

牛蒡的染色体数目相同为  $2n = 36$ , 牛蒡的染色体核型为“2B”与前人报道一致<sup>[11]</sup>。毛头牛蒡的染色体核型亦为“2B”为首次报道。二者亲缘关系较近, 同科同属, 药用价值相似, 均含有较高的牛蒡苷, 是天然产物牛蒡苷的重要药用资源。在中药牛蒡子使用中, 毛头牛蒡的果实是其常见的伪品之一, 从染色体核型来看二者均为“2B”型, 但毛头牛蒡的核型不对称系数为 62.01 比牛蒡的 62.62 略小, 更接近 50, 毛头牛蒡的核型稍原始。毛头牛蒡的染色体总长和长臂总长比牛蒡略大, 而染色体体积比牛蒡的大  $5.03 \mu\text{m}^3$ , 毛头牛蒡 18 对染色体中 m 型有 10 对, 占 55.56%, sm 型有 8 对, 占 44.44%, 而牛蒡 18 对染色体中 m 型有 9 对, 占 50%, sm 型有 9 对占 50%。这些染色体的长度、体积、核型不对称系数等指标可以作为牛蒡与毛头牛蒡细胞学染色体鉴别的重要依据, 为牛蒡的正确使用, 品种鉴别提供参考。

## REFERENCES

[1] The Chinese Academy of Sciences Flora of China Editorial Committee. *Flora of China* (中国植物志) [M]. Vol 78, Beijing: Science Press, 1987: 57-58.

- [2] China National Group Corp. of Traditional and Herbal Medicine. *Compendium of Chinese Medicinal Material Resources* (中国中药资源志要) [M]. Beijing: Science Press, 1994: 1247.
- [3] XU L, DOU D Q, WANG B, et al. Analysis chromosome of arctium in China [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2009, 32 (3): 337-339.
- [4] WANG B, LIN, GU X J, et al. Karyotype analysis of *Doellingeria scaber* chromosome [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2006, 41 (10): 732-734.
- [5] ZHU W. *Plant Chromosome and Technology* (植物染色体及染色体技术) [M]. Beijing: Science Press, 1982: 42-92.
- [6] LEVAN A, FREDGA K, SANDBERG A A. Nomenclature for centromeric position on chromosome [J]. *Hereditas*, 1964, 52 (2): 201-220.
- [7] KUO S R, WANG T T, HUANG T C. Karyotype analysis of some formosan gymnosperms [J]. *Taiwania*, 1972, 17 (1): 66-80.
- [8] STEBBINS G L. *Chromosome Evolution in Higher Plants* [M]. London: Edward Arnold, 1971: 88-105.
- [9] ARANO H. Cytological studies in subfamily carduoideae (compositae) of Japan IX [J]. *Bot Mag*, 1963, 76 (1): 32-39.
- [10] DE-VESECOVIM A, SZIKLA O. Comparative karyotype analysis of Douglasfir [J]. *Silvae Genet*, 1975, 24 (2-3): 48.
- [11] LIL, LIU D, YANG J M, et al. Study on chromosome of *Arctium lappa* [J]. *J Shandong Coll Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 1996, 20 (3): 208-210.

(收稿日期: 2009-05-08)

## 藏药材印度獐牙菜质量标准研究

肖远灿<sup>1</sup>, 魏立新<sup>1\*</sup>, 杨红霞<sup>1, 2</sup>, 杜玉枝<sup>1</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, 西宁 810008; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:**目的 建立印度獐牙菜药材的质量标准。方法 采用薄层色谱法鉴别印度獐牙菜药材中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷成分; 以高效液相色谱法测定该 3 种成分的含量。色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB - C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (0.1% 冰醋酸) 线性梯度洗脱, 甲醇体积分数从 22% 经 18 min 至 32% 并保持 5 min, 流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温为 25 °C, 检测波长为 243 nm。结果 印度獐牙菜药材中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷的薄层色谱鉴别特征明显, 专属性强; 药材中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷的含量测定线性范围分别为 0.06 ~ 2.00 μg (r = 0.999 7), 0.09 ~ 2.90 μg (r = 0.999 7) 和 0.05 ~ 1.65 μg (r = 0.999 8), 平均回收率 (n = 9) 分别为 103.76% (RSD = 1.34%), 99.43% (RSD = 1.60%) 和 96.22% (RSD = 1.30%)。结论 所建立的印度獐牙菜定性定量测定方法简单准确, 能够为印度獐牙菜药材的质量控制提供有效数据。

