

文章编号 :1000-4025(2005)02-0393-04

栽培川西獐牙菜中 6 种药用成分的测定方法和 动态积累研究*

马玉花, 纪兰菊*, 吉文鹤, 陈桂琛, 卢学峰

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘要 采用反相高效液相色谱法对川西獐牙菜中 6 种药用成分不同生长期的含量进行了测定。色谱柱为 Kromasil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.02% 的磷酸水溶液, 检测波长 260 nm。该方法具有很好的线性关系和回收率。结果显示, 川西獐牙菜全草的最佳采收期为 9 月中旬(花果期)。

关键词 川西獐牙菜; 龙胆苦苷; 芒果苷; 生长期; 反相高效液相色谱法

中图分类号 Q 946.49 文献标识码 A

Determination Dynamic Accumulation of Six Species Medicinal Bioactive Components of *Swertia mussotii* Franch in Different Growth Period

MA Yu-hua, JI Lan-ju*, JI Wen-he, CHEN Gui-chen, LU Xue-feng

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract The contents of six species medicinal bioactive components *Swertia mussotii* Franch in different growth periods were determined by reversed-phase high performance liquid chromatography. The analysis was performed on Kromasil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) eluted with methanol and 0.02% aqueous phosphoric acid as mobile phase and with UV detection at 260 nm. The good linear relationships and recoveries were obtained under the optimum conditions for every component. Results showed that the whole plant should be harvest during September and October.

Key words *Swertia mussotii* Franch; gentiopicroside; mangiferin; the growth period; reversed-phase high performance liquid chromatography

川西獐牙菜(*Swertia mussotii* Franch.) 属龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属植物, 是藏族民间常用单方草药, 为上品藏药, 俗名“藏茵陈”。本品具有清热解毒, 利胆退黄之功效, 全草用于治疗肝胆系统疾病^[1]。现代医学证明, 其主要有效成分龙胆苦苷可治消化不良, 抗原虫, 抗炎。芒果苷具有抗炎, 抗结核, 利胆之功效^[2]。川西獐牙菜为二年生草本植物, 主要

分布于青藏高原海拔 3 500~ 3 900 m 的山坡, 河滩地, 阳坡灌丛中^[3]。由于多年的过度采挖, 野生川西獐牙菜已面临濒危。对川西獐牙菜主要有效成分的研究已有报道^[4,5], 但对其有效成分随季节性变化的研究尚未报道, 因此为了确保川西獐牙菜资源的可持续利用和确定其最佳采收期, 作者以栽培的川西獐牙菜中 6 种主要成分: 獐牙菜苦苷(*swertia-*

* 收稿日期 2004-06-02 修改稿收到日期 2004-10-25

基金项目 国家中西部重点项目(2001BA901A 47)

作者简介 马玉花(1978-), 女(回族), 在读硕士研究生, 从事藏药药物化学研究。

* 通讯联系人。Correspondence to Ji Lan-ju, E-mail: yuhua@eyou.com.

marin, 代号 S₁)、龙胆苦苷 (gentiopicroside, 代号 S₂)、芒果苷 (mangiferin, 代号 S₃)、苦龙苷 (amargentin, 代号 S₄)、7-O-[α -L-吡喃鼠李糖-(1,2)- β D-吡喃木糖]-1,8-二羟基-3-甲氧基吡酮 (7-O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1,2)- β D-xylopyranosyl]-1,8-dihydroxy-3-methoxyxanthone XD-3, 代号 S₅)、7-O- β D-吡喃木糖-1,8-二羟基-3-甲氧基吡酮 (7-O- β D-xylopyranosyl-1,8-dihydroxy-3-methoxyxanthone XD-4, 代号 S₆) 为指标, 采用反相高效液相色谱法对其不同生长期进行了研究, 为确定最佳采收期提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

LC-10A TVP 二元泵 (岛津公司); Rheodyne 7725 进样器 (美国); SPD-M 10A VP 二极管阵列检测器 (岛津公司); Class-VP 液相色谱工作站 (岛津公司); Milli-Q 超纯水装置; 獐牙菜苦苷、龙胆苦苷购自中国药品生物制品检定所; 苦龙苷、芒果苷、XD-3、XD-4 为中国科学院西北高原生物研究所植化室孙洪发教授所赠。

