

# 宁夏产秦艽中龙胆苦苷分布状态研究

白晓朝 (宁夏师范学院化学与化学工程学院, 宁夏固原 756000)

**摘要** [目的] 研究宁夏产秦艽中龙胆苦苷的分布状态。[方法] 采用 RP-HPLC 测定宁夏产 3 种秦艽不同部位中龙胆苦苷的含量。[结果] 根部龙胆苦苷的含量高于地上其他部位, 而且秦艽最高, 麻花秦艽次之, 小秦艽最低; 部分秦艽的花、叶或茎所含的龙胆苦苷超过中国药典 2% 的要求。[结论] 考虑开发利用秦艽的地上资源。

**关键词** 秦艽; 龙胆苦苷; 含量测定; RP-HPLC

中图分类号 S567.23+9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)17-07983-01

## Study on the Distribution State of Gentiopicroside in *Gentiana macrophylla* from Ningxia

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

**Abstract** [Objective] The research aimed to study the distribution state of gentiopicroside in *Gentiana macrophylla* from Ningxia. [Method] The gentiopicroside in different parts of three kinds of *Gentiana* were determined by using RP-HPLC. [Result] The content of gentiopicroside in root was higher than other aerial parts. The content of gentiopicroside in *Gentiana macrophylla* Pall. was highest, followed by *Gentiana straminea* Maxim., and that in *G. dahurica* Fisch. was lowest. The content of gentiopicroside in some flowers, leaves or stems of gentiana was more than the standard (2%) of China Pharmacopoeia. [Conclusion] The aerial resources of *Gentiana* should be exploited.

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

秦艽(*Gentiana*)为龙胆科龙胆属秦艽组植物<sup>[1]</sup>的干燥根<sup>[2]</sup>,是临床上用于风湿痹痛、筋脉拘挛、骨蒸潮热、湿热黄疸、小便不利等病症的常用中药<sup>[3]</sup>。宁夏产 3 种秦艽,即秦艽、麻花秦艽和小秦艽<sup>[4]</sup>,均为我国药典规定之正品秦艽。笔者以秦艽中的药效成分龙胆苦苷的含量为指标,采用 RP-HPLC 对宁夏产 3 种秦艽的根、茎、叶、花中龙胆苦苷含量进行测定,为全面了解宁夏产秦艽中龙胆苦苷的分布情况提供理论依据,为开发并利用宁夏中药材秦艽资源提供参考。

## 1 材料与方 法

**1.1 仪器与试剂** LG5A 高效液相色谱仪(日东岛津); HA121-50-01 型超临界萃取器(南通市华安超临界萃取有限公司); KQ250D 分体式超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); Gold S54 紫外-可见分光光度计(上海棱光科学器材有限公司)。

秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall (固原市药材公司,鉴定人潘怀义教授); 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%)。流动相甲醇为色谱纯;提取水为去离子水。其余试剂均为分析纯。

## 1.2 试验方法<sup>[5]</sup>

**1.2.1 色谱条件。**色谱柱为 Lichrospher C<sub>18</sub>(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。

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

**1.2.3 供试品溶液的制备。**取栽培和野生秦艽研成细粉, 过 40 目筛, 精密称取各细粉约 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。

**1.2.4 线性关系的考察。**精密吸取对照品溶液 1、2、4、6、8、10 μl, 按上面“1.2.1”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 0.53 ~ 5.30 μg。

**1.2.5 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%, 表明仪器的精密度良好。

**1.2.6 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, 按上述“1.2.3”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。

**1.2.7 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, 按上述“1.2.3”步骤操作测定, 平均回收率 (n = 5) 为 97.95%, RSD = 1.08%。说明该方法测定结果准确。

**1.2.8 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。

表 1 秦艽不同部位龙胆苦苷的含量 (n = 5)

Table 1 The content of gentiopicroside in different parts of gentiana (n = 5)

品名	部位	含量 %	RSD
Name of species	Part	Content	%
秦艽	根	15.26	0.82
<i>Gentiana macrophylla</i> Pall.	茎	4.42	1.22
	叶	4.36	1.35
	花	5.10	0.98
麻花秦艽	根	14.87	1.56
<i>Gentiana macrophylla</i> Maxim.	茎	2.35	2.01
	叶	3.24	1.62
	花	4.22	0.87
小秦艽	根	11.23	2.11
<i>Gentiana dahurica</i> Fisch.	茎	2.03	1.36
	叶	1.46	0.95
	花	2.79	0.86

注: 试验用秦艽均为 3 年生、秋季采集。

Note: The tested gentiana are all three years old and collected in the autumn.

基金项目 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, 从事天然产物提纯与分离的教学和科研工作。

收稿日期 2009-03-09

(下转第 7985 页)

根样品粉末约0.5 g,加甲醇20 ml,在恒温磁力搅拌器上加热回流30 min,冷却,过滤,转移至50 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀;精密量取1 ml,置5 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过0.45 μm滤膜备用。

**1.2.3.3 超声法提取秦艽中龙胆苦苷。**取麻花秦艽根样品粉末约0.5 g,放入100 ml具塞三角瓶中,加甲醇20 ml,在超声清洗仪中超声30 min,冷却,过滤,转移至50 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀;精密量取1 ml,置5 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过0.45 μm滤膜备用。

**1.2.3.4 冷浸提取法提取秦艽中龙胆苦苷。**取麻花秦艽根样品粉末约0.5 g,放入100 ml具塞三角瓶中,加甲醇20 ml,放置12 h,过滤,转移至50 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀;精密量取1 ml,置5 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过0.45 μm滤膜备用。

