

· 药剂与工艺 ·

高效液相色谱法测定天麻中 *L*-焦谷氨酸的含量[△]

贵阳医学院药理学系 (550004)

郝小燕*

中国科学院昆明植物研究所植化开放研究实验室

谭宁华

摘要 应用 HPLC法对不同来源和加工方法不同的天麻 *Gastrodia elata* Bl. 中 *L* 焦谷氨酸成分进行了定量分析。结果显示 *L* 焦谷氨酸在天麻中的含量因产地、栽培方法和加工方法的不同而有差异。野生比家种、鲜品比干品的 *L* 焦谷氨酸含量高。

关键词 天麻 *L* 焦谷氨酸 HPLC法 含量测定

Quantitative Analysis of *L*-Pyroglutamic Acid of Tall *Gastrodia* (*Gastrodia elata*) by HPLC

Department of Pharmacy, Guiyang Medical College (Guiyang 550004) Hao Xiaoyan

Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences Tan Ninghua

Abstract Quantitative analysis of *L*-pyroglutamic acid in *Gastrodia elata* Bl. collected from different origins and prepared through different procedures were carried out by HPLC. The results indicated that the contents of *L*-pyroglutamic acid in different *G. elata* varied differently as to their habitats, cultivation and preparative processes. As an overall result, it is clear that the concentrations of *L*-pyroglutamic acid in wild and fresh *G. elata* are higher than that of the cultivated and dried varieties.

Key words *Gastrodia elata* Bl. *L*-pyroglutamic acid HPLC quantitative analysis

天麻 *Gastrodia elata* Bl. 是我国著名的中药, 目前已普遍种植。有关天麻的药理实验表明具有镇惊、抗癫痫、镇静、安眠、镇痛等作用^[1,2]。关于其化学成分研究的报道, 多集中于酚类化合物和有机酸类化合物^[3~8]。在试图从中寻找环肽化合物的过程中, 我们从天麻中分离得到 *L* 焦谷氨酸。据文献^[9]报道 *L*-焦谷氨酸具有抗惊厥等作用, 因此推测 *L* 焦谷氨酸可能是天麻的活性成分之一。

另有文献^[10]报道, 天然鲜人参中焦谷氨酸的含量远高于加工品人参, 不同的品种人参中 *L* 焦谷氨酸的含量有显著差异。因此, 我们对不同产地、不同栽培方法、不同加工方法的天麻样品中 *L* 焦谷氨酸的含量进行了定量分析, 测定了不同品种天麻中 *L*-焦谷氨酸的含量, 并探讨了不同加工方法对 *L* 焦谷氨酸含量变化的影响。

1 仪器和试剂

仪器: Hewlet Packard HP1100 高效液相色谱仪。HP 工作站数据处理机; HP 自动进样器。

试剂: 无水乙醇 (优级纯), 超纯水, 无水醋酸钠

(分析纯)。

2 样品的制备

不同来源的天麻样品 1~7 号 (见表 1) 经粉碎后, 精确称取 10 g 粉末, 分别用 10 倍量的无水乙醇浸泡过夜后, 用超声波震荡 35 min, 过滤。重复提取 3 次, 合并提取液。提取液减压浓缩至一定的体积后, 用无水乙醇定容到 10 mL 容量瓶中, 供定量分析用。样品 8~10 号为云南昭通家种新鲜天麻, 8 号是用鲜品 (含水量为 70.74%) 直接提取, 9 号是用晒干品 (含水量为 47.47%) 提取, 10 号是用烘干品 (80℃烘至恒重) 提取, 提取方法同上。

3 分离条件和测定方法

3.1 分离条件: 经反复试验和比较不同类型的流动相, 确定天麻中 *L* 焦谷氨酸的分离条件如下: 色谱柱: Selectosil C₁₈, 5 μ, 250 mm×4.60 mm; 流动相 5 mmol/L NaAc 水溶液; 流速 1 mL/min; 紫外检测波长 210 nm; 柱温 35℃; 进样量 5 μL; 分离效果见图 1。

3.2 标准曲线的制备: 精密称取 *L* 焦谷氨酸对照

* Address: Hao Xiaoyan, Department of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang

郝小燕 贵州大学化学系毕业。现在贵阳医学院药理学系分析化学教研室工作, 副教授。主要从事分析化学教学和植物化学科研工作。

△贵州省自然科学基金资助项目

品(作者从天麻中分离得到,纯度为 98%以上) 2.0 mg置于 10 mL容量瓶中,用无水乙醇溶解定容,取此溶液分别进样 2.5, 5.0, 10.0 μ L 在上述色谱条件下测定,记录峰面积与进样量。*L* 焦谷氨酸在 0.5~ 2.0 μ g 范围内峰面积 *Y*与浓度 *X*的线性关系良好, $r=0.999\ 98$

3.3 精密度、回收试验、重复性实验: 称取 10.00 g 1号样品各 4份,平行测定 *L* 焦谷氨酸的含量分别为: 0.009 28%, 0.009 33%, 0.009 59%, 0.009 90%, 平均为 0.009 52%, *RSD*为 2.9%。

