

UPLC同时测定蜘蛛香中9种成分

程盛勇¹, 付洋¹, 陈慧¹, 尹航², 刘兴赋¹, 罗喜荣^{1*}, 杨军^{3*}

(1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学附属医院, 贵州 贵阳 550004; 3. 中国科学院地球化学研究所, 贵州 贵阳 550081)

摘要: 目的 建立 UPLC 法同时测定蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 中新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、橙皮苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯的含有量。方法 蜘蛛香 70% 甲醇提取液的分析采用 Ultimate® UHPLC Polar-RP 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱; 检测波长 327 nm (0~11 min)、256 nm (11~30 min); 体积流量 0.21 mL/min; 柱温 30 °C。结果 9 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.999 9$), 平均加样回收率 103.54%~108.28%, RSD 0.70%~2.20%。结论 该方法准确稳定, 重复性好, 可用于蜘蛛香的质量控制。

关键词: 蜘蛛香; 化学成分; UPLC; 波长切换

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)09-2351-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.09.020

Simultaneous determination of nine constituents in *Valeriana Jatamansi* by UPLC

CHENG Sheng-yong¹, FU Yang¹, CHEN Hui¹, YIN Hang², LIU Xing-fu¹, LUO Xi-rong^{1*}, YANG Jun^{3*}

(1. College of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China; 3. Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China)

ABSTRACT: AIM To establish a UPLC method for simultaneous determination of neochlorogenic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, hesperidin, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, acevaltrate and valepotriate in *Valeriana jatamansi* Jones. **METHODS** The analysis of 70% ethanol extract of *V. Jatamansi* was performed on a 30 °C thermostatic Ultimate® UHPLC Polar-RP (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.1% formic acid flowing at 0.21 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelenghts were set at 327 nm (0-11 min) and 256 nm (11-30 min). **RESULTS** Nine constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r \geq 0.999 9$), whose average recoveries were 103.54%~108.28% with the RSDs of 0.70%~2.20%. **CONCLUSION** This accurate, stable and reproducible method can be used for the quality control of *V. jatamansi*.

KEY WORDS: *Valeriana Jatamansi* Jones; chemical constituents; UPLC; wavelength switching

蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 又名养血莲、干燥根茎和根入药, 具有理气止痛、祛风除湿、镇臭药、马蹄香、鬼见愁等, 为多年生草本植物, 以 惊安神、消食止泻之功效^[1-4]。现代药学研究表明

收稿日期: 2019-09-26

基金项目: 贵州省联合基金项目 (黔科合 LH 字 [2014] 7091); 贵州省社发攻关项目 (黔科合 SY 字 [2015] 3032); 贵州省中药现代化专项项目 (黔科合 ZY 字 [2012] 3010)

作者简介: 程盛勇 (1994—), 男 (布依族), 硕士生, 研究方向为药物新剂型及药代动力学。Tel: (0851) 88416164, E-mail: 1950349547@qq.com

* 通信作者: 罗喜荣 (1973—), 女, 教授, 研究方向为药物新剂型及天然药物化学。Tel: (0851) 88416164, E-mail: 1341323603@qq.com

杨军 (1972—), 男 (苗族), 副研究员, 研究方向为药物分析。Tel: (0851) 88416164, E-mail: yjsfe@sohu.com

蜘蛛香主含挥发油、缬草三酯类、黄酮类、酚酸类、生物碱、氨基酸、木酯素和多糖等成分，具有抗肿瘤、抗焦虑、神经保护、保肝、抗氧化、抗菌、抗病毒等药理作用，有良好的新药开发潜力^[3-11]。现行蜘蛛香质量标准较简单，其质量控制主要是 TLC 法鉴别缬草三酯和乙酰缬草三酯，尚无含有量测定项，药材质量控制及评价困难，亟待建立可靠的蜘蛛香质量评价体系。中药成分复杂，发挥疗效的成分难以确定，开展指纹图谱研究和多成分含有量测定并建立质量标准，是保障中药质量和疗效一致性的有效方法^[12]。课题组前期蜘蛛香指纹图谱研究发现新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、橙皮苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯和缬草三酯可作为蜘蛛香的定性鉴别和质量差异标记物^[13-14]，本实验建立 UPLC 法同时测定蜘蛛香中 9 种成分的含有量，旨在为蜘蛛香的质量标准完善、临床用药及新药开发提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1290 高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；BSA224S 型电子天平（德国赛多利斯公司）；KQ3200E 型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；FW177 型中草药粉碎机（天津市泰斯特仪器有限公司）。

