

# 尖叶假龙胆中 norswertianolin 的含量测定

郭国栋, 张佳, 杨丹, 王振旺, 李旻辉\*

(内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014060)

**[摘要]** 目的: 利用反相高效液相色谱法对尖叶假龙胆中 norswertianolin 成分进行含量测定。方法: 采用 Shim-pack VP-ODS-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B) (80:20), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 °C, 紫外检测波长 254 nm。结果: 尖叶假龙胆中 norswertianolin 在 9.6 ~ 192 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好 ( $r = 0.9995$ ); 仪器精密度 RSD 0.67% ( $n = 6$ ); 方法重复性 RSD 1.88% ( $n = 6$ ); 样品在 12 h 内稳定; 平均回收率为 99.8% (RSD 1.31%)。结论: 本法快速、准确、重复性好, 可用于蒙药尖叶假龙胆中 norswertianolin 成分的含量测定。

**[关键词]** 高效液相色谱法; 尖叶假龙胆; 吡酮; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0069-03

## Determination of the Norswertianolin in *Gentianella acuta*

WU Guo-dong, ZHANG Jia, YANG Dan, WANG Zhen-wang, LI Min-hui\*

(Baotou Medical College Baotou Inner Mongolia, Baotou 014060, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine norswertianolin of *Gentianella acuta* by reverse-phase HPLC method. **Method:** The determination of norswertianolin was performed on a shim-pack VP-ODS-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm). The mobile phase was 0.1% phosphoric acid solution (A) -acetonitrile (B) (80:20). The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. Ultraviolet absorption detector was set at 254 nm and column temperature at 25 °C. Norswertianolin of *G. acuta* was separated well. **Result:** The result indicated that the linear range of norswertianolin of *G. acuta* was between 9.6-192 mg·L<sup>-1</sup> ( $r = 0.9995$ ); the relative standard deviations of instrument precision was 0.67% ( $n = 6$ ); the relative standard deviations of method reproducibility was 1.88% ( $n = 6$ ); the relative standard deviations for stability was 1.68%; the average recovery was 99.8% ( $n = 6$ ). **Conclusion:** The results indicated that this developed assay method was rapid, accurate, and reliable and could be readily used as a quality control method for the norswertianolin.

**[Key words]** HPLC; *Gentianella acuta*; xanthone; determination

尖叶假龙胆广泛分布于我国的河北、东北、内蒙古、山西、山东等省区, 全草入蒙药, 味苦、性凉, 具有清热、利湿的功效, 是蒙医用于治疗黄疸性肝炎、头痛、发烧的主药, 大兴安岭地区鄂伦春族猎民则长期用其治疗心律失常等疾病, 疗效极为显著<sup>[1]</sup>。

前期我们利用各种色谱技术已对尖叶假龙胆的化学成分进行了分离纯化, 分离得到了 13 个化合物, 主要为三萜、吡酮类化合物<sup>[2-3]</sup>。现已经对黄酮类化合物 (desmethylbellidifolin 与 bellidifolin) 进行了含量测定<sup>[4]</sup>。因 norswertianolin 具有较强的抗辐射活性<sup>[5]</sup>, 本实验拟对其含量进行测定, 为尖叶假龙胆进一步研究开发奠定基础。

### 1 材料

**1.1 仪器** DGU-20A3 型高效液相色谱仪(日本岛津), FA1004 型电子天平(上海恒平科学科学仪器有限公司), 溶剂过滤器(北京超越未来科技发展有限公司), 压力泵(天津市沸腾实验设备有限责任公司), DS-2510DT 型超声清洗机(上海生析超声仪器

**[收稿日期]** 2011-10-26

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81060372, 81160504); 教育部科学技术研究重点项目(211033)

