

藏药秦艽、麻花苳中落干酸和龙胆苦甙的 HPLC 法含量测定

林鹏程¹ 冶兆辉¹ 卢永昌¹ 赵素琴¹ 胡凤祖² 纪兰菊²

(1. 青海民族学院化学系,青海西宁 810007; 2. 中国科学院西北高原生物研究所,青海西宁 810001)

摘要 应用反相高效液相色谱法同时测定藏药秦艽、麻花苳中落干酸、龙胆苦甙含量。并比较了加热回流提取及超声提取两种方法对分析结果的影响。还测定了两种藏药全草及根、茎、叶、花等不同部位两种成分的含量。

关键词 反相高效液相色谱 落干酸 龙胆苦甙 秦艽 麻花苳

秦艽 (*Gentiana macrophylla* Pall.)、麻花苳 (*Gentiana straminea* Maxim.) 藏医均称为“解吉嘎保”,可止血,消肿,清腹热、胆热脉热^[1]。藏医用全草治关节炎、肺病发烧、黄疸及二便不通^[2]。其主要化学成分有落干酸(loganic acid)、龙胆苦甙(gentiopicroside)等^[3]。现代药理学研究表明,落干酸具有一定的抗炎活性,对角叉菜胶引起的小鼠足肿胀和 TPA 引起的小鼠耳肿胀抑制率达 44.4%^[4];龙胆苦甙有促进胃液分泌、抗原虫和抗炎作用^[5]。对龙胆科植物中龙胆苦甙的测定方法主要有薄层扫描法和高效液相色谱法^[6,7],但对落干酸及落干酸、龙胆苦甙同时测定的方法未见报道。本文建立了秦艽、麻花苳中上述两种成分同时测定的方法,并利用该方法测定了全草及根、茎、叶、花等不同部位中两种成分的含量。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪,配置:手动进样器、在线脱气机、高压二元梯度泵、恒温柱温箱、DAD 检测器,Agilent 1100 色谱工作站,ZORBAX SB-C₁₈(250 mm ×4.6 mm i. d., 5 μm) 色谱柱。

甲醇:高效液相色谱专用试剂(山东禹王实业有限公司禹城化工厂)、磷酸:AR 级(北京红星化工厂)。落干酸、龙胆苦甙标准品由青海普兰特藏药研究所孙洪发研究员提供。秦艽、麻花苳于 2003 年 8 月采自青海省互助北山林场,由中国科学院西北高原生物研究所胡凤祖副研究员鉴定。样品阴干,粉碎后,过 80 目筛,冷藏保存。

2 试验方法

2.1 标准品溶液配制 准确称取一定量的落干酸、龙胆苦甙标准品配置成浓度分别为落干酸 2.5 mg/ml、龙胆苦甙 2.45 mg/ml 的溶液,使用时稀释成所需浓度。

2.2 提取方法 (1) 热回流提取:准确称取 0.500 g 粉碎至 80 目的秦艽、麻花苳粉末,加入 10 ml 甲醇,加热回流 1 h,抽滤,以 1 ml 甲醇分两次洗涤滤渣,滤液定容至 25 ml,过 0.45 μm 微孔滤膜,在选定

色谱条件下测定峰面积。(2) 超声提取:准确称取 0.500 g 粉碎至 80 目的秦艽、麻花苳粉末,加入 10 ml 甲醇,超声提取 0.5 h,余同(1)。

在 2.2 项实验条件下比较了不同提取次数对提取结果(以 mg/g 表示)的影响,见表 1。

表 1 热回流与超声提取对分析结果的影响(mg/g)

提取次数	热回流法		超声波提取法	
	落干酸	龙胆苦甙	落干酸	龙胆苦甙
1	0.523	2.65	0.592	2.90
2	0.584	2.75	0.626	3.00
3	0.610	2.81	0.627	3.03
4	0.609	2.84		

由上表可见,热提取 3 次与超声提取 2 次后各组提取率变化均小于 1%,表明热提取 3 次与超声提取 2 次均可达到定量提取的目的,但超声提取法提取时间短,次数少,提取率较热提取法较高,故本试验采用超声提取法。

2.3 色谱条件 (1) 流动相选择:不同流动相比条件下试验,在柱温 30 °C、流速 1 ml/min 时,当 MeOH 和 H₂O(含 0.04% H₃PO₄) 在 0~15 min 内由 18%至 28%线性梯度洗脱,待测成分均被洗脱且达到基线分离(见图)。(2) 检测波长的确定:标准品溶液分别进样后,利用 DAD 检测器在 200~400 nm 扫描其吸收光谱,各标准品均在 254 nm 波长处有较高的吸收,选择该波长为检测波长。

2.4 线性关系测定 取浓度为 0.25 mg/ml 的落干酸和浓度为 0.243 mg/ml 的龙胆苦甙标准品溶液,逐级稀释,每次进样 5 μl,以峰面积定量,测得各组回归方程如下:落干酸 $A = 614.13X + 1.12$, $r = 0.9999$,线性范围 0.05~0.625 (μg/μl);龙胆苦甙 $A = 1001.62X + 34.40$, $r = 0.9999$,线性范围 0.047~3.652 (μg/μl)。