1.2 试剂与药物 新绿原酸（MUST-15011412）、绿原酸（MUST-15041814）、咖啡酸（MUST-15090803）、异绿原酸 B（MUST-15081411）、异绿原酸 A（MUST-15042518）、异绿原酸 C（MUST-15081414）对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司；橙皮苷对照品（602F022）购自北京索莱宝科技有限公司；乙酰缬草三酯（wkq16072004）、缬草三酯（wkq16011203）对照品均购自四川维克奇生物科技有限公司，质量分数均≥98%；乙腈、甲醇为色谱纯；水为娃哈哈纯净水；其余试剂均为分析纯。21 批蜘蛛香样品来源信息见表 1，经贵州医科大学生药学教研室覃容贵教授鉴定为败酱科植物蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 的干燥根茎及根。

2 方法与结果

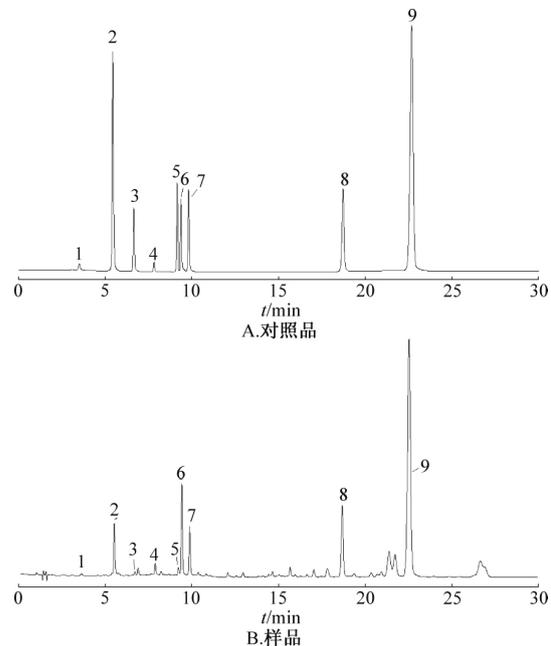
2.1 色谱条件 Ultimate® UHPLC Polar-RP 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相乙腈（A）-0.1% 甲酸水溶液（B），梯度洗脱（0~6 min，12%~35% A；6~10 min，35%~50% A；10~11 min，50%~57% A；11~30 min，57% A）；体积流量 0.21 mL/min；检测波长 327 nm（0~

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

| 批号 | 产地 | 采集时间 | 批号 | 产地 | 采集时间 |
|-----|------|------------|-----|------|------------|
| S1 | 广西桂林 | 2016.06.09 | S12 | 吉林白山 | 2016.11.27 |
| S2 | 贵州贵阳 | 2017.06.09 | S13 | 四川青川 | 2017.06.16 |
| S3 | 贵州惠水 | 2017.06.07 | S14 | 云南保山 | 2017.08.19 |
| S4 | 贵州惠水 | 2016.09.03 | S15 | 云南保山 | 2017.08.19 |
| S5 | 贵州惠水 | 2017.06.09 | S16 | 贵州长顺 | 2017.06.07 |
| S6 | 贵州惠水 | 2017.08.07 | S17 | 贵州长顺 | 2017.06.09 |
| S7 | 贵州惠水 | 2017.06.03 | S18 | 贵州凯里 | 2017.08.26 |
| S8 | 贵州惠水 | 2017.08.08 | S19 | 贵州贞丰 | 2017.08.18 |
| S9 | 贵州惠水 | 2017.08.08 | S20 | 贵州安顺 | 2017.10.08 |
| S10 | 贵州惠水 | 2016.05.07 | S21 | 贵州贵阳 | 2017.09.17 |
| S11 | 贵州惠水 | 2016.06.10 | | | |

11 min)，256 nm（11~30 min）；柱温 30 ℃；进样量 0.8 μL；色谱图见图 1。



- 1. 新绿原酸 2. 绿原酸 3. 咖啡酸 4. 橙皮苷 5. 异绿原酸 B 6. 异绿原酸 A 7. 异绿原酸 C 8. 乙酰缬草三酯 9. 缬草三酯
- 1. nechlorogenic acid 2. chlorogenic acid 3. caffeic acid
- 4. hesperidin 5. isochlorogenic acid B 6. isochlorogenic acid A 7. isochlorogenic acid C 8. acevaltrate 9. valepotriate

