

RP-HPLC 测定宁夏产秦艽中龙胆苦苷的含量

白晓朝¹, 刘利军² (1. 宁夏师范学院化学与化学工程学院, 宁夏固原 756000; 2. 宁夏大学化学化工学院, 宁夏银川 750021)

摘要 [目的] 建立测定宁夏产秦艽中龙胆苦苷含量的方法。[方法] 秦艽经超声提取后, 采用 RP-HPLC 测定宁夏产秦艽中龙胆苦苷的含量。[结果] 宁夏产秦艽中龙胆苦苷的含量均符合药典规定, 属于正品秦艽, 且栽培秦艽中龙胆苦苷的含量高于野生秦艽。[结论] 随着野生秦艽大量被采挖, 目前秦艽市场的供需矛盾日益加剧, 因此进行秦艽的人工种植及栽培研究, 有一定的现实意义。

关键词 RP-HPLC; 秦艽; 龙胆苦苷; 含量

中图分类号 S567.23⁺9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)27-11798-02

Content Determination of Gentiopicroside in *Gentiana macrophylla* Pall. Produced from Ningxia by RP-HPLC

BAI Xiao-chao et al (College of Chemistry and Chemical Engineering, Ningxia Teachers University, Guyuan, Ningxia 756000)

Abstract [Objective] The research aimed to establish the determination method of gentiopicroside content in *Gentiana macrophylla* produced from Ningxia. [Method] After supersonic extraction, the content of gentiopicroside in *G. macrophylla* produced from Ningxia was determined by RP-HPLC. [Result] The content of gentiopicroside in *G. macrophylla* produced from Ningxia accorded with the requirements of Chinese Pharmacopoeia, so *G. macrophylla* produced from Ningxia belonged to the certified product of *G. macrophylla*. The content of gentiopicroside in the cultivated *G. macrophylla* was higher than that in wild *G. macrophylla*. [Conclusion] As a large number of wild *G. macrophylla* were dug, the supply-demand contradiction of *G. macrophylla* markets become more aggravating day by day at present. So the manual planting and cultivation research of *G. macrophylla* has certain realistic significance.

Key words RP-HPLC; *Gentiana macrophylla*; Gentiopicroside; Content

秦艽始载于《神农本草经》, 列为中品, 其味苦、辛平, 性微寒, 归胃、肝、胆经, 有祛风湿、止痹痛、清湿热的功效, 临床上用于风湿痹痛、筋脉拘挛、骨蒸潮热、湿热黄疸等病症, 为祛风湿清热之首药, 风药中之润剂^[1]。最近报道大秦艽汤可治疗急性脑梗塞^[2]、急性缺血性中风^[3]、嵌顿痔^[4]等疾病。秦艽为龙胆科龙胆属秦艽组植物^[5], 中国药典2000版共收录了4种秦艽, 分别为植物秦艽(*Gentiana macrophylla* Pall.)、麻花艽(*Gentiana straminea* Maxim.)、粗茎秦艽(*G. crassicaulis* Duthie ex Burk.)和小秦艽(*G. dahurica* Fisch)的干燥根^[6]。秦艽主要分布于我国东北、华北、西北及西南等省, 前苏联、蒙古也有分布^[7]。宁夏产3种秦艽, 即植物秦艽、麻花艽和小秦艽^[8], 均为我国药典规定之正品秦艽。

近年来, 随着对秦艽药用价值研究的深入, 其需求量进一步增加, 价格上扬, 但由于过度采挖, 致使野生秦艽资源临近濒危状态, 已被列为国家三级重点保护的野生药材^[9]。宁夏区人民早在20世纪80年代就已经开始秦艽的人工驯化研究^[8], 但步伐缓慢。因此, 大量种植和栽培, 变野生为家种来扩大秦艽资源已成为一个急需解决的问题。为此, 笔者采用 RP-HPLC 法对宁夏产3种人工栽培秦艽与野生秦艽中龙胆苦苷的含量进行了测定分析与对比, 该法准确可靠、操作简单易行。

1 试验器材

1.1 材料 野生秦艽、栽培秦艽均采自宁夏境内, 且经宁夏师范学院医学院中药研究室潘怀义教授鉴定; 龙胆苦苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0770-200203, 用归一法标定, 纯度为100%)。

1.2 主要仪器 日东岛津 LC-5A 高效液相色谱仪; HA121-50-01 型超临界萃取器(南通市华安超临界萃取有限公司); SHB 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);

AEP-200 g 电子分析天平(日本岛晶公司); ZQ2K(SY-36) 超声波清洗器(上海声源仪器有限公司); SP-1105spvp 紫外可见分光光度计(上海光谱器材有限公司)。

