

青海省不同产地秦艽花中獐牙菜苷和异苾草苷含量的 HPLC 分析

张兴旺^{1,2}, 陈晨^{1,2}, 陶燕铎^{1①}, 梅丽娟¹, 邵赞¹

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

Content analysis of sweroside and isoorientin in *Gentiana straminea* flower from different locations of Qinghai Province by HPLC ZHANG Xing-wang^{1,2}, CHEN Chen^{1,2}, TAO Yan-duo^{1①}, MEI Li-juan¹, SHAO Yun¹ (1 Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; 2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2010, 19(2): 92-93

Abstract The contents of sweroside and isoorientin in *Gentiana straminea* Maxim. flower from ten locations of Qinghai Province were determined by HPLC. The results show that the content of isoorientin is higher than that of sweroside in *G. straminea* flower, and isoorientin and sweroside contents have certain differences among ten samples from ten locations. The content range of isoorientin and sweroside in ten samples is 0.563% - 0.937% and 0.346% - 0.453%, respectively. And isoorientin content in the sample from Xiangrishan and sweroside content in the sample from Xihazhen are the highest. It is suggested that sweroside and isoorientin contents in *G. straminea* flower are affected by ecological environment of locations, and isoorientin content is affected more obviously.

关键词: 秦艽花; 獐牙菜苷; 异苾草苷; 产地; 高效液相色谱

Key words: *Gentiana straminea* Maxim. flower; sweroside; isoorientin; location; HPLC

中图分类号: Q946.83 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2010)02-0092-02

秦艽花为龙胆科 (*Gentianaceae*) 植物麻花秦艽 (*Gentiana straminea* Maxim.) 的干燥花, 藏药名为“解吉嘎保”, 为常用藏药材之一, 具有清热解暑的作用, 可用于治疗胃肠炎、肝炎及胆囊炎等症^[1]。目前, 已有学者对秦艽花的化学成分进行了初步研究, 但多为对其主要活性成分龙胆苦苷开展的一些研究分析^[2-4], 对秦艽花中化学成分的研究尚不够全面和深入。獐牙菜苷是龙胆科植物的苦味成分和活性成分之一^[5], 具有退热和抗惊厥的作用^[6]; 异苾草苷为黄酮苷, 具有治疗心血管疾病的作用^[7]。秦艽根部均含有这 2 种成分, 但目前尚未见关于秦艽花中獐牙菜苷和异苾草苷的分析报道。

为此, 作者采用 HPLC 法对来源于青海省 10 个不同产地的秦艽花中獐牙菜苷和异苾草苷含量进行比较分析, 以期对秦艽花的合理利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的 10 个秦艽花样品于 2009 年 8 月采自青海省的大通、互助北山、吉尔孟乡、祁连鹿场、油葫芦沟、拉脊山、橡皮山、默勒镇、舟群乡和西海镇, 均为野生。先将新鲜秦艽花置于阴凉处自然风干, 再置于真空干燥箱中于 50℃ ~ 60℃ 条

件下处理 12 h, 冷却后粉碎并过 60 目尼龙筛, 备用。

色谱分析用甲醇为色谱纯级, 其他试剂均为分析纯级; 獐牙菜苷和异苾草苷标准品均为本实验室分离纯化的自制标准品, 经归一化法检测, 纯度均大于 98%。

1.2 方法

1.2.1 标准曲线的绘制 精密称取獐牙菜苷和异苾草苷标准品适量, 用甲醇配制成獐牙菜苷和异苾草苷质量浓度分别为 0.0625 和 0.1082 mg·mL⁻¹ 的混合标准品溶液, 并用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液即可用于 HPLC 分析。

使用 Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司生产) 进行 HPLC 分析。色谱条件: Fusion-RP 80 A C₁₈ 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)。梯度洗脱, 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为体积分数 0.2% 磷酸溶液; 洗脱程序: 0~20 min, A 18% ~ 30%; 20~30 min, A 30% ~ 40%; 30~35 min, A 40% ~ 50%。流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30℃, 检测波长 254 nm。

分别精密吸取混合标准品溶液 4、6、8、10 和 12 μL, 依次进样测定。以进样量为自变量 x , 峰面积为因变量 y 绘制标准曲线。獐牙菜苷标准品的线性回归方程为 $y = 1.073.82x + 7.398$, $r = 0.9997$, 线性范围为 0.25~0.75 μg; 异苾草苷标准品的线性回归方程为 $y = 669.028x - 8.180$, $r = 0.9996$, 线性范围为 0.432~1.296 μg。

收稿日期: 2009-11-23

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BA145B00)

作者简介: 张兴旺 (1982-), 男, 山东德州人, 硕士研究生, 主要从事天然药物化学研究。

①通信作者 E-mail: tyd@mwjib.ac.cn

1.2.2 样品溶液的制备及 HPLC 分析 参考文献 [8] 的方法进行提取。分别取样品粉末约 0.5 g 精密称定后置于 250 mL 平底烧瓶中, 加入 20 mL 甲醇, 置于 WP800SL23-2 型微波实验仪 (南京汇研微波系统工程有限公司生产) 中回流搅拌提取 20 min, 冷却至室温, 过滤, 滤液用甲醇定容至 50 mL, 摇匀后用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液即为供试样品溶液。按上述色谱条件进行 HPLC 分析, 进样量 10 μL, 重复进样 5 次, 结果取平均值。

1.2.3 方法学考察 精确吸取标准品溶液 10 μL, 按照上述色谱条件进行 HPLC 分析, 连续进样 5 次, 对精密度进行考察。獐牙菜苷和异荭草苷峰面积的 RSD 分别为 0.87% 和 1.98%, 表明仪器精密度良好。