图 1 各成分 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC chromatograms of various constituents

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取 9 种成分对照品适量，用 70% 甲醇溶解分别制成各成分的对照品贮备液。精密量取上述 9 种对照品贮备液，加 70% 甲醇溶解并稀释成分别含 60.00 μg/mL 新绿原酸、220.00 μg/mL 绿原酸、44.00 μg/mL 咖啡酸、380.00 μg/mL 橙皮苷、210.00 μg/mL 异绿原酸

B、360.00 μg/mL 异绿原酸 A、150.00 μg/mL 异绿原酸 C、169.20 μg/mL 乙酰缬草三酯、690.00 μg/mL 缬草三酯的混合对照品溶液，即得。

2.2.2 供试品溶液 取蜘蛛香药材打粉，过60目筛，称取粉末0.2 g，置棕色EP管中，加入70%甲醇10 mL，称定质量，于37℃超声（150 W，40 kHz）提取40 min，冷却至室温，称定质量，用70%甲醇补足减失质量，经0.22 μm微孔滤膜过滤，即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 取混合对照品溶液适量，70%甲醇制成系列质量浓度对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样，记录各成分峰面积。以溶液质量浓度为横坐标（X），对应的色谱峰峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表2。表明各成分在各自范围内线性关系良好。

表2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

| 成分 | 回归方程 | r | 线性范围/ (μg·mL ⁻¹) |
|--------|---------------------|---------|---------------------------------|
| 新绿原酸 | Y=2.002 1X+0.057 3 | 0.999 9 | 0.60~60.00 |
| 绿原酸 | Y=6.513 6X-1.368 4 | 1.000 0 | 2.20~220.00 |
| 咖啡酸 | Y=15.535 0X-0.552 6 | 1.000 0 | 0.44~44.00 |
| 橙皮苷 | Y=0.651 3X+ 0.321 7 | 1.000 0 | 3.80~380.00 |
| 异绿原酸 B | Y=7.128 0X-3.124 6 | 0.999 9 | 2.10~210.00 |
| 异绿原酸 A | Y=6.308 0X+4.683 0 | 0.999 9 | 2.40~360.00 |
| 异绿原酸 C | Y=8.251 3X-1.489 3 | 0.999 9 | 1.50~150.00 |
| 乙酰缬草三酯 | Y=6.017 5X+3.840 9 | 1.000 0 | 1.69~169.20 |
| 缬草三酯 | Y=7.653 9X+4.401 5 | 1.000 0 | 6.90~690.00 |

2.3.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样6次，测得新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、橙皮苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯峰面积RSD分别为1.84%、0.95%、1.32%、2.19%、1.26%、1.51%、1.24%、1.27%、0.63%，表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性试验 取贵州贵阳（S2）蜘蛛香药材细粉6份，按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下分别进样，测得新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、橙皮苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯含有量RSD分别为0%、0.49%、0%、1.35%、0.98%、0.18%、0.18%、0.20%、0.10%，表明该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 精密吸取贵州贵阳（S2）供试品溶液，室温放置0、3、6、9、12、24 h后，

在“2.1”项色谱条件下进样，测得新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、橙皮苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、乙酰缬草三酯、缬草三酯峰面积RSD分别为2.33%、1.17%、2.23%、1.35%、1.53%、0.80%、1.41%、1.56%、1.18%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.5 加样回收率试验 精密称取6份已知测含有量的贵州贵阳（S2）蜘蛛香药材粉末0.02 g，分别精密加入150.00 μg/mL新绿原酸对照品溶液0.032 mL、220.00 μg/mL绿原酸对照品溶液0.108 mL、220.00 μg/mL咖啡酸对照品溶液0.003 mL、190.00 μg/mL橙皮苷对照品溶液0.271 mL、210.00 μg/mL异绿原酸 B对照品溶液0.020 mL、240.00 μg/mL异绿原酸 A对照品溶液0.135 mL、200.00 μg/mL异绿原酸 C对照品溶液0.080 mL、350.00 μg/mL乙酰缬草三酯对照品溶液0.165 mL、230.00 μg/mL缬草三酯对照品溶液0.902 mL，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定峰面积。计算各成分回收率，结果见表3。

