

## 不同海拔川西獐牙菜中药用成分的 HPLC 分析

杨红霞<sup>1,2</sup>, 魏立新<sup>1\*</sup>, 杜玉枝<sup>1</sup>, 肖远灿<sup>1</sup>, 吕 坪<sup>1,2</sup>, 王东平<sup>1,2</sup>, 夏振江<sup>1,2</sup>, 李 岑<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所/青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室, 青海 西宁 810008;  
2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要** 目的: 建立藏药材川西獐牙菜中四种药用成分的 HPLC 测定方法, 比较不同海拔川西獐牙菜中四种主要药用成分的含量变化。方法: 采用高效液相色谱法测定四种成分的含量, 测定三种苷类成分采用甲醇-水为流动相, 进行梯度洗脱, 检测波长为 260 nm, 柱温为 25 ℃; 测定齐墩果酸采用甲醇-含 0.04% 冰乙酸水为流动相, 90% 甲醇等度洗脱, 检测波长为 210 nm, 柱温为 30 ℃。结果: 实验所建立的测定方法简便稳定; 在 2 100 ~ 3 617 m 的不同海拔地区所采集的川西獐牙菜中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷和齐墩果酸的含量变化范围分别是 1.82 ~ 3.13、27.17 ~ 34.61、9.45 ~ 25.53、2.91 ~ 7.08 mg/g。结论: 不同海拔地区的藏药材川西獐牙菜中, 齐墩果酸含量随海拔增高而显著增加, 龙胆苦苷含量随海拔增高明显降低, 獐牙菜苦苷含量随海拔增高而略有增加, 芒果苷含量随海拔增高呈现出增加的趋势, 但趋势变化有较大的波动。

**关键词** 川西獐牙菜; 藏药材; 药用成分; HPLC; 海拔

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2010)06-0867-03

川西獐牙菜 (*Swertia mussotii* Franch) 属龙胆科獐牙菜属植物, 主要分布于我国的四川西北部、西藏、青海西南部和云南, 常见于海拔 1 900 ~ 3 800 m 的山坡、河谷、灌丛草地、林下、水边等<sup>[1]</sup>, 是藏族民间常用的单方草药, 为上品藏药, 俗名“藏茵陈”<sup>[2]</sup>。现代医学证明, 川西獐牙菜中的主要成分龙胆苦苷可治消化不良、抗原虫、抗炎; 齐墩果酸、芒果苷具有抗炎、抗结核、降酶、利胆、镇痛<sup>[1,2]</sup>等作用, 芒果苷的抗癌、抗病毒以及抗糖尿病的活性, 也越来越受到关注<sup>[3]</sup>; 而獐牙菜苦苷能有效的保护肝细胞, 并能促进细胞修复<sup>[4,5]</sup>。作为珍稀的高原野生植物, 川西獐牙菜的药用成分的研究随着民族医药的迅速发展而不断深入, 需求量也日益增多。为更好地了解海拔对川西獐牙菜中四种主要药用成分的影响, 笔者采集了四川和青海 4 个不同海拔地区的川西獐牙菜, 采用高效液相色谱法进行含量测定和分析比较。

## 1 材料、仪器与试剂

1.1 材料 川西獐牙菜样品以约 400 ~ 600 m 的海拔间隔分别采自四川丹巴县、四川小金县新桥乡、四川炉霍县城南、青海玉树县仲达乡。采集地区及海拔见表 1。

1.2 仪器与试剂 Agilent 1100 高效液相色谱仪 (G1379A 在线脱气机、G1312A 二元泵、G1316A 柱温箱、G1315B 二极管阵列检测器、手动进样器), Agilent Chem station 色谱工作站 (美国, Agilent 公

表 1 不同海拔地区川西獐牙菜样品采集地点和采集时间

样品标号	川西样品采集地点	海拔 /m	采集时间
1	四川丹巴县	2 100	08 年 8 月
2	四川小金县新桥乡	2 718	08 年 8 月
3	四川炉霍县城南	3 162	08 年 8 月
4	青海玉树县仲达乡	3 617	08 年 9 月