**关键词:** 印度獐牙菜药材; 獐牙菜苦苷; 龙胆苦苷; 芒果苷; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1001 - 2494 (2010) 04 - 0255 - 04

### Quality Control of Traditional Tibetan Medicine *Swertia chirayita*

XIAO Yuan-can<sup>1</sup>, WEILi-xin<sup>1\*</sup>, YANG Hong-xia<sup>1, 2</sup>, DU Yu-zhi<sup>1</sup> (1. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Acad-

基金项目: 国家药典委员会课题 (YS-200)

作者简介: 肖远灿, 男, 硕士 研究方向: 药物分析与植物化学 \* 通讯作者: 魏立新, 男, 博士 研究方向: 藏药成分及药理作用研究

Te: (0971) 6143668 E-mail: lxwei@nwpb.ac.cn

**ABSTRACT:OBJECTIVE** To establish a method of quality control of *Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten. **METHODS**

Swertiamain, gentiopicrodin and mangiferin was identified by TLC in *Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten. Its content was determined by HPLC equipped with, Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (4.6 mm ×250 mm, 5 μm) column. The mobile phase consisted of methanol-water(0.1% glacial acetic acid), which concentration of methanol from 22% to 32% in 18 min, then kept for 5 min. The analysis was done at a flow rate of 1.0 mL · min<sup>-1</sup>. The column temperature was 25 and the detection wavelength was 243 nm. **RESULTS**

The linearities of swertiamain, gentiopicrodin and mangiferin were in the ranges of 0.06 - 2.00 μg ( $r=0.9997$ ), 0.09 - 2.90 μg ( $r=0.9997$ ) and 0.05 - 1.65 μg ( $r=0.9998$ ), respectively. The average recoveries ( $n=9$ ) were 103.76% (RSD = 1.34%) for swertiamain, 99.43% (RSD = 1.60%) for gentiopicrodin and 96.22% (RSD = 1.30%) for mangiferin. **CONCLUSION** This method is simple, accurate with good reproducibility. It is suitable for quality control of *Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten.

**KEY WORDS:** *Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten; swertiamain; gentiopicrodin; mangiferin; TLC; HPLC

印度獐牙菜药材来源于龙胆科植物印度獐牙菜 [*Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten] 的干燥全草,为藏药蒂达的主要来源药材之一<sup>[1-2]</sup>。蒂达是藏药中最常用的治疗肝胆疾病药物,在藏药中使用频率极高,被 2000年和 2005年版《中国药典》列入“成方制剂中本版药典未收载的药材及炮制品”目录中<sup>[3]</sup>。《青海省藏药标准》和卫生部《药品标准·藏药》收载了印度獐牙菜,其中包括性状鉴别和性味、功能等项,但没有薄层鉴别和含量测定项,不能很好的控制蒂达药材质量<sup>[4-5]</sup>。印度獐牙菜药材中獐牙菜苦苷等成分检测及獐牙菜苦苷等的药理研究已有报道<sup>[6-8]</sup>,但其质量控制方法的系统研究还未见报道。笔者对印度獐牙菜等蒂达主要来源药材进行了质量标准研究,建立了印度獐牙菜药材中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷等成分的薄层鉴别和含量测定方法,以期科学有效地控制药材的质量,保证其临床疗效。

## 1 仪器与材料

HPILC GF254预制薄层板(烟台化学工业研究所,涂层厚度 0.20 ~ 0.25 mm,规格 100 mm ×100 mm,批号 081020)。

Agilent 1100 Series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)。

对照品:獐牙菜苦苷(swertiamain,中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,纯度大于 98%,批

号 1101-080604);龙胆苦苷(gentiopicrodin,中国药品生物制品检定所,批号 110770-200510),芒果苷(mangiferin,中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号 111607-200301)。

甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

印度獐牙菜药材共 10批,经中国科学院西北高原生物研究所卢学峰副研究员鉴定为龙胆科印度獐牙菜 [*Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten] 的干燥全草。

## 2 定性鉴别

取样品粉末(过 60目筛)1.0 g,加甲醇 10 mL,超声处理 30 min,放置至室温,取上清液作为供试品溶液。另取獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 分别含 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005年版附录 VIB)实验,吸取上述 2种溶液各 4 μL,分别点样于同一硅胶 GF254薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(6:5:4:1)为展开剂,展开 8 cm,取出晾干,置紫外灯(254 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同的荧光淬灭斑点,见图 1。

## 3 含量测定

### 3.1 色谱条件

Agilent Zorbax Eclipse XDB - C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm),以甲醇-水(0.1%冰醋酸)为流动相,线性梯度洗脱,甲醇体积分数从 22%经 18 min 至 32%,并保持 5 min;流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>,柱温 25,检测波长 243 nm。

### 3.2 溶液制备

**3.2.1 对照品溶液** 精密称取獐牙菜苦苷对照品 2.00 mg, 龙胆苦苷对照品 2.90 mg, 芒果苷对照品 1.65 mg 于同一 10 mL 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储备液。储备液浓度为獐牙菜苦苷  $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 龙胆苦苷  $0.29 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 芒果苷  $0.165 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**3.2.2 供试品溶液** 精密称取约 0.3 g 样品粉末 (过 60 目筛), 加入 20 mL 甲醇, 超声处理 40 min, 功率 200 W, 频率 40 kHz, 放冷, 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 续滤液过  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜, 即得。

### 3.3 线性关系考察

将“3.2.1 项下的对照品溶液用甲醇等倍稀释为储备液浓度的  $2^{-n}$  倍 ( $n=1, 2, 3, 4, 5$ ), 进样量为  $5 \mu\text{L}$ , 以对照品进样量 ( $X$ ) 为横坐标, 峰面积 ( $Y$ ) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程如下: 獐牙菜苦苷:  $Y=1204.8X+17.008$ ,  $r=0.9997$  ( $0.06 \sim 2.00 \mu\text{g}$ ); 龙胆苦苷:  $Y=1097.6X+17.997$ ,  $r=0.9997$  ( $0.09 \sim 2.90 \mu\text{g}$ ); 芒果苷:  $Y=2117.3X-8.2661$ ,  $r=0.9998$  ( $0.05 \sim 1.65 \mu\text{g}$ )。结果表明, 在各对照品对应的进样量范围内, 线性关系良好。

### 3.4 方法学考察

**3.4.1 精密度实验** 取“3.2.1 项下的对照品溶液  $5 \mu\text{L}$ , 连续进样 5 次, 测定獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷峰面积, 计算 5 次进样峰面积的 RSD 值, 3 种指标物质分别为 0.14%, 0.15% 和 0.24%, 表明仪器的精密度良好。

**3.4.2 稳定性实验** 取同一供试品样品溶液, 室温放置, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样  $5 \mu\text{L}$ , 测定峰面

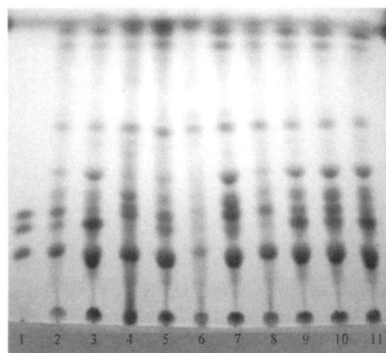


图 1 印度獐牙菜药材薄层鉴别

1 - 混合对照品, 从下到上依次为芒果苷、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷; 2 ~ 11 - 样品 1 ~ 10 号

Fig. 1 TLC of *Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten

1 - reference substances of mangiferin, swertiamain and gentiopicrin from low to high; 2 - 11 - sample No. 1 to 10

积, 计算其 RSD 值, 獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷等 3 种指标成分的 RSD 分别为 2.84%, 2.28% 和 1.84%。表明供试品溶液中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷在 24 h 内稳定。

