

藏茵陈及其提取物中齐墩果酸的含量测定

于瑞涛^{1,2}, 梅丽娟¹, 张怀刚¹, 邵 赞¹, 陶燕锋^{*1}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘 要: 采用动态微波提取技术和反相高效液相色谱方法来测定藏茵陈中齐墩果酸的含量。色谱条件: 色谱柱 Phenomenex Fusion-Rp column (250mm \times 4.6mm i d, 4 μ m); 流动相: 甲醇 - 0.2% H₃PO₄ 水溶液 (85:15, v/v); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C。标准曲线方程为 $y = 480.62x + 9.53$ ($r = 1$), 齐墩果酸对照品进样量在 0.84 ~ 5.04 μ g 范围内线性关系良好。结果表明, 齐墩果酸在藏茵陈中的含量为 0.67%, 在藏茵陈提取物中的含量为 2.64%。

关键词: 川西獐牙菜; 高效液相色谱; 齐墩果酸; 藏茵陈

川西獐牙菜 *Swertia mussotii* Franch. In Bull 龙胆科獐牙菜属植物的干燥全草, 俗称藏茵陈, 分布于青海、云南、四川、西藏等地。生于海拔 3500 ~ 3900 米的山坡、河滩地、阳坡灌丛中。全草入药; 清肝利胆, 退诸热。用于黄疸型肝炎、病毒性肝炎、血病^[1-2]。研究资料表明, 川西獐牙菜中主要含有獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷、齐墩果酸等物质^[3-4], 其中抗肝炎有效成分主要为齐墩果酸和芒果苷^[3]。本文采用动态微波提取法对藏茵陈中齐墩果酸进行提取, 采用反相高效液相色谱法对川西獐牙菜及其提取物中齐墩果酸的含量进行了测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent1200 高效液相色谱仪, 包括 G1311A 四元输液泵, G1316A 柱温箱, 度 G1329A 自动进样器, G1315A 二级管阵列 (DAD) 检测器, Agilent 1200 色谱工作站。HH-6 数显恒温水浴锅 (国华电器有限公司), MG08S-2B 微波实验仪 (南京汇研微波系统工程有限公司), N-1000D 旋转蒸发仪 (上海汇析精密仪器有限公司)。

齐墩果酸对照品 (110709-200505, 中国药品生物制品检定所)。甲醇为色谱纯, 水为电阻值

18.25 M 超纯水, 其余试剂均为分析纯。试验中所用藏茵陈 2005 年 8 月购自青海省。由中国科学院西北高原生物所梅丽娟工程师鉴定为龙胆科獐牙菜属川西獐牙菜。

1.2 色谱条件

色谱柱 Phenomenex Fusion-Rp column (250mm \times 4.6mm i d, 4 μ m); 流动相: 甲醇 - 0.2% H₃PO₄ 水溶液 (85:15, v/v); 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μ L; 检测波长: 210 nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C。

1.3 溶液的制备

精密称取齐墩果酸对照品 4.2mg 至上 10 mL 容量瓶中, 配制成浓度为 0.42mg/mL 的对照品溶液。

藏茵陈全草粉碎。分别精密称取 3.0g 各 3 份, 置平底烧瓶中, 分别精密加入甲醇 60 mL, 微波功率 390 W 回流, 提取 20 min, 趁热过滤, 定容于 100 mL 容量瓶中。摇匀, 取适量用微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 即得。

藏茵陈提取物 (6kg 藏茵陈药材置 TN-300 多功能提取罐中, 8 倍量 70% 乙醇浸泡 48h, 80 回流 3h, 共 3 次, 浓缩干燥。), 分别精密称取 0.5g 各 3 份, 甲醇溶解, 定容于 50 mL 容量瓶中。摇匀, 取适量用微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 即得。

基金项目: 科技部国家科技支撑计划 2007BAI45B00

作者简介: 于瑞涛 (1963 -), 研究员; Email: yuruitao521@163.com,

2 结果与讨论

2.1 线性关系考察

自动进样器分别精密吸取 0.42mg/mL 齐墩果酸对照品溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 12.0 μ L 自动进样, 记录峰面积与保留时间, 以齐墩果酸对照品进样量 $x(\mu\text{g})$ 为横坐标, 峰面积 y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明, 齐墩果酸对照品进样量在 0.84 ~ 5.04 μg 范围内线性关系良好, 其回归方程为: $y = 480.62x + 9.53$ ($r = 1$)。

2.2 稳定性试验

自动进样器依次对原药材及提取物供试品溶液进样, 在 3, 6, 7, 9, 12 h 后分别进样 10 μ L, 其峰面积积分值 RSD ($n = 5$) 分别为 3.0% 和 1.1%。说明供试品溶液在 12h 内是稳定的。