1.3 试剂 流动相甲醇为色谱纯, 水为去离子水。提取甲醇(分析纯, 西安化学试剂厂); 提取乙醇(分析纯, 西安化试剂厂)。其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果^[10-11]

2.1 色谱条件 色谱柱为 Lichrospher C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(1:2); 流速 1.1 ml/min; 检测波长 254 nm; 柱温室温(25℃); 进样量 10 μl; 理论塔板数按龙胆苦苷计算应不低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取龙胆苦苷对照品 5.3 ng, 置 10 ml 容量瓶中, 加甲醇制成 0.53 ng/ml 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取栽培和野生秦艽研成细粉, 过 40 目筛, 精密称取细粉各约 0.5 g, 加甲醇 20 ml, 加热回流 30 min, 放冷, 过滤, 滤液减压回收至干, 残渣用适量甲醇溶解, 过滤, 移至 50 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀。精密吸取 1 ml 于 5 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察 精密吸取对照品溶液 1、2、4、6、8、10 μl, 按“2.1”项色谱条件进样, 记录峰面积。以龙胆苦苷峰面积 A 为纵坐标, 进样量 X 为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程: $A = 2.14 \times 10^5 X - 6.50 \times 10^3$ ($r = 0.9994$), 线性范围为 0.52 ~ 5.40 μg。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μl, 连续进样 5 次, 以色谱峰面积计算得 RSD = 1.18%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号样品细粉 5 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 按“2.3”步骤操作测定, 测得龙胆苦苷的平均含量为 10.82%, RSD = 2.23%, 表明分析方法精密度良好。

2.7 回收率试验 采用加样回收法, 取同一批号样品 5 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 分别精密加入龙胆苦苷对照品适量, 按“2.3”步骤操作测定, 计算回收率(表1)。

基金项目 宁夏师范学院资助项目(2006NSY132001); 宁夏教育厅资助项目(2007NJG292015)。

作者简介 白晓朝(1967-), 男, 陕西吴堡人, 硕士, 副教授, 从事分析化学及天然产物提纯与分析的教学、科研工作。

收稿日期 2008-08-25

表1 回收率试验的结果

Table 1 The results of recovery test

样品含量 ng Sample content	加入量 ng Addition	测定量 ng Determined amount	回收率 % Recovery
53.25	11.30	64.10	96.02
52.30	11.20	63.35	98.66
53.20	11.10	64.05	97.75
52.40	11.30	63.40	97.35
52.45	11.20	63.55	99.11

注:平均回收率为97.78%,精密为1.23%。

Nte: The average recovery is 97.78% and the precision is 1.23%.

2.8 稳定性试验 取龙胆苦苷对照品溶液,配制后,分别于1、3、5、7、9、11、12 h 进行测定,结果表明,在12 h 内比较稳定。

2.9 样品测定 分别精密吸取对照品及供试品溶液各10 μl,按“2.1”项色谱条件测定,以外标法计算样品中龙胆苦苷的含量(表2)。

表2 野生和栽培秦艽中龙胆苦苷的含量 (n=5)

Table 2 The content of gentioproside in wild and cultivated *Gentiana macrophylla* Pall. (n=5)

样品 Samples	产(栽培)地 Producing (cultivation) area	品种 Cultivar	生长年 限 a Growth years	含量 % Content	精密度 % Precision
野生 Wild	九华山 Juhua Mountain	植物秦艽	2~5	12.35	0.87
		麻花秦艽		13.25	0.98
		小秦艽		11.65	1.23
	六盘山 Liupan Mountain	植物秦艽		13.15	0.65
		麻花秦艽		13.44	0.74
		小秦艽		12.03	1.02
栽培 Cultivated	九华山 Juhua Mountain	植物秦艽	1	13.78	0.82
			2	16.30	1.26
			3	15.14	2.03
	六盘山 Liupan Mountain	麻花秦艽	1	16.24	1.31
			2	17.05	0.96
		小秦艽	2	14.38	2.04
		3	14.16	1.87	

注:采集时间均为秋季。

Nte: The acquisition time are all autumn.

