

· 论 著 ·

新疆白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷的含量分析

蒋益萍¹, 张巧艳¹, 冯 纓², 王 恒³, 王 琪³, 辛海量¹ (1. 第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433; 2. 中国科学院新疆生态与地理研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832200)

[摘要] 目的 分析新疆产白刺叶中黄酮类成分异鼠李素-3-芸香糖苷的含量, 对新疆白刺的品质评价和质量控制提供依据。方法 采用 HPLC 法对新疆白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷进行含量分析。色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流速: 1 ml/min; 柱温: 26 °C; 检测波长: 360 nm。结果 新疆白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷在 0.007 813~1 mg/ml 的范围内线性关系良好, 平均加样回收率为 100.13%, RSD=3.02%。结论 异鼠李素-3-芸香糖苷在白刺叶中的含量存在较大的种内和种间差异。该方法操作简单, 检测结果准确, 重复性好, 可作为新疆白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷的定量分析方法。

[关键词] 白刺; 黄酮; 异鼠李素-3-芸香糖苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)06-0522-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.06.010

Quantitative analysis of isorhamnetin-3-rutinoside in leaves of *Nitraria Spp.* from Xinjiang region

JIANG Yiping¹, ZHANG Qiaoyan¹, FENG Ying², WANG Heng³, WANG Qi³, XIN Hailiang¹ (1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi, 830011, China; 3. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi, 832000 China)

[Abstract] **Objective** To provide supporting data for the quality control and evaluation of *Nitraria Spp.* from Xinjiang region by analyzing the content of isorhamnetin-3-rutinoside in its leaves. **Methods** HPLC method was used for the determination of isorhamnetin-3-rutinoside in leaves of *Nitraria Spp.* **Results** There is a good linear relationship in the range of 0.007813~1 mg/ml. The average recovery rate is 100.13% (RSD=3.02%). **Conclusion** There were large interspecific and intraspecific differences of isorhamnetin-3-rutinoside content in leaves of *Nitraria Spp.* from Xinjiang region. A simple method was identified to give accurate and reproducible results. This method can be used for quantitative analysis of isorhamnetin-3-rutinoside content in leaves of *Nitraria Spp.*

[Key words] *Nitraria Spp.*; flavone; isorhamnetin-3-rutinoside; HPLC

白刺 (*Nitraria*) 是蒺藜科 Zygophyllaceae 旱生或超旱生典型荒漠植物, 是优良的防风固沙灌木^[1,2], 我国新疆地区有西伯利亚白刺 (*Nitraria sibirica* Pall.), 大果白刺 (*N. roborowskii* Kom.), 唐古特白刺 (*N. tangutorum* Bobr.), 泡果白刺 (*N. sphaerocarpa* Maxim.), 帕米尔白刺 (*N. pamirica*

Vassil.) 分布^[3]。唐古特白刺和西伯利亚白刺在《维吾尔药志》中被统称为阿克羊塔克乌拉盖, 其实是新疆维吾尔族人的习用药物, 研究发现白刺的果实和叶片具有调节血糖、降血压、降血脂、抗氧化、抗疲劳、延缓衰老、提高免疫力等功效, 其中的主要成分黄酮及其衍生物具有抗炎、抗菌、止咳祛痰、降血压、扩张冠状血管, 治疗静脉曲张、静脉炎, 治疗烧伤等功效^[4-9]。现有文献报道, 黄酮类成分异鼠李素-3-芸香糖苷具有显著的抗菌和抑菌活性^[9-11]。为 做好白刺属植物资源的开发, 本研究采用 HPLC 法分析新疆产白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷的含量^[12], 探讨该类成分的种间和地域分布规律, 以期 为资源开发提供依据。

[基金项目] 国家自然科学基金联合基金项目 (U1203104)

[作者简介] 蒋益萍, 硕士, 实验师。研究方向: 中药活性成分及品质评价。Tel: (021) 81871305; E-mail: msjyp@163.com

[通讯作者] 辛海量, 博士, 副教授, 硕士生导师。研究方向: 中药活性成分及其资源的开发利用。Tel: (021) 81871300; E-mail: hailiangxin@163.com

