

药方的时候都直接写成粉葛;另外,可供大量开发利用的野生葛根资源有限,同时又可能造成对生态环境的破坏。因此,对粉葛进行多倍体育种是有必要的。通过染色体加倍后得的多倍体植株往往根、茎、叶变大,即表现为产量增加,同时往往表现出有效化学成分明显高于二倍体的基因调控的正选择结果,还可能产生新的物质。如四倍体的曼陀罗和月见草的药效都比二倍体好。并且葛根主要药用部分是根部,主要通过营养繁殖繁殖,多倍化所带来的育性下降、不能结实等负效应并不会影响其利用,通过多倍体育种可望筛选出产量高、药效好的葛根新品种。本实验所得到的四倍体的有效成分含量还有待测定。

References:

[1] Zheng S Q, Zeng M. Resources investigation of medicinal

plants of *Pueraria* DC. in Yunnan Province [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(8): 755-756.

[2] Yu S H, Li L. Tissue culture of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi and plantlet regeneration [J]. *J Plant Res Environment* (植物资源与环境), 1999, 8(1): 63-64.

[3] Shi H P. Plantlet regeneration from the petiole and stem of *Pueraria phaseoloides* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(7): 550-553.

[4] Hughes M K, Hughes A L. Evolution of duplicate genes in a tetraploid animal *Xenopus laevis* [J]. *Mol Biol Evol*, 1993, 10: 1360-1369.

[5] An L J, Li F X, Zhang J M, et al. Study on tissue cultures of legume plants [J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 1992, 34(10): 743-752.

[6] Li M X, Chen R Y. *Chromosomes of Crops and Research* (作物染色体及其研究) [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1992.

[7] Guo Z P, Jin Q B. *Crop Breeding* (作物育种学) [M]. Beijing: Higher Education Press, 1987.

## 9 种“藏茵陈”原植物中的 7 种有效化学成分研究

杨慧玲<sup>1,2</sup>, 刘建全<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所 青藏高原生物进化与适应开放实验室, 青海 西宁 810001;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:**目的 研究藏药市场上 9 种“藏茵陈”植物中有效化学成分, 根据所含成分的差异及其生理活性, 确定这些植物的药用价值。方法 采用 HPLC 法测定 7 种成分的量。结果 9 种植物的有效成分差异很大。结论 针对不同的化学成分用途, 选择不同的植物, 有效利用资源。

**关键词:** 藏茵陈; 成分; HPLC

中图分类号: R 282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)08-1233-05

## Seven constituents in nine species used as Tibetan medicine “Zangyinchen”

YANG Hui-ling<sup>1,2</sup>, LIU Jian-quan<sup>1</sup>

(1. Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Biological Evolution and Adaptation, Northwest Institute of Plateau

Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2. Graduate School of Chinese

Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Key words:** Zangyinchen; active constituents; HPLC

“藏茵陈”的原植物是龙胆科川西獐牙菜 *Sweretia mussotii* Franch.<sup>[1]</sup>, 在藏药中用途较广, 用于治疗肝炎、胆结石、消炎、清热、抗病毒和细菌引起的各种疾病等<sup>[2,3]</sup>。从“藏茵陈”类植物中分离出的化学物质主要有齐墩果酸、獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素和各种黄酮类物质<sup>[1]</sup>。齐墩果酸被证明在治疗多种肝中毒具有显著作用<sup>[3]</sup>, 还发现其通过降低毒性代

谢产物来保护急性肝损伤, 提高葡萄糖酶增加解毒作用, 是“藏茵陈”治疗肝炎的主要活性成分<sup>[4]</sup>。獐牙菜苦苷经检验主要具有清热、消炎等生理作用<sup>[5-8]</sup>。当药黄素虽然具有保肝作用, 但最重要的是其对 CCl<sub>4</sub> 引起的转氨酶升高有降低作用<sup>[3,8,9]</sup>。芒果苷主要具有抗氧化<sup>[9,10]</sup>、抗结核<sup>[11]</sup>和抗菌作用<sup>[12,13]</sup>。黄酮 1, 8-二羟基-3, 5-二甲氧基黄酮、1, 5, 8-三羟基-

收稿日期: 2004-10-12

基金项目: 归国留学人员重点科研项目; 中国科学院知识创新工程方向性项目 (KSCX-SW-106); 中国科学院“西部之光”人才培养计划和全国优秀博士论文专项基金资助