**[第一作者]** 郭国栋, 讲师, 硕士, 从事蒙药活性成分研究, Tel: 0472-7167795, E-mail: wgdzd@126.com

**[通讯作者]** \* 李旻辉, 副教授, 博士, 从事药用植物资源保护研究, Tel: 0472-7166712, E-mail: li\_minhui@yahoo.cn

有限公司),微量进样器。

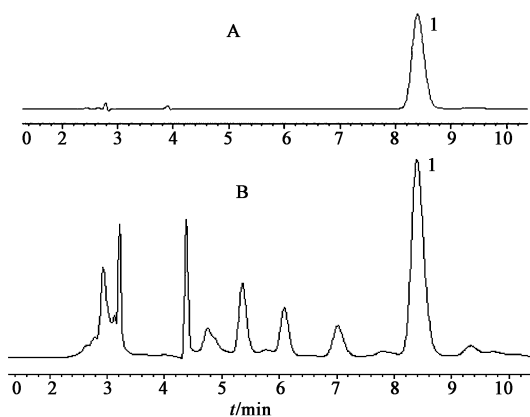
**1.2 试剂与药品** 乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯(天津市西华特种试剂厂);磷酸溶液(河北省保定化学试剂厂);娃哈哈纯净水;尖叶假龙胆药材采自于内蒙古自治区根河市,经内蒙古科技大学包头医学院生药教研室李旻辉副教授鉴定为龙胆科植物尖叶假龙胆 *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten; norswertianolin 对照品(对照品为本实验室自制,经 MS, NMR 鉴定, HPLC 测定纯度在 99% 以上)。

## 2 方法与结果

**2.1 提取方法的选择** 根据 norswertianolin 的性质,考察了超声提取、加热回流提取和渗漉 3 种提取方法,综合考虑提取率和有效成分的保留情况,最终选用了超声提取方法。用正交法选择最佳提取条件,结果以 75% 甲醇超声处理 30 min 最佳。

**2.2 测定波长的选择** 将供试品溶液与对照品溶液在 190 ~ 400 nm 进行紫外扫描,选定最大紫外吸收波长为 254 nm。

**2.3 色谱条件** 色谱柱为 Shim-pack VP-ODS-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相为 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)(80:20),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 254 nm。norswertianolin 峰与相邻峰的分度度 > 1.5,理论塔板数以 norswertianolin 峰计算不低于 3 000。对照品图与样品图分别见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. norswertianolin

图 1 尖叶假龙胆 norswertianolin 对照品

**2.4 对照品溶液的制备** 精密称取对照品适量,75% 的甲醇溶解并定容于量瓶中,制成每 1 mL 含 96 μg 的溶液,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,即得。

**2.5 供试品溶液的制备** 将尖叶假龙胆药材粉碎,磨成粉末,过 20 目筛,取约 0.1 g,精密称量,精密加入 75% 甲醇 25 mL,称定质量,超声提取 30 min,冷却至室温,再称定质量,用 75% 甲醇补足缺失的

质量,摇匀,用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,即为供试品溶液。

**2.6 线性关系的考察** 精密称取尖叶假龙胆中 norswertianolin 对照品 4.8 mg,用 75% 的甲醇定容到 25 mL 的量瓶中,作为储备液。分别吸取此储备液 0.5, 1, 1.5, 2, 5, 8 mL 定容到 10 mL 的量瓶中,剩余的储备液也作为 6 号对照品液使用,进样量均为 10 μL。以峰面积积分为横坐标(X),以质量浓度(mg·L<sup>-1</sup>)为纵坐标(Y),绘制曲线。得回归方程  $Y = 6.4 \times 10^{-5} X - 15.326$ , ( $r = 0.9995$ ),线性范围 9.6 ~ 192 mg·L<sup>-1</sup>,表明在此范围内待测物质的浓度与峰面积呈良好的线性关系。

**2.7 精密度试验** 在上述色谱条件下,精密吸取同一 norswertianolin 对照品溶液,重复进样 6 次, RSD 0.67%,表明精密度良好。

**2.8 重复性试验** 精密称取尖叶假龙胆样品 6 份,按供试品溶液制备方法对样品进行处理,测定含量的 RSD 1.88%,表明重复性良好。

**2.9 稳定性试验** 取上述重现性试验中的 5 号样品,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样,测定峰面积积分值,结果 RSD 1.68%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

**2.10 加样回收率试验** 精密称取 norswertianolin 对照品适量,按照对照品溶液的制备方法进行制备,将其定容于 10 mL 的量瓶中,以备使用。再精密称取尖叶假龙胆药材(粉末)6 份,约 0.05 g,分别吸取已经制备好的对照品溶液(浓度为 0.930 g·L<sup>-1</sup>) 1.5 mL 加入到 6 份样品中,定溶到 10 mL 的量瓶中,然后按照供试品溶液的处理方法对 6 份样品进行处理。进样量均为 20 μL,见表 1。

表 1 尖叶假龙胆中 norswertianolin 回收率试验测定

| No. | 称样量 /g  | 样品含量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|-----|---------|----------|---------|---------|--------|--------|--------|
| 1   | 0.050 3 | 1.419    | 1.395   | 2.838   | 101.7  |        |        |
| 2   | 0.050 4 | 1.422    | 1.395   | 2.823   | 100.6  |        |        |
| 3   | 0.051 1 | 1.442    | 1.395   | 2.793   | 98.5   |        |        |
| 4   | 0.050 9 | 1.436    | 1.395   | 2.788   | 98.2   | 99.8   | 1.31   |
| 5   | 0.051 4 | 1.450    | 1.395   | 2.823   | 100.1  |        |        |
| 6   | 0.050 7 | 1.430    | 1.395   | 2.810   | 99.7   |        |        |