司); Millipore simplicity 超纯水仪 (美国, Millipore 公司); KQ5200DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司, 功率 250 W, 频率 40 kHz); METTLER TOLEDO AG135, 精密天平 (十万分之一)。甲醇为色谱醇 (山东禹王实业有限公司禹城化工厂); 水为自制超纯水。龙胆苦苷 (110770-200510)、芒果苷 (111607-200301)、齐墩果酸对照品 (110709-200304), 均购自中国药品生物制品检定所; 獐牙菜苦苷 (含量测定用, 纯度大于 98%, 批号 1101-080604) 由中药固体制剂制造技术国家工程研究中心提供。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

2.1.1 测定獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷条件: 色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水, 梯度洗脱, 0 ~ 20 min, 甲醇 20% ~ 90%; 20 ~ 25 min, 甲醇 90%, 25 ~ 30 min, 甲醇 90% ~ 20%; 检测波长: 260 nm; 柱温:

收稿日期: 2009-09-29

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划课题 (2006BA D6A18-21)

作者简介: 杨红霞 (1985-), 女, 硕士研究生, 主要从事于药用植物化学研究; E-mail: yanghongxia412@163.com.

\*通讯作者: 魏立新, Tel: 0971-6143668, E-mail: lxwei@nwpb.ac.cn.

25。

2.1.2 测定齐墩果酸条件:色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (0.04% 冰乙酸), 甲醇 90% 等度洗脱 25 min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷对照品分别为 8.00、11.60、6.58 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 加入少量甲醇, 超声促溶, 定容至刻度, 摇匀即得混合对照品溶液母液, 母液浓度为, 獐牙菜苦苷 0.800 mg/mL, 龙胆苦苷 1.160 mg/mL, 芒果苷 0.658 mg/mL, 使用时稀释为所需的浓度。精密称取对照品齐墩果酸 2.10 mg 置于 5 mL 容量瓶中, 加入少量甲醇, 超声促溶, 定容至刻度, 摇匀即得对照品溶液母液, 齐墩果酸母液的浓度为 0.402 mg/mL, 使用时稀释为所需要的浓度。

2.3 样品溶液的制备 将上述 1~4 号样品分别全株粉碎, 过 40 目筛; 分别混匀后, 各精确称取 1.0000 g, 置于 100 mL 三角烧瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 在功率 200 W, 频率 40 kHz 的条件下超声 60 min, 取出后, 在室温下放置, 待溶液温度与室温相同后, 用滤纸过滤定容到 50 mL 容量瓶中, 0.45 μm 有机膜处理后待测。

2.4 标准曲线的绘制 精密吸取混合标准品及齐墩果酸标准液一定量, 按倍数关系稀释成 8 种不同浓度的溶液, 分别吸取 10 μL, 根据“2.1 项中所设定的条件进行分析。以相应组分的峰面积 (Y) 和对照品溶液的浓度 (X) 绘制标准曲线, 并进行线性拟合。结果见表 2。

表 2 四种混合标准品的线性关系

有效成分	线性方程	相关系数	线性范围 / μg
獐牙菜苦苷	$Y_1 = 4386.9X_1 + 6.082$	$R_1 = 0.9999$	0.06 ~ 4.00
龙胆苦苷	$Y_2 = 11739.0X_2 + 23.988$	$R_2 = 1.0000$	0.05 ~ 5.80
芒果苷	$Y_3 = 13724.0X_3 - 148.260$	$R_3 = 0.9985$	0.10 ~ 3.29
齐墩果酸	$Y_4 = 5500.7X_4 + 22.928$	$R_4 = 0.9997$	0.13 ~ 4.20

2.5 精密度试验 取“2.2 项下的对照品溶液 5 μL, 在两种检测条件下分别连续进样 5 次, 测定獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷峰和齐墩果酸的峰面积, 计算 5 次进样峰面积的 RSD 值, 四种指标物质分别为 0.17%, 0.15%, 0.25% 和 0.71%, 表明仪器的精密度良好。

2.6 重复性试验 取四川丹巴川西獐牙菜样品 6 份, 每份 1.0000 g, 分别按照“2.3 项下方法操作, 进样测定, 计算獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷和齐墩果酸四种指标成分含量分别为 1.93 mg/g, RSD =

