

# 蜘蛛香总环烯醚萜中 chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 的测定

许科科<sup>1</sup>, 李少华<sup>1</sup>, 左长英<sup>1</sup>, 陈朝勇<sup>1</sup>, 张瑞桐<sup>1</sup>, 兰明<sup>1</sup>, 林玉<sup>1</sup>, 张天娥<sup>2</sup>, 闫智勇<sup>1\*</sup>

(1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031;  
2. 成都中医药大学基础医学院, 成都 611137)

**[摘要]** **目的:**运用高效液相色谱法测定蜘蛛香总环烯醚萜中 chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 的含量。**方法:**采用高效液相色谱法, waters C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 的流动相分别为乙腈-水(60:40), (50:50); 检测波长分别为 254, 203 nm; 流速均为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温均为 30 °C。**结果:**蜘蛛香总环烯醚萜中 chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 进样量分别在 15.5 ~ 155, 20 ~ 200 pg 与各自峰面积积分值呈良好线性关系(*r* 分别为 0.998 6, 0.998 7); 测得 chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 含量分别为 8.91, 7.00 mg·g<sup>-1</sup>。**结论:**确定了蜘蛛香总环烯醚萜中 chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 的含量, 为蜘蛛香总环烯醚萜的质量控制提供了一定依据。

**[关键词]** 蜘蛛香总环烯醚萜; chlorovaltrate; 蜘蛛香素 B

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0064-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160064

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140627.0946.103.html>

**[网络出版时间]** 2014-06-26 11:10

## Content Determination of Chlorovaltrate and Valjatrane B in Total Iridoids of Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix

XU Ke-ke<sup>1</sup>, LI Shao-hua<sup>1</sup>, ZUO Chang-ying<sup>1</sup>, CHEN Chao-yong<sup>1</sup>, ZHANG Rui-tong<sup>1</sup>,  
LAN Ming<sup>1</sup>, LIN Yu<sup>1</sup>, ZHANG Tian-e<sup>2</sup>, YAN Zhi-yong<sup>1\*</sup>

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China;  
2. School of Basic Medical, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** The purpose of this study was to determine the content of chlorovaltrate and valjatrane B in total Iridoids of Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix. **Method:** HPLC method was adopted. The chromatographic column was waters C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); the mobile phase for chlorovaltrate and valjatrane B was acetonitrile water (60:40), (50:40); the detection wavelength for chlorovaltrate and valjatrane B were 254, 203 nm; the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; the column temperature was 30 °C. **Result:** The fine linear correlation displayed when the injection volume were 15.5-155 pg (*r* = 0.998 6), 20-200 pg (*r* = 0.998 7) for chlorovaltrate and valjatrane B in total iridoids of Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix, respectively. The contents of chlorovaltrate and valjatrane B were 8.91 mg·g<sup>-1</sup> and 7.00 mg·g<sup>-1</sup>, respectively. **Conclusion:** The contents of chlorovaltrate and valjatrane B in total Iridoid of Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix were determined to provide evidence for quality control of total iridoids of Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix.

**[Key words]** total iridoids of Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix; chlorovaltrate; valjatrane B

**[收稿日期]** 20131102(006)

**[基金项目]** 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09103-370); 教育部中央高校基本科研业务费专项资金(WJUT09CX063)

**[第一作者]** 许科科, 在读硕士, 从事中药药理研究, E-mail: 759780290@qq.com

**[通讯作者]** \* 闫智勇, 博士, 教授, 从事神经及肿瘤药理研究, Tel: 028-66367214, E-mail: yzhiy@swjtu.edu.cn

蜘蛛香是败酱科植物蜘蛛香的根及根茎。曾载于《本草纲目》<sup>[1]</sup>,在多版《中国药典》中也有收载,功能镇静安神、理气止痛、消食止泻、祛风除湿,治疗脘腹胀痛、食积不化、腹泻痢疾、风湿痹痛、腰膝酸软、失眠<sup>[2]</sup>。蜘蛛香中主含环烯醚萜类、挥发油类、黄酮类等<sup>[3-4]</sup>化学成分,具有镇静催眠、抗肿瘤、降血脂、抗焦虑等药理作用<sup>[5-8]</sup>。