本实验以青海平安地区栽培的川西獐牙菜为样

品, 从 6 月 15 日至 9 月 15 日, 每隔 1 个月采集 1 次, 共 4 个样品。

1.2 色谱条件

色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 流动相为甲醇-水-0.02% 磷酸, 梯度洗脱, 0~50 min, 甲醇 20%~80%; 50~55 min, 甲醇至 100%; 检测波长 260 nm 柱温为室温。

1.3 供试品溶液的制备

分别取上述 4 个样品, 全株剪碎, 置超微粉碎机中粉碎 20 min, 精密称取 0.5 g, 置 100 mL 锥形瓶中, 加甲醇 20 mL, 置 80 $^{\circ}$ C 水浴锅上回流 2 h, 放冷至室温, 过滤, 滤液于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀后经 C₁₈ 硅胶小柱做脱脂处理, 即先用 5 mL 蒸馏水活化小柱, 即用 5 mL 甲醇预先淋洗, 再用 10 mL 蒸馏水洗脱后, 将样品提取液直接上柱, 弃去初滤液, 收集续滤液为供试品溶液。

1.4 标准曲线的绘制和精密度实验

依据待测样品含量范围, 分别配制含有不同质量浓度的 6 种对照品溶液进行测定。以相应组分的色谱峰面积 (Y) 对其含量 (X, μ g) 绘制标准曲线。精确吸取上述各对照品溶液, 进样 20 μ L, 重复 5 次, 进行精密度试验。结果如表 1 所示。

表 1 线性关系和精密度

Table 1 Linearity and precision (n=5)

化合物 Component	线性范围 Linear range (μ g)	线性方程 Linear equation	相关系数 (r) Correlation coefficient	RSD (%)
S ₁	0.72~3.60	$Y = 31.879.2 + 65.034.0X$	0.999.7	3.44
S ₂	0.80~4.00	$Y = 42.311.8 + 167.556.5X$	0.999.1	3.53
S ₃	0.41~2.04	$Y = -17.395.6 + 740.478.7X$	0.998.6	1.34
S ₄	0.88~4.40	$Y = 92.894.2 + 418.253.4X$	0.999.5	2.79
S ₅	0.72~3.60	$Y = 14.962.8 + 254.725.0X$	0.999.2	1.68
S ₆	1.16~5.80	$Y = 149.830.9 + 872.433.4X$	0.999.5	1.03

1.5 稳定性和重复性实验

取上述供试品溶液, 分别间隔 2 h 进样, 每次 20 μ L, 重复 5 次, 进行测定方法的稳定性实验。精密称量同一批样品, 按供试品溶液制备方法分别制备 5 份供试品溶液, 进行重复性实验。结果如表 2 所示。

1.6 加样回收实验

精确称取已知含量的川西獐牙菜样品各 5 份, 加入一定量的对照品, 按样品处理方法制备并进样 20 μ L, 计算各对照品的加样回收率, 结果如表 2 所示。

表 2 稳定性、重复性和回收率

Table 2 Stability, repeat and recoveries (n=5)

化合物 Component	稳定性的 RSD Stability RSD (%)	重复性的 RSD Repeatability RSD (%)	样品量 Sample concentration (mg/L)	加入量 Added sample amount (mg/L)	测定量 Measured quantity (mg/L)	回收率 Recovery (%)
S ₁	4.64	3.28	102.72	38	140.93	100.22
S ₂	2.54	3.05	8.56	10	18.56	102.20
S ₃	2.66	2.90	23.05	34	56.96	99.61
S ₄	2.90	4.04	113.33	44	157.60	100.24
S ₅	2.09	4.34	133.40	211.6	345.72	100.53
S ₆	2.88	2.77	25.16	24	48.99	99.31

1.7 样品的测定

按供试品溶液的制备方法, 对不同生长期的川西獐牙菜样品进行了定量提取, 在限定的色谱条件下, 对不同生长期的川西獐牙菜进行了 6 种药效成

分含量测定 取峰面积的平均值计算含量, 标准品随进行对照, 结果见表 3, 对照品与样品色谱图如图 1 所示 .

