

表1 样品测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of samples (n=2)

样品来源	SZ-1/%	RSD/%	SZ-2/%	RSD/%
山东平邑	0.511 3	0.19	0.140 6	0.53
山西晋城	0.912 2	0.33	0.458 7	0.48
安徽亳州	0.427 2	2.22	0.127 8	2.20
本所科室留存	0.551 0	0.74	0.154 9	0.68
山东淄博(落叶)	0.041 8	0.67	0.025 8	1.55
山东淄博	0.565 8	2.33	0.145 3	2.12
山西晋城	0.871 4	0.68	0.454 5	0.66
山西晋城	0.895 3	0.10	0.480 9	0.60
太极集团	0.339 7	0.94	0.214 9	1.01
太极集团	0.457 9	1.30	0.274 4	1.41
太极集团	1.322 7	0.79	0.453 6	1.07

HPLC 法测定不同产地蜘蛛香中橙皮苷的含量

石晋丽, 刘 勇, 肖培根

(北京中医药大学中药学院, 北京 100101)

蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 为败酱科缬草属植物, 其根和根茎入药, 具有理气和、散寒除湿、活血消肿的功效, 用于治疗脘腹胀痛、呕吐泄泻、小儿疳积、风寒湿痹、脚气水肿、月经不调、跌打损伤、疮疖等症。近年来的药理学研究表明, 蜘蛛香不仅有很好的镇静催眠作用, 其水煎剂对革兰氏阳性菌及轮状、非轮状病毒肠炎都具有较好疗效。橙皮苷(hesperidin) 是蜘蛛香的主要成分之一, 含量高, 稳定性好。据报道, 橙皮苷也具有镇静和催眠作用, 是新发现的作用于中枢神经系统的黄酮类化合物^[1]。为控制蜘蛛香药材品质, 对不同产地蜘蛛香中橙皮苷进行了 HPLC 法含量测定。

1 仪器与试剂

HP1050 型高效液相色谱仪, 含四元泵, 二极管阵列检测器。橙皮苷自制, 经 UV, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR 等鉴定结构, 纯度大于 99.5% (归一化法计算)。乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公司); 水为娃哈哈纯净水, 并经 0.45 μm 水系滤膜滤过; 自制 0.1 mol/L 磷酸水溶液。7 个蜘蛛香药材样品的购入及采集地点和时间见表 1, 经笔者鉴定为蜘蛛香 *V. jatamansi* Jones 的根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Merck 公司 50943

3 讨论

3.1 检测波长的选择: 取 SZ-1、SZ-2 对照品溶液, 在 190~500 nm 扫描, 结果在 (340±2) nm 处有最大吸收, 故检测波长确定为 340 nm。

3.2 流动相的选择: 在上述色谱条件下, 本实验分别选择了不同流动相比例的四氢呋喃-甲醇-乙腈-水、四氢呋喃-甲醇-乙腈-酸水进行试验。结果证明流动相选择四氢呋喃-甲醇-乙腈-0.5% 冰醋酸溶液(10.3:1:0.7:88), SZ-1、SZ-2 与杂质分离效果最好。

3.3 该方法灵敏、准确可靠, 故可有效控制药材质量。从测定结果可见, 山东淄博(落叶)的含量远远低于其他来源的药材的含量。

LiChroCart 125-4 with Lichrospher 100 RP-18 (12.5 cm×8 mm, 5 μm) 分析柱及 LiChroCART 4-4 with Lichrospher 100RP-18 (1 cm×8 mm, 5 μm) 预备柱。流动相为乙腈-水 (15:85), 乙腈和水每 100 mL 分别加 0.1 mol/L 的磷酸 1 mL; 体积流量: 0.95 mL/min; 检测波长 280 nm。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的橙皮苷对照品 5 mg, 加甲醇溶解并定容至 25 mL, 作为对照品溶液。

2.3 标准曲线的制作: 精密称取干燥至恒重的橙皮苷对照品 5 mg, 加甲醇溶解并定容至 25 mL, 作为对照品溶液。分别以 1、5、10、15、20、25 μL 进样测定, 以橙皮苷的峰面积积分为纵坐标, 橙皮苷对照品的量为横坐标, 绘制标准曲线, 得一不通过原点的直线, 其回归方程为: $Y=3245.3X-445.79$, $r=0.9998$ 。橙皮苷在 0.2~5 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 稳定性试验: 在室温条件下, 精密吸取安国购蜘蛛香样品溶液在 1、2、3、4、12、24 h 进样测定, RSD 为 1.68%, 说明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.5 精密度试验: 取 0.2 mg/mL 的橙皮苷对照品溶液连续 5 次进样, 峰面积 RSD 为 2.14%。

2.6 重现性试验: 取河北安国购蜘蛛香样品进行 5

次平行试验,橙皮苷的含量 RSD 为 1.76%。

2.7 加样回收率试验:精密称取已知橙皮苷含量的河北安国购蜘蛛香样品粉末 1.5 g 3 份,准确加入橙皮苷对照品适量,依法测定,计算回收率。结果平均回收率为 99.87%,RSD=1.87%。

