

不同生长季节下藏药麻花秦艽活性成分含量研究*

孙 菁^{1,2}, 李玉林^{1,2}, 纪兰菊¹, 马玉花¹, 徐文华^{1,2}, 陈桂琛^{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 100039)

摘要: 采用高效液相色谱法测定了野生与栽培藏药麻花秦艽 (*Gentiana straminea*) 根中龙胆苦苷、落干酸、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷四种环烯醚萜苷类化学成分的含量及其在不同生长季节的变化趋势。结果表明, 4种环烯醚萜苷类成分的含量随植物的生长季节而波动, 其活性成分含量在野生种与栽培种之间发生了一定的差异。但是, 栽培根中的龙胆苦甙已达到药典的标准, 可供药用。

关键词: 藏药; 麻花秦艽; 龙胆苦苷; 落干酸; 獐牙菜苦苷; 獐牙菜苷; 高效液相色谱法

中图分类号: Q 946

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700(2006)02-219-04

HPLC Determination of Contents of Four Active Constituents in Tibetan Medicine *Gentiana straminea* (Gentianaceae) During Different Growing Period

SUN Jing^{1,2}, LI Yu-Lin^{1,2}, JI Lan-Ju¹, MA Yu-Hua¹, XU Wen-Hua^{1,2}, CHEN Gui-Chen^{1**}

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

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

Abstract: Contents of four iridoid glycosides viz. gentiopicroside, loganic acid, swertiamarin and sweroside of wild and cultivated *Gentiana straminea* roots gathered in different seasons were analyzed by means of HPLC determination. The results indicated that contents of the four iridoid glycosides varied greatly with different seasons between wild and cultivated *Gentiana straminea*. And according to the criterion of pharmacopoeia of China, after cultivation content of gentiopicroside in *Gentiana straminea* root had accorded with the regulation and can preliminarily replaced the wild species to use as a plant medicine. The mechanism causing the content changes of the four iridoid glycosides may be due to the integrated effects of many factors, such as the ecological factors, the genetic factors.

Key words: Tibetan medicine; *Gentiana straminea*; Gentiopicroside; Loganic acid; Swertiamarin; Sweroside; HPLC

麻花秦艽 (*Gentiana straminea* Maxim.) 为龙胆科 (Gentianaceae) 龙胆属多年生草本植物, 在我国主要分布于青藏高原上, 海拔范围 2 000~4 950 m (何廷农, 1988)。其以根入药, 也是藏族民间常用植物草药之一, 性味苦、平, 具有散风祛湿、清热利胆、舒筋止痛等功效 (杨永昌, 1991)。根中活性成分主要为环烯醚萜苷类 (纪兰菊等, 1992, 2002), 我们测定了野生与栽

培麻花秦艽中 4 种环烯醚萜苷类活性成分, 并比较研究了它们在不同生长期的动态积累变化。

1 材料与方法

1.1 材料

野生麻花秦艽 (*Gentiana straminea*) (根部) 采自四川若尔盖草原 (33°36'N, 102°56'E), 海拔 3 600 m。栽培麻花秦艽 (根部) 3 年生, 采自西宁地区栽培基地 (36°37'

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

** 通讯联系人 Author for correspondence. E-mail: gchchen@mail.nwipb.ac.cn, Tel: 0971-6143523

收稿日期: 2005-07-11, 2005-09-13 接受发表

作者简介: 孙菁 (1976-) 女, 在读博士, 主要从事青藏高原及其毗邻地区药用植物资源学的研究。

N, 101 96 E), 海拔 2 300 m。采样时间均为 2004 年 4 月底至 10 月底, 每月一次, 共 7 个样品。样品阴干后, 粉碎, 过 80 目筛, 冷冻保藏。

1.2 仪器与试剂

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、甲酸购自山东莱阳化工厂。

龙胆苦苷、獐牙菜苦苷对照品购自中国药品生物制

品检定所 (批号为 110770-200308、110785-200203), 落干酸、獐牙菜苦苷对照品为中国科学院西北高原生物研究所李玉林副研究员所赠 (经归一法测定, 纯度达到 98%)。

1.3 色谱条件

色谱柱: Eclipse XDB-C₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)。流动相 A: 5% 乙腈 (含 0.01 mol/L 甲酸) 水溶液, 流动相 B: 95% 乙腈水溶液。流速 1.0 ml/min, 进样量 10 μl, 检测波长 240 nm, 柱温 30。梯度洗脱程序为: 0~20 min, 流动相 A 为 100%~0%。该色谱条件下对照品及样品的 HPLC 色谱分离图 (9 月) 见图 1。