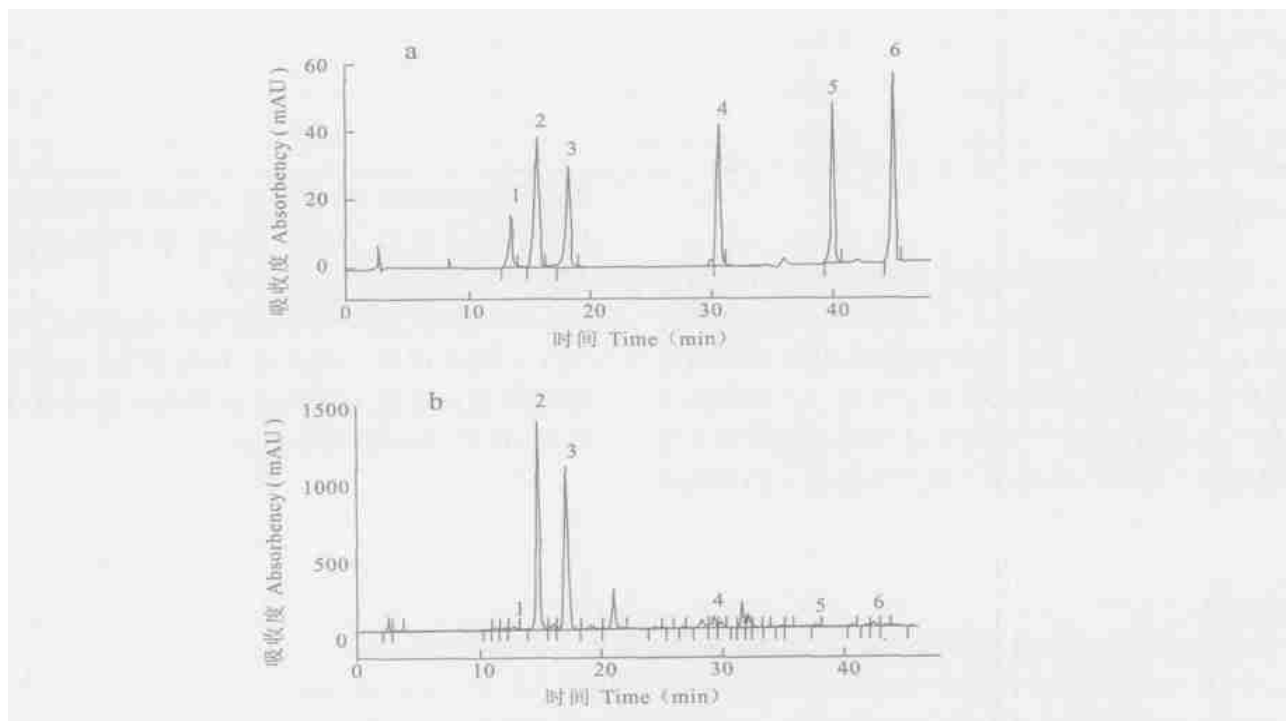


图 1 对照品(a)及样品的色谱图(b)

- 1. 獐牙菜苦苷 2 龙胆苦苷 3 芒果苷 4 苦龙苷 5 7-O-[αL-吡喃鼠李糖-(1,2)-βD-吡喃木糖]1, 8-二羟基-3-甲氧基吡酮 6 7-O-βD-吡喃木糖-1,8-二羟基-3-甲氧基吡酮

Fig. 1 Chromatograms of standard (a) and samples (b)

