

## 栽培藏药材麻花艽中四种苦苣苷类成分含量的季节性变化

孙菁<sup>1,2</sup>, 陈桂琛<sup>1\*</sup>, 李玉林<sup>1,2</sup>, 卢学峰<sup>1</sup>, 纪兰菊<sup>1</sup>, 周国英<sup>1,2</sup>

(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:** 采用高效液相色谱法, 测定了栽培藏药材麻花艽根中龙胆苦苣苷、落干酸、獐牙菜苦苣苷和獐牙菜苷四种苦苣苷类成分的含量及其在不同生长期的动态变化。结果表明, 四种苦苣苷类成分随植物的发育节律而波动。龙胆苦苣苷的含量是评价药材质量的重要指标。龙胆苦苣苷的含量虽然在 7 月有个积累的高峰期, 但 7 月为花期, 从资源可持续利用的角度考虑, 不宜定为采收期, 到 9 月含量又有所增加, 故而确定栽培藏药麻花艽根的适宜采收期应在 9~10 月之间。

**关键词:** 龙胆科; 麻花艽; 龙胆苦苣苷; 落干酸; 獐牙菜苦苣苷; 獐牙菜苷; 季节变化; 高效液相色谱法

**中图分类号:** Q946.83

**文献标识码:** A

## Determination and Seasonal Variation of Four Iridoid Glycosides in *Gentiana straminea* Cultivated

SUN Jing<sup>1,2</sup>, CHEN Gui-chen<sup>1\*</sup>, LI Yu-lin<sup>1,2</sup>, LU Xue-feng<sup>1</sup>, JI Lan-ju<sup>1</sup>, ZHOU Guo-ying<sup>1,2</sup>

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** Seasonal variation of contents of four iridoids in *Gentiana straminea* cultivated were determined using a high performance liquid chromatography equipped with a DVD ultraviolet detector at 240 nm and a Phenomenex kromasil Eclipse XDB-C8 column (4.6 mm ×150 mm, 5 μm). Four iridoids showed a variation along the development rhythm. According to the contents of gentiopicroside, roots of *Gentiana straminea* should be harvested during September and October.

**Key words:** Gentianaceae; *Gentiana straminea*; gentiopicroside; loganic acid; swertiamarin; sweroside; seasonal variation; HPLC

麻花艽 (*Gentiana straminea* Maxim.) 为龙胆科 (Gentianaceae) 龙胆属多年生植物, 是藏族民间常用的解吉类草药之一<sup>[1]</sup>, 主要分布于青藏高原上, 海拔 2000~4950 m<sup>[2]</sup>。其以根入药, 须根多数, 扭结成一个粗大、圆锥形的根, 为上品藏药; 根味苦、辛, 性平。有祛风湿、退虚热、舒筋止痛的功能。用于风湿关节痛、筋脉拘挛、结核病潮热、小儿疳积发热、黄疸、小便不利等症<sup>[3]</sup>。研究证明, 其根中的有效成分主要为苦苣苷类成分<sup>[4,5]</sup>, 如龙胆苦苣苷等。由于近年来用药量的增大, 加之多年的过度采挖, 造成了野生麻花艽资源面临濒危的现状。为此, 我们进行了大量人工引种栽培实验 (实验结果另文发表), 以期确保和扩大麻花艽资源的可持续利用, 为其合理利用和采收提供一定参考。本实验采用 HPLC 法测定了栽培麻花艽中尚未有报道的四种主要苦苣苷类成分: 龙胆

苦苣苷 (gentiopicroside)、落干酸 (loganic acid)、獐牙菜苦苣苷 (swertiamarin)、獐牙菜苷 (sweroside) 的含量; 并研究了其季节动态积累过程。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂、材料

**仪器:** Agilent1100 型高效液相色谱仪 (Agilent 公司), 四元梯度泵, 在线真空脱气机, DAD 检测器, 100 位自动进样器, KQ-200B 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), Milli-Q 超纯水系统 (美国 Millipore 公司)。HPLC 级色谱纯乙腈购自德国 Merck 公司; 分析纯甲醇购自山东莱阳化工厂。

龙胆苦苣苷、獐牙菜苦苣苷对照品购自中国药品生物制品鉴定所 (批号分别为 110770-200308、110785-200203), 落干酸、獐牙菜苷由中国科学院西北高原生物研究所李玉林副研究员提供 (经归一法测定, 纯度大于 98%)。

2 年生栽培麻花艽材料 (根部) 采自西宁地区栽

收稿日期: 2005-06-29 接受日期: 2005-08-17

基金项目: 国家中西部专项资助项目 (2001BA901A47); 中国科学院知识创新工程领域前沿项目 (CXLY-2002-08)

\* 通讯作者 Tel: 86-971-6143900; E-mail: gcchen@nwipb.ac.cn.

