

HPLC 测定藏茵陈中獐牙菜苦苷和龙胆苦苷

田成旺, 张铁军

(天津药物研究院, 天津 300193)

藏茵陈为我国部颁藏药, 广义的藏茵陈泛指龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属(*Swertia* L.)的各种植物, 主要用于治疗热症、肝胆病和血液病。印度獐牙菜 *S. chirayita* Buch.-Ham. 和川西獐牙菜 *S. mussotii* Franch 均为獐牙菜属的代表性植物。我国有关川西獐牙菜的研究已有较多^[1,2], 而关于印度獐牙菜的报道较少^[3], 印度獐牙菜主要分布于印度喜马拉雅温带地区(从克什米尔到不丹), 我国应用的印度獐牙菜多从尼泊尔民间带入^[4]。印度獐牙菜具有清热消炎、利胆退黄、保肝温胃、退热缓泻的功效, 主要用于急性慢性肝炎、脂肪肝、肝硬化, 并具有滋补功效^[5]。本实验建立了印度獐牙菜中主要有效成分——獐牙菜苦苷(swertiamarin)和龙胆苦苷(gentiopicroside)的高效液相色谱测定方法, 该法稳定、快速、重现性好, 并对印度獐牙菜和川西獐牙菜中两种成分的量进行了测定和比较, 为资源的合理开发利用奠定基础。

1 仪器与材料

Waters 高效液相色谱仪, SP8800 泵, 2487 紫外检测器。

獐牙菜苦苷对照品(中国药品生物制品鉴定所); 龙胆苦苷对照品(中国药品生物制品鉴定所); 水为纯净水; 乙腈和甲醇为色谱纯; 其他试剂为分析纯。

本试验所用药材均从青海省玉树藏族自治州购买, 经天津药物研究院张铁军研究员鉴定。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 獐牙菜苦苷: 色谱柱为 Diomand™ (150 mm × 4.6 mm, 10 μm), 流动相为乙腈-水-磷酸(8:92:0.1), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 237 nm, 理论塔板数不低于 3 000。

龙胆苦苷: 色谱柱为 Diomand™ (150 mm × 4.6 mm, 10 μm), 流动相为甲醇-水-冰醋酸(25:75:0.8), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 270 nm, 理论塔板数不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取獐牙菜苦苷和龙胆苦苷对照品适量, 分别用甲醇溶解制成 0.178 和

0.209 mg/mL 的对照品溶液, 0.45 μm 滤过, 备用。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取 1.0 g 印度獐牙菜或川西獐牙菜干粉, 加入 25 mL 甲醇, 超声提取 30 min, 放冷, 滤过, 加甲醇至 50 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 0.45 μm 滤过, 备用。

2.4 线性关系考察试验: 分别精密量取上述对照品溶液 2、4、6、8、10、12 μL 进样, 以色谱峰面积对獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的量作图, 并进行回归统计, 按 2.1 项色谱条件分别测定獐牙菜苦苷和龙胆苦苷, 得到獐牙菜苦苷的回归方程为 $Y = 38\,574X + 56\,230$, $R^2 = 0.999\,3$, 线性范围 0.356 ~ 2.336 μg; 龙胆苦苷的回归方程为 $Y = 527\,866X + 37\,912$, $R^2 = 0.999\,9$, 线性范围 0.418 ~ 2.508 μg。

2.5 精密密度试验: 精密量取上述对照品溶液 10 μL, 连续进样 5 次, 按 2.1 项色谱条件分别测定獐牙菜苦苷和龙胆苦苷, 测得獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的峰面积 RSD 分别为 0.716% 和 0.972%, 表明进样精密密度良好。

2.6 稳定性试验: 精密量取供试品溶液 10 μL, 分别在 0、2、4、8、12 h 进样, 按 2.1 项色谱条件分别测定獐牙菜苦苷和龙胆苦苷, 测得獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的峰面积 RSD 分别为 2.024% 和 1.821%, 表明样品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取同一批药材, 按供试品溶液的制备方法制得 5 份样品液, 精密量取 10 μL, 分别进样, 按 2.1 项色谱条件分别测定, 测得獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的峰面积 RSD 分别为 1.784% 和 1.981%, 表明该方法的重现性良好。

2.8 回收率试验: 精密称取样品 6 份, 分别精密加入獐牙菜苦苷和龙胆苦苷对照品溶液适量, 按供试品制备方法制成样品溶液, 0.45 μm 滤过, 依次进样 10 μL, 按 2.1 项色谱条件分别测定; 计算得回收率分别为 100.27% 和 101.34%, RSD 分别为 1.895% 和 1.969%。