2.4 样品含有量测定 取表1中21批样品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定峰面积，计算蜘蛛香中9种指标成分的含有量，结果见表4。

3 讨论

缬草三酯类成分具有镇静催眠、抗焦虑、抗病毒、血管舒张等多种药理作用，2015年版《中国药典》将缬草三酯和乙酰缬草三酯作为蜘蛛香药材的质量控制指标；新绿原酸、绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C等绿原酸类成分具有清除自由基、抗菌消炎、活血降压等生物活性，是2015年版《中国药典》金银花、山银花、茵陈、菊花等许多中药材和小儿咽扁颗粒、风热清口服液、全杜仲胶囊等多种成品药质量控制的重要指标；咖啡酸具有抗菌、抗病毒等药理作用，2015年版《中国药典》将咖啡酸作为蒲公英、冬葵果的指标成分；橙皮苷是蜘蛛香的主要成分之一，含有量高，稳定性好，临床上常作为治疗高血压的辅助药和止血药，其复合剂也用于治疗类风湿性关节炎和风湿热，2015年版《中国药典》将橙皮苷作为陈皮、青皮、橘红等中药材和陈丸、人参养荣丸等成方制剂的指标成分。因此，本实验选择该9种成分具有良好的代表性，可作为蜘蛛香药材的质量分析指标。

表 3 各成分加样回收率试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Tab. 3 Results of recovery tests for various constituents ($\bar{x} \pm s, n=6$)

| 成分 | 取样量/g | 原有量/ μg | 加入量/ μg | 测得量/ μg | 加样回收率/% | 平均回收率/% | RSD/% |
|--------|-------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|---------|-------|
| 新绿原酸 | 0.02 | 4.86 | 4.80 | 10.10 | 109.17 | 107.67 | 1.55 |
| | 0.02 | 4.86 | 4.80 | 10.05 | 108.13 | | |
| | 0.02 | 4.86 | 4.80 | 10.11 | 109.38 | | |
| | 0.02 | 4.86 | 4.80 | 10.01 | 107.29 | | |
| | 0.02 | 4.86 | 4.80 | 10.01 | 107.29 | | |
| | 0.02 | 4.86 | 4.80 | 9.89 | 104.79 | | |
| 绿原酸 | 0.02 | 23.73 | 23.76 | 49.04 | 106.52 | 107.83 | 1.09 |
| | 0.02 | 23.73 | 23.76 | 49.71 | 109.34 | | |
| | 0.02 | 23.73 | 23.76 | 49.60 | 108.88 | | |
| | 0.02 | 23.73 | 23.76 | 49.30 | 107.62 | | |
| | 0.02 | 23.73 | 23.76 | 49.41 | 108.08 | | |
| | 0.02 | 23.73 | 23.76 | 49.04 | 106.52 | | |
| 咖啡酸 | 0.02 | 0.75 | 0.66 | 1.42 | 101.52 | 103.54 | 2.20 |
| | 0.02 | 0.75 | 0.66 | 1.43 | 103.03 | | |
| | 0.02 | 0.75 | 0.66 | 1.44 | 104.55 | | |
| | 0.02 | 0.75 | 0.66 | 1.43 | 103.03 | | |
| | 0.02 | 0.75 | 0.66 | 1.42 | 101.52 | | |
| | 0.02 | 0.75 | 0.66 | 1.46 | 107.58 | | |
| 橙皮苷 | 0.02 | 51.46 | 51.49 | 105.04 | 104.06 | 105.31 | 1.80 |