培养基,时间从2004年4月中下旬植物开始萌动发芽开始,至10月上旬植物地上部分基本枯萎,每月一次,共7个样品,基本包括了麻花苳整个生长期。

## 1.2 方法与结果

### 1.2.1 对照品的制备

分别精密称取龙胆苦苳、落干酸、獐牙菜苦苳和獐牙菜苳对照品,用甲醇溶解后配成龙胆苦苳 1.9 mg/mL、落干酸 0.8 mg/mL、獐牙菜苦苳 1.2 mg/mL、獐牙菜苳 0.2 mg/mL 的混合对照品溶液。

### 1.2.2 样品的制备

将麻花苳样品根部研成细粉,精密称取 0.2 g,置 50 mL 三角瓶中,加甲醇 25 mL,置于 80 °C 水浴锅上回流提取 2 h;放冷至室温后过滤,滤液置于 25 mL 容量瓶中,用甲醇定容,摇匀。

### 1.2.3 色谱条件

色谱柱:Eclipse XDB-C8 色谱柱(4.6 ×150 mm 5 μm)。流动相 A:5%乙腈(含 10 mg/mL 的甲酸)水溶液,B:95%的乙腈水溶液。流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μL,检测波长为 240 nm,柱温 30 °C。梯度洗脱程序:流动相 B 和 A 在 0~20 min 内由 0:100 至 100:0 线性梯度洗脱。该色谱条件下落干酸、獐牙菜苦苳、龙胆苦苳、獐牙菜苳 4 种成分均被洗脱并达到基线分离(见图 1)。

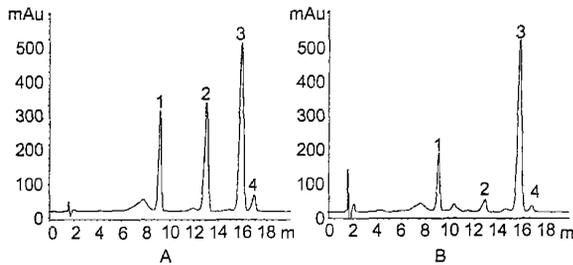


图 1 对照品(A)及样品(B)9月份的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of standards (A) and samples (B) in September 2004

A,B 中 1~4 分别为落干酸、獐牙菜苦苳、龙胆苦苳和獐牙菜苳

1~4 refer to loganic acid, swertiamarin, gentiopicroside and sweroside, respectively

### 1.2.4 线性关系的考察

依据所待测样品的含量范围,将对照品混合溶液逐级稀释 1 倍,每次进样 10 μL,按照上述色谱条件测定四种成分各自的峰面积,以峰面积积分为纵坐标,进样量为横坐标绘制标准曲线,得到龙胆苦苳的回归方程为  $Y = 6015.91X + 106.47$ ,  $R = 0.9999$ ;落干酸为  $Y = 6383.99X + 40.12$ ,  $R = 0.9999$ ;獐牙菜苦苳为

$Y = 6058.47X + 55.73$ ,  $R = 0.9999$ ;獐牙菜苳的为  $Y = 6535.95X + 10.82$ ,  $R = 0.9999$ 。

### 1.2.5 精密度试验

精密吸取上述对照品溶液,进样 10 μL,在选定的色谱条件下进样,重复 5 次,进行精密度实验,得龙胆苦苳峰面积的 RSD 为 0.96%,落干酸为 1.99%,獐牙菜苦苳为 2.19%,獐牙菜苳为 2.00%。

### 1.2.6 重复性试验

精密称定同一批样品,按照供试品溶液制备方法,进行重复性实验,每次进样 10 μL,重复 5 次,测定后结果为龙胆苦苳 RSD 为 0.22%,落干酸为 0.88%,獐牙菜苦苳为 0.80%,獐牙菜苳为 3.46%。

### 1.2.7 加样回收率度验

取已知含量的药材适量,加入一定量的对照品混合溶液,按照样品处理方法制备并进样 10 μL,计算各对照品的加样回收率,得到龙胆苦苳、落干酸、獐牙菜苦苳和獐牙菜苳的回收率分别为 100.22%、99.45%、97.32%、99.31%。

### 1.2.8 样品的测定

吸取供试样品 10 μL,分别进样 3 次,用外标法计算四种苦苳类成分的含量(表 1、图 2)。

表 1 栽培麻花苳样品含量季节动态

Table 1 Seasonal variation of contents in *Gentiana straminea* cultivated

生长期 Growth Stage	含量 Contents (%)				总量 Total content
	龙胆苦苳 Gentiopicroside	落干酸 Loganic acid	獐牙菜苦苳 Swertiamarin	獐牙菜苳 Sweroside	
4月30日	6.140 ± 0.007	0.823 ± 0.008	0.453 ± 0.004	0.123 ± 0.006	7.538 ± 0.008
5月28日	7.191 ± 0.004	1.235 ± 0.004	0.559 ± 0.003	0.441 ± 0.006	9.425 ± 0.010
6月30日	6.978 ± 0.004	1.224 ± 0.003	0.653 ± 0.003	0.143 ± 0.003	8.998 ± 0.009
7月29日	7.655 ± 0.003	1.168 ± 0.004	0.388 ± 0.004	0.257 ± 0.003	9.467 ± 0.012
8月30日	5.704 ± 0.005	1.385 ± 0.004	0.505 ± 0.005	0.228 ± 0.003	7.822 ± 0.008
9月24日	6.456 ± 0.017	1.351 ± 0.009	0.456 ± 0.010	0.114 ± 0.007	8.378 ± 0.032
10月31日	5.643 ± 0.005	1.516 ± 0.003	0.404 ± 0.005	0.167 ± 0.003	7.730 ± 0.006

