL 量瓶中,摇匀后取上清液过

0.45 μm 滤膜后待测。

2.3 色谱条件

色谱柱: Agilent ZoRBAX Bonus-RP(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 流动相: 0.04%乙酸水溶液(A), 甲醇(B), 洗脱梯度: 0~25 min, 0% \rightarrow 12%B; 25~30 min, 12% \rightarrow 25%B; 30~35 min, 25% \rightarrow 0%B; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长 260 nm; 进样量 20 μL 。

在上述色谱条件下, 10 种核苷混合对照品溶液分析色谱图见图 1A, 麻花秦艽花和线叶龙胆花典型样品色谱图见图 1B 和 1C。

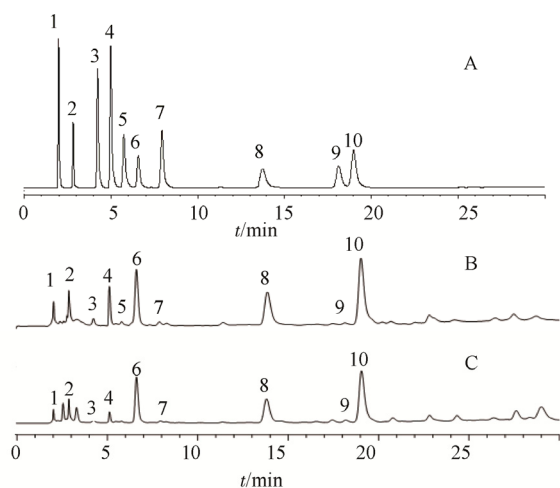


图 1 混合对照品溶液(A)、LDH3(B)和 LDH8(C)的 HPLC 色谱图

1-胞嘧啶; 2-胞苷; 3-尿嘧啶; 4-腺嘌呤; 5-鸟嘌呤; 6-尿苷; 7-胸腺嘧啶; 8-鸟苷; 9-胸苷; 10-腺苷。

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances(A), sample LDH6(B) and LDH8(C)

1-cytosine; 2-cytidine; 3-uracil 4-adenine; 5-guanine; 6-uridine; 7-thymine; 8-guanosine; 9-thymidine; 10-adenosine.

2.4 线性关系考察

取 10 种核苷对照品贮备液适量, 混合, 得到胞嘧啶 59.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、胞苷 57.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、尿嘧啶 62.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、腺嘌呤 64.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、鸟嘌呤 54.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、尿苷 48.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、胸腺嘧啶 66.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、鸟苷 58.3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、胸苷 68.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、腺苷 73.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。取上述混合对照品溶液适量, 用 10% 甲醇水溶液等倍稀释为一系列 6 个不同浓度的混合对照品溶液, 分别精密吸取 20 μL 注入高效液相色谱仪中, 按“2.3”项下色谱条件进行分析, 以浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 为横坐标(X 轴), 峰面积为纵坐标(Y 轴) 绘制标准曲线, 建立回归方程。结果显示, 10 种核苷和碱基在各自的浓度范围内具有良好线性。按照信噪比分别为 3 和 10 时的浓度为检出限和定

量限的定义计算各成分的检出限和定量限, 结果见表 2。

表 2 10 种核苷线性关系、检出限、定量限

Tab. 2 Regression equation, LOD and LOQ of ten components

成分	线性回归方程	相关系数	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
胞嘧啶	$Y=30.683X+1.377$	0.999 9	0.46~59.2	0.10	0.32
胞苷	$Y=15.315X+0.038 7$	0.999 2	0.45~57.0	0.13	0.42
尿嘧啶	$Y=38.602X+2.637 6$	0.999 6	0.48~62.0	0.09	0.31
腺嘌呤	$Y=50.133X-3.252 5$	0.999 5	0.50~64.0	0.09	0.29
鸟嘌呤	$Y=30.839X-4.044 2$	0.999 8	0.42~54.2	0.11	0.36
尿苷	$Y=21.221X-0.458 4$	0.999 0	0.38~48.0	0.09	0.30
胸腺嘧啶	$Y=29.834X+0.182 2$	0.999 7	0.52~66.5	0.15	0.51
鸟苷	$Y=22.313X-5.914 4$	0.999 9	0.46~58.3	0.12	0.41
胸苷	$Y=18.189X-3.402 9$	0.999 4	0.54~68.5	0.13	0.43
腺苷	$Y=30.371X-1.83 0$	0.999 8	0.57~73.4	0.12	0.42

