

# 不同产地麻花秦艽中 5 种环烯醚萜苷成分的含量比较

王爽<sup>1</sup>, 董红娇<sup>1</sup>, 王长生<sup>1</sup>, 刘海萍<sup>2</sup>, 曾锐<sup>1\*</sup>

(1. 西南民族大学民族医药研究院, 成都 610041;

2. 四川省自然资源科学研究院, 成都 610015)

**[摘要]** **目的:**建立 HPLC 同时测定麻花秦艽中马钱苷酸、龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷、山梔苷甲酯含量的方法。**方法:**采用 Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.05% 磷酸水梯度洗脱, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 检测波长 240 nm。**结果:**以上 5 种环烯醚萜类成分的线性范围分别为 0.042 1 ~ 8.420 0 ( $r=0.999\ 7$ ), 0.094 2 ~ 18.830 0 ( $r=1.000\ 0$ ), 0.012 4 ~ 2.471 2 ( $r=0.999\ 9$ ), 0.009 9 ~ 1.971 2 ( $r=1.000\ 0$ ), 0.011 3 ~ 2.260 0 μg ( $r=0.999\ 0$ ), 平均回收率均在 95.39% ~ 103.75%, RSD ≤ 2.6%。**结论:**该法简便、快速、准确, 可以用来同时测定麻花秦艽中 5 种环烯醚萜苷成分的含量。

**[关键词]** 高效液相色谱; 麻花秦艽; 马钱苷酸; 龙胆苦苷; 獐牙菜苦苷; 獐牙菜苷; 山梔苷甲酯

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)08-0077-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015080077

**Comparative Analysis of Content of Five Iridoid Glucosides in *Gentiana straminea* Radix from Different Producing Areas** WANG Shuang<sup>1</sup>, DONG Hong-jiao<sup>1</sup>, WANG Chang-sheng<sup>1</sup>, LIU Hai-ping<sup>2</sup>, ZENG Rui<sup>1\*</sup>  
(1. *Ethnic Medicine Institute of Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China*; 2. *Sichuan Province Natural Resources Science Academy, Chengdu 610015, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC method for the determination of loganic acid, gentiopicroside, swertiamarin, sweroside, shanzhiside methylester in *Gentiana straminea*. **Method:** The assay was performed on a Diamonsil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) eluted with acetonitrile-0.05% phosphoric. The detection wavelength was 240 nm, the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the column temperature was set at 30 °C. **Result:** The calibration curves were linear in the ranges of 0.042 1-8.420 0 μg ( $r=0.999\ 7$ ) for loganic acid, 0.094 2-18.830 0 μg ( $r=1.000\ 0$ ) for gentiopicroside, 0.012 4-2.471 2 μg ( $r=0.999\ 9$ ) for swertiamarin, 0.009 9-1.971 2 μg ( $r=1.000\ 0$ ) for sweroside, 0.011 3-2.260 0 μg ( $r=0.999\ 0$ ) for shanzhiside methylester. The average recoveries were 95.39% -103.75% (RSD ≤ 2.6%). **Conclusion:** The method is simple and accurate for the quality control of *G. straminea* Radix.

**[Key words]** HPLC; *Gentiana straminea* Radix; ioganic acid; gentiopicroside; swertiamarin; sweroside; shanzhiside methylester

麻花秦艽主治风湿痹痛、中风半身不遂、筋脉拘挛等<sup>[1]</sup>, 被列为我国的三级保护药材。由于野生麻花秦艽的数量不断减少, 近年其价格呈上升趋势, 各地品种混用的现象突出<sup>[2]</sup>。目前秦艽的质量控制研究中, 已有 HPLC 测定秦艽中龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷和 6'-O-β-D-葡萄糖基龙

胆苦苷 5 种环烯醚萜苷成分的报道<sup>[3]</sup>, 以及 HPLC 测定萝卜秦艽中 sesamside, 山梔苷甲酯, dehydropentstemoside 和 8-乙酰基山梔苷甲酯 4 种环烯醚萜苷成分的报道<sup>[4]</sup>。2010 年版《中国药典》对龙胆苦苷和马钱苷酸的药材进行了质量评价, 本研究以具有抑制 FMLP 诱导产生的超氧化物

**[收稿日期]** 20140925(002)

**[基金项目]** 中央高校基本科研专项重点项目(11NZD02); 四川省科技厅基础研究项目(2015JY0009); 西南民族大学研究生创新型科研项目(CX2014SZ50)

**[第一作者]** 王爽, 在读硕士, 从事药物制剂及民族药资源的研究, Tel:13699498163, E-mail:wangshuang\_365@yeah.net

**[通讯作者]** \*曾锐, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事药物制剂及民族药资源的研究, Tel:13981910281, E-mail:412076737@qq.com