## 2 结果与分析

**2.1 标准曲线及线性范围** 分别精密吸取龙胆苦苷对照品溶液6、8、10、12、14 μl,在上述色谱条件下依次进样,以进样溶液中对照品的质量(X)为横坐标,标准品峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得到龙胆苦苷的回归方程为:  $Y = 4\,972\,470.0X - 96\,340.8 (r = 0.9991)$ 。龙胆苦苷在0.9~2.1 μg范围内呈良好的线性关系。

**2.2 精密度试验** 精密吸取对照品溶液10 μl,按“1.2.1”色谱条件测定5次,结果龙胆苦苷峰面积的RSD值为1.08%,表明仪器精密度良好。

**2.3 稳定性试验** 精密称取麻花秦艽根样品粉末0.5 g,按上述方法制备供试溶液,分别于0、2、4、6、8 h在上述色谱条件下进样10 μl,结果龙胆苦苷峰面积的RSD值为1.43%,表明样品在8 h内稳定。

**2.4 重复性试验** 精密称取麻花秦艽根样品粉末0.5 g,按上述样品溶液的制备方法和测定条件,重复测定5份,结果龙胆苦苷峰面积的RSD值为1.52%,表明重复性良好。

**2.5 加样回收率试验** 称取已知龙胆苦苷含量的麻花秦艽根样品粉末5份,每份约0.5 g,加入对照品储备液1.0 ml,制备样品溶液。精密吸取10 μl进样分析(n=3),结果平均回收率为97.6%,RSD值为1.02%。

(上接第7983页)

## 2 结果与分析

不同部位的秦艽样品按“1.2.3”项操作制备成供试液,按“1.2.1”项色谱条件进行测定,以外标法计算样品中龙胆苦苷的含量,测定结果见表1。

## 3 结论

(1) 测定结果表明(表1),宁夏产秦艽中龙胆苦苷的含量秦艽最高,麻花秦艽次之,小秦艽最低。且龙胆苦苷主要分布在根部,其次为花,叶和茎最少。

(2) 秦艽药用部位为根,但部分宁夏产秦艽的花、叶和茎中龙胆苦苷的含量也能满足中国药典2%的要求,故可考

**2.6 样品含量的测定** 取4种不同方法制备的供试品溶液,分别进样10 μl,测定龙胆苦苷含量(n=5),取5次测定的平均值,结果采用静态热回流提取、动态热回流提取、超声提取、冷浸提取法提取的龙胆苦苷含量分别为9.24%、10.45%、9.52%、5.32%。

## 3 讨论

(1) 笔者通过建立高效液相色谱法研究不同提取方法(静态热回流提取、动态热回流提取、超声提取、冷浸提取)对秦艽中龙胆苦苷提取率的影响。结果表明:动态热回流法的提取效率最高,超声提取法次之,冷浸提取法最低。该试验首次采用动态热回流提取法提取秦艽中龙胆苦苷,结果表明,动态热回流提取有利于提高秦艽中龙胆苦苷的提取率。笔者还比较了不同溶剂(水、乙醇、甲醇)对秦艽中龙胆苦苷提取率的影响,结果表明,甲醇的提取效率最高,故采用甲醇作为提取溶剂。

(2) 笔者结合相关文献,通过采用不同比例的甲醇/水(V/V=1/4、3/7)为流动相进行试验,确定流动相为甲醇/水(V/V=3/7),样品中龙胆苦苷峰形尖锐,分离效果好,且出峰时间较合适,利于节省时间。

(3) 提取龙胆苦苷样品时,要尽可能远离有NH<sub>3</sub>的环境,特别是龙胆苦苷的水溶液更应远离NH<sub>3</sub>,因为有NH<sub>3</sub>和H<sub>2</sub>O存在时,龙胆苦苷极易转化为秦艽甲素<sup>[8]</sup>。

## 参考文献

- [1] 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, 2005.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 现代实用本草[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 579.
- [3] 刘艳红, 李兴从, 刘玉清, 等. 秦艽中的环烯醚萜苷成分[J]. 云南植物研究, 1994, 16(1): 85.
- [4] 张勇, 蒋家雄, 李文明. 龙胆苦苷药理研究进展[J]. 云南医药, 1991, 12(5): 304-306.
- [5] 徐丽华, 徐强. 龙胆对实验性肝损伤的影响[J]. 中药药理与临床, 1994, 10(3): 20-22.
- [6] 刘占文, 陈长勋, 金若敏, 等. 龙胆苦苷的保肝作用研究[J]. 中草药, 2002, 33(1): 47-50.
- [7] 刘涛, 才谦, 付玉芹. 中药龙胆的研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(1): 85-86.
- [8] BAGHIKIAN B, OLIVER E, FAURE R, et al. Two new pyridine nonterpene alkaloids by chemical conversion of a commercial extract of *Harpagophytum procumbens*[J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 211-213.

考虑采用花、叶、茎与根一同入药,既可扩大药源,又可以保护临近濒危枯竭的秦艽资源。

(3) 该试验还发现,秦艽中龙胆苦苷的含量与多种因素有关,如产地、不同部位、采集季节、生长年限等。关于龙胆苦苷含量随诸多因素的变化规律有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 夏光成, 萧培根, 马毓泉. 中药秦艽原植物的研究[J]. 药学学报, 1965(6): 399.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部2000年版[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 222.
- [3] 黄爽辑. 神农本草经[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 5.
- [4] 邢世瑞. 宁夏中药资源[M]. 银川: 宁夏人民出版社, 1987: 101.
- [5] 白晓朝. RP-HPLC测定宁夏产秦艽中龙胆苦苷的含量[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(27): 11798-11799.