取来自油葫芦沟的样品粉末约 0.5 g 精密称定后按照上述方法制备供试样品溶液, 并分别于 0.2、4、6、8 和 12 h 按上述色谱条件进行 HPLC 分析, 进样量 10 μL, 重复进样 5 次, 对稳定性进行考察。样品溶液中獐牙菜苷和异荭草苷峰面积的 RSD 分别为 1.55% 和 1.85%, 表明样品溶液在 12 h 内稳定。

取来自油葫芦沟的样品粉末约 0.5 g 精密称定后按照上述方法制备供试样品溶液, 并按上述色谱条件进行 HPLC 分析, 进样量 10 μL, 重复测定 5 次, 对重复性进行考察。样品溶液中獐牙菜苷和异荭草苷峰面积的 RSD 分别为 1.62% 和 1.43%, 表明本方法重复性良好。

取獐牙菜苷和异荭草苷含量已知的秦艽花 (采自油葫芦沟) 样品各 5 份, 每份约 0.5 g 精密称定后分别加入适量獐牙菜苷和异荭草苷标准品, 按上述方法制备供试溶液, 并按上述色谱条件进行 HPLC 分析。进样量 10 μL, 重复测定 5 次, 对加样回收率进行考察。供试溶液中獐牙菜苷和异荭草苷的平均回收率分别为 97.3% 和 98.6%, RSD 分别为 0.98% 和 1.41%。

2 结果和讨论

由标准品溶液及秦艽花样品溶液中獐牙菜苷和异荭草苷的 HPLC 图谱及方法学考察结果可见, 采用 HPLC 法分析测定秦艽花样品中的獐牙菜苷和异荭草苷含量, 分离效果良好, 精密度及稳定性良好, 獐牙菜苷和异荭草苷的色谱峰与其他共有峰达到基线分离, 峰形尖锐。

产自青海省 10 个不同产地的秦艽花样品中獐牙菜苷和异荭草苷的含量见表 1。由表 1 可知, 秦艽花中异荭草苷含量普遍较高, 且均高于同一产地秦艽花中獐牙菜苷的含量; 不同产地秦艽花中獐牙菜苷与异荭草苷的含量均有一定差异, 其中产地间异荭草苷含量的差异大于獐牙菜苷含量的差异。产自西海镇的秦艽花中獐牙菜苷含量最高 (0.453%), 产自油葫芦沟的秦艽花中獐牙菜苷含量最低 (0.346%)。产自橡皮山的秦艽花中异荭草苷含量最高 (0.937%), 产自大通的秦艽花中

表 1 青海省 10 个不同产地秦艽花中獐牙菜苷和异荭草苷的含量
Table 1 Contents of sweroside and isoorientin in *Gentiana stram inea* Maxim. flower from ten locations of Qinghai Province

产地 Location	含量 % Content	
	獐牙菜苷 Sweroside	异荭草苷 Isoorientin
大通 Datong	0.359	0.563
互助北山 Huzhubeishan	0.357	0.725
吉尔孟乡 Jiemengxiang	0.365	0.646
祁连鹿场 Qilianluchang	0.373	0.827
油葫芦沟 Youhulugou	0.346	0.594
拉脊山 Lajishan	0.360	0.638
橡皮山 Xiangpishan	0.363	0.937
默勒镇 Molezhen	0.433	0.834
舟群乡 Zhouqunxiang	0.367	0.692
西海镇 Xihai zhen	0.453	0.686

异荭草苷含量最低 (0.563%)。

研究结果表明, 产地对秦艽花中獐牙菜苷和异荭草苷的含量均有一定的影响, 且对异荭草苷含量的影响较大, 这种现象一方面可能与秦艽花本身的种质特性有关, 另一方面还可能与产地特殊的生态条件有关^[9]。由于青海省地域较广, 不同地区气候条件差异较大, 这可能是造成青海省不同产地秦艽花中獐牙菜苷和异荭草苷这 2 种活性成分含量存在差异的主要原因之一。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 藏药 (第一册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 39.
- [2] 祝晓飞, 屈军艳. 藏药秦艽花化学成分的提取与分离 [J]. 西藏科技, 2007 (9): 43-44.
- [3] 马 潇, 朱俊儒, 赵建邦. 甘肃产藏药秦艽花中龙胆苦苷的含量测定 [J]. 中医学报, 2008, 36 (6): 39-40.
- [4] 张 华, 李福安, 李向阳, 等. 青海道地药材秦艽花中龙胆苦苷的含量测定 [J]. 青海医学院学报, 2009, 30 (2): 130-132.
- [5] 北京医学院, 北京中医学院. 中草药成分化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1980: 344.
- [6] 宋万志. 中国龙胆科药用植物概况 [J]. 中药通报, 1986, 11 (11): 643-647.
- [7] 杨维霞, 周 乐, 耿会玲, 等. 龙胆科药用植物化学成分的研究现状 [J]. 西北植物学报, 2003, 23 (12): 2235-2240.
- [8] 张兴旺, 于瑞涛, 梅丽娟, 等. RP-HPLC 法测定青海产四种秦艽中獐牙菜苦苷的含量 [J]. 中国野生植物资源, 2009, 28 (5): 51-53.
- [9] 孙 菁, 王延花, 徐文华, 等. 小秦艽根部脂肪酸成分的主成分分析及其与生态因子的相关性 [J]. 植物资源与环境学报, 2009, 18 (2): 49-52.