1.4 溶液的制备

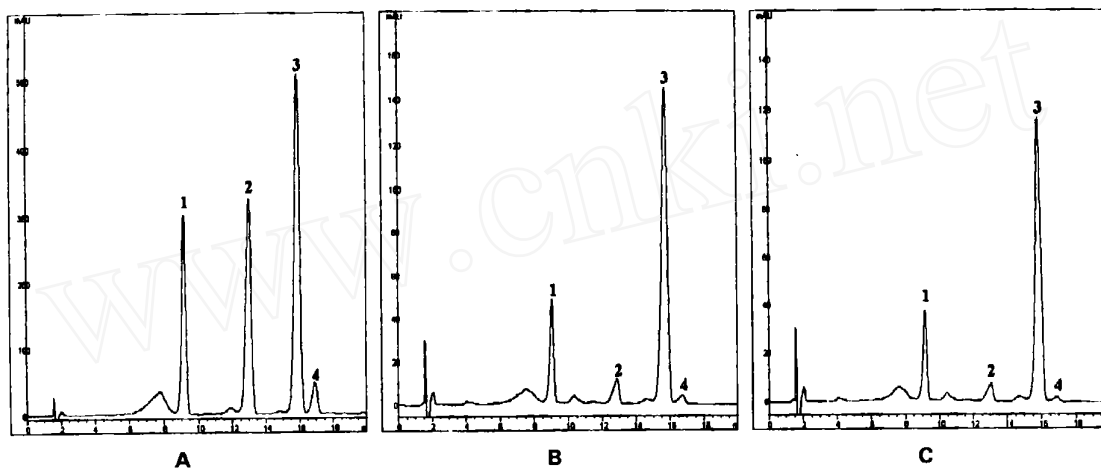


图 1 对照品 (A)、野生样品 (B) 和栽培样品 (C) 9 月份的色谱图

1、2、3、4 分别代表落干酸、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和獐牙菜苷

Fig. 1 HPLC chromatogram of standards (A), wild sample (B) and cultivated sample (C) in September 2004

1, 2, 3, 4 refers to loganic acid, swertiamarin, gentiopicoside and sweroside, respectively

对照品溶液的制备: 分别精密称取龙胆苦苷、落干酸、獐牙菜苦苷、獐牙菜苦苷对照品, 用甲醇溶解配成龙胆苦苷 1.92 mg/ml、落干酸 0.77 mg/ml、獐牙菜苦苷 1.20 mg/ml、獐牙菜苦苷 0.17 mg/ml 的混合对照品溶液。供试品溶液的制备: 精密称取样品 0.2 g, 置 50 ml 三角瓶中, 加甲醇 20 ml, 于 80 水浴锅上回流 2 h; 过滤, 滤液置于 25 ml 容量瓶中, 放冷至室温后, 用甲醇定容, 摇匀。

1.5 线性关系

取混合对照品溶液, 逐级稀释 1 倍, 按照上述色谱条件测定 4 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, 得到龙胆苦苷的回归方程为 $Y=6015.91X+106.47$, $r=0.9999$; 落干酸为 $Y=6383.99X+40.12$, $r=0.9999$; 獐牙菜苦苷为 $Y=6058.47X+55.73$, $r=0.9999$; 獐牙菜苦苷为 $Y=6535.95X+10.82$, $r=0.9999$ 。

1.6 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液, 进样 10 μl, 重复 5 次, 进

行精密度实验, 得龙胆苦苷峰面积的 RSD 为 1.13%, 落干酸为 1.53%, 獐牙菜苦苷为 1.81%, 獐牙菜苦苷为 2.17%。

1.7 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, 得到 5 份供试品溶液, 测定结果为龙胆苦苷 RSD 为 0.21%, 落干酸为 1.19%, 獐牙菜苦苷为 1.25%, 獐牙菜苦苷为 3.65%。

1.8 加样回收率试验

取已知含量的药材适量, 加入一定量的对照品混合溶液, 按照上述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, 得到龙胆苦苷、落干酸、獐牙菜苦苷、獐牙菜苦苷的回收率分别为 99.67%、98.40%、96.35%、99.34%。

