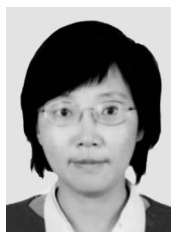


红景天属植物根中红景天苷及其苷元酪醇含量的 HPLC 分析



WANG Yang

王 洋, 于 涛, 阎 秀 峰*

(东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要: 建立了一种采用 KYA HIQ sil C18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-水溶液(体积比 1:9)为流动相, 在流速 1.0 mL/min、检测波长 280 nm、进样量 10 μL 的条件下, 用高效液相色谱同时测定红景天苷及其苷元酪醇含量的方法。利用均匀试验设计研究了分析样品的制备方法, 确定了红景天根粉的最佳提取条件为: 以蒸馏水为溶剂在 60 °C 下超声波提取 50 min。分别测定了不同产地的红景天属植物中红景天苷和酪醇的含量, 西藏产圣地红景天中红景天苷含量最高, 达到 2.147%, 其次为藏产大花红景天和西藏红景天, 分别为 1.763% 和 1.271%; 四川产大花红景天中酪醇含量最高, 为 0.2985%, 其次是藏产西藏红景天和 大花红景天, 分别为 0.2143% 和 0.1836%; 长鞭红景天和狭叶红景天中 2 种有效成分的含量均很低, 红景天苷含量仅为 0.034% 和 0.003%, 酪醇含量则分别为 0.0164% 和 0.0048%。

关键词: 红景天; 红景天苷; 酪醇; 超声波提取

中图分类号: TQ91; Q946.83; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2006)03-0051-04

Determination of Contents of Salidroside and Tyrosol in *Rhodiola* Roots by HPLC

WANG Yang, YU Tao, YAN Xiu-feng

(College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: A method for the determination of contents of salidroside and tyrosol in *Rhodiola* by HPLC was established. The HPLC separation was performed on a KYA HIQ sil C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), at flow rate 1 mL/min, with mobile phase of acetonitrile/water (1:9) and detected at wavelength 280 nm. Using uniform design, the optimal conditions for salidroside and tyrosol extraction were explored to be ultrasonically extracted by distilled water at 60 °C for 50 min. Contents of salidroside and tyrosol in *Rhodiola* roots were determined. Salidroside content was 2.147%, the highest in *Rh. sacra* from Tibet, then in *Rh. crenulata* and *Rh. tibetica* from Tibet, 1.763% and 1.271%, respectively; tyrosol content was 0.2985%, the highest in *Rh. crenulata* from Sichuan, then in *Rh. tibetica* and *Rh. crenulata* from Tibet, 0.2143% and 0.1836%, respectively; whereas both contents were very low in *Rh. fastigiata* and *Rh. kirilowii* from Sichuan with salidroside contents of only 0.034% and 0.003%, and tyrosol contents of 0.0164% and 0.0048%, respectively.

Key words: *Rhodiola*; salidroside; tyrosol; ultrasonic extraction

景天科红景天属(*Rhodiola*)植物全球约有 90 余种, 主要分布于北半球高寒地带, 我国红景天属植物有 70 余种^[1]。红景天具有很高的药用价值, 其免疫作用强于人参和刺五加而无人参的过度兴奋和刺五加的致便秘作用, 具有抗疲劳、抗衰老、抗缺氧、抗辐射、兴奋智力之功效, 可治疗多种疾病, 有巨大的经济价值和广阔的开发前景^[2-4]。红景天的主要药用活性成分是红景天苷(C₁₄H₂₀O₇)及其苷元酪醇(C₈H₁₀O₂)^[2]。其中, 高山红景天(*Rh. sachalinensis*)、玫瑰红景天(*Rh. rosea*)和西藏红景天(*Rh. tibetica*)是人们关注较多的红景天属植物。

收稿日期: 2005-01-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39700013)

作者简介: 王 洋(1971-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 副教授, 博士, 研究方向为植物次生代谢生态学、植物化学