2.3 精密度试验

分别准确吸取同一齐墩果酸对照品溶液 10 μ L, 进样 5 次, 峰面积积分值 RSD ($n = 5$) 为 1.3%。

2.4 重复性试验

取藏茵陈原药材粉末及提取物 3 份, 分别按 3.2 项下测定方法测定, 记录峰面积积分值, RSD 分别为 1.7% 和 1.9%。

2.5 样品分析

徐敏^[5]采用尾静脉注射卡介苗 (BCG) 和脂多糖 (LPS) 复制免疫性肝损伤模型, 测定血清 ALT、AST 活性, 计算肝脏、脾脏、胸腺质量指数。结果表明, 川西獐牙菜的高、中、低剂量给药组连用 10d 可显著抑制免疫性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 活性, 并能有效防止 BCG + LPS 对小鼠各脏器的免疫性肝损伤。说明川西獐牙菜预防性给药能减轻免疫性肝损伤对小鼠肝脏的破坏, 保护肝功能。罗桂花^[6]等研究了川西獐牙菜醇提取物对 CCl_4 引起的肝损伤的保护作用。实验证实 CCl_4 可使小鼠血清 ALT 和 AST 活性明显上升, 同时肝组织 MDA 含量明显增加, 川西獐牙菜醇提取物中主要活性成分齐墩果酸、芒果甙、藏茵陈酮可显著降低小鼠血清 ALT、AST 活性和肝组织 MDA 含量, 具有明显的抗肝损伤作用。

本课题组采用动态微波的提取方法, 使用高效液相色谱法在吸收波长 210nm 测定藏茵陈中齐墩果酸的含量。实验结果表明, 藏茵陈原药材中齐墩果酸的含量为 0.67%, 藏茵陈提取物中齐墩果酸的含量为 2.64%。齐墩果酸对照品色谱图及藏茵

陈药材及提取物的色谱图如图 1 (A, B, C) 所示。本方法方便快捷, 测量准确, 重复性好, 为藏茵陈的进一步开发和利用奠定一定的理论基础。

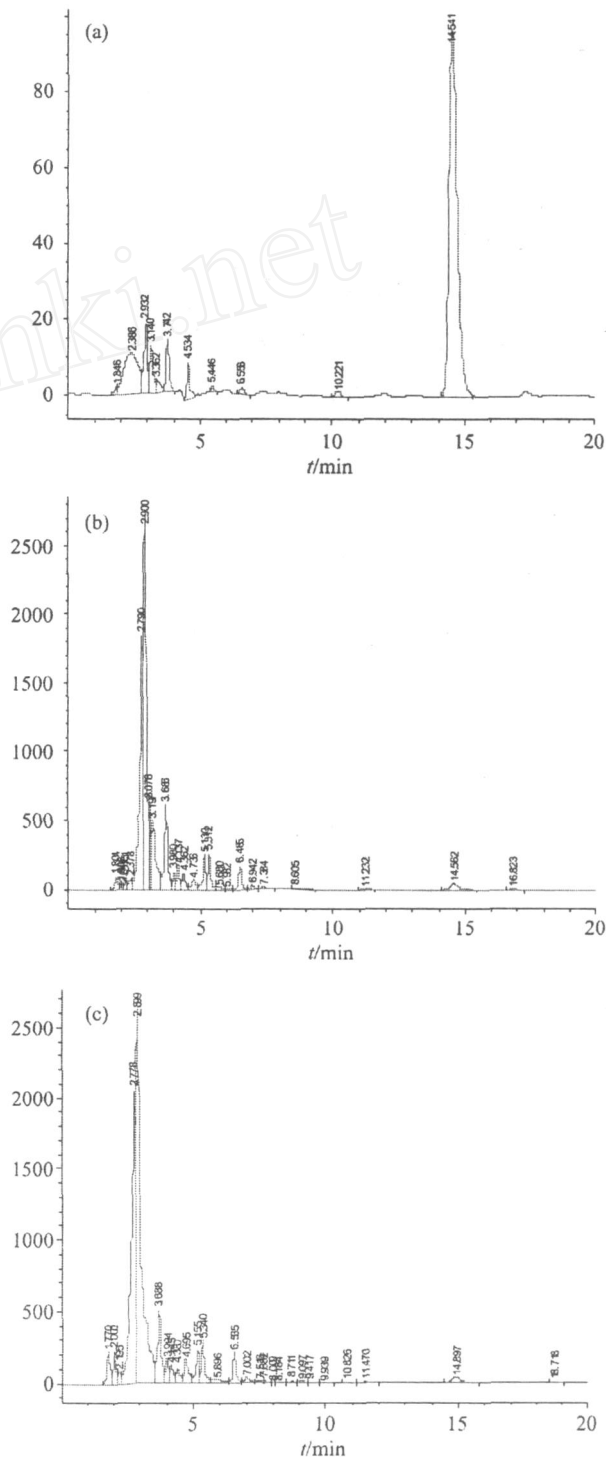


图 1 A. 齐墩果酸对照品图 B 藏茵陈色谱图
C 藏茵陈提取物色谱图

参考文献

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济植物志. 青海, 西宁: 青海人民出版社 1987. 646
- [2] 青海省卫生厅. 西宁: 青海人民出版社 1992: 5
- [3] 孙洪发, 胡柏林, 丁经业等. 植物学报. 1991, 33(1): 31
- [4] 纪兰菊, 廖志新, 孙洪发. 高原生物学集刊. 2002, 15: 243
- [5] 徐 敏. 西安交通大学学报 (医学版). 2008, 29(5): 583
- [6] 罗桂花, 赵建平, 陈海娟等. 四川中医. 2008, 26(11): 29

www.cnki.net