\* 通讯作者 刘建全 Email: ljdx@public.xn.qh.cn



3-甲氧基黄酮及1,8-二羟基-3,7-二甲氧基黄酮和上述化合物有相似的生理作用;各种黄酮的总提取物经常一起来治疗上述疾病<sup>[14-16]</sup>。但这些成分是否在使用的每一种“藏茵陈”植物种类中都存在,或者量相当,仍然不清楚。本实验主要比较这些化学成分在各植物种类中是否存在及其量;为治疗疾病和开发新药时根据活性成分的有无和量的多少来选择有关特定种类提供科学依据。

## 1 仪器和实验材料

1.1 仪器: Waters 高效液相色谱仪系列, Waters 600E 液相色谱仪, Waters 486 紫外检测器, Waters 746 数据处理系统, Millipore 溶剂过滤系统。

1.2 试剂: 对照品(均来自中国药品生物制品检定所), 实验用水为纯净水(杭州娃哈哈集团公司), 甲醇(色谱纯), 其他试剂均为分析纯, 试剂使用之前均通过 Millipore 溶剂滤过系统滤过。

1.3 药材样品: 除尼泊尔獐牙菜以外, 其余的药材样品均是笔者在2002年7月-9月野外采集, 分别采自青海和西藏的高海拔地区; 物侯期均为各种植物的花期, 全草, 阴干; 尼泊尔獐牙菜购自药材市场(西藏尼泊尔经贸公司, 花期)。凭证标本存中国科学院西北高原生物研究所, 由刘建全鉴定种类。研究的种类样品详细情况见表1。

表1 样品详情列表

Table 1 Information of samples

名称	采集地点	采集时期	海拔/m
川西獐牙菜 <i>S. mussotii</i>	青海玉树	花期	3 520
抱茎獐牙菜 <i>S. franchetiana</i>	青海湟中	花期	2 620
祁连獐牙菜 <i>S. przewalskii</i>	青海门源	花期	3 230
红直獐牙菜 <i>S. erythrosticta</i>	青海湟中	花期	2 620
四数獐牙菜 <i>S. tetraptera</i>	青海门源	花期	3 230
大籽獐牙菜 <i>S. macrospema</i>	西藏林芝	花期	3 460
肋柱花 <i>Lomatogonium carinthiacum</i>	青海西宁	花期	2 200
尼泊尔獐牙菜 <i>S. chirayata</i>	西藏尼泊尔经贸公司	花期	具体海拔不详
花锚 <i>Halenia elliptica</i>	青海互助	花期	2 600

## 2 方法与结果

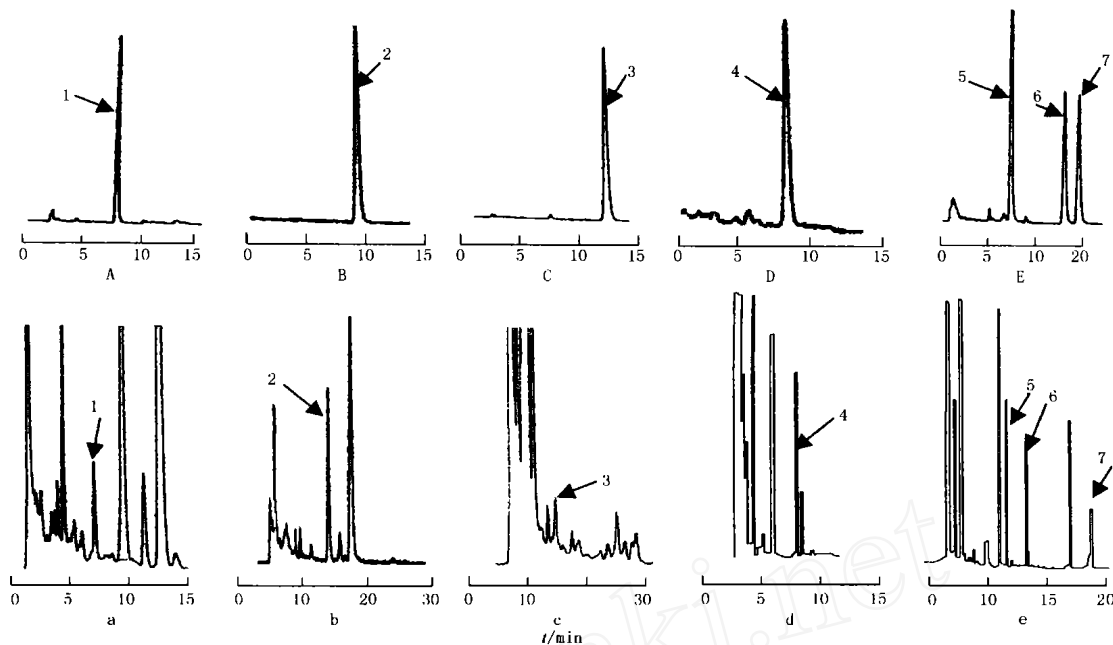
2.1 色谱条件: 色谱柱: Phenomenex kromasik C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 460 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇和水加入少量 1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 甲醇的体积分数分别为: 獐牙菜苦苷28%, 芒果苷32%, 当药黄素45%, 齐墩果酸96%, 黄酮78%。检测波长分别为: 獐牙菜苦苷 227 nm, 芒果苷 254 nm, 当药黄素 254 nm, 齐墩果酸 220 nm, 黄酮 254 nm。体积流量: 1 mL/min。温度均为室温。HPLC 色谱图见图1(其中样品的色谱图以川西獐牙菜为代表)。