2.5 仪器精密度试验

精密吸取同一混合对照品溶液 20 μL , 在“2.3”色谱条件下, 连续进样 6 次, 记录并计算 10 种核苷类成分各自峰面积的相对标准偏差(RSD)。10 种核苷类成分色谱峰保留时间 RSD 值在 0.56%~1.02%之间, 峰面积 RSD 值在 0.71%~2.33%之间, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一麻花秦艽花样品(编号: LDH1)供试品溶液, 于室温放置 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 后, 按“2.3”项下色谱条件进行分析, 测定 10 种核苷类成分的峰面积。结果表明, 样品中 10 种核苷类成分在 24 h 内峰面积的 RSD 值在 0.92%~1.75%内, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性较好。

2.7 重复性试验

取麻花秦艽花(编号: LDH1)样品 5 份按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 并在“2.3”项下色谱条件下进样检测, 计算 10 种核苷类成分含量的 RSD 值。结果显示, 10 种核苷类成分含量的 RSD 值在 1.29%~2.44%之间, 均 $<$ 2.50%, 说明该方法重复性良好。

2.8 回收率试验

精密称取已知 10 种核苷类成分含量的样品(编号: LDH1)6 份, 每份约 1.0 g, 分别精密加入一定量的对照品贮备溶液, 按照“2.2”项下方法制备供试品溶液并按“2.3”项下条件测定, 计算加标回收率, 详见表 3。结果表明, 10 种核苷及碱基平均回收率为 95.1%~98.5%, RSD($n=6$)均 \leq 3.5%。

表 3 10 种核苷类成分加样回收率试验结果(n=6)

Tab. 3 The recovery results of 10 nucleoside compounds (n=6)

成分	称样量/ g	样品含量/ μg·g ⁻¹	加入量/ μg	测定量/ μg	回收率/ %	平均值/ %	RSD/ %
胞嘧啶	1.018	21.84	24.08	45.62	97.12	97.0	2.1
	1.002	21.84	24.08	44.89	95.54		
	1.009	21.84	24.08	46.03	99.64		
	1.010	21.84	24.08	45.33	96.64		
	1.004	21.84	24.08	44.61	94.20		
	1.014	21.84	24.08	45.90	98.65		
胞苷	1.008	88.91	91.2	179.13	98.15	95.8	2.7
	1.012	88.91	91.2	177.03	95.45		
	1.004	88.91	91.2	174.92	93.92		
	1.023	88.91	91.2	179.22	96.78		
	1.009	88.91	91.2	179.59	98.55		
	1.018	88.91	91.2	174.31	91.89		
尿嘧啶	1.018	8.25	11.8	19.47	93.83	96.3	3.1
	1.002	8.25	11.8	19.19	92.57		
	1.009	8.25	11.8	20.11	99.88		
	1.010	8.25	11.8	20.05	99.30		
	1.004	8.25	11.8	19.51	95.14		
	1.014	8.25	11.8	19.84	97.24		
腺嘌呤	1.018	42.84	37.2	80.06	97.98	98.5	1.4
	1.002	42.84	37.2	80.12	99.98		
	1.009	42.84	37.2	79.59	97.75		
	1.010	42.84	37.2	80.46	99.98		
	1.004	42.84	37.2	78.91	96.50		
	1.014	42.84	37.2	80.17	98.74		
鸟嘌呤	1.008	18.82	16.26	34.90	97.97	95.1	2.3
	1.012	18.82	16.26	33.94	91.60		
	1.004	18.82	16.26	34.61	96.65		
	1.023	18.82	16.26	34.84	95.86		
	1.009	18.82	16.26	34.37	94.59		
	1.018	18.82	16.26	34.44	93.98		
尿苷	1.008	153.88	144	295.16	97.26	96.5	1.8
	1.012	153.88	144	291.02	93.95		
	1.004	153.88	144	296.93	98.91		
	1.023	153.88	144	295.16	95.65		
	1.009	153.88	144	293.08	95.70		
	1.018	153.88	144	297.11	97.54		
胸腺嘧啶	1.008	60.98	59.85	120.78	99.10	96.8	1.6
	1.012	60.98	59.85	119.53	96.61		
	1.004	60.98	59.85	119.02	96.57		
	1.023	60.98	59.85	119.94	96.17		
	1.009	60.98	59.85	120.03	97.75		
	1.018	60.98	59.85	118.67	94.56		
鸟苷	1.008	83.28	81.62	161.33	94.81	95.6	2.3
	1.012	83.28	81.62	163.91	97.56		
	1.004	83.28	81.62	162.84	97.07		
	1.023	83.28	81.62	161.67	93.70		
	1.009	83.28	81.62	163.93	97.89		
	1.018	83.28	81.62	160.45	92.71		
胸苷	1.018	10.94	14.1	24.54	95.06	96.8	3.3
	1.002	10.94	14.1	23.93	91.97		
	1.009	10.94	14.1	25.06	99.44		
	1.010	10.94	14.1	24.78	97.38		
	1.004	10.94	14.1	25.20	100.82		
	1.014	10.94	14.1	24.62	95.94		
腺苷	1.008	249.79	260.05	507.12	98.19	97.3	1.8
	1.012	249.79	260.05	507.95	98.12		
	1.004	249.79	260.05	504.63	97.61		
	1.023	249.79	260.05	499.37	93.76		
	1.009	249.79	260.05	508.28	98.54		
	1.018	249.79	260.05	507.74	97.46		