- 1. swertiamarin 2 gentiopicroside 3 mangiferin 4 amarogentin 5 XD-3 6 XD-4

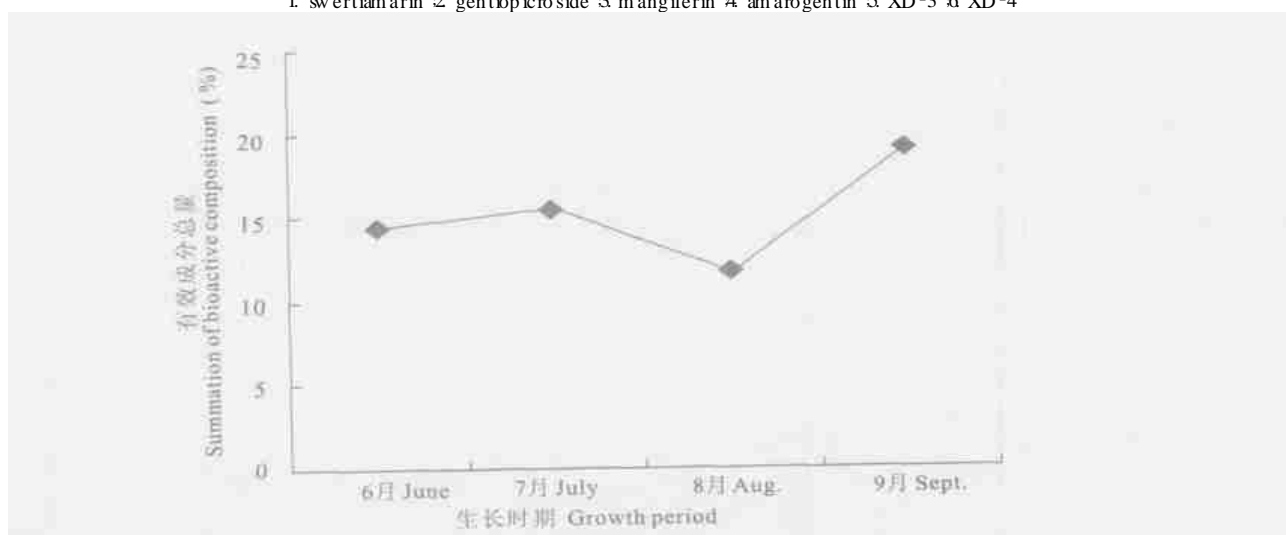


图 2 不同生长期 6 种有效成分的总量

Fig. 2 Total of six species medicinal bioactive component in different growth periods

表 3 样品测定结果

Table 3 Results of sample determination

生长期 Growth period	含量 Contents of component (%)						Total
	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	
6月15日 15, June	0.2945	12.9610	0.8724	0.1999	0.0697	0.0271	14.4246
7月15日 15, July	0.3428	13.8769	0.9756	0.2055	0.0775	0.0346	15.5129
8月15日 15, Aug	0.2099	10.5624	0.6114	0.1371	0.0472	0.0265	11.5945
9月15日 15, Sept	0.2946	17.8562	0.7442	0.1895	0.0770	0.0467	19.2082

3 结果与分析

实验结果表明,川西獐牙菜中龙胆苦苷的含量较高,其平均值是 13.8141%。不同生长期川西獐牙菜中 6 种有效成分含量差异较明显,其中 8 月份的 6 种有效成分的含量均低于其它月份。芒果苷的含量在 7 月最高,其余 5 种有效成分的含量均在 9 月中旬较高。从图 2 中得出 9 月中旬也是 6 种有效成

分总量最高的时期,因此认为采收川西獐牙菜全草时应在 9 月至 10 月间(花果期)采收,也可根据入药成分的不同来确定其采收期。

本实验采用反相高效液相色谱法测定不同生长期中 6 种药用成分的含量,精密度高,重复性好,为栽培中藏药材的质量标准检测和品质评价,提供了快捷、可控、准确的分析方法。

参考文献:

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991:110-111.
- [2] 季宇彬. 中药有效成分药理与应用[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1994:211-212,293-294.
- [3] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海植物志(第三卷)[M]. 西宁:青海人民出版社,1996:88-95.
- [4] SUN H F (孙洪发), HU B L (胡柏林), DING J Y (丁经业), FAN SH F (樊淑芬). The glucosides from *Swertia mussotii* Franch. [J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报). 1991, 33(1): 31-37 (in Chinese).
- [5] SONG Y L (宋娅莉), HU F Z (胡凤祖), LIN P CH (林鹏程), et al. Determination of xanthones in *Swertia mussotii* and *Swertia franchetiana* by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography* (色谱), 2004, 22(1): 51-53.