2.2 对照品储备液的制备: 分别准确称取獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素、齐墩果酸、1,5,8-三羟基-3-甲氧基黄酮(S<sub>1</sub>)、1,8-二羟基-3,7-二甲氧基黄酮(S<sub>2</sub>)和1,8-二羟基-3,5-二甲氧基黄酮(S<sub>3</sub>)的对照品适量, 用70% 甲醇(獐牙菜苦苷、芒果苷)、甲醇(当药黄素、S<sub>1</sub>、S<sub>2</sub>、S<sub>3</sub>)、50% 甲醇(齐墩果酸)溶解并配制成一定质量浓度的对照品储备液, 精密吸取对照品储备液适量, 分别用相应的甲醇溶液稀释成质量浓度分别为: 獐牙菜苦苷0.005 1 mg/mL、芒果苷0.002 5 mg/mL、当药黄素0.045 mg/mL、齐墩果酸0.472 mg/mL、黄酮分别为 S<sub>1</sub> 6.2 mg/L、S<sub>2</sub> 6.3 mg/L、S<sub>3</sub> 5.4 mg/L 的对照品溶液, 备用。

2.3 样品溶液的制备: 取植物全草, 阴干, 粉碎, 准确称取 1.000 g(其中测定齐墩果酸为 2.000 g), 加70% 甲醇(含 0.04% 磷酸)、齐墩果酸加乙醇、黄酮类化合物加甲醇 40 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 滤液定容至 50 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 即为各自的样品溶液。

2.4 标准曲线的制备: 分别精密吸取上述各对照品溶液 4、8、10、12、16 μL 进样, 按照上述各自的色谱条件进样测定峰面积, 各峰面积经统计处理, 求得各自的回归方程: 獐牙菜苦苷回归方程为  $Y = 870.46 + 11061482.03 X$ ,  $r = 0.9997$ , 线性范围 1.5~ 8.2 μg; 芒果苷回归方程为  $Y = 85.04 + 193068.40 X$ ,  $r = 0.9997$ , 线性范围 0.5~ 2.5 μg; 当药黄素回归方程为:  $Y = 31.34 + 133.52 X$ ,  $r = 0.9994$ , 线性范围 18~ 90 μg; 齐墩果酸回归方程为:  $Y = -203.10 + 43927.77 X$ ,  $r = 0.9997$ , 线性范围 180.8~ 755.2 μg; 黄酮类化合物 S<sub>1</sub> 回归方程为:  $Y = 47.49 + 1136.49 X$ ,  $r = 0.9992$ , 线性范围 1.86~ 9.3 μg; S<sub>2</sub> 回归方程为:  $Y = -40.23 + 10661.46 X$ ,  $r = 0.9993$ , 线性范围 1.89~ 9.45 μg; S<sub>3</sub> 回归方程为:  $Y = -36.89 + 12195.32 X$ ,  $r = 0.9991$ , 线性范围 1.62~ 8.1 μg。