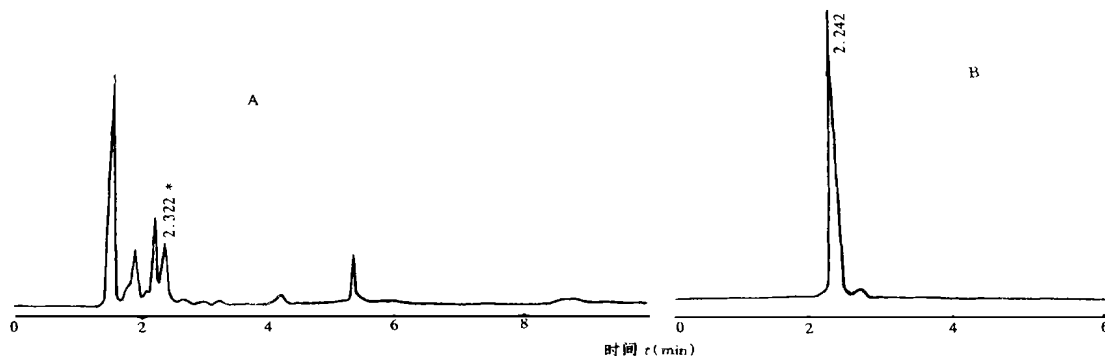
重现性实验: 重复进样 1号样品 4份,测定 *L*-

焦谷氨酸的含量分别为: 0.009 33%、0.009 26%、0.009 53%、0.009 64%, 平均为 0.009 44%, *RSD*为 1.86%。

回收率实验: 准确称取 102.0 μ g 对照品 3份,分别加到 5.0 g 的 1号样品中,并按上述方法提取,测定。回收率为 100.93%, *RSD*为 3.52%。

3.4 样品的测定: 将上述样品 1~ 10号,分别进样 5 μ L,与对照品的相对保留时间比较,并用加入法定量,用外标法由数据处理机计算 *L* 焦谷氨酸的含量,分析结果见表 1

4 结果与讨论



A-天麻样品 1号 * *L* 焦谷氨酸 B-*L* 焦谷氨酸对照品

图 1 样品 HPLC图

表 1 不同品种天麻中 *L*-焦谷氨酸的含量 (%)

样品编号	样品名称	<i>L</i> 焦谷氨酸含量 (%)	样品编号	样品名称	<i>L</i> 焦谷氨酸含量 (%)
1	贵州大方野生天麻	0.009 44	6	云南昭通野生天麻	0.008 66
2	贵州毕节家种天麻	0.002 15	7	云南昭通家种天麻	0.003 58
3	贵州毕节野生天麻	0.006 13	8	云南昭通家种天麻(鲜品)	0.018 76
4	贵州毕节野生幼天麻	0.007 28	9	云南昭通家种天麻(晒干品)	0.012 51
5	贵州毕节家种幼天麻	0.001 14	10	云南昭通家种天麻(烘干品)	0.002 53

用高效液相色谱仪,以 *L* 焦谷氨酸为对照品用外标法定量分析了不同来源和加工方法不同的天麻样品中 *L* 焦谷氨酸的含量,结果(见表 1)表明: (1) 来自不同产地的天麻中 *L* 焦谷氨酸的含量不同 (2)野生天麻中 *L* 焦谷氨酸的含量高于家种天麻,这一现象表明 *L* 焦谷氨酸的含量与天麻的品质有关 (3)不同加工方法对 *L* 焦谷氨酸的含量有显著影响,鲜品比干品的含量高 对于同一新鲜样品, 8号样品是不经任何处理,直接用无水乙醇提取, *L* 焦谷氨酸的含量最高; 10号样品是将天麻烘干,用同样方法提取,其含量最低; 9号样品是晒干后提取,其含量居中。对于市售天麻通常加工方法是将鲜品清蒸,然后烘干或晒干,其含量均低于 8号、9号样品。对加工过程影响 *L* 焦谷氨酸含量变化的机制,

有待于进一步深入研究

致谢: 本工作得到中科院昆明植物所李炳钧副研究员、 蒯凯研究员、李顺林副研究员及植化开放实验室的大力支持;中科院昆明植物所周铉副研究员鉴定天麻药材。

参考文献

- 1 陆伟. 中草药, 1985, 16(9): 40
- 2 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上册. 上海: 上海科学技术出版社, 1995 315
- 3 周俊,等. 化学学报, 1979, 37(3): 183
- 4 周俊,等. 云南植物研究, 1980, 2(3): 370
- 5 周俊,等. 科学通报, 1981, 26(18): 1118
- 6 Taguchi H, *et al.* Chem pharm Bull, 1981, 29(1): 55
- 7 Noda N, *et al.* Phytochem, 1995, 39(5): 1247
- 8 Lin J H, *et al.* Phytochem, 1996, 42(2): 549
- 9 Nicole D, *et al.* Neuropharmacology, 1985, 24(9): 903
- 10 秦波,等. 中草药, 1994, 25(2): 75

(1998-12-25收稿)