生成作用的獐牙菜苦苷和獐牙菜苷为指标<sup>[5]</sup>,以及抑制 SARS 冠状病毒主蛋白酶活性作用的环烯醚萜苷山梔苷甲酯为指标<sup>[6]</sup>,测定了不同产地的麻花秦艽的含量,为建立其质控方法提供科学参考。

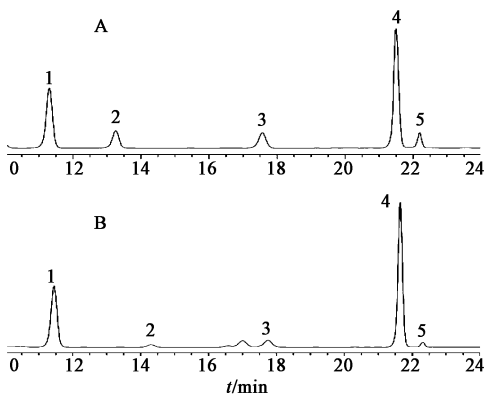
## 1 材料

2695/2996 型高效液相色谱仪(包括真空脱气机、四元泵、柱温箱、自动进样器,2996 PDA 检测器,Empower 化学工作站,美国 Waters 公司),Mettler AE240 型电子分析天平(上海一恒科学仪器有限公司)。

麻花秦艽经西南民族大学青藏高原研究院刘圆教授鉴定为龙胆科植物麻花秦艽 *Gentiana straminea* 的干燥根。乙腈为色谱纯(迪马科技),纯净水(乐百氏饮用水有限公司),其余试剂均为分析纯。龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷、山梔苷甲酯对照品(批号分别为 130416, 121220, 130401, 130401, 120906)均购自四川维克奇生物科技有限公司,供含量测定用。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05% 磷酸水梯度洗脱(0 ~ 15 min, 8% ~ 11% A; 15 ~ 18 min, 11% ~ 15% A; 18 ~ 23 min, 15% ~ 20% A; 23 ~ 30 min, 20% ~ 26% A),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,检测波长 240 nm,各成分分离度良好<sup>[7]</sup>。见图 1。



A. 混合对照品; B. 样品; 1. 马钱苷酸; 2. 山梔苷甲酯; 3. 獐牙菜苦苷; 4. 龙胆苦苷; 5. 獐牙菜苷

图1 麻花秦艽 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of *Gentiana straminea* Radix

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液** 精密称定龙胆苦苷、马钱苷酸、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷、山梔苷甲酯适量,加甲醇制成质量浓度分别为 1.883, 0.842, 0.247, 0.197,

0.226 g·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.2.2 供试品溶液** 取麻花秦艽药材粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,置于 50 mL 锥形瓶中,准确加入甲醇 20 mL,称重,超声处理 30 min,放冷,补足质量,摇匀,滤过,即得。

**2.3 线性关系考察** 精密吸取上述混合对照品溶液 0.5, 1, 3, 5, 7, 10 mL 于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,混匀,分别吸取上述各溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪,记录峰面积,以进样量(μg)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,计算回归方程,分别为马钱苷酸  $Y = 1.5 \times 10^7 X + 1.99 \times 10^5$  ( $r = 0.9997$ ),线性范围 0.042 1 ~ 8.420 0 μg; 山梔苷甲酯  $Y = 1.7 \times 10^6 X + 6.9 \times 10^3$  ( $r = 0.9990$ ),线性范围 0.011 3 ~ 2.260 0 μg; 獐牙菜苦苷  $Y = 1.4 \times 10^6 X + 2.00 \times 10^4$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 0.012 4 ~ 2.471 2 μg; 龙胆苦苷  $Y = 1.3 \times 10^6 X + 1.26 \times 10^5$  ( $r = 1.0000$ ),线性范围 0.094 2 ~ 18.830 0 μg; 獐牙菜苷  $Y = 1.1 \times 10^6 X + 7.4 \times 10^3$  ( $r = 1.0000$ ),线性范围 0.009 9 ~ 1.971 2 μg。

**2.4 精密度试验** 精密吸取混合对照品溶液,按上述色谱条件连续进样 6 次,结果马钱苷酸、山梔苷甲酯、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、獐牙菜苷峰面积 RSD 分别为 0.3%, 0.4%, 0.2%, 0.6%, 0.2%, 表明仪器精密度良好。