1 仪器与材料

Agilent series1200 高效液相色谱仪(四元泵, DAD 检测器); 乙腈(色谱纯); 冰醋酸(AR, 国药集团化学试剂有限公司); 异鼠李素芸-3-芸香糖苷对照品(上海融禾医药科技有限公司, 纯度 > 98%); 实验材料白刺叶由笔者采集自新疆多个地点, 详见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil(钻石)C₁₈ 柱

(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相: 0 min: 乙腈-0.5% 醋酸(9.5 : 90.5); 20 min: 乙腈-0.5% 醋酸(25 : 75); 28 min: 乙腈-0.5% 醋酸(30 : 70); 30 min: 乙腈-0.5% 醋酸(9.5 : 90.5); 35 min: 乙腈-0.5% 醋酸(9.5 : 90.5)。流速: 1 ml/min, 柱温: 26 °C, 检测波长: 360 nm, 参比波长: 400 nm。

2.2 系统适应性实验

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 在“2.1”项色谱条件下, 异鼠李素芸-3-芸香糖苷与相邻色谱峰分离度均大于 1.5, 理论塔板数不低于 5 000, 拖尾因子均在 0.95~1.05, 保留时间为 20.08 min, 色谱图见图 1。

表 1 新疆白刺采摘位置及白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷含量测定结果

序号	名称	海拔(/m)	纬度	经度	含量(%)
1	西伯利亚白刺叶	453.37	44°17'10.432"N	87°27'37.100"E	0.10
2		446.10	44°58'21.049"N	86°08'47.072"E	0.05
3		384.60	44°30'04.032"N	84°39'03.754"E	0.18
4		539.62	47°45'53.257"N	86°06'59.856"E	0.07
5		503.67	47°43'35.208"N	86°58'07.036"E	0.12
6		911.48	46°03'18.462"N	90°08'39.568"E	0.02
7		1 904.10	40°56'41.281"N	78°36'30.264"E	0.23
8		1 148.10	41°07'58.463"N	79°59'23.094"E	0.17
9		1 265.75	39°45'17.720"N	76°14'43.479"E	0.09
10		1 061.03	41°58'41.313"N	86°29'08.373"E	0.03
11	大果白刺叶	381.90	44°32'42.194"N	86°31'52.946"E	1.04
12		318.38	45°10'07.542"N	85°55'40.559"E	0.26
13		353.50	44°39'23.347"N	85°11'26.486"E	0.36
14		1 094.88	38°31'21.221"N	86°04'08.263"E	0.14
15		836.55	39°05'35.766"N	88°09'51.703"E	0.06
16		849.70	40°40'37.848"N	87°26'57.878"E	0.17
17	唐古特白刺叶	267.18	45°42'54.190"N	85°12'22.477"E	1.21
18		1 581.15	43°46'45.221"N	91°40'43.670"E	0.01
19		1 705.28	43°37'49.009"N	92°33'41.407"E	0.01
20	泡果白刺叶	808.90	42°49'14.362"N	93°41'32.897"E	0.03
21		831.93	42°57'43.989"N	93°18'36.694"E	0.06
22		1 186.55	42°13'33.94"N	87°20'49.59"E	0.03
23		1 218.00	42°22'30.61.76"N	86°12'02.30"E	0.02
24		1 132.50	42°11'30.07.39"N	86°10'41.98"E	0.03
25		1 049.70	41°53'30.04.34"N	86°21'10.73"E	0.05
26		2 055.40	40°56'07.612"N	78°23'30.740"E	0.44
27		1 100.47	40°33'03.539"N	79°23'57.912"E	0.04
28		1 154.70	39°50'48.503"N	77°45'04.454"E	0.04
29		1 224.47	39°51'50.276"N	76°44'44.403"E	0.06
30		1 405.10	38°42'44.035"N	76°20'47.048"E	0.15
31		1 348.45	38°33'36.283"N	76°40'16.996"E	0.19
32		1 295.93	38°23'31.552"N	76°53'49.409"E	0.08
33		1 365.15	37°50'13.033"N	77°35'14.870"E	0.36
34		1 412.03	37°30'30.065"N	78°21'42.218"E	0.52
35	帕米尔白刺叶	3 323.00	38°36'51.317"N	74°58'54.831"E	0.02
36		3 670.43	37°55'21.775"N	75°10'52.054"E	0.13
37		3 092.18	37°55'13.838"N	75°10'55.228"E	0.12