| | 0.02 | 51.46 | 51.49 | 104.45 | 102.91 | | |
| | 0.02 | 51.46 | 51.49 | 105.20 | 104.37 | | |
| | 0.02 | 51.46 | 51.49 | 105.83 | 105.59 | | |
| | 0.02 | 51.46 | 51.49 | 106.54 | 106.97 | | |
| | 0.02 | 51.46 | 51.49 | 107.04 | 107.94 | | |
| 异绿原酸 B | 0.02 | 4.12 | 4.20 | 8.59 | 106.43 | 106.07 | 1.80 |
| | 0.02 | 4.12 | 4.20 | 8.49 | 104.05 | | |
| | 0.02 | 4.12 | 4.20 | 8.60 | 106.67 | | |
| | 0.02 | 4.12 | 4.20 | 8.68 | 108.57 | | |
| | 0.02 | 4.12 | 4.20 | 8.62 | 107.14 | | |
| | 0.02 | 4.12 | 4.20 | 8.47 | 103.57 | | |
| 异绿原酸 A | 0.02 | 32.44 | 32.40 | 67.44 | 108.02 | 107.89 | 1.41 |
| | 0.02 | 32.44 | 32.40 | 67.61 | 108.55 | | |
| | 0.02 | 32.44 | 32.40 | 67.74 | 108.95 | | |
| | 0.02 | 32.44 | 32.40 | 67.47 | 108.12 | | |
| | 0.02 | 32.44 | 32.40 | 67.70 | 108.83 | | |
| | 0.02 | 32.44 | 32.40 | 66.42 | 104.88 | | |
| 异绿原酸 C | 0.02 | 15.98 | 16.00 | 32.80 | 105.13 | 105.04 | 0.92 |
| | 0.02 | 15.98 | 16.00 | 32.56 | 103.63 | | |
| | 0.02 | 15.98 | 16.00 | 32.96 | 106.13 | | |
| | 0.02 | 15.98 | 16.00 | 32.72 | 104.63 | | |
| | 0.02 | 15.98 | 16.00 | 32.72 | 104.63 | | |
| | 0.02 | 15.98 | 16.00 | 32.96 | 106.13 | | |
| 乙酰缬草三酯 | 0.02 | 57.89 | 57.75 | 120.81 | 108.95 | 108.28 | 0.70 |
| | 0.02 | 57.89 | 57.75 | 120.37 | 108.19 | | |
| | 0.02 | 57.89 | 57.75 | 120.69 | 108.74 | | |
| | 0.02 | 57.89 | 57.75 | 120.81 | 108.95 | | |
| | 0.02 | 57.89 | 57.75 | 120.15 | 107.81 | | |
| | 0.02 | 57.89 | 57.75 | 119.71 | 107.05 | | |
| 缬草三酯 | 0.02 | 207.47 | 207.46 | 430.85 | 107.67 | 107.77 | 0.91 |
| | 0.02 | 207.47 | 207.46 | 428.08 | 106.34 | | |
| | 0.02 | 207.47 | 207.46 | 430.58 | 107.54 | | |
| | 0.02 | 207.47 | 207.46 | 430.84 | 107.67 | | |
| | 0.02 | 207.47 | 207.46 | 431.50 | 107.99 | | |
| | 0.02 | 207.47 | 207.46 | 434.40 | 109.38 | | |