**2.5 稳定性试验** 精密吸取同一份供试品溶液(M9),分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 注入液相色谱,测定峰面积,结果马钱苷酸、山梔苷甲酯、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、獐牙菜苷含量的 RSD 分别为 2.7%, 1.2%, 2.0%, 0.7%, 1.1%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.6 重复性试验** 取同一批药材粉末(M9),按 2.2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,精密称定,在上述色谱条件下注入液相色谱仪,测定,结果马钱苷酸、山梔苷甲酯、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、獐牙菜苷含量的 RSD 分别为 2.4%, 2.8%, 2.8%, 2.3%, 1.8%, 表明该方法重复性良好。

**2.7 加样回收率试验** 精密称定已知含量的同一批药材(M9)约 0.25 g 6 份,精密加入山梔苷甲酯、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷、马钱苷酸、龙胆苦苷对照品溶液适量,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,依选定色谱条件进行测定,结果见表 1。

**2.8 样品含量测定** 取不同产地麻花秦艽粉末,按 2.2.2 项下制备供试品溶液,在上述色谱条件下进

表 1 麻花秦艽中 5 种成分加样回收率试验 (n = 6)

Table 1 Sample recovery of five contents in *Gentiana straminea* (n = 6)

成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
马钱苷酸	1.530	1.320	2.450	98.28	1.7
山梔苷甲酯	0.196	0.230	0.419	97.33	1.3
獐牙菜苦苷	0.924	0.990	1.919	100.57	2.4
龙胆苦苷	11.391	11.410	22.806	100.04	2.4
獐牙菜苷	0.301	0.310	0.604	97.90	2.6

表 2 麻花秦艽样品中 5 种成分的含量测定 (n = 3)

Table 2 Quantitative determination of five contents in *Gentiana straminea* (n = 3)

来源	编号	马钱苷酸	山梔苷甲酯	獐牙菜苦苷	龙胆苦苷	獐牙菜苷
甘肃陇南县	M1	19.067 8	0.998 0	3.435 6	41.068 3	1.458 6
甘肃舟曲县	M2	4.079 1	1.076 0	3.633 6	71.260 9	0.853 3
甘肃天水县	M3	7.331 3	0.205 1	3.771 6	73.673 7	0.430 8
西藏自治区曲水县	M4	20.852 5	0.386 1	2.580 0	41.652 2	0.691 6
西藏自治区林芝地区	M5	18.385 2	0.852 7	3.095 2	42.335 6	0.454 2
西藏自治区昌都市	M6	16.486 0	0.267 2	3.147 2	36.868 6	0.391 6
四川黑水县	M7	19.617 3	0.173 2	2.707 3	52.922 5	0.464 4
四川卡龙镇	M8	4.388 6	1.109 6	3.483 7	66.516 0	0.904 0
四川马尔康县	M9	4.232 5	0.709 4	3.500 7	41.490 5	1.131 9
四川阿坝县	M10	9.0953	1.0308	3.9273	54.2647	4.868 8
四川红原县	M11	17.160 1	0.405 0	2.959 9	42.070 1	0.727 8
四川北川县	M12	10.962 5	1.877 8	2.688 1	34.186 1	0.863 6
四川广元县	M13	2.188 1	0.615 4	2.591 9	29.994 5	1.261 1
贵州遵义市	M14	2.796 6	1.459 8	1.048 4	16.361 0	0.749 4
贵州新舟镇	M15	6.203 8	0.500 5	0.275 0	3.581 1	0.477 4
河北漯河市	M16	2.212 6	0.622 8	0.297 9	4.713 4	0.317 7
内蒙古自治区	M17	1.676 1	0.232 7	0.296 6	4.878 4	0.188 7
安徽亳州市	M18	0.767 8	0.416 5	0.096 1	1.637 4	0.284 4

流动相优选时分别考察了甲醇-水、甲醇-磷酸水、乙腈-水、乙腈-磷酸水系统等,结果为乙腈-0.05%磷酸水为流动相,样品峰分离度好。供试品制备时比较甲醇超声和回流提取方法,结果表明以甲醇超声提取 30 min 提取率最佳。

样品测定结果表明,5 种指标成分在不同产地的麻花秦艽中的含量差异较大,尤其龙胆苦苷含量甘肃天水是安徽亳州的 45 倍。李佳峰<sup>[8]</sup>研究秦艽根部龙胆苦苷的积累与土壤中有效 Fe 绝对和相对含量、速效 N 和速效 P 绝对含量呈正相关,与 pH 呈负相关,研究甘肃、陕西、四川的秦艽根部龙胆苦苷