2.9 样品测定

取 6 批次麻花秦艽花和 6 批次线叶龙胆花样品, 分别按照“2.2”项下方法制备供试品溶液, 根据“2.3”项下色谱条件分析, 获得各样品中 10 种核苷类成分色谱峰峰面积, 以外标准曲线法计算 10 种核苷类成分的含量, 结果见表 4。

核苷类成分的分析结果显示, 12 批次不同产地的麻花秦艽花和线叶龙胆花样品中均含有胞嘧啶等 10 种核苷类成分, 多批次 2 种龙胆花中含有的尿嘧啶、鸟嘌呤和胸腺嘧啶低于定量限。不同产地线叶龙胆花中 10 种核苷类成分总含量 849.38~1 014.37 μg·g⁻¹, 麻花秦艽花为 256.27~822.52 μg·g⁻¹。腺苷、鸟苷、尿苷和胞苷在麻花秦艽花和线叶龙胆花中含量均较高, 是麻花秦艽花和线叶龙胆花中主要核苷成分, 而尿嘧啶、鸟嘌呤和胸苷在 2 种样品中含量均较低。

3 讨论

3.1 提取条件的优化

不同种类的样品, 由于其组成不同、质地不同, 在提取核苷类成分时条件也有所不同。核苷类成分具有较好的水溶性, 所以在提取条件的选择和优化的时候均采用以水为主的提取试剂, 试验中根据麻花秦艽花和线叶龙胆花的特点优化了甲醇的含量。另外, 为使核苷类成分充分溶出, 在提取之前将细胞尽量破碎有利于核苷类成分的提取。

通过系统的试验, 从细胞破碎方式和时间、提取溶剂中有机溶剂的比例等方面进行了优化。对比了水、10%, 20%, 40%, 50%甲醇溶液对麻花秦艽花和线叶龙胆花中 10 种核苷类成分的提取效果。结果表明, 采用 10%甲醇溶液时 10 种核苷类成分能较好地提取。因此, 本实验采用了先将样品用 10%甲醇水溶液浸泡 30 min, 其后用高速匀浆机 20 000 r·min⁻¹ 匀浆 2 min 破碎细胞, 再用超声提取 40 min 的方法制备供试品溶液。

3.2 色谱条件的优化

核苷类成分是一类极性较大的物质, 在普通的反相 C₁₈ 填料的色谱柱上保留和分离较差, 通过具体试验, 本实验中选用了具有极性物质分离特性的 Bonus RP 型号填料的色谱柱, 并通过对流动相乙酸含量、洗脱程序的优化获得了对 10 种核苷具有较好分离效果的分析条件。

3.3 结果分析

麻花秦艽花和线叶龙胆花中 10 种核苷类成分

表 4 12 批样品中核苷类成分含量测定结果

Tab. 4 The result of content determination of 12 batches of samples

编号	胞嘧啶	胞苷	尿嘧啶	腺嘌呤	鸟嘌呤	尿苷	胸腺嘧啶	鸟苷	胸苷	腺苷	合计
LDH 1	21.84	88.91	8.25	42.84	18.82	153.88	60.98	83.28	10.94	249.79	739.53
LDH 2	15.64	51.88	-	28.04	12.10	84.04	14.19	15.13	12.55	22.69	256.27
LDH 3	25.40	61.09	7.94	46.99	20.61	155.16	22.80	85.88	11.38	239.38	676.62
LDH 4	25.58	110.06	8.15	30.16	13.20	156.20	-	144.96	11.57	285.74	785.62
LDH 5	30.81	112.53	8.51	43.84	20.41	160.99	39.41	102.55	16.88	258.43	794.38
LDH 6	28.59	115.30	9.77	32.75	9.41	188.00	-	158.50	13.18	267.00	822.52
LDH 7	24.63	112.91	-	11.44	-	214.06	21.42	170.95	20.47	402.68	978.55
LDH 8	19.59	106.67	-	12.68	-	220.00	-	158.61	23.20	308.63	849.38
LDH 9	20.95	92.97	-	12.37	-	203.80	16.36	153.82	15.91	392.82	909.02
LDH 10	31.36	113.25	-	21.37	9.03	209.15	24.37	190.18	24.45	391.22	1 014.37
LDH 11	23.25	102.14	-	12.94	-	185.21	-	188.13	22.00	409.06	942.73
LDH 12	19.41	127.43	-	15.77	9.05	212.95	-	183.21	17.58	372.49	957.91

注：“-”为低于定量限。

Note:“-” is below to LOQ.