2.5 精密度试验: 分别精密吸取各对照品溶液, 在各自对应的上述色谱条件下, 将质量浓度为 0.005 1 mg/mL 獐牙菜苦苷, 0.002 5 mg/mL 芒果苷, 0.045 mg/mL 当药黄素, 0.472 mg/mL 齐墩果酸和混合对照品溶液(同 2.2 的 S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>) 的对照品溶液分别吸取 10 μL 连续进样 5 次, 测定峰面积, 计算 RSD 值分别为 1.02% 獐牙菜苦苷, 0.54% 芒果苷, 1.15% 当药黄素, 1.23% 齐墩果酸, 0.79%、0.71%、0.80% (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>) (n = 5)。



A、B、C、D 分别是獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素、齐墩果酸对照品的色谱图; E 中的 5、6、7 分别是 1, 5, 8-三羟基-3-甲氧基黄酮、1, 8-二羟基-3, 7-二甲氧基黄酮和 1, 8-二羟基-3, 5-二甲氧基黄酮对照品的色谱图; a、b、c、d、e 都是以川西獐牙菜为代表的 7 种化合物的色谱图, 1、2、3、4、5、6、7 分别代表化合物獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素、齐墩果酸、1, 5, 8-三羟基-3-甲氧基黄酮、1, 8-二羟基-3, 7-二甲氧基黄酮和 1, 8-二羟基-3, 5-二甲氧基黄酮

HPLC chromatograms of control samples swertiamarin (A), mangiferin (B), swertisin (C), oleanolic acid (D); E represents HPLC chromatograms of standards of 1, 5, 8-trihydroxy-3-methoxyxanthone (5), 1, 8-dihydroxy-3, 7-dimethoxyxanthone (6) and 1, 8-dihydroxy-3, 5-dimethoxyxanthone (7) respectively; chromatograms of seven constituents for *S. musottii* are a, b, c, d, and e, respectively; constituents of swertiamarin, mangiferin, swertisin, oleanolic acid, 1, 5, 8-trihydroxy-3-methoxyxanthone, 1, 8-dihydroxy-3, 7-dimethoxyxanthone, and 1, 8-dihydroxy-3, 5-dimethoxyxanthone are shown in 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7, respectively

图 1 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of control samples

2.6 稳定性实验: 取同一供试品溶液(以川西獐牙菜为例), 分别在制备后 0、2、6、12、24 h 进样, 分别测定獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素、齐墩果酸、1, 5, 8-三羟基-3-甲氧基黄酮、1, 8-二羟基-3, 7-二甲氧基黄酮和 1, 8-二羟基-3, 5-二甲氧基黄酮峰面积, 计算得其 RSD 分别为 1.25%、0.65%、1.21%、1.45%、0.87%、0.82% 和 0.76% ( $n=5$ )。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取同一材料样品 5 份(以川西獐牙菜为例), 按供试品溶液制备方法制备及测试条件测定, 计算獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素、齐墩果酸、1, 5, 8-三羟基-3-甲氧基黄酮、1, 8-二羟基-3, 7-二甲氧基黄酮和 1, 8-二羟基-3, 5-二甲氧基黄酮的量, 得其 RSD 分别为 1.73%、1.64%、1.36%、0.97%、0.68%、1.24%、0.54% ( $n=5$ )。

2.8 加样回收率试验: 分别取含獐牙菜苦苷(0.005 1 mg/mL)、芒果苷(0.002 5 mg/mL)、当药

黄素(0.045 mg/mL)、齐墩果酸(0.472 mg/mL)和 3 种黄酮分别为  $S_1$  6.2 mg/L、 $S_2$  6.3 mg/L、 $S_3$  5.4 mg/L 的川西獐牙菜样品溶液, 分别精密吸取 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 分别精密加入一定量的獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素、齐墩果酸、3 种黄酮  $S_1$ 、 $S_2$ 、 $S_3$  对照品, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 各取 10  $\mu$ L 进样, 测定各自的峰面积, 计算回收率(以川西獐牙菜为例)。结果平均回收率分别为 100.26%、RSD 为 0.98% (獐牙菜苦苷); 99.98%、RSD 为 1.13% (芒果苷); 100.14%、RSD 为 1.08% (当药黄素); 99.58%、RSD 为 0.98% (齐墩果酸); 98.87%、RSD 为 0.89% ( $S_1$ ); 99.24%、RSD 为 0.92% ( $S_2$ ); 98.96%、RSD 为 0.76% ( $S_3$ ) ( $n=5$ )。