1.09%; 34.52 mg/g, RSD = 2.03%; 11.01 mg/g, RSD = 2.07%; 2.89 mg/g, RSD = 1.45%, 表明含量测定方法的重复性良好。

2.7 加样回收率试验 对已测定四种指标成分獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷和齐墩果酸含量的四川丹巴獐牙菜样品, 分别精密称取约 0.5000 g, 共 9 份, 分为低、中、高三组, 分别加入约 0.5、1.0 和 2.0 倍三种指标成分量的对照品溶液, 按照“1.3.2 项下方法制备样品溶液, 采用“2.1 项下色谱条件进行分析, 计算四种指标成分三种加入量的回收率, 结果见表 3。

表 3 川西獐牙菜中四种药用成分的加样回收率实验

成分	低剂量回收率 / %	中剂量回收率 / %	高剂量回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
獐牙菜苦苷	102.93	104.38	101.99	103.10	1.17
龙胆苦苷	101.22	98.71	99.39	99.77	1.30
芒果苷	93.40	96.28	95.98	95.22	1.66
齐墩果酸	99.87	100.01	99.91	99.93	0.07

### 3 结果与分析

3.1 色谱图 按“2.1 项下色谱条件, 测定獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷 3 种成分均被洗脱且达到基线分离, 保留时间分别为 10.287、12.387、14.753 min; 齐墩果酸的保留时间为 11.982 min。

3.2 样品检测结果 分别精密吸取“2.3 项下处理好的 1~4 号不同的样品溶液 10 μL, 按“2.1 项下色谱条件分析川西獐牙菜样品中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷和齐墩果酸的含量, 测定峰面积的积分值, 按外标法计算, 结果见表 4, 图 1。在不同海拔地区所采集的川西獐牙菜样品中, 龙胆苦苷的含量随海拔的增高而逐渐降低, 且不同地区的川西獐牙菜样品中, 四种药用成分均以龙胆苦苷的含量最高, 其次为芒果苷、齐墩果酸和獐牙菜苦苷。芒果苷的含量随海拔的增高呈现出增加的趋势, 但随海拔有很大的波动变化, 以海拔 3 162 m 的四川炉霍县城南所采集样品中的芒果苷含量为最高。

表 4 不同海拔地区川西獐牙菜中四种药用成分的含量 (n=3)

川西獐牙菜样品号	獐牙菜苦苷 / (mg/g)	龙胆苦苷 / (mg/g)	芒果苷 / (mg/g)	齐墩果酸 / (mg/g)
1	1.82	34.61	10.13	2.91
2	2.52	32.34	9.45	3.84
3	2.73	31.50	25.53	5.03
4	3.13	27.17	14.49	7.08

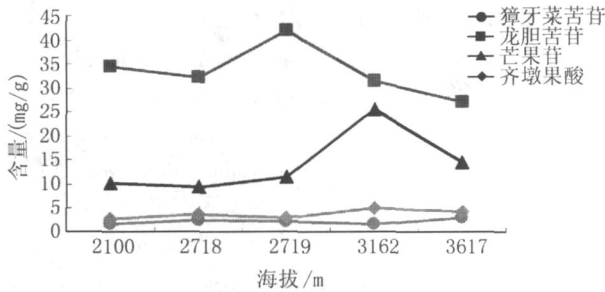


图 1 不同海拔地区川西獐牙菜中四种药用成分与海拔间的关系

#### 4 讨论

本实验建立了两种流动相条件检测川西獐牙菜中主要药用成分的方法,分别用于同时检测獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷三种苷类成分的含量和单独检测齐墩果酸含量。两种检测方法简便稳定,可分别在 30 min 和 25 min 内完全出峰,且样品中所检测的各成分都能达到基线分离。

实验采用同一生长期,不同海拔地区的川西獐牙菜作为实验材料,避免了不同生长期川西獐牙菜中有效成分含量明显变化的因素对实验结果的影响<sup>[2]</sup>。在本次实验中,不同海拔地区川西獐牙菜中齐墩果酸的含量随海拔的增高明显增加,獐牙菜苦苷的含量随海拔的增高稍有增加,这与程会云研究的同属植物抱茎獐牙菜中,作为植物次生代谢产物的獐牙菜苦苷和齐墩果酸的含量随海拔的升高而增加<sup>[6,7]</sup>的实验结果相一致;也与杨慧玲研究的花猫中齐墩果酸的含量随海拔的升高而增加<sup>[8]</sup>的实验