**3.4.3 重复性实验** 取同一供试品 0.3 g, 共 6 份, 分别按照“3.2.2 项下方法操作, 进样测定, 计算獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷等 3 种成分含量间的 RSD 值, 分别为 2.20%, 0.75% 和 1.86%。表明含量测定方法的重复性良好。

**3.4.4 加样回收率实验** 对已测定獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷含量的上述供试品, 分别精密称取约 0.100 g, 共 9 份, 分为 3 组, 分别加入约 0.5, 1.0 和 2.0 倍 3 种指标成分总量的对照品溶液, 按照“3.2.2 项下方法制备样品溶液, 采用“3.1 项下色谱条件进行分析, 计算 3 种成分 3 种加入量的回收率, 结果见表 1。

### 3.5 样品含量测定

精密称取收集的印度獐牙菜样品, 按照“3.2.2 制备供试品溶液, 取  $5 \mu\text{L}$  进行分析, 记录指标成分色谱峰面积, 根据标准曲线计算含量, 10 批样品测定结果见表 2, 色谱图见图 2。

## 4 讨论

### 4.1 薄层色谱展开剂的选择

表 1 獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷加样回收率实验结果 . %

Tab. 1 Results of recovery of swertiamain, gentiopicrin and mangiferin. %

Compounds	Low	Middle	High	Average
Swertiamain	103.93	105.38	101.99	103.77
Gentiopicrin	101.22	99.71	97.35	99.43
Mangiferin	95.47	95.22	97.98	96.22

表 2 印度獐牙菜药材中指标成分测定结果 . %

Tab. 2 Determination of references substances in samples of *Swertia chirayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten. %

No.	Time /year	Samples	Swertiamain	Gentiopicrin	Mangiferin	Total
1	2005	Nepal	0.648 9	0.386 3	0.648 3	1.683 5
2	2007	Qinghai, Xining	6.841 3	0.167 5	3.584 7	10.593 5
3	2008	Xizang, Lasa	0.125 1	-	1.069 3	1.194 4
4	2008	Xizang, Lasa	1.020 6	0.198 4	1.376 5	2.595 5
5	2008	Xizang, Lasa	0.045 0	-	0.241 7	0.286 7
6	2008	Xizang, Lasa	1.140 6	1.015 5	2.099 8	4.255 9
7	2008	Xizang, Lasa	0.375 8	0.359 1	1.501 0	2.236 0
8	2008	Qinghai, Xining	0.603 4	0.455 1	1.314 3	2.372 8
9	2008	Qinghai, Xining	0.754 1	0.671 6	1.432 2	2.857 9
10	2008	Qinghai, Xining	0.578 0	0.385 9	0.945 4	1.909 3

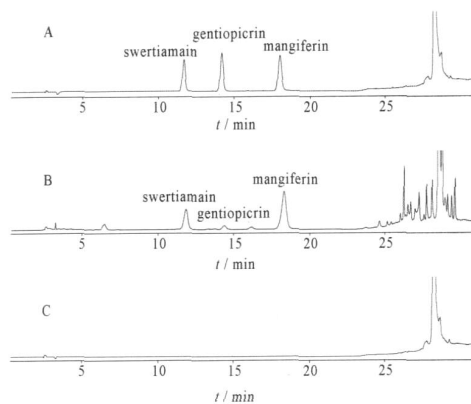


图 2 印度獐牙菜药材高效液相色谱图

A - 混合对照品; B - 印度獐牙菜药材 4号; C - 空白对照

Fig. 2 Chromatograms of *Swertia chinayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten

A - mixed reference substances; B - *Swertia chinayita* (Roxb. ex Fleming) Karsten, sample No. 4; C - blank, methanol

展开剂的选择过程中,对乙酸乙酯-乙醇-甲酸,乙酸乙酯-甲醇-甲酸,三氯甲烷-乙醇-甲酸,三氯甲烷-乙酸乙酯-乙醇-甲酸等进行了大量的实验,从獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷的分离效果,薄层色谱整体分离特征等方面考察,三氯甲烷-乙酸乙酯-乙醇-甲酸(6:5:4:1)系统的分离效果都较好,所以选择其为展开剂。