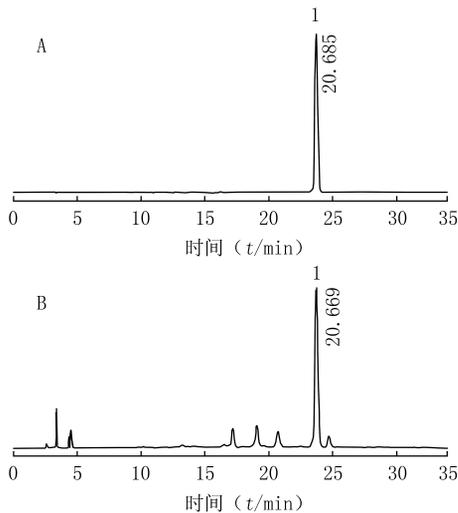


图1 对照品(A)和供试品(B)的HPLC图
1. 异鼠李素-3-芸香糖苷

2.3 标准曲线的建立 精密称取异鼠李素-3-芸香糖苷对照品 10 mg, 加入 80% 的乙醇溶解并定容至 10 ml, 摇匀, 得对照品原液 1 mg/ml。将对照品原液以流动相等比稀释为 0.5、0.25、0.031 25、0.015 625、0.007 813 mg/ml 系列浓度的对照品溶液, 摇匀。将各对照品溶液分别进样 20 μ l, 测定。以异鼠李素-3-芸香糖苷浓度 (C , mg/ml) 为横坐标, 峰面积 (A) 为纵坐标进行线性回归。标准曲线: $A = 20\ 303C - 40.163$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围: 0.007 813 ~ 1 mg/ml。

2.4 供试品溶液的制备 将白刺叶样品置于 60 $^{\circ}$ C 烘箱烘干, 研成粉末, 过 40 目筛, 准确称取上述样品 0.1 g, 分别以 2 ml、80% 乙醇、50 $^{\circ}$ C、功率 600 W 超声提取 1 h, 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 取滤液, 冷藏, 备用。

2.5 精密度试验 精密吸取上述浓度为 0.25 mg/ml 对照品溶液 20 μ l, 按“2.1”项下方法, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 计算异鼠李素-3-芸香糖苷的峰面积 RSD 为 0.28%, 表明该法测定异鼠李素-3-芸香糖苷含量的精密度良好。

2.6 重复性试验 准确称取西伯利亚白刺叶 7 号样品 (表 1) 6 份, 每份 0.1 g, 按照“2.4”项下方法操作, 制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下方法进样, 考察方法的重复性。异鼠李素-3-芸香糖苷峰面积 RSD 为 4.449 6%, 表明本测定方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 定性试验: 取西伯利亚白刺叶 7 号样品, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 计算异鼠李素-3-芸香糖苷的峰面积 RSD 为 3.41%, 表明本样品溶液中异鼠李素-3-芸香糖苷在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取西伯利亚白刺叶 7 号样品 6 份, 每份 0.1 g, 分别加入定量对照品溶液, 同法制备供试品溶液, 分别吸取 20 μ l, 依上述方法测定, 结果见表 2。

表 2 加样回收率试验 ($n=6$)

序号	样品量 折算含 量 (m/mg)	加样量 (m/mg)	峰面积	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
1	0.456	0.48	9 536.0	0.921	96.84	100.13	3.02
2	0.456	0.48	9 402.7	0.943	101.53		
3	0.456	0.48	9 655.6	0.930	98.79		
4	0.456	0.48	9 590.5	0.955	103.98		
5	0.456	0.48	9 314.7	0.949	102.64		
6	0.456	0.48	9 307.5	0.922	96.98		

2.9 含量测定 精密吸取上述供试品溶液 20 μ l, 测定白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷的含量, 结果见表 1。

3 讨论

西伯利亚白刺为新疆天然分布种^[13], 是新疆白刺的代表性物种。选用西伯利亚白刺为代表, 采用 HPLC 法对新疆白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷进行含量分析, 该方法操作简单, 可以快速检测新疆白刺叶中黄酮类成分异鼠李素-3-芸香糖苷的含量, 且稳定性好, 结果可靠, 可为新疆产白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷的分析和质量评价提供参考, 为今后的资源开发提供依据。