**2.11 样品测定** 精密称取尖叶假龙胆样品 6 份,按照供试品溶液的制备方法进行制备,准确吸取供试液 20 μL 进样,在上述色谱条件下测定,计算得样

## 3种方法制备的四逆汤中甘草苷、甘草酸含量测定

王晓莉, 巩丽丽, 容蓉\*, 杨勇, 吕青涛, 王海燕  
(山东中医药大学, 济南 250355)

**[摘要]** 目的:对四逆汤传统法、药典收录的水提醇沉法、各单味药分提合并法制备的四逆汤中甘草苷、甘草酸含量进行比较。方法:采用HPLC测定3种不同的方法提取液中甘草苷、甘草酸的含量,  $C_{18}$  色谱柱, 流动相乙腈-0.05% 磷酸水, 梯度洗脱, 柱温 25 °C, 检测波长 237 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 10  $\mu$ L。结果:甘草苷在传统汤剂中含量为 2.57 mg·g<sup>-1</sup>, 经方合剂中的含量为 2.21 mg·g<sup>-1</sup>, 单味配方合并液中含量为 3.58 mg·g<sup>-1</sup>; 甘草酸在传统汤剂中含量为 1.96 mg·g<sup>-1</sup>, 经方合剂中的含量为 1.84 mg·g<sup>-1</sup>, 单味配方合并液中含量为 3.04 mg·g<sup>-1</sup>。结论:四逆汤单提合并法中甘草苷、甘草酸含量高, 且各制法的四逆汤中甘草苷、甘草酸含量均有显著性差异, 为四逆汤提取方法研究提供依据。

**[关键词]** 四逆汤; 甘草苷; 甘草酸; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0071-04

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120113.1032.007 **[网络出版时间]** 2012-01-13 10:32

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120113.1032.007.html>

**[收稿日期]** 20110921(015)

**[基金项目]** 山东省高等学校科技计划项目(Z09LF31)

**[第一作者]** 王晓莉, 在读硕士, 从事中药复方活性成分与质量控制研究, Tel: 0531-89628593, E-mail: wangxiali0401@163.com

**[通讯作者]** \* 容蓉, 教授, 从事中药复方活性成分与质量控制研究, Tel: 0531-89628593, E-mail: r. rong@sdutem.edu.cn

品平均含量为 2.83%, RSD 0.63%。

### 3 讨论

Norswertianolin 是尖叶假龙胆的活性成分之一, 对其进行含量测定的过程中我们考察了不同流动相体系对 norswertianolin 的分离情况, 结果发现只有在 0.1% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)(80:20)的条件下, 主峰与杂质峰可以达到基线分离( $R > 1.5$ ), 符合测定要求。

由于文献报道 norswertianolin 具有比较显著的药理活性<sup>[5]</sup>, 我们在上述色谱条件下测得 6 份尖叶假龙胆中 norswertianolin 的平均质量分数为 2.83%, 说明尖叶假龙胆中 norswertianolin 的含量较高, 所以我们选择 norswertianolin 为研究对象, 对其进行含量测定。本文首次建立了反相高效液相色谱法测定尖叶假龙胆中 norswertianolin 的含量, 该方法简便、准确、重复性好, 对尖叶假龙胆中 norswertianolin 的含量控制提供了可靠依据, 同时为

尖叶假龙胆在民间的传统应用提供了依据。

### [参考文献]

- [1] 李旻辉, 孙亚红, 宋晓玲. 中国假龙胆属植物传统药物学的调查研究[J]. 包头医学院学报, 2010, 26(3):3.
- [2] Lv L J, Li, M H, Terpenoids, flavonoids and xanthoness from *Gentianella acuta* (Gentianaceae) [J]. Biochem Syst Ecol, 2009, 37: 497.
- [3] 李旻辉, 靳敏, 张海涛, 等. 尖叶假龙胆化学成分研究[J]. 包头医学院报, 2011, 27(2):13.
- [4] Li M H, Zhou L S, Fang H Y, et al. Quantification of Xanthoness in a Mongolian health tea using high-performance liquid chromatography [J]. J Med Plants Research, 2010, 4(17):1704.
- [5] Li M H, Li L, Yang Y M, et al. Genus gentianella moench: A phytochemical and ethnopharmacological review[J]. Chinese Herbal Med, 2010, 2(4):262.

[责任编辑 蔡仲德]