1.9 样品含量测定

取上述制备好的样品溶液, 进样 10 μl, 共 5 次, 得到龙胆苦苷、落干酸、獐牙菜苦苷、獐牙菜苦苷的峰面积积分值, 计算含量, 如图 2 所示。

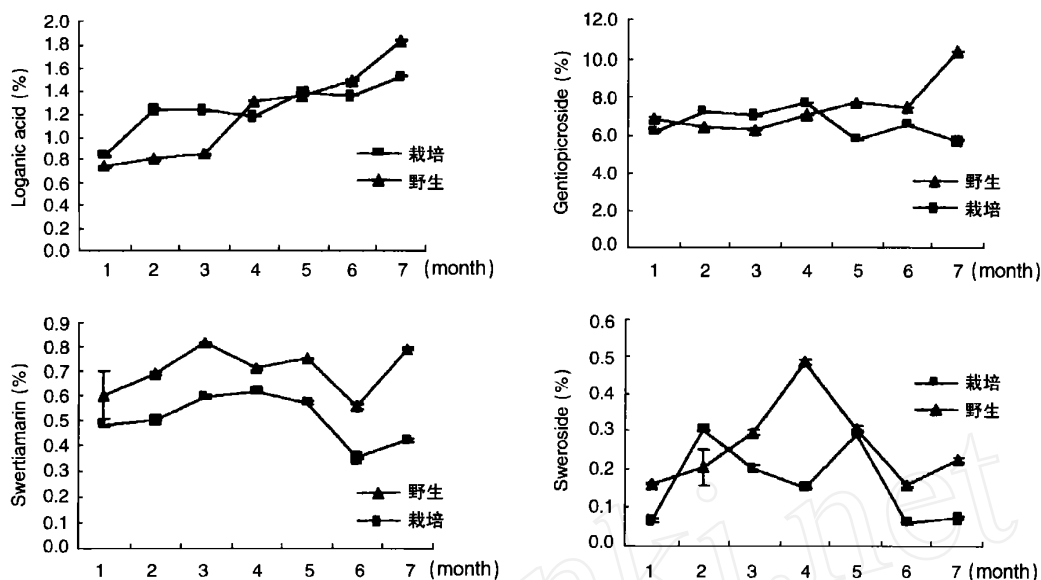


图2 野生与栽培麻花秦艽中4种环烯醚萜苷类成分含量的动态变化

Fig. 2 Seasonal variation of contents of four iridoid glycosides between wild and cultivated *Gentiana straminea*

The abscissa in the graph indicates the sampling date and 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 refers to 30 April, 30 May, 30 June, 29 July, 30 August, 30 September, and 31 October, respectively

2 结果与讨论

图2表明了从4月植物开始返青直到10月植物地上部分枯萎, 麻花秦艽中4种环烯醚萜苷类化学成分含量的季节变化。野生麻花秦艽中龙胆苦苷最高含量出现在10月; 栽培麻花秦艽中其含量则于7月达最高。落干酸含量在野生与栽培种中变化趋势基本一致, 整个生长发育期内都是增加的, 即4月最低, 10月最高。野生种中獐牙菜苦苷的最低含量在9月, 最高含量在6月; 而栽培种中最高含量在7月。獐牙菜苷含量的变化差异比较大, 8月之前野生与栽培种的含量累积几乎相反。可以看出, 麻花秦艽经过人工引种栽培之后, 4种环烯醚萜苷类成分中落干酸的季节动态积累基本没有发生变化, 其它3种在整个生长期内的季节变化有一定的差异。上述现象产生的原因可能主要是由两类因素造成的, 一是该物种所处的生态环境, 二是其内在的遗传机制。生态环境是化学物质形成和变异的重要因素, 药用植物中有效成分的形成和积累与其生态环境息息相关(陶曙红和吴凤镗, 2003)。土壤也是影响药用植物有效成分含量的重要因子之一。此外, 药用植物有效成分的含量也与植物的

基因型有关, 其内在的遗传变异可能也是造成有效成分含量发生变化的因素之一。因此, 造成上述4种环烯醚萜苷类成分季节动态变化的原因是多方面的, 在进行人工引种栽培实验的时候, 要综合考虑各种因素对药用植物有效成分的影响, 才能保证种植药材的品质及疗效等。4种环烯醚萜苷类化学成分的季节动态变化及其机理尚有待于进一步研究。

据2000版药典规定(中华人民共和国药典, 2000), 麻花秦艽中龙胆苦苷的含量不低于2%。研究表明, 经过栽培后, 龙胆苦苷的含量基本相对稳定, 达到药典的标准, 为栽培种初步代替野生种入药提供了科学依据。

【参 考 文 献】

- 国家药典委员会, 2000. 中华人民共和国药典: 一部 [Z]. 北京: 人民出版社, 222
- Ho TN (何廷农) (editor), 1988. Flora Reipublicae Popularis Sincae (中国植物志) [M]. Tomus 62. Beijing: Science Press, 62—63
- Yang YC (杨永昌), 1991. Tibetan Medicines (藏药志) [M]. Qinghai: Qinghai People Press, 9—10
- Ji LJ (纪兰菊), Sun HF (孙洪发), Ding JY (丁经业), et al., 1992. Study on chemical compositions of four *Gentiana* plants from