* 通讯作者: 阎秀峰, 教授, 博士生导师, 主要从事植物生理生态学研究。

超声波是一种弹性波,它能产生并传递强大的能量,并进而形成空化作用,使植物细胞破裂^[5-6]。超声波提取法是将超声波作用于提取液体系以获得待分析样品的技术方法^[7],与常规提取法相比,具有提取时间短、产率高、操作简单等优点^[8]。近年来利用高效液相色谱法测定红景天苷含量的方法很多^[9-11],但同时鉴定样品中2种主要有效成分红景天苷及酪醇却少有报道^[12]。以往研究采用的传统提取方法,提取时间长且不易将红景天苷提取完全。本研究探讨了超声波提取红景天根中红景天苷和酪醇的方法,并对结果进行综合分析,以期确定最佳条件,使红景天苷及酪醇含量分析更简便、快速及可靠。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

原料:高山红景天根,采自吉林省长白山;不同产地的红景天根的样品,由大兴安岭红景天药材开发应用研究所提供。**仪器:**Waters 高效液相色谱仪(2487型紫外检测器);Biofuge 22R 高速冷冻离心机(德国 Heraeus sepatech 公司);AB104型电子天平(瑞士);Multitemp III型恒温循环水浴(Pharmacia Biotech 公司);KQ-100DB 超声波仪(江苏昆山超声仪器公司)。**试剂:**乙腈为色谱纯,水为超纯水,其它试剂均为分析纯,红景天苷购于中国生物制品和药品检定所,酪醇由香港科技大学提供。

1.2 色谱条件

色谱柱 KYA HIQ sil C18 柱(4.6 mm × 25 cm, 5 μm);检测波长 280 nm;流动相:乙腈-水(体积比 1:9);流速 1 mL/min;进样量 10 μL。

1.3 标准溶液的配制

精密称取红景天苷标准品 5 mg,于 10 mL 容量瓶中以乙腈-水为溶剂,超声波溶解并定容,摇匀备用。精密称取酪醇标准品 5 mg,于 10 mL 容量瓶中以乙腈-水为溶剂,超声波溶解并定容,摇匀备用。

1.4 标准曲线的绘制

分别精密吸取红景天苷及酪醇标准溶液 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mL 于 5 mL 容量瓶中,以乙腈-水为溶剂定容,摇匀。按照选定的色谱条件,分别对不同浓度的标准溶液进样分析,每样重复测定 3 次。分别以质量浓度(mg/mL,红景天苷 a_1 、酪醇 a_2)为横坐标,峰面积值(b)为纵坐标进行回归计算,得红景天苷和酪醇的回归方程和相关系数分别为:

$$b_1 = 2\,019\,845.118\,3a_1 - 8\,409.791\,7, R = 0.999\,9; \quad b_2 = 6\,224\,874.602\,2a_2 - 55\,790.708\,3, R = 0.999\,9$$

1.5 样品制备

影响植物中有效成分提取的因素很多,本研究选择了乙醇体积分数、提取温度和提取时间进行 3 因素 11 水平的均匀设计试验(见表 1),以红景天苷和酪醇的提取率为评价指标,探讨了超声波提取红景天根中 2 种有效成分的最佳条件。

精密称取红景天根粉 2 g 于 50 mL 容量瓶,按照设计的实验条件,加入 45 mL 一定体积分数的乙醇溶液在不同的时间及温度条件下超声波提取红景天苷和酪醇后,冷却至室温,再用相应体积分数的乙醇溶液定容至刻度,摇匀。吸取 1 mL 上清液至离心管中,离心(12 000 r/min)5 min,备用。

2 结果与分析

2.1 色谱分析

标准品及样品色谱图见图 1。

2.2 红景天苷及酪醇超声波提取实验条件的确定

均匀设计试验结果见表 1。分别以乙醇体积分数(X_1)、提取温度(X_2)、提取时间(X_3)为自变量,以

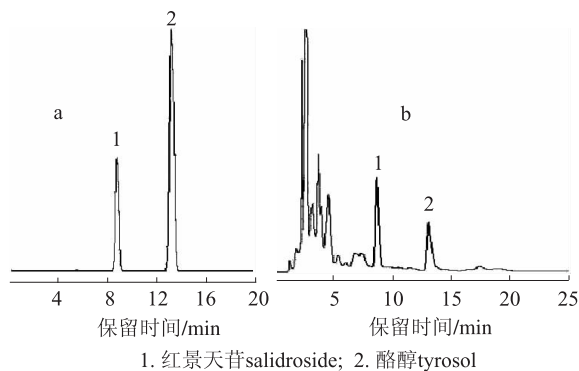


图 1 标准品(a)和样品(b)的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of standard sample (a) and sample of *Rhodiola* (b)