表4 各成分含有量测定结果 (% , $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab. 4 Results of content determination of various constituents (% , $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

| 编号 | 新绿原酸 | 绿原酸 | 咖啡酸 | 橙皮苷 | 异绿原酸 B | 异绿原酸 A | 异绿原酸 C | 乙酰缬草三酯 | 缬草三酯 | 总量 |
|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| S1 | 0.008 | 0.885 | 0.006 | 0.272 | 0.051 | 0.509 | 0.206 | 0.031 | 0.619 | 2.587 |
| S2 | 0.006 | 0.303 | 0.006 | 0.896 | 0.044 | 0.531 | 0.222 | 0.188 | 1.039 | 3.235 |
| S3 | 0.006 | 0.296 | 0.011 | 1.201 | 0.020 | 0.515 | 0.220 | 0.210 | 1.580 | 4.059 |
| S4 | 0.005 | 0.305 | 0.004 | 1.280 | 0.036 | 0.592 | 0.232 | 0.247 | 1.971 | 4.672 |
| S5 | 0.006 | 0.524 | 0.003 | 1.418 | 0.042 | 0.883 | 0.332 | 0.362 | 1.924 | 5.494 |
| S6 | 0.009 | 1.038 | 0.006 | 1.303 | 0.071 | 1.423 | 0.673 | 0.441 | 2.746 | 7.710 |
| S7 | 0.006 | 0.402 | 0.007 | 1.121 | 0.049 | 0.475 | 0.235 | 0.294 | 1.791 | 4.380 |
| S8 | 0.008 | 1.033 | 0.002 | 1.057 | 0.059 | 0.645 | 0.322 | 0.254 | 2.871 | 6.251 |
| S9 | 0.009 | 0.776 | 0.004 | 1.257 | 0.068 | 0.867 | 0.458 | 0.255 | 1.923 | 5.617 |
| S10 | 0.005 | 0.877 | 0.006 | 1.264 | 0.086 | 1.348 | 0.671 | 0.196 | 1.232 | 5.685 |
| S11 | 0.005 | 0.249 | 0.004 | 1.204 | 0.033 | 0.524 | 0.245 | 0.271 | 2.029 | 4.564 |
| S12 | 0.008 | 0.581 | 0.006 | 0.378 | 0.037 | 0.414 | 0.201 | 0.033 | 0.321 | 1.979 |
| S13 | 0.009 | 0.53 | 0.006 | 0.98 | 0.058 | 0.571 | 0.334 | 0.091 | 0.910 | 3.489 |
| S14 | 0.005 | 0.523 | 0.003 | 0.889 | 0.074 | 0.777 | 0.358 | 0.197 | 1.881 | 4.707 |
| S15 | 0.005 | 0.691 | 0.003 | 0.458 | 0.088 | 1.508 | 0.410 | 0.711 | 1.841 | 5.715 |
| S16 | 0.006 | 0.567 | 0.006 | 0.504 | 0.052 | 0.853 | 0.278 | 0.712 | 1.431 | 4.409 |
| S17 | 0.004 | 0.218 | 0.004 | 1.757 | 0.043 | 0.512 | 0.274 | 0.578 | 1.536 | 4.926 |
| S18 | 0.007 | 0.929 | 0.003 | 0.279 | 0.069 | 0.473 | 0.231 | 0.034 | 2.159 | 4.184 |
| S19 | 0.008 | 0.613 | 0.005 | 0.742 | 0.041 | 0.544 | 0.269 | 0.257 | 2.184 | 4.663 |
| S20 | 0.006 | 0.285 | 0.003 | 1.072 | 0.055 | 0.572 | 0.295 | 0.363 | 3.112 | 5.763 |
| S21 | 0.009 | 1.023 | 0.004 | 0.474 | 0.062 | 0.558 | 0.237 | 0.077 | 1.139 | 3.583 |
| 平均值 | 0.007±0.002 | 0.602±0.279 | 0.005±0.002 | 0.943±0.414 | 0.054±0.018 | 0.719±0.326 | 0.319±0.135 | 0.276±0.199 | 1.726±0.708 | 4.651±1.298 |
| RSD | 24.34 | 46.33 | 41.32 | 43.94 | 32.43 | 45.30 | 42.38 | 72.00 | 41.00 | 27.90 |

本实验以9种成分色谱峰的分度、峰形及分析时间为评价指标,考察了水及20%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%甲醇9种溶剂对9种成分提取的影响,发现70%甲醇的提取效果最好;利用UPLC-DAD检测器于190~400 nm扫描供试品溶液和混合对照品溶液,发现乙酰缬草三酯、缬草三酯最大吸收波长为256 nm^[3,15],橙皮苷最大吸收波长为284 nm,新绿原酸等6种被测酚酸类成分最大吸收波长为327 nm^[10],所选用的最大吸收波长均与文献报道一致,为便于实验操作确定0~11 min检测波长为327 nm、11~30 min检测波长为256 nm。根据Van Deemter理论,色谱柱粒径越小,塔板数高度越低,柱效越高,考察了不同型号色谱柱,结果显示Ultimate® UHPLC Polar-RP (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)柱效较佳、各色谱峰响应值较高、峰形较好、各成分均能达到有效分离,30 min内即可实现蜘蛛香中9种成分有效分离,可大大提高分析效率,同时减少试剂用量,降低分析成本。考察了乙腈/甲醇-水流动相体系,并水中添加酸试剂,结果发现9种成分色谱峰峰形在