2.9 样品的测定: 在上述对应的色谱条件下分别吸取各种制备好的供试品储备液 10  $\mu$ L 重复进样 3 次测定, 测得獐牙菜苦苷、芒果苷、当药黄素、齐墩果酸、1, 5, 8-三羟基-3-甲氧基黄酮、1, 8-二羟基-3, 7-

二甲氧基黄酮和 1,8-二羟基-3,5-二甲氧基黄酮的  
各种药材样品。所有的统计分析在 SPSS 10.0 下进

行,利用 One-way ANOVA, Post hoc-LSD。9 种植  
物的 7 种化学成分结果见表 2。

表 2 9 种植物中 7 种化合物测定结果(n=3)

Table 2 Determination of seven compounds in nine species (n=3)

植 物	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )						
	獐牙菜苦苷	芒果苷	当药黄素	齐墩果酸	1,5,8-三羟基-3-甲氧基黄酮	1,8-二羟基-3,7-二甲氧基黄酮	1,8-二羟基-3,5-二甲氧基黄酮
川西獐牙菜	2.08 ± 0.47	40.55 ± 2.68	1.32 ± 0.73	1.91 ± 0.04	0.72 ± 0.07	0.43 ± 0.03	0.10 ± 0.01
抱茎獐牙菜	151.66 ± 10.73	5.99 ± 1.05	1.60 ± 0.16	1.03 ± 0.11	1.58 ± 0.21	0.65 ± 0.03	0.11 ± 0.01
祁连獐牙菜	9.09 ± 2.21	2.21 ± 0.54	0.00	1.81 ± 0.07	1.52 ± 0.10	0.70 ± 0.02	0.04 ± 0.01
红直獐牙菜	2.79 ± 1.17	0.90 ± 0.63	0.00	0.59 ± 0.07	9.57 ± 1.18	0.23 ± 0.03	0.03 ± 0.01
四数獐牙菜	3.74 ± 0.93	1.84 ± 0.24	0.00	1.73 ± 0.17	0.45 ± 0.38	0.03 ± 0.02	0.01 ± 0.01
大籽獐牙菜	1.04 ± 0.61	0.51 ± 0.27	0.00	2.50 ± 0.23	4.00 ± 0.17	0.10 ± 0.03	0.02 ± 0.00
尼泊尔獐牙菜	2.09 ± 0.69	16.55 ± 1.07	0.00	4.81 ± 0.45	2.20 ± 0.11	0.07 ± 0.02	0.25 ± 0.01
肋柱花	30.12 ± 9.00	0.00	2.10 ± 0.13	0.43 ± 0.11	0.17 ± 0.13	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.01
花锚	0.00	0.00	0.00	0.45 ± 0.08	0.00	0.00	0.00

### 3 讨论

3.1 检测波长的选择: 分别将对照品獐牙菜苦苷、芒果苷、齐墩果酸、当药黄素、黄酮的甲醇溶液, 在 190~400 nm 进行扫描, 结果獐牙菜苦苷在 227 nm, 芒果苷在 254 nm, 齐墩果酸在 220 nm, 当药黄素 254 nm, 黄酮在 254 nm 处其线稳定, 波形较好, 故选择上述波长为最佳, 不但基线平稳而且峰与峰分离完全。

3.2 提取方法的选择: 精密称取各种药材粉末适量(过 40 目筛)于 50 mL 锥形瓶中, 加甲醇 40 mL, 分别采用冷浸 1、2 和 3 h; 超声 10、20 和 30 min; 滤过, 然后用甲醇定容至 50 mL, 过微孔滤膜 0.45 μm, 进样 10 μL, 测定, 结果用超声提取 30 min 效果最好。

3.3 提取溶剂的选择: 精密称定一定量的各种药材粉末, 分别加入 70% 甲醇、甲醇、无水乙醇、70% 乙醇 40 mL 于 50 mL 锥形瓶中, 超声提取 30 min, 然后滤过定容, 过微孔滤膜测定, 结果 70% 甲醇对獐牙菜苦苷、芒果苷和当药黄素的提取率最高, 无水乙醇对齐墩果酸、黄酮的提取率最高。