2.8 样品的测定:精密称取 7 种不同产地收集的蜘蛛香样品各 1.5 g,分别置于 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,超声提取 0.5 h,提取液浓缩后定容至 5 mL,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,吸取 5 μL 进样测定,结果见表 1 和图 1。

表 1 不同产地、时间收集的蜘蛛香样品的橙皮苷含量 (n=5)

Table 1 Hesperidin content of *V. jatamansi* collected from different habitats in different times (n=5)

购入及采集地	时间	橙皮苷/%	RSD/%
河北安国	2002-07	0.974 9	2.32
四川成都	2002.07	0.967 2	1.37
贵州贵阳	2002-07	1.231 1	2.27
四川雅安	2002-07	0.447 3	1.53
陕西咸阳	2002-07	0.520 6	2.41
云南昆明	2002-07	0.645 1	2.93
四川峨眉山	2002-07	0.367 6	3.19

3 讨论

3.1 本法快速、简便、重现性好,且样品不易流失,为蜘蛛香质量控制和评价提供了可靠的依据。

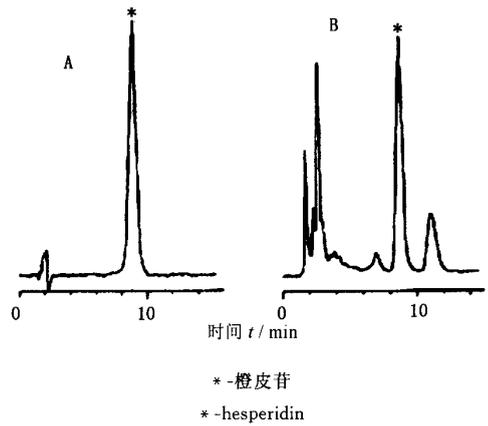


图 1 橙皮苷对照品 (A) 和蜘蛛香样品 (B) HPLC 图
Fig. 1 HPLC of hesperidin reference substance (A) and *V. jatamansi* (B)

3.2 蜘蛛香购于贵州贵阳、河北安国、四川成都的样品中橙皮苷的含量较高;购于四川雅安、陕西咸阳、云南昆明的蜘蛛香样品中橙皮苷的含量较低;采于四川峨眉山的蜘蛛香样品中橙皮苷的含量最低,可能与所采集样品为一年生蜘蛛香、根茎较细有关,这也说明橙皮苷的积累与生长年限、根茎粗细有关。

References:

[1] Marder M, Viola H, Wasowski C, et al. 6-Methylpigenin and hesperidin: new valeriana flavonoids with activity on the CNS [J]. *Pharm Bio Behav*, 2003, 75(3): 537-545.

(上接第 418 页)

可见,八味锡类散灌肠给药可以提高外周血 CD8 淋巴细胞水平、降低 CD4/CD8 比值;在结肠黏膜局部提高 CD4 淋巴细胞水平、降低 CD8 淋巴细胞及 TNF-α 的表达,以及结肠损伤评分方面均优于灌胃给药,说明八味锡类散结肠局部给药治疗 UC 疗效优于灌胃给药,结肠局部给药可促进有效作用成分迅速地释出,起到抗炎作用,部分药物还能迅速黏附于溃疡表面起到对局部黏膜的保护作用;另一方面通过肠道对药物有效成分的吸收,可调整体内及局部免疫平衡,从而起到全面整体的预防治疗作用。

References:

[1] Zheng H B, Hu H Y, Lu X, et al. The experimental study on the therapeutic effects of Qing Chang Enema on ulcerative colitis [J]. *Acta Univ Tradit Chin Med Shanghai* (上海中医药大学学报), 2000, 14(4): 54-56.
[2] Zhu F, Qian J M, Pan G S. The establishment of enteric inflammatory reaction animal model by cellular immune

reaction [J]. *Acta Acad Med Sin* (中国医学科学院学报), 1998, 20(4): 271-277.

[3] Bhan A K, Mizoguchi E, Smith R N, et al. Colitis in transgenic and knockout animal as model of human inflammatory bowel disease [J]. *Immunol Rev*, 1999, 169: 195-207.
[4] Mosmann T R, Sad S. The expanding universe of T cell subsets; Th1, Th2, and more [J]. *Immunol Today*, 1996, 17(3): 138.
[5] Neurath M F. Immunotherapy of inflammatory bowel disease: current concepts and future perspectives [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsaw)*, 2000, 48: 81-84.
[6] Ding W Q, Lin Y J, Xu S R, et al. Tumor necrosis factor and ulcerative colitis [J]. *Chin J Dig* (中华消化杂志), 2001, 21(8): 499-500.
[7] Ishiguro Y. Mucosal proinflammatory cytokine production correlates with endoscopic activity of ulcerative colitis [J]. *J Gastroenterol*, 1999, 34: 66.
[8] Po X. The effects of some herbal extracts on lymphocyte proliferation [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 2003, 10(6): 351-352.