2.5 检测限 以 0.025 mg/ml 的落干酸、0.0243 mg/ml 的龙胆苦甙标准溶液逐级稀释,每次进样 5 μl,当信噪比 S/N = 3 时,测得最低检测限分别为:落干酸 1.25 ng、龙胆苦甙 0.5 ng。

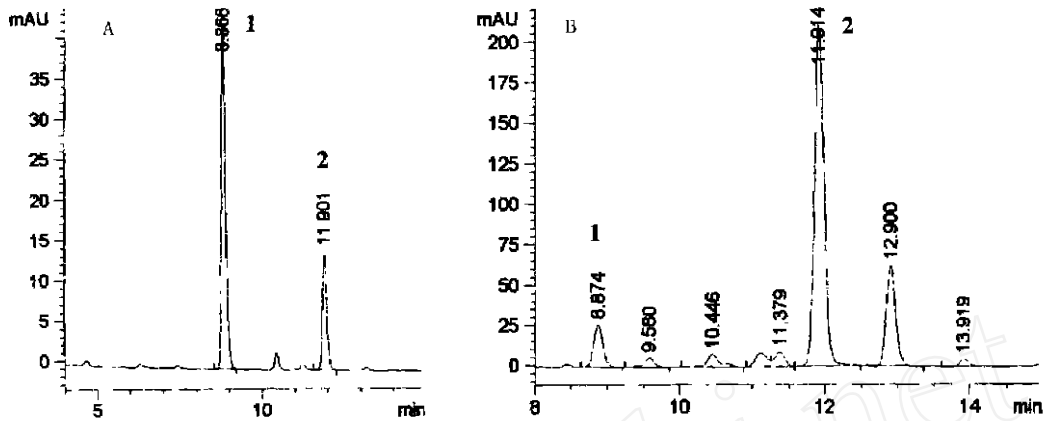


图 标准品及秦艽、麻花苳色谱图

A. 标准品 B. 样品

1. 落干酸 2. 龙胆苦甙

2.6 精密度试验 准确称取 0.500 g 粉碎至 80 目的秦艽样品,按 2.2 项下方法提取,重复进样 6 次,每次 5 μ l,按回归方程测得各组分含量,RSD 均小于 2.68%。

2.7 加样回收率 准确称取秦艽、麻花苳各 3 份,每份 0.500 g,添加一定量的标准品,按 3 项下方法测定回收率,平均回收率为 97.01% ~ 102.53%,RSD < 2.31%。

3 样品测定

准确称取 0.500 g 粉碎过 80 目筛的秦艽、麻花苳全草及根、茎、叶、花不同药用部位,用 2.2 项下方法超声提取 3 次,合并滤液,浓缩后定容至 25 ml,过 0.45 μ m 滤膜后进样。以保留时间、标准样加入法和紫外光谱法定性,以外标法定量,在上述试验条件下测量两种成分,重复测定 3 次,结果见表 2。

4 讨论

表 2

样品测定结果

成分	秦艽					麻花苳				
	全草	根	茎	叶	花	全草	根	茎	叶	花
落干酸 (%)	0.623	0.816	0.565	0.435	0.458	0.383	0.195	0.317	0.726	0.324
RSD %	1.33	0.78	0.92	0.87	0.89	0.56	0.95	0.47	0.76	0.44
龙胆苦甙 (%)	3.02	2.02	1.38	3.46	2.70	1.9	2.21	0.864	1.78	1.81
RSD %	1.21	1.87	2.67	3.12	0.56	3.98	1.23	2.88	1.34	1.11

4.1 由以上测定结果可见,秦艽全草中落干酸、龙胆苦甙的含量均比麻花苳高约 60%。

4.2 落干酸、龙胆苦甙在秦艽、麻花苳的各部位均有分布。落干酸在秦艽的根中分布最多,在叶中分布最少;龙胆苦甙在叶中分布最多,茎中最少。麻花苳中落干酸在叶中含量最高,根中最少,龙胆苦甙在根中含量最高,茎中最少。

4.3 落干酸、龙胆苦甙在秦艽、麻花苳的各部位的分布并无大的差异,从资源保护和提高原料利用率的角度,可考虑以全草入药。藏医以全草入药是有一定道理的。

参 考 文 献

1 杨永昌,等. 藏药志. 9~11. 西宁:青海人民出版社,

199111
 2 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济植物志. 西宁:青海人民出版社,1987453
 3 纪兰菊,等. 青藏高原四种龙胆植物化学成分初步研究. 见:高原生物学集刊(11集). 北京:科学出版社,1992113
 4 Recio MC, et al. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents. Planta Med. 1994,60(3)232
 5 孙文基,等. 天然活性成分简明手册. 北京:中国医药科技出版社,1998256
 6 胡凤祖,等. 青藏高原龙胆科植物药用有效成分的高效液相色谱分析. 色谱,2003,23(1)63
 7 陈家春. 湖北獐牙菜属植物的化学成分分析. 中药材,1990,13(1)29