结果相一致。

根据实验结果可以看出,不同海拔地区的川西獐牙菜中,不同的药用成分含量有明显的差异。川西獐牙菜作为药用植物,在采收和用药时,根据不同药用成分合理采收,才能更好的控制药品的质量。

#### 参 考 文 献

- [1] 何廷农,刘尚武,吴庆如. 中国植物志 [M]. 第 62 卷. 北京:科学出版社,1988:400-401.
- [2] 马玉花,纪兰菊,吉文鹤,等. 栽培川西獐牙菜中 6 种药用成分的测定方法和动态积累研究 [J]. 西北植物学报,2005,25(2):393-396.
- [3] 廖洪利,吴秋业,叶光明,等. 芒果苷药理研究进展 [J]. 天津药学,2005,2(17):50-52.
- [4] 胡若琪,饶娴宜,卢明义等. 獐牙菜苷对实验性肝损伤大鼠血浆 CAMP 含量的影响 [J]. 中国药理及临床,1989,5(4):31-32.
- [5] 郭爱华. 龙胆科獐牙菜属药用植物化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 山西中医学院学报,2005,1(6):57-58.
- [6] 程会云,冯伟力,孟宪纪,等. 不同产地抱茎獐牙菜中齐墩果酸的含量比较 [J]. 中药材,2007,30(5):521-523.
- [7] 程会云,冯伟力,沈国平,等. 青海不同海拔地区抱茎獐牙菜有效成分獐牙菜苦苷的含量变化研究 [J]. 中国中药杂志,2007,32(22):2434-2436.
- [8] 杨慧玲,刘健全. 不同地区和生长物候期藏药花猫有效成分齐墩果酸的含量变化研究 [J]. 中国药学杂志,2004,38(9):659-660.

·加工炮制与养护·

## 炙淫羊藿饮片质量研究

孙 娥<sup>1</sup>,贾晓斌<sup>1,2\*</sup>,金晓勇<sup>1,2</sup>,王静静<sup>1</sup>,贾东升<sup>1,2</sup>,陈 彦<sup>1,2</sup>,蔡宝昌<sup>3</sup>

(1. 江苏省中医药研究院中药新型给药系统重点实验室/国家中医药管理局中药口服制剂释药系统重点研究室,江苏 南京 210028; 2. 江苏大学药学院,江苏 镇江 212013; 3. 南京中医药大学江苏省中药炮制重点实验室,江苏 南京 210046)

**摘要** 目的:研究 14 批炙淫羊藿饮片的内在质量,为 2010 年版中国药典质量标准的制定提供参考。方法:对 14 批炙淫羊藿饮片进行了杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物、含量测定等指标的考察,分析评价其质量状况。结果:建议炙淫羊藿饮片水分不得过 8.0%,总灰分不得过 8.0%,酸不溶性灰分不得过 2.0%,浸出物不得少于 12.0%,总黄酮含量不得少于 5.0%,淫羊藿苷含量不得少于 0.6%,宝藿苷 I 含量不得少于 0.1%。结论:初步构建了炙淫羊藿饮片质量评价体系,为 2010 年版中国药典新增品种炙淫羊藿饮片质量标准的制定提供了科学依据。

**关键词** 淫羊藿;炙饮片;质量研究

中图分类号:R283 文献标识码:A 文章编号:1001-4454(2010)06-0869-06

收稿日期:2009-10-22

基金项目:2010 版中国药典一部标准研究项目 (YS-240);国家自然科学基金项目 (30572372,30973944);江苏省中医药局项目 (LZ09067)

作者简介:孙娥 (1982-),女,实习研究员,主要从事中药质量标准与新剂型研究;Tel:025-85608672, E-mail: sune0825@yahoo.com.cn,

\*通讯作者:贾晓斌, Tel:025-85608672, E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com.