#### 4.2 含量测定条件的选择

**4.2.1 检测波长的确定** 对按照“3.2.1”配置的对照品溶液,以流动相为空白,在200~400 nm内进行DAD全波长扫描,根据扫描结果,獐牙菜苦苷在243 nm附近有最大吸收,龙胆苦苷和芒果苷在243 nm也有较大吸收,所以选择243 nm作为检测波长。

**4.2.2 流动相的优化** 对比了甲醇-水,甲醇-水-冰醋酸,乙腈-水-冰醋酸系统,选择了对印度獐牙菜中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷等指标成分有较好分离效果,分析成本较低的甲醇-水-冰醋酸流动相

系统,并通过多次实验优化,选出了“3.1”项下的流动相条件。

## 5 小结

本实验建立了藏药印度獐牙菜定性定量分析的方法,该方法简便易行,准确、可靠,能较好地反映不同产地印度獐牙菜药材的成分差异。结果表明,所收集的10批印度獐牙菜样品中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和芒果苷等3种指标成分含量差异较大,薄层色谱及含量测定结果显示,样品中獐牙菜苦苷和芒果苷含量较高。对于蒂达药材印度獐牙菜、川西獐牙菜、抱茎獐牙菜和花锚,笔者对其已做过TLC和HPLC的比较,它们之间的成分和相同成分的含量均有较大差异,其比较文章另文介绍。

## REFERENCES

- [1] Northwest Plateau Institute of Biology. *Chinese Academy of Sciences* (藏药志) [M]. Xining: Qinghai People's Publishing House, 1991: 104-117.
- [2] CANG E, BAZM D Z, LU H Q. Variety neaten of tibetan medic "Dida" [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1996, 19 (10): 494-496.
- [3] *Ch. P* (2000) Vol 1 (中国药典 2000年版·一部) [S]. 2000: Appendix 22: 25.
- [4] Pharmacopoeia Committee of People's Republic of China Ministry of Health. *Drug Standards · Tibetan Medicine* (卫生部药品标准藏药 1995年版·第一册) [S]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1995: 28.
- [5] Health Department of Qinghai Provincial. *Tibetan Medicine Standards of Qinghai* (青海卫生厅藏药标准 1992年版) [S]. Xining: Qinghai People's Publishing House, 1992: 20.
- [6] JN Y C, XIAO Y C, ZOU X Y, et al. Determination of four glycoside constituents in two kinds of swertia by HPLC [J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2007, 35 (7): 1889-1890.
- [7] LAO H L, WU Q Y, YE G M, et al. Advanced research on the pharmacology of mangiferin [J]. *Tianjin Pharm* (天津药学), 2005, 17 (2): 50-52.
- [8] LU Z W, CHEN C X, JN R M, et al. Studies on liver-protection and promoting bile secretion of gentiopicroside [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (1): 47-50.

(收稿日期: 2009-04-27)

## 关于“2010年世界药学会暨 FIP第 70届年会 征文通知

由国际药学会联合会 (FIP) 主办的 2010 年世界药学会暨 FIP 第 70 届年会将于 2010 年 8 月 28 日~9 月 2 日在葡萄牙里斯本召开, 会期 6 天。会议主题: 从分子到药物到效益最大化——药学探索之旅。大会参加者可向大会组委会递交论文摘要, 经录用后论文摘要可被刊登在大会论文摘要集上, 并参加论文壁报交流。为展示我国药学会发展水平, 参与更多的国际药学会交流合作, 中国药学会鼓励参会人员积极提交论文摘要, 发表壁报, 同时我会将给予发表壁报者一定的壁报补贴, 被录用参加口头交流的论文作者, 我会将补贴部分参会费用。摘要及壁报要求请登陆网页 <http://www.fip.org/lisbon2010> 查看, 提交截止日期为 2010 年 4 月 1 日。具体通知可从中国药学会网站 [www.cpa.org.cn](http://www.cpa.org.cn) 下载。

[本刊讯]