(2004 - 03 - 24 收稿)

Content Determination of Loganic Acid and Gentiopicroside in Tebitan Herbal

Medicines *Gentiana macrophylla* and *G. straminea* by HPLC

Lin Pengcheng¹, Ye Zhaohui¹, Lu Yongchan¹, Zhao Suqin¹, Hu Fengzu², Ji Lanju²

(1. Qinghai Nationalities Institutes, Xining 810007; 2. Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

Abstract A quantitative method to determine loganic acid and gentiopicroside in *Gentiana macrophylla* Pall. and *Gentiana straminea* Maxim. by RP-HPLC was established in this paper. The two compounds were base-isolated on the column of Zorbax SB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) which eluted with MeOH and H₂O (0.04% H₃PO₄). The methol ratio increased from 18% to 28% in 15 min with detective wave at 254 nm and column temperature at 30 °C, flow rate at 1 ml/min. A wide range of linearity and the good linear relationships were achieved on above condition. The contents of the two compounds in different parts of the two plants were also determined and compared in this paper.

Key words HPLC; Loganic acid; Gentiopicroside; *Gentiana macrophylla*; *Gentiana straminea*

云南金平草果精油的微波萃取及化学成分研究

杨丽娟 张征 李俊峰 孔维玲 林军*

(云南大学应用化学系, 昆明 650091)

摘要 用微波萃取法从云南金平产的草果中提取挥发油, 并与常规溶剂提取法和水蒸汽蒸馏法进行了收油率比较。用气相色谱-质谱联用技术对草果挥发油化学成分进行分析, 并用归一化法确定其百分含量。

关键词 草果 挥发油 微波萃取 气相色谱-质谱分析

草果 (*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire) 系姜科豆蔻属多年生草本植物, 有辛香味, 是热带、亚热带湿热森林气候条件下的重要经济作物, 在我国主产于云南、广西、贵州等地区^[1]。其中云南为我国草果主产区, 金平等地的产量较高, 品质也较优良。草果的果实提取的精油用于医药和香料工业; 干果可作为中药材, 有燥湿除寒、祛痰截疟、消食化积之功效^[2]; 也可用作调味香料。

精油的提取一般采用水蒸汽蒸馏法。微波萃取 (Microwave Extraction, 简称 ME) 是目前国内外的一种新的萃取方法, 它以快速、溶剂用量少和萃取率高等特点受到广泛重视^[3]。近年来, 国内外将微波技术应用于天然产物的提取, 取得了一系列的成果, 具有十分广阔的前景。本文将微波辐射用于草果挥发油的提取, 与常规溶剂提取法和水蒸汽蒸馏法进行了比较, 并对得到的挥发油进行化学成分分析。

1 精油的不同方法提取

1.1 微波萃取法 称取 50 g 磨细的草果干果 (2003 年 9 月采于云南金平) 放入 250 ml 圆底烧瓶中, 加入 100 ml 正己烷, 放入微波炉内 (松下 NN-S570MFS 型), 设定微波功率为 525w, 辐射 30 s 后, 冷却 60 s, 再辐射 30 s, 冷却至室温, 倒出大部分溶剂, 再加入 100 ml 正己烷, 重新放入微波炉中, 重复

上述步骤提取。再用 15 ml 正己烷洗涤滤渣, 过滤。合并正己烷, 用无水硫酸钠干燥后, 减压回收溶剂, 称量和分析所得萃取物。

1.2 常规溶剂提取法 称取 50 g 磨细的草果干果放入 250 ml 锥形烧瓶中, 加入 150 ml 正己烷, 放在磁力搅拌器上搅拌 1 h, 倒出大部分溶剂, 再加入 150 ml 正己烷, 搅拌 1 h, 过滤, 最后用 15 ml 正己烷洗涤滤渣, 过滤。合并正己烷, 用无水硫酸钠干燥后, 减压回收溶剂, 称量和分析所得萃取物。

1.3 水蒸气蒸馏法 将 50 g 磨细的草果干果用挥发油提取器按中国药典方法提取, 油水分离后得草果挥发油。重复提取二次平均收油率为 1.52%, 挥发油为乳白色, 具有特殊浓郁香味。

2 气相色谱-质谱分析

Finnigan 4021 型色谱-质谱联用仪; 色谱柱: DB-35MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱; 程序升温: 初始温度 40 °C, 保持 5 min 后, 以 2 °C/min 的速率升温至 200 °C 并保持 3 min, 再以 10 °C/min 的速率升温至 250 °C 并保持 30 min。载气 He, 柱前压 49 kPa; 进样量 1 μl, 分流比 50:1; 进样口温度 250 °C, 离子源温度 250 °C; 电离电压 70 eV, 质量扫描范围: 30 ~ 400 amu。

3 草果收油率