的含量存在一定差异,在同一种样品的不同产地,该 10 种成分的含量也存在差异,除个别样品(编号:LDH2)外,种内差异小于种间差异。

不同产地线叶龙胆花中 10 种核苷类成分总含量均高于麻花秦艽花。腺苷在麻花秦艽花和线叶龙胆花的 10 种核苷类成分中含量最高,且线叶龙胆花高于麻花秦艽花。麻花秦艽花和线叶龙胆花中胞嘧啶的含量接近;麻花秦艽花中腺嘌呤含量高于线叶龙胆花;对于鸟嘌呤含量,麻花秦艽花高于线叶龙胆花;尿苷和胸苷含量,麻花秦艽花整体低于线叶龙胆花。

不同产地麻花秦艽花中,产自玉树县巴塘乡的样品(编号:LDH2)10 种核苷类成分总量及除鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胸苷外的其他 7 种核苷含量均低于其他 5 个产地,腺苷、鸟苷和尿苷与其他 5 个产地样品比较差异很大。祁连县八宝镇(编号:LDH4)、海北州门源县(编号:LDH5)和海晏县尕斯库勒(编号:LDH6)的麻花秦艽花 10 种核苷总量,腺苷、尿苷和鸟苷等含量均高于其他 3 个产地的样品。

6 个不同产地线叶龙胆花中 10 种核苷类成分总含量差异较小,其中最高的样品采自海北州门源县(编号:LDH10),为 1 014.37 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,最低的为采自玉树县巴塘乡的样品(编号:LDH8),为 849.38 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在 6 个产地的线叶龙胆花样品中除鸟嘌呤和胸腺嘧啶外的其余 8 种核苷含量差异较小。

本研究建立的 HPLC 分析方法能很好地分析 10 种核苷类成分,其准确性、重复性和稳定性良好,适用于麻花秦艽花和线叶龙胆花药材中核苷类成分的分析。对产自青海省的 6 批次麻花秦艽花和 6 批次线叶龙胆花样品中 10 种核苷类成分的测定和比较分析数据,能够为麻花秦艽花和线叶龙胆花药材品质评价和药效作用的深入研究以及

质量标准的提高、完善提供参考。

REFERENCES

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991: 9-11.
- [2] 帝玛尔丹增彭措著, 毛继祖等重译. 晶珠本草[M]. 上海: 上海科技出版社, 2012: 158-159.
- [3] ZHANG X X, JIA N, SUN C, et al. Anti-inflammatory and analgesic activity of *G. macrophylla* Pall flower and *G. straminea* Maxim flower [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2012, 27(7): 341-343.
- [4] YANG F, WANG H L, LI C T, et al. Research on anti-inflammation effects of *Gentiana straminea* Maxim. 's flower [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2010, 22(2): 330-333.
- [5] 刘海青, 刘亚荣, 朱志强, 等. 青海省龙胆属药用植物资源概况[J]. 中药材, 1995, 18(3): 119-125.
- [6] LEE J, CHUANG T H, REDECKE V, et al. Molecular basis for the immune stimulatory activity of guanine nucleoside analogs: Activation of toll-like receptor7 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(11): 6646-6651.
- [7] WANG R. Advances in pyrimidine [J]. Lett Biotech(生物技术通信), 2007, 18(3): 539-542.
- [8] KONG D P, QIAN D W, GUO S, et al. Determination of nucleosides compounds in nine tonic traditional Chinese medicines of fruit and seeds [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(4): 98-101.
- [9] LIU R, MA S M, SUN L, et al. Simultaneous determination of ten nucleoside components in Kudiezi injection by HPLC-DAD [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2013, 44(18): 2542-2545.
- [10] HU X R, SUN L, DAI Z, et al. Nucleosides in safflower injection by LC-MS and UPLC [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2013, 48(12): 1022-1026.
- [11] WU J, GAO J R, HAN Y Q, et al. Simultaneous determination of nucleoside contents in Compound Shou Gong powder by UPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(7): 843-846.
- [12] LIU X N, CAI Q, HAN W N. Research progress of nucleoside sulfur compounds [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(2): 246-249.

收稿日期: 2017-06-20

(本文责编: 李艳芳)