3 讨论

龙胆苦苷是中药秦艽中所含的主要药效成分,其含量高

(上接第11728页)

业或人文节点配景项目,标志性单体的形象设计和功能策划(标志性单体最好要附效果图)。“五朵金花”5大功能区的主题,策划不同的花卉(蔬菜)产业项目、花卉(蔬菜)科技设施、花卉(蔬菜)文化设施、花卉(蔬菜)雕塑和建筑小品、牌坊标识等建设项目,策划农居“穿衣带帽”改造方案,打造与各自主题相匹配的自然和人文环境。

(7) 旅游要素策划:交通策划,旅游服务策划,住宿业策划,餐饮业策划,娱乐策划,旅游商品和农产品购物策划。“五朵金花”定位是市区居民休闲、棋牌娱乐、餐饮和节庆活动,市外游客的旅游观光、参观考察,不需要导游、住宿、旅游购物服务,仅对交通、餐饮、娱乐进行基本策划。

(8) 建设分期和动态开发:总体建设期限,各功能区和重点项目建设步骤和开放时间,功能区间、重点项目间的时空衔接方案。“五朵金花”建设期为3年,分别在5个村分步建成。开放时间为花卉花开、蔬菜采摘季节一致。

(9) 营销策略与促销方案:品牌策划,宣传策划,促销

低直接影响中药材的质量。《中华人民共和国药典》2000年版规定,秦艽中龙胆苦苷的含量不得少于2%^[5]。试验检测表明,宁夏区野生和栽培秦艽中龙胆苦苷含量均符合药典规定,且栽培秦艽含量高于野生秦艽。

试验还表明,秦艽中龙胆苦苷含量高低与当地气候条件及生长期有关。相对海拔低、气候湿润的六盘山区,适合于中药材生长,栽培的中药材质量较好,栽培的秦艽中龙胆苦苷的含量较高,其质量优于野生秦艽。2年生栽培秦艽中龙胆苦苷的含量最高,建议宁夏六盘山区人工栽培秦艽时生长年限以2年最合适。

秦艽作为一种重要的传统中药,其开发利用尚处于起步阶段。相信随着对其药理作用的深入研究,将会有更多以秦艽为原材料的药品涌入市场。所以研究其现代化人工栽培途径,为解决目前供需矛盾有一定的现实意义。该研究为评价野生及栽培秦艽的质量、开发利用秦艽资源和确保人工种植的品质,提供了理论根据。

参考文献

- [1] 黄爽辑. 神农本草经 M. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 5.
- [2] 屈小元, 赵恒芳. 大秦艽汤化裁治疗急性脑梗塞42例[J]. 陕西中医, 2005, 26(11): 1155-1156.
- [3] 屈小元, 赵恒芳. 大秦艽汤加减治疗急性缺血性中风30例[J]. 陕西中医, 2006, 27(7): 807-808.
- [4] 高春波. 防风秦艽汤治疗嵌顿痔42例[J]. 陕西中医, 2007, 28(12): 1636-1637.
- [5] 夏光成, 萧培根. 中药秦艽原植物的研究[J]. 药学学报, 1995(6): 399.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 M. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [7] 中科院西北植物研究所. 秦岭植物志(第1卷), 种植植物(第4册) [M]. 北京: 科学出版社, 1983: 112.
- [8] 邢世瑞. 宁夏中药资源 M. 银川: 宁夏人民出版社, 1987: 101.
- [9] 张恩迪, 郑汉臣. 中国濒危野生药用动植物资源的保护 M. 上海: 第二军医大学出版社, 2000: 28.
- [10] 刘丽莎, 张西玲, 黄晓萍. 栽培和野生秦艽及麻花秦艽中龙胆苦苷的含量测定[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(2): 152.
- [11] HULS, ZHANGXL, HOUTD. Comparative study on the quality of cultivated and wild *Gentiana* and *Gentiana straminea* Maxim [J]. Chinese Herbal Medicines, 2002, 25(4): 231.

策划。

(10) 投资估算和资金筹措: 建设资金、流动资金估测(附有一分区、分项目投资概算表), 资金筹措方案, 招商策划。

(11) 经济效益和社会效益预测: 直接经济效益(附按功能区、按赢利项目的效益预测表), 社会效益(城乡就业、农民增收、土地增值、区域经济开发、相关产业带动、人才培养等), 生态效益(农村环境改善、污染治理)和环境评价。

(12) 风险评估和对策措施: 自然灾害风险, 市场竞争风险, 政策变化风险, 规避风险的对策和措施。

(13) 管理体制和保障机制: 项目管理体制, 管理组织架构, 人才保障, 项目推进机制和组织保障(政府、投资企业), 政府政策建议。

参考文献

- [1] 郭焕成, 郑健雄. 海峡两岸观光休闲农业与乡村旅游发展 M. 徐州: 中国矿业大学出版社, 2004: 29-37.
- [2] 王云力. 乡村景观旅游规划设计的理论与实践 M. 北京: 科学出版社, 2001: 62-71.
- [3] 吴人韦, 杨建辉. 农业园区规划思路与方法研究[J]. 城市规划汇刊, 2004(1): 53-56.