样测定,每批样品测定 3 份。结果见表 2。

### 3 讨论

随着麻花秦艽药材临床应用与日俱增,野生品和栽培品的产量已不能满足医疗需要,市场上出现鱼目混珠现象,严重影响了其临床疗效。建立并提高本药材的质量控制方法具有十分重要的学术价值和临床意义。

本研究采用 PDA 检测器进行全波长扫描 (210 ~ 400 nm),结果表明测定波长为 240 nm 时,5 种环烯醚萜苷均有较强吸收,且杂质成分干扰最少。

含量较高,与本文基本一致。表明麻花秦艽的栽培环境土壤状况对其主要成分龙胆苦苷含量的影响很大,作为秦艽的有效成分,其种类及量不同活性亦不同,对其进行栽培种植,需要选择合适的地域。

《中国药典》2010 年版规定秦艽中龙胆苦苷和马钱苷酸总量不得少于 2.5%,本试验研究表明,甘肃、西藏和四川麻花秦艽质量均高于药典要求。且龙胆苦苷为秦艽的主要指标成分,其含量多高于其他 4 种环烯醚萜苷(山梔苷甲酯、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷)一到两个数量级,其次为马钱苷酸,可以看出样品中基本含量为龙胆苦苷 > 马钱苷酸 > 獐牙菜

苦苣 > 獐牙菜苣 > 山梔子苣甲酯,这与文献报道结果一致<sup>[9]</sup>。与曹晓燕<sup>[2]</sup>等研究比较龙胆苦苣、马钱苣酸和獐牙菜苣含量普遍偏高,但獐牙菜苦苣含量偏低,这可能与野生样品生长的气候条件或土壤环境有直接关系。该试验对麻花秦艽的鉴别和质量评价具有重要的意义,并对该药材的进一步研究、开发、利用和质量标准的制定提供了一定的理论依据和科学参考。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:253.  
[2] 曹晓燕. 秦艽种植资源研究[D]. 西安:陕西师范大学,2010.  
[3] 吴靳荣,吴立宏,赵志礼,等. 中药秦艽和习用品中5种环烯醚萜类成分的 HPLC 含量测定[J]. 中国中药杂志,2014,39(4):715-720.  
[4] 余振喜,王钢力,林瑞超. HPLC 法同时测定萝卜秦艽

中4种环烯醚萜苷的含量[J]. 中药材,2008,31(12):1836-1838.

[5] Wei S, Cheng G, He W, et al. Inhibitory effects of secoiridoids from the roots of *Gentiana straminea* on stimulus-induced superoxide generation, phosphorylation and translocation of cytosolic compounds to plasma membrane in human neutrophils [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(2):168-173.  
[6] 冯金磊,王波,牛国君,等. 具有 SARS 冠状病毒主蛋白酶抑制活性的秦艽有效成分研究[C]. 成都:中国化学会第28届学术年会,2012.  
[7] 刘海萍. 秦艽的质量评价研究[D]. 成都:西南民族大学,2012.  
[8] 李佳峰. 秦艽及近缘种龙胆苦苣积累与环境因子相关性的研究[D]. 西安:西北大学,2014.  
[9] 曹晓燕,王吉之. 云南粗茎秦艽不同采收期4种环烯醚萜苷类成分的测定[J]. 药物分析杂志,2010,30(4):623-625.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国当代医药》杂志  
欢迎订阅 欢迎投稿

《中国当代医药》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管,中国保健协会、当代创新(北京)医药科学研究院主办的医药卫生专业期刊,本刊已被美国化学文摘(CA)数据库、万方数据数字化期刊群、中国核心期刊(遴选)数据库、中国知网、中国学术期刊网络出版总库、中文科技期刊数据库全文收录,系中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。现为旬刊,国内刊号:CN11-5786/R,国际刊号:ISSN 1674-4721,邮发代号:2-515,定价:每期20元,通过本刊发行部订阅全年36期杂志优惠价为540元。

主要栏目:综述、论著、实验研究、临床研究、药理与毒理、药品鉴定、药物与临床、新药评价、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、中医中药、护理研究、制剂与技术、医药教育、调查研究、工作探讨等50多个栏目。对省、部级以上部门立项的科研论文以及本刊订户的论文予以优先刊登。本刊订户凭订阅单复印件投稿,同等条件优先录用。欢迎各医药单位、院校、厂家刊登广告。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-602 邮编:100025  
投稿热线:010-59679076 59679077 发行热线:010-59679533 传真:010-59679056  
投稿邮箱:ddy@vip.163.com 网址:www.dangdaiyiyao.com