红景天苷得率(Y_1)、酪醇得率(Y_2)为因变量,用均匀设计软件(2.0版)对试验结果进行逐步回归分析,得如下回归方程:

$$Y_1 = 0.667\ 620\ 5 - 0.002\ 665\ 0 X_1 + 0.012\ 063\ 9 X_2 + 0.001\ 768\ 6 X_3 - 0.000\ 010\ 7 X_1^2 + 0.000\ 011\ 1 X_1 X_3 - 0.000\ 095\ 0 X_2^2 - 0.000\ 019\ 5 X_2 X_3 - 0.000\ 008\ 8 X_3^2$$

$$Y_2 = 0.051\ 857\ 1 - 0.000\ 238\ 1 X_1 + 0.000\ 655\ 5 X_2 + 0.000\ 203\ 9 X_3 - 0.000\ 000\ 1 X_1^2 + 0.000\ 001\ 9 X_1 X_2 + 0.000\ 000\ 1 X_1 X_3 - 0.000\ 003\ 9 X_2^2 - 0.000\ 002\ 3 X_2 X_3 - 0.000\ 000\ 4 X_3^2$$

进行各因素对红景天苷提取率影响的逐步回归模型分析表明,随着溶剂中乙醇体积分数的提高,红景天苷的溶出逐渐减少,因此,不含乙醇的蒸馏水为红景天苷的最佳提取溶剂。红景天苷的提取率随提取温度的提高而增加,但当提取温度高于40℃以上时,随提取温度的提高红景天苷提取率增加的趋势减弱,最佳提取温度为60℃。红景天苷的提取率随提取时间增加基本呈降低的趋势,提取时间为20~60 min时红景天苷的提取率基本保持稳定,根据回归方程计算最佳提取时间为34.4 min。

表1 $U_{11}^*(11^3)$ 均匀设计试验条件及分析结果

Table 1 Experiment condition and result of uniform design $U_{11}^*(11^3)$

实验号 No.	乙醇体积分数/% concn. of alcohol X_1	提取温度/℃ extraction temp. X_2	提取时间/min extraction time X_3	红景天苷得率/% salidroside yield Y_1	酪醇得率/% tyrosol yield Y_2
1	0	45	40	1.041	0.077
2	10	25	180	0.849	0.077
3	20	50	160	0.913	0.076
4	30	15	80	0.826	0.065
5	40	30	220	0.756	0.070
6	50	35	60	0.877	0.066
7	60	60	120	0.878	0.070
8	70	20	100	0.765	0.058
9	80	10	140	0.668	0.054
10	90	55	20	0.748	0.060
11	100	40	200	0.694	0.056

进行各因素对酪醇提取率影响的逐步回归模型分析表明,乙醇体积分数对酪醇提取率的影响最大,而提取温度及提取时间的影响很小。根据回归方程计算,蒸馏水是最佳提取溶剂,最佳提取温度为53.96℃,最佳提取时间为92.64 min。对各试验条件进行综合分析,确定了红景天苷及酪醇的最佳提取条件为60℃下,蒸馏水超声波提取50 min。

2.3 精密度实验

精密称取5份红景天根粉末于50 mL容量瓶中,每份2 g,以45 mL蒸馏水为提取溶剂,60℃下超声波提取50 min,冷却后蒸馏水稀释至刻度,取1 mL离心后在选定的色谱条件下测定红景天苷及酪醇含量,测得红景天苷和酪醇峰面积的相对标准偏差(RSD)分别为2.47%和3.62%。

2.4 回收率实验

精密称取3份高山红景天根粉末,每份1 g,分别加入红景天苷标准品10 mg及酪醇标准品1 mg,按样品制备及测定方法进行定量分析,测得红景天苷加样回收率和RSD分别为94.25%和3.21%,酪醇的为97.64%和3.75%。

2.5 样品测定

采用以上方法分析了不同产地红景天属植物根中的红景天苷和酪醇含量(见表2)。结果表明,西藏产圣地红景天中红景天苷含量最高,其次为藏产大花红景天和西藏红景天;四川产大花红景天中酪醇含量最高,其次是藏产西藏红景天和红花红景天;长鞭红景天和狭叶红景天中两种有效成分的含量均很低。不同产地的同种红景天中有效成分的含量也存在差异。高山红景天中,长白山产的红景天苷含量均较高,而加格达奇所产的红景天酪醇含量则相对较高。大花红景天中,四川产的酪醇含量较高,而西藏产的则红景天苷含量较高。