3.4 比较了 9 种在市场上用作“藏茵陈”龙胆科植物的 7 种有效成分。齐墩果酸被认为是“藏茵陈”治疗肝炎的重要活性成分之一<sup>[4]</sup>。该成分在每一种植物中都有发现, 可能也是所检查的 9 种植物都能用作“藏茵陈”来治疗肝炎并有一定效果的主要依据; 该成分最高的为尼泊尔獐牙菜, 其次是大籽獐牙菜、川西獐牙菜、祁连獐牙菜。由于其他成分也被认为具有各种药效作用, 如獐牙菜苦苷具有清热、消炎等生理作用<sup>[5-8]</sup>, 当药黄素对 CCl<sub>4</sub> 引起的转氨酶升高有降低作用<sup>[8,9]</sup>, 芒果苷主要具有抗氧化<sup>[9,10]</sup>、抗结

核<sup>[11]</sup>和抗菌作用<sup>[12,13]</sup>。但是这些成分在比较的 9 种龙胆科植物中存在显著区别, 如抱茎獐牙菜中的獐牙菜苦苷是其他“藏茵陈”种类如川西獐牙菜的近 70 倍, 是肋柱花的 5 倍; 而川西獐牙菜的芒果苷是抱茎獐牙菜的 6 倍以上, 是尼泊尔獐牙菜的 2 倍以上。这些研究结果表明今后在使用“藏茵陈”药材治疗不同的疾病, 或者利用“藏茵陈”药材中各种不同有效化学成分开发单一成分新药时, 应选择不同的“藏茵陈”植物种类, 使每种植物都能最为有效地发挥其作用。

### References

- [1] Ding J Y, Sun H F. Effective components antihepatitis of *Swertia mussotii* L. Separate and identify mangiferin and oleanolic acid [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1980, 9: 391-392.
- [2] Ji L J, Liao Z X, Sun H F. A survey of gentian plants of the Tibetan traditional herb medicines [J]. *Acta Biol Plateau Sin* (高原生物学集刊), 2002, 15: 234-250.
- [3] Yang Y C. *Tibetan Medicines* (藏药志) [M]. Xining: Qinghai People's Publishing House, 1991.
- [4] Liu J, Lu Y P, Madhu C, et al. Protective effects of oleanolic acid on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice [J]. *J Pharm Exp Ther*, 1993, 266: 1607-1613.
- [5] Komatsu K, Purusotam B, Yamaji S, et al. A comparative study on *Swertiae herba* from Japan, Nepal, and China and their hypoglycemic activities in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats [J]. *Nat Med*, 1997, 51: 265-268.
- [6] Banerjee S, Sur T, Kumar M S, et al. Assessment of the anti-inflammatory effects of *Swertia chirata* in acute and chronic experimental models in male albino rats [J]. *Indian J Pharm*, 2000, 32: 21-24.
- [7] Song W Z. A general survey on medicinal plants of Gentianaceae in China [J]. *Bull Chin Mat Med* (中药通报), 1986, 11: 643-647.
- [8] Ji Y B. *Pharmacology and Application of the Active Constituents in Chinese Traditional Medicines* (中药有效成分的药理与应用) [M]. Haerbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 1995.

- [9] Ghosal S, Rao G, Saravanan V, *et al.* A plausible chemical mechanism of the bioactivities of magiferin [J]. *Indian J Chem*, Sect B: *Org Chem Incl Med Chem*, 1977, 35B (6): 561-566.
- [10] Ashida S, Noguchi S F, Suzuki T. Antioxidative components, xanthone derivatives, in *Swertia japonica* Makino [J]. *J Amer Oil Chem Soc*, 1994, 71(10): 1095-1099.
- [11] Ghosal S, Chaudhuri R K. Chemical constituents of Gentianaceae. XVI. Antitubercular activity of xanthones of *Canscora decussata* [J]. *J Pharm Sci*, 1975, 64: 888-889.
- [12] Bian Q Y, Luo N C, Xiao P G. Four xanthone glycosides from *Swertia calycina* Franch [J]. *Pharm Pharmacol Can*, 1998, 4(12): 597-598.
- [13] Rodriguez S, Wolfender J L, Hakizamungu E, *et al.* An antifungal naphthoquinone, xanthones and secoiridoids from *Swertia calycina* [J]. *Planta Med*, 1995, 61(4): 362-364.
- [14] Born M, Carrupt P A, Zini R, *et al.* Electrochemical behavior and antioxidant activity of some natural polyphenols [J]. *Helv Chim Acta*, 1996, 79(4): 1147-1158.
- [15] Rafatullah S, Tariq M, Mossa J S, *et al.* Protective effect of *Swertia chirata* against indomethacin and other ulcerogenic agent-induced gastric ulcers [J]. *Drugs Under Exper Clin Res*, 1993, 19(2): 69-73.
- [16] Singha U K, Guru P Y, Sen A B, *et al.* Antileishmanial activity of traditional plants against *Leishmania donovani* in golden hamsters [J]. *Int J Pharm*, 1993, 30(4): 289-295.