乙腈-0.1%甲酸水溶液梯度洗脱系统中基线平稳、分离效果最好,可达到分离度要求。

2015年版《中国药典》(一部)中蜘蛛香药材无含有量测定方法,不能准确反映其内在质量;单一的化学成分难以全面保障和反映药材的品质及有效性,相较于现有蜘蛛香成分含有量的测定^[10,16-19],本实验应用波长切换法建立UPLC法同时测定蜘蛛香中9种成分的含有量,包括6种酚酸类(新绿原酸、绿原酸、咖啡酸、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C)、1种黄酮类(橙皮苷)、2种缬草三酯类(乙酰缬草三酯、缬草三酯),共3种化学结构类型,具有简便快捷、结果准确、专属性好等特点,适用于蜘蛛香的质量控制,测定的成分较多,能更全面地反映其内在质量,有利于蜘蛛香质量标准提升,以期蜘蛛香新药研发及药理研究提供参考。中药材品质可能与药材的生长环境、生长年限、根茎粗细、采收时间、贮藏条件等因素有关,为保证蜘蛛香的临床用药质量和疗效,应规范其适宜采收期、保存时间和指标成分含有量限度。实验结果表明,不同产地蜘蛛香药材中9种

成分含有量差异较大, RSD 为 24.34%~72.00%, 其中缬草三酯、橙皮苷、异绿原酸 A、绿原酸的含有量较高分别占总量的 37.10%、20.28%、15.45%、12.95%, 为保证蜘蛛香的临床疗效, 建议蜘蛛香中缬草三酯、橙皮苷、异绿原酸 A、绿原酸含有量分别不得少于 1.035%、0.566%、0.431%、0.361%。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 368-369.
- [2] 宋歌, 王宝华, 闫兴丽, 等. 蜘蛛香中环烯醚萜类成分大孔树脂纯化工艺的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(3): 200-204.
- [3] 罗喜荣, 罗俊, 杨军, 等. 蜘蛛香不同部位中总缬草三酯含量测定[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(16): 8884; 9106.
- [4] 杨军, 龙庆德, 罗喜荣, 等. 超临界二氧化碳萃取蜘蛛香油工艺的研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(1): 157-158.
- [5] 田弋夫, 龙庆德, 罗喜荣, 等. 蜘蛛香油化学成分的气相色谱-飞行时间质谱分析[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 924-926.
- [6] 罗喜荣, 苑天红, 杨军, 等. 超临界 CO₂ 萃取蜘蛛香中总缬草三酯的工艺研究[J]. 广东农业科学, 2012, 39(16): 119-121.
- [7] 罗喜荣, 苑天红, 杨军, 等. 超临界 CO₂ 萃取蜘蛛香中缬草素工艺优化[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(8): 1901-1902; 1912.
- [8] 李蓉, 李小平, 吴莹. 紫外分光光度法测定蜘蛛香中总黄酮的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(12): 149-150.
- [9] 刘开萍, 杨军, 罗喜荣, 等. 蜘蛛香中绿原酸及总酚酸的含量测定[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(2): 288-290.
- [10] 刘开萍, 杨军, 程盛勇, 等. HPLC 法同时测定蜘蛛香中 7 种成分含量[J]. 中药材, 2018, 41(4): 922-924.
- [11] 刘开萍, 程盛勇, 郁林娜, 等. 蜘蛛香总缬草三酯自微乳的制备及质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(11): 16-21.
- [12] 徐亚静. 做中药产业发展的“导航仪”[N]. 中国医药报, 2015-07-15(006).
- [13] 程盛勇, 付洋, 郁林娜, 等. 蜘蛛香 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究[J]. 中国药学杂志, 2019, 54(6): 489-493.
- [14] 程盛勇, 付洋, 郁林娜, 等. 蜘蛛香 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中药材, 2019, 42(5): 1080-1084.
- [15] 刘开萍, 程盛勇, 郁林娜, 等. 蜘蛛香总缬草三酯的平衡溶解度、表观油水分配系数和稳定性测定[J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43(3): 285-288.
- [16] 石晋丽, 刘勇, 肖培根. HPLC 法测定不同产地蜘蛛香中橙皮苷的含量[J]. 中草药, 2005, 36(3): 449-450.
- [17] 李靖, 刘佳, 乔里, 等. 高效液相色谱法同时测定蜘蛛香中 3 种活性成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(20): 1840-1844.
- [18] 侯文慧, 刘勇, 王春国, 等. HPLC 法同时测定蜘蛛香药材中缬草三酯类化合物及其降解产物的含量[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(12): 2658-2663.
- [19] 杨雁芸, 张艳丽, 何玉环, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定辛夷中 12 种木脂素[J]. 中成药, 2019, 41(5): 1069-1073.