本课题组在研发蜘蛛香总环烯醚萜抗焦虑中药新药过程中,分离纯化得到 chlorovaltrate、蜘蛛香素 B 等 20 余种环烯醚萜类单体化合物。chlorovaltrate 曾先后被 Fuzzati<sup>[9]</sup>等、Lin<sup>[10]</sup>等从蜘蛛香中分离纯化得到,具有抗真菌<sup>[9]</sup>,抑制肺癌、前列腺癌、肝癌、结肠癌等多种肿瘤细胞<sup>[10]</sup>,适度的神经保护作用<sup>[11]</sup>;蜘蛛香素 B 是本课题组首次从蜘蛛香中分离得到,具有一定的神经保护作用<sup>[12]</sup>,两者皆是蜘蛛香中重要的环烯醚萜类成分。本实验拟通过测定这两种成分在蜘蛛香总环烯醚萜中的含量,为其质量标准的制定提供一定的参考依据,相关研究尚未发现有公开的报道。

## 1 仪器与试剂

LC20A 高效液相色谱仪 (SPD-20A 检测器, LC-20AT 泵, CBM-102, Chromato-Solution Light 软件, 日本岛津), TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司), BSA224S 型精密天平 (赛多利斯科学仪器有限公司)。

蜘蛛香总环烯醚萜由西南交通大学生命学院实验室制备, chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 对照品 (实验室自制, 纯度  $\geq 95\%$ ), 甲醇、乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司), 二次蒸馏水 (成都恒信化学试剂有限公司)。

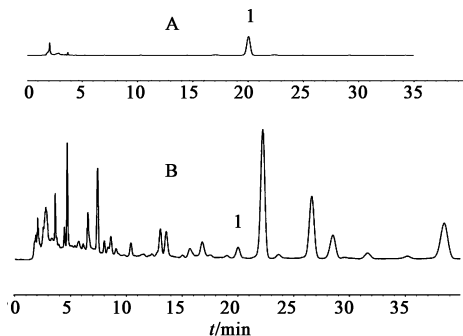
## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取 chlorovaltrate 对照品适量, 加甲醇溶解后定容至 25 mL 量瓶中, 得  $628 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液, 摇匀; 精密吸取上述母液适量, 甲醇溶解稀释为  $7.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液, 摇匀, 作为 chlorovaltrate 对照品贮备液。精密称取蜘蛛香素 B 对照品适量, 甲醇溶解定容, 再精密吸取适量稀释为  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的蜘蛛香素 B 对照品贮备液。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密称取蜘蛛香总环烯醚萜样品 6.0 mg, 甲醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中, 摇匀; 从中精密吸取 5 mL 置 25 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀; 经  $0.45 \mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

**2.3 色谱条件** 测定 chlorovaltrate waters  $\text{C}_{18}$  色

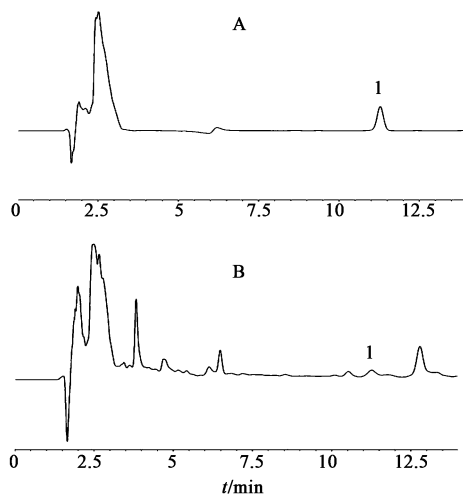
柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ , 美国 Phenomenex 公司), 流动相乙腈-水 (60:40), 检测波长 254 nm, 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 理论板数按 chlorovaltrate 峰计算不低于 5 000。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. chlorovaltrate

图 1 蜘蛛香环烯醚萜类有效部位 chlorovaltrate HPLC

测定蜘蛛香素 B waters  $\text{C}_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ , 美国 Phenomenex 公司), 流动相乙腈-水 (50:50), 检测波长 203 nm, 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 理论板数按蜘蛛香素 B 峰计算不低于 5 000。见图 2。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 蜘蛛香素 B

图 2 蜘蛛香环烯醚萜类有效部位蜘蛛香素 B 含量 HPLC

**2.4 线性关系考察** 在各自的色谱条件下, 分别精密吸取对照品溶液 2, 4, 8, 12, 16, 20  $\mu\text{L}$ , 进样测定。以对照品质量 (pg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。chlorovaltrate 回归方程  $Y = 116.24X + 42.455$  ( $r = 0.9986$ ), 结果表明 chlorovaltrate 在 15.5 ~ 155 pg 与峰面积呈良好的线性关系。蜘蛛香素 B 回归方程  $Y = 131.48X + 191.79$  ( $r = 0.9987$ ), 结果表明蜘蛛香素 B 在 20 ~ 200 pg 与峰面积有良好的线性关系。