注:表中数值取自平均值与标准误(n=3)

Note: Values are means ±SEM (n=3)

## 2 讨论

自表 1、图 2 中可以看出,7 个不同生长期四种苦苳类成分变化各有差异。龙胆苦苳的含量远远高于落干酸、獐牙菜苦苳与獐牙菜苳,使得其与四种成

分总和的变化趋势一致,即最高含量出现在7月,到9月含量有所增加,较低含量在10月。落干酸的含量在整个生长期内基本呈上升趋势,即4月含量最低,到10月基本达到7个时期内的最高值。獐牙菜苦苳与獐牙菜苳的变化趋势比较相似,在5、6月份呈现较高的含量后,此前、此后一直处于较低水平。

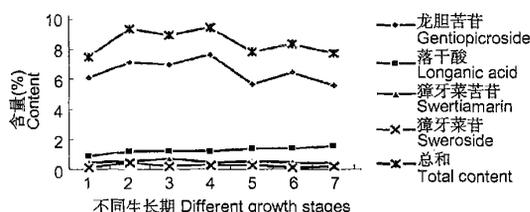


图2 栽培麻花苳4种苦苳类成分季节动态

Fig.2 Seasonal variation of four glycosides total contents in *Gentiana straminea* cultivated

注:1~7分别代表取样时间为4月30日、5月28日、6月30日、7月29日、8月30日、9月24日、10月31日

2005版《中国药典》中规定,秦苳类植物中龙胆苦苳含量不低于2%,从本实验的结果来看,栽培麻花苳中龙胆苦苳的含量已经超过了2%,7个时期的平均值为6.538%,已经达到用药的要求,为麻花苳药材的人工引种栽培提供了初步的科学依据。

四类苦苳类成分中,龙胆苦苳含量较其他三种都高很多,因此确定栽培麻花苳根部的最佳采收期主要依据龙胆苦苳的含量;此外,还应考虑资源的可持续利用,7月一般是植物形成花芽、花苞的时间,在此时期采收不利于该物种的生息繁衍;7~9月之间,龙胆苦苳的含量经历了一个高一低一高的变化过程,消耗掉一部分代谢能。同时,此间植物开始开花甚至结实。有研究报道表明<sup>[6]</sup>,植物化学成分的这种变化很可能是在7月,即花蕾期,产生较多的化学物质,等到8月开花结实时,作为植物用来传粉、繁衍后代或其他生物特性的能量;一旦主要的开花结实期结束,植物体内化学成分的含量会有所增加。有关青藏高原上另一种重要藏药川西獐牙菜的研

究<sup>[7]</sup>与本实验有相似的结果,其8月份各成分含量较低,其中芒果苳7月较高,其他5种成分均在9月左右较高。因此,综合以上因素,我们认为栽培麻花苳的最佳采收期应在9月至10月之间。对于此间四种成分之间随季节变化的此消彼长,还有待进一步的研究工作。

本实验所选用的高效液相色谱法与紫外检测器联用的方法,对于不同生长期栽培麻花苳苦苳类成分含量测定,精密度高,重复性好,方法简便、快捷,可为栽培麻花苳的药用及开发提供参考依据。

#### 参考文献

- 1 Yang YC (杨永昌). Tibetan Medicines (藏药志). Qinghai: Qinghai People Press, 1991. 9-10.
- 2 He TN (何廷农) (Editor). Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志). Tomus 62. Beijing: Science Press, 1988. 62-63.
- 3 Xiao PG (肖培根). Modern Chinese Materia Medica (新编中药志), Volume 1. Beijing: Chemistry Industry Press, 2002. 751-760.
- 4 Ji LJ (纪兰菊), Sun HF (孙洪发), Ding JY (丁经业), et al. Study on chemical compositions of four *Gentiana* plants from Qinghai-Xizang Plateau. *Acta Biolo Plateau Sinica* (高原生物学集刊), 1992, 11: 113-118.
- 5 Ji LJ (纪兰菊), Liao ZX (廖志新), Sun HF (孙洪发). A survey of *Gentiana* plants of the Tibetan traditional herb medicines. *Acta Biolo Plateau Sinica* (高原生物学集刊), 2002, 15: 243-250.
- 6 Pala-Paul J, Perez-Alonso MJ, Velasco-Negueruela A, et al. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *Rosmarinifolia*. *Biochem Systematics and Ecology*, 2001, 29: 663-672.
- 7 Ma YH (马玉花), Ji LJ (纪兰菊), Ji WH (吉文鹤), et al. Determination dynamic accumulation of six species medicinal bioactive components of *Swertia mussotii* Franch. in different growth period. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2005, 25: 393-396.