## 青海栽培秦艽中龙胆苦苷的影响因素考察

李向阳<sup>1</sup>, 李福安<sup>2</sup>, 李建民<sup>3</sup>, 魏全嘉<sup>2</sup>

(1. 青海医学院 药学教研室, 青海 西宁 810001; 2. 青海医学院 中医系, 青海 西宁 810001;  
3. 青海师范大学 生物系, 青海 西宁 810001)

秦艽为龙胆科秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.、麻花秦艽 *G. straminea* Maxim.、粗茎秦艽 *G. crassicaulis* Duthie ex Burkill 或小秦艽 *G. dahurica* Fisch. 的干燥根<sup>[1]</sup>, 主产于青海、甘肃、陕西、内蒙古、东北、四川等地, 是临床上用于祛风湿、和血舒筋、清热利尿的常用中药材<sup>[2]</sup>。青海省是秦艽的主产地之一, 但在最近几年, 由于用药需求量猛增, 过度采挖, 致使秦艽野生资源临近濒危状态, 现已被国家列为三级重点保护的野生药材, 因此为保证和扩大药源, 大量繁殖和引种栽培已成为急需解决的问题。本研究以秦艽的主要成分龙胆苦苷为指标, 采用 RP-HPLC 法考察了不同产地、不同生长年限、不同采收季节和使用肥料等因素对栽培秦艽中龙胆苦苷含量的影响, 以期评价栽培秦艽的质量、开发利用秦艽资源和确保人工种植的品质提供科学的依据。

### 1 实验材料

高效液相色谱仪: LC-10AT 泵和 SPD-10A 紫外检测器(日本岛津公司); N2000 型色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所); FZ102 微型植物粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); XW-80A 漩涡混合器(上海精科有限公司); 色谱纯甲醇(山东禹王实业有限公司), 分析纯甲醇(沈阳试剂一厂); 龙

胆苦苷对照品(中国药品生物制品鉴定所提供); 秦艽药材采于各栽培基地, 经魏全嘉教授鉴定为麻花秦艽 *G. straminea* Maxim.

### 2 方法

2.1 RP-HPLC 色谱条件: 色谱柱: Lichrospher C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (1:2); 体积流量: 1.1 mL/min; 检测波长 254 nm。

2.2 对照品溶液的配制: 精密称取龙胆苦苷对照品 5.4 mg 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇制成 0.54 mg/mL 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备及测定: 取秦艽药材粉碎, 过 40 目筛, 精密称取细粉约 0.5 g, 加甲醇 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液回收至干, 残渣用适量甲醇溶解, 滤过, 滤液移至 50 mL 量瓶中, 混匀后精密吸取 1 mL 于 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 涡旋混匀即得供试品溶液。精密吸取 10 μL 进样分析, 按外标法计算龙胆苦苷的含量。

2.4 标准曲线制备: 精密吸取对照品溶液 1、2、4、6、8、10 μL, 按上述色谱条件进样分析, 记录峰面积。以龙胆苦苷峰面积(A)对进样量(M)进行回归计算, 得回归方程:  $A = 260358M - 37681$ ,  $r = 0.9994$ , 线性范围为 0.54~5.40 μg。

2.5 精密度试验: 精密吸取上述对照品溶液 8 μL,

收稿日期: 2004-10-16

基金项目: 国家科技攻关项目(2001BA701A60-06); 青海省重大科技攻关项目(2001-N-107-03)

作者简介: 李向阳(1974-), 男, 甘肃省会宁县人, 硕士, 讲师, 主要从事药物分析工作。

Tel: (0971) 6104046 E-mail: yang103@sina.com