**2.5 精密度试验** 分别精密吸取 chlorovaltrate、蜘蛛香素 B 对照品溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 重复进样 5 次, 记录峰面积, 测得 RSD 分别为 0.049%, 0.26%, 表明仪器精密度良好。

**2.6 重复性试验** 分别称取同批蜘蛛香总环烯醚萜样品 5 份, 按供试品溶液制备方法操作, 按照 2.3 项下方法分别进样 20  $\mu\text{L}$ , 测定, 测得两者的 RSD 分别为 0.42%, 1.45%, 表明方法重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 精密吸取供试品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 分别于制备后 0, 4, 8, 12, 24, 48 h 测定峰面积, 计算 chlorovaltrate、蜘蛛香素 B 含量 RSD 分别为 1.83%, 0.61%, 表明本品 48 h 内稳定性良好。

**2.8 样品含量测定** 分别精密吸取 chlorovaltrate、蜘蛛香素 B 供试品溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 按 2.3 项下色谱条件进样分析, 测定按 2.4 项下方法计算样品中 chlorovaltrate、蜘蛛香素 B 的含量。结果表明, 样品中 chlorovaltrate、蜘蛛香素 B 的质量分数分别为 8.91, 7.00  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

### 3 讨论

前期研究中, 本课题组通过正交试验, 得到了蜘蛛香总环烯醚萜优化的提取工艺, 即蜘蛛香药材 70% 乙醇浸提 2 次, 第 1 次 8 倍量浸渍提取 24 h, 第 2 次 6 倍量 12 h, 抽滤, 合并滤液, 减压浓缩至干。然后通过对浸膏上样量与树脂湿重比例, 洗脱剂浓度梯度, 洗脱剂用量等因素的考察, 确定蜘蛛香总环烯醚萜优化的纯化工艺为: D101 树脂, 浸膏比上样量 72  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , 上样静置 30 min 后, 依次用 6 BV 水、4 BV 60% 乙醇、4 BV 95% 乙醇洗脱, 收集 95% 洗脱部分, 减压浓缩至干, 得到的蜘蛛香总环烯醚萜含量不低于 70%。

为了更好的对蜘蛛香总环烯醚萜进行质量控制, 本课题组对 chlorovaltrate、蜘蛛香素 B 这两个重要的环烯醚萜指标成分进行了含量检测。但发现蜘蛛香总环烯醚萜中 chlorovaltrate 和蜘蛛香素 B 的含量较少。下一步, 本课题组拟在总环烯醚萜中寻找

含量更高、更具有代表性的指标性成分, 以更好的对蜘蛛香总环烯醚萜进行质量控制。

### [参考文献]

- [1] 李时珍. 本草纲目. 第二册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1979; 845.
- [2] 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; 345.
- [3] 石晋丽, 刘勇, 肖培根. 缬草属植物化学成分与药理作用[J]. 医学教育探索, 2003, 18(6): 231.
- [4] Mathela CS, Chanotiya CS, Sammal SS, et al. Compositional diversity of terpenoids in the Himalayan Valeriana genera [J]. Chem Biodiversity, 2005, 2(9): 1174.
- [5] 彭佳. 蜘蛛香环烯醚萜类成分中枢抑制作用研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2009.
- [6] 张占平. 蜘蛛香提取物体外抗结肠癌作用研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2010.
- [7] 闫智勇, 张天娥, 彭佳, 等. 蜘蛛香对焦虑模型大鼠行为学及脑组织神经递质含量的影响[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(3): 67.
- [8] Zhiyong Yan, Tian'e Zhang, Ting Xiao, et al. Anti-anxiety effect of *Valeriana jatamansi* Jones extract via regulation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis [J]. Neural Regen Res, 2010, 5(14): 1071.
- [9] Fuzzati N, Wolfender JL, Hostettmann K, et al. Isolation of antifungal valepotriates from *Valeriana capense* and the search for valepotriates in crude Valerianaceae extracts [J]. Phytochem Anal, 1996, 7(2): 76.
- [10] Lin S, Zhang ZX, Chen T, et al. Characterization of chlorinated valepotriates from *Valeriana jatamansi* [J]. Phytochemistry, 2012, 85(2013): 185.
- [11] Xu J, Zhao P, Guo Y, et al. Iridoids from the roots of *Valeriana jatamansi* and their neuroprotective effects [J]. Fitoterapia, 2011, 82(7): 1133.
- [12] 闫智勇. 一种环烯醚萜类化合物及其神经保护作用: 中国, 201310077809. X [P]. 2013-06-12.

[责任编辑 顾雪竹]