2.9 样品测定: 分别取印度獐牙菜和川西獐牙菜干粉 3 份, 按供试品溶液制备方法制成样品溶液, 各进

样 10 μ L, 按 2.1 项色谱条件分别测定, 测定峰面积, 由线性方程计算得到印度獐牙菜和川西獐牙菜中獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的量, 结果见表 1。色谱图见图 1 和 2。

表 1 样品中獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的量 ($n=3$)

Table 1 Swertiamarian and gentiopicroside in samples ($n=3$)

样 品	獐牙菜苦苷/%	龙胆苦苷/%
印度獐牙菜	0.364	0.155
川西獐牙菜	6.314	0.611

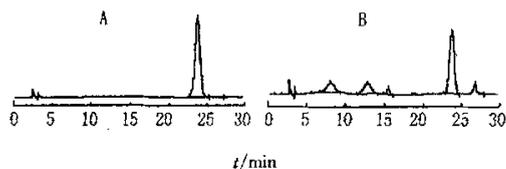


图 1 獐牙菜苦苷对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图

Fig. 1 Chromatogram of swertiamarian (A) and *S. chirayita* samples (B)

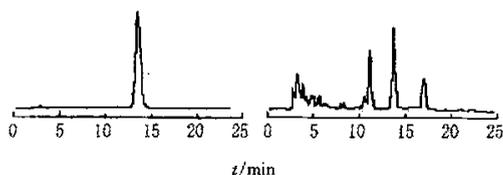


图 2 龙胆苦苷对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图

Fig. 2 Chromatogram of gentiopicroside (A) and *S. chirayita* samples (B)

3 讨论

3.1 本实验还考察了不同溶剂的提取效果, 甲醇经过 0.5 h 的超声提取, 即可将印度獐牙菜的獐牙菜苦苷和龙胆苦苷提取完全, 而采用水或乙醇作为提

取溶剂, 经过 1 h 的超声提取仍不能提取完全。3.2 獐牙菜苦苷和龙胆苦苷是存在于獐牙菜属植物中的主要活性成分, 近年来用于开发保肝类药物较多, 但用 HPLC 法测定印度獐牙菜中獐牙菜苦苷和龙胆苦苷尚未见报道, 本研究建立的 HPLC 检测方法精密度高、重现性好, 杂质干扰少, 样品稳定性和回收率均较高, 是一种理想的测定方法。

3.3 从本试验结果可以看出, 川西獐牙菜中獐牙菜苦苷的量高达 6.314%, 比以往文献报道的都要高^[6], 这可能与生存环境有较大关系, 同时, 獐牙菜苦苷是藏茵陈治疗肝炎的重要有效成分, 因此具有良好的开发前景。

3.4 印度獐牙菜入口味感极苦, 但其獐牙菜苦苷和龙胆苦苷量并不高, 其化学成分和药用价值有待进一步研究。

References:

- [1] Cao C N, Mi Q, Tu L X, et al. Separating of the efficacious composition from *Swertia mussotii* Franch. and determining its bacteriostasi [J]. *J Qinghai Univ* (青海大学学报), 2004, 22(1): 16-18.
- [2] Sun H F, Hu B L. The glucosides from *Swertia mussotii* Franch. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1991, 33(1): 31-37.
- [3] Shi G F, Lu R H, Yang Y C, et al. Studies on chemical constituents of essential oil from *Swertia chirayita* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2004, 24(2): 296-300.
- [4] Qinghai Institute for Drug Control, Qinghai Institute of Drug Research. *Chinese Zang Medicine* (中国藏药志) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1996.
- [5] Pakesh K A. A xathane of *Swertia chirayita* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(3): 1037-1039.
- [6] Lin C P, Ye H H, Lu Y C, et al. Simultaneous determination of four effective components in *Swertia* and its related plants by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2004, 24(5): 502-505.

欢迎订阅《中草药》杂志 2001 年增刊

2001 年第 32 卷增刊为“第三届中中药新药研究与开发信息交流会”会议论文集, 特邀了中国工程院院士、国内十多名专家和中青年学科带头人就加快中药现代化的进程、我国入世后中药产业的发展新对策及西部药用植物资源的保护、开发和利用等撰写综述文章 20 多篇, 另有反映近年来中花化学、药理分析、制剂、药材及临床等方面的科研论文和综述文章 140 多篇。

每本定价 60 元, 另加 5.00 元邮费。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅, 款到寄刊。

编辑部地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号 邮编: 300193 网址: www.tjpr.com

电话: (022) 27474913 23006821 传真: (022) 23006821 E-mail: zcyzjb@tjpr.com