- Qinghai-Xizang Plateau [J]. *Acta Biological Plateau Sinica* (高原生物学集刊), **11**: 113—118
- Ji LJ (纪兰菊), Liao ZX (廖志新), Sun HF (孙洪发), 2002. A survey of *Gentiana* plants of the Tibetan traditional herb medicines [J]. *Acta Biological Plateau Sinica* (高原生物学集刊), **15**: 243—250
- Tao SH (陶曙红), Wu FE (吴凤镔), 2003. Effect of ecological environment on active constituents of medicinal plants [J]. *Natural Product Research and Development* (天然产物研究与开发), **15** (2): 174—177

* * * * *

〔上接 207 页〕

7. Jon Van Gerpen, 2005. Biodiesel processing and production. *Fuel Processing Technology*, **86** (10): 1097 - 1107
8. Magán Lapuerta *et al.*, 2005. Diesel emissions from biofuels derived from Spanish potential vegetable oils. *Fuel*, **84** (6): 773 - 780
9. Matti Parikka, 2004. Global biomass fuel resources. *Biomass and Bioenergy*, **27** (6): 613 - 620
10. Lal R, 2005. World crop residues production and implications of its use as a biofuel. *Environment International*, **31** (4): 575 - 584
11. McLaughlin SB, Kszos LA, 2005. Development of switchgrass (*Panicum virgatum*) as a bioenergy feedstock in the United States. *Biomass and Bioenergy*, **28** (6): 515 - 535
12. Seungdo Kim, Bruce E. Dale, 2005. Life cycle assessment of various cropping systems utilized for producing biofuels: Bioethanol and biodiesel. *Biomass and Bioenergy*, **29** (6): 426 - 439
13. Vilas Ghadge S, Raheman H, 2005. Biodiesel production from mahua (*Madhuca indica*) oil having high free fatty acids. *Biomass and Bioenergy*, **28** (6): 601 - 605
14. 丁向阳, 2004. 能源植物的兴起与发展前景. 河南林业科技. **24** (4): 38 - 40
15. 费世民, 张旭东等, 2005. 国内外能源植物资源及其开发利用现状. 四川林业科技. **26** (3): 20 - 26
16. 蒋剑春, 2002. 生物质能源应用研究现状与发展前景. 林产化学与工业. **22** (2): 75 - 80
17. 李昌珠, 蒋丽娟, 李培旺等, 2005. 野生木本植物油——光皮树油制取生物柴油的研究. 生物加工过程. **3** (1): 42 - 44
18. 李玉芹, 曾虹燕, 2005. 生物柴油生产应用现状. 四川化工. **4**: 23 - 27
19. 李忠仁, 2003. 生物能源的开发和利用. 延边大学农学学报. **25** (3): 225 - 227
20. 刘立华, 2002. 生物质能源的开发利用与前景. 唐山师范学院学报. **24** (2): 36 - 38
21. 田春龙, 郭斌, 刘春潮, 2005. 能源植物研究现状和展望. 生物加工过程. **3** (1): 14 - 19
22. 万泉, 2005. 能源植物的开发和利用. 福建林业科技. **32** (2): 1 - 5
23. 吴强华, 2005. 生物质能源的利用潜力与前景——香山科学会议第 256 次学术讨论会综述. 中国高校科技与产业化. **9**: 35 - 37
24. 王涛, 2005. 中国主要生物质燃料木本能源植物资源概况与展望. 科技导报. **23** (5): 12 - 14

相关网站:

1. 中国新能源网: <http://www.newenergy.org.cn/index.htm>
2. 中国能源网: <http://www.china5e.com/>
3. 中国可再生资源信息网: <http://www.crein.org.cn/>
4. The Western Regional Biomass Energy Program (美国西部地区生物质能计划) <http://www.westbioenergy.org/>
5. The Short-Rotation Woody Crops Program (美国木质作物短期轮作计划) <http://www.esf.edu/willow/>
6. Bioenergy Australia (澳大利亚生物能) <http://www.bioenergyaustralia.org/>
7. Northeast Regional Biomass Program: <http://www.nrbp.org/whowere.htm>
8. The U. S. Department of Energy (DOE) Biomass Program (美国能源部的生物能计划) <http://www1.eere.energy.gov/biomass/>
9. Bioenergy Feedstock Information Network (BFIN) (生物能原料信息系统) <http://bioenergy.ornl.gov/>
10. Canadian renewable fuels association: <http://www.greenfuels.org/>
11. European Biomass Association: <http://www.ecop.ucl.ac.be/aebiom/>
12. Biodiesel resources on the Web: http://journeytoforever.org/biodiesel_link.html
13. Ethanol resources on the Web: http://journeytoforever.org/ethanol_link.html#ethylester
14. Online Biofuels Library: http://journeytoforever.org/biofuel_library.html