表2 不同产地红景天属植物根中红景天苷和酪醇含量

Table 2 Salidroside and tyrosol contents in *Rhodiola* roots from different provenances

试样 samples	产地 provenance	含量 content /%	
		红景天苷 salidroside	酪醇 tyrosol
高山红景天 <i>Rh. sachalinensis</i>	长白山 Changbai Mountain	0.785	0.0298
高山红景天 <i>Rh. sachalinensis</i>	加格达奇 Jiagedaqi, Heilongjiang	0.145	0.0948
大花红景天 <i>Rh. crenulata</i>	西藏 Tibet	1.763	0.1836
大花红景天 <i>Rh. crenulata</i>	四川 Sichuan	1.062	0.2985
圣地红景天 <i>Rh. sacra</i>	西藏 Tibet	2.147	0.1142
西藏红景天 <i>Rh. tibetica</i>	西藏 Tibet	1.271	0.2143
玫瑰红景天 <i>Rh. rosea</i>	新疆 Xinjiang	0.912	0.1089
长鞭红景天 <i>Rh. fastigiata</i>	四川 Sichuan	0.034	0.0164
狭叶红景天 <i>Rh. kirilowii</i>	四川 Sichuan	0.003	0.0048

3 结论

3.1 建立了一种简便、快速测定红景天根中红景天苷及其苷元酪醇的高效液相色谱分析方法。

3.2 运用均匀设计法考查了从红景天根中超声波提取红景天苷和酪醇的试验条件,得到同时提取红景天中2种有效成分的最佳工艺条件:以蒸馏水为提取溶剂,红景天根粉在60℃下超声波提取50min。

3.3 测定了不同产地的红景天属植物中红景天苷和酪醇的含量,西藏产圣地红景天中红景天苷含量最高,达到2.147%,其次为藏产大花红景天和西藏红景天,分别为1.763%和1.271%;四川产大花红景天中酪醇含量最高,为0.2985%,其次是藏产西藏红景天和大花红景天,分别为0.2143%和0.1836%;长鞭红景天和狭叶红景天中2种有效成分的含量均很低,红景天苷含量仅为0.034%和0.003%,酪醇含量分别为0.0164%和0.0048%。

参考文献:

- [1]包文芳,吴维春,李葆华. 抗疲劳药用植物红景天[M]. 北京:人民军医出版社,2004.
- [2]明海泉,夏光成,张瑞均. 红景天研究进展[J]. 中草药,1988,19(5):37-41.
- [3]张秀. 红景天属植物的药用价值[J]. 中国野生植物资源,1993(1):33-35.
- [4]许建峰,应佩青,苏志国. 高山红景天资源应用与开发研究进展[J]. 中草药,1998,29(3):202-205.
- [5]孙波,彭密军,杨晓燕. 超声波提取杜仲叶的工艺研究[J]. 林产化学与工业,1999,19(3):67-70.
- [6]王振宇,赵鑫. 超声波提取大花葵色素的工艺研究[J]. 林产化学与工业,2003,23(2):65-67.
- [7]阎秀峰,王洋,于涛,等. 喜树叶中喜树碱含量的高效液相色谱分析[J]. 分析测试学报,2002,21(2):15-18.
- [8]秦彦杰,张玉红,王洋,等. 黄檗中生物碱含量的高效液相色谱分析[J]. 林产化学与工业,2004,24(增刊):115-118.
- [9]周燕,孙启生,刘伟. 反向高效液相色谱法测定红景天口服液液中红景天苷的含量[J]. 中草药,1993,24(9):472-473.
- [10]阎秀峰,王洋,杨意,等. 大海林地区不同生境高山红景天根部红景天苷含量的差异[J]. 植物研究,2000,20(2):173-179.
- [11]王洋,于涛,王化田,等. 高效液相色谱法测定红景天苷含量方法的研究[J]. 植物研究,2001,21(1):113-115.
- [12]彭江南,陈浩,马成禹. 高效液相色谱测定红景天中红景天苷和酪醇的含量[J]. 药物分析杂志,1995,15(4):21-23.