经对新疆产白刺叶中黄酮类成分异鼠李素-3-芸香糖苷的含量分析发现, 不同种白刺叶中该成分的含量差异较大, 同时, 在受到海拔、经度和纬度交互作用的影响下, 同种白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷的含量差异极大, 这种现象可能与物种本身的种植条件和产地特殊的生态条件密切相关。例如: 不同海拔、经纬度地区生长的西伯利亚白刺叶 (0.02% ~ 0.23%), 大果白刺叶 (0.06% ~ 1.04%), 唐古特白刺叶 (0.01% ~ 1.21%), 泡果白刺叶 (0.02% ~ 0.52%), 帕米尔白刺叶 (0.02% ~ 0.13%)。由于物种的差异性以及其生长环境中海拔、经纬度等因素的不同, 导致不同种白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷的含量有很大变化, 这是不同生境的海拔、经纬度的环境条件下各种生态因子综合作用的结果, 并非简单受海拔、经度或纬度等单个因素影响。因此, 应扩大样品的收集范围, 更加全面地研究新疆白刺叶中异鼠李素-3-芸香糖苷含量变化的地域分布规律, 为白刺的质量控制、品质评价和深入开发奠定基础。

【参考文献】

- [1] 谢国勋, 罗维成, 赵文智. 荒漠草原带沙源及灌丛对灌丛沙堆形态的影响[J]. 中国沙漠, 2015, 35(3): 573-581.
- [2] 玉苏甫·买买提, 艾萨迪拉·玉苏甫. 新疆白刺属植物空间分布及其生物学特性分析[J]. 安徽农学通报, 2015, 21(12): 28-31.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1998, 43(1): 117.
- [4] 梅新娣, 沈应柏. 西伯利亚白刺化学成分研究进展[J]. 中药材, 2012, 35(12): 2045-2049.
- [5] 杨仁明, 索有瑞, 王洪伦. 唐古特白刺果实化学成分和功效作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(7): 985-989.
- [6] 索有瑞, 李玉林, 王洪伦, 等. 柴达木盆地唐古特白刺果实调节免疫、抗疲劳和耐寒作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(6): 717-721.
- [7] 索有瑞, 王洪伦, 陈桂琛. 柴达木盆地唐古特白刺籽油的安全

- 性与降血脂作用[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 217-219.
- [8] 齐敬浩, 张桂霞, 陈贵林. 白刺果实活性成分提取及其抗氧化活性研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(10): 827-831.
- [9] 李岩, 刘晶, 李田叶, 等. 白刺叶提取物的抗氧化及抑菌性研究[J]. 食品工业, 2015, 36(3): 94-98.
- [10] 王莹, 孙文, 张静晗, 等. 叉毛蓬化学成分的体外抗菌及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(2): 251-254.
- [11] Agnese AM, Pérez C, Cabrera JL. *Adesmia aegiceras*: antimicrobial activity and chemical study [J]. *Phytomedicine*, 2001, 8(5): 389-94.
- [12] 王恒, 朱瑞罡, 谭勇, 等. HPLC测定唐古特白刺中槲皮素、山奈素和异鼠李素的含量[J]. 中成药, 2008, 30(12): 1860-1861.
- [13] 李鹏, 朱芸, 成玉怀. 西伯利亚白刺和唐古特白刺的生物学鉴定[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8): 2060-2061.

[收稿日期] 2016-01-02 [修回日期] 2016-06-23

[本文编辑] 李睿旻

(上接第510页)

也与文献报道一致,说明 PHA 是茵陈的有效成分之一。

为探究 PHA 降血脂的作用机制,我们进行了 HMG-CoA 还原酶活性抑制实验和 Real-time PCR 对相关基因表达的影响研究。结果显示 PHA 对 HMG-CoA 还原酶无明显的抑制作用;但能增加 CYP7A1、APQ8、OATP 和 NTCP 基因的转录。CYP7A1 促进 CHO 转化为胆汁酸;APQ8 能促进胆汁分泌;OATP 和 NTCP 可能促进肝细胞对胆汁酸的摄取,进而增加胆汁酸的排放;对胆酸盐外排泵(BESP)和多种耐药相关转运蛋白 2(MRP2)的转录无明显影响。这些结果提示,PHA 促进胆汁分泌和影响血脂代谢的作用表现为多靶点性质。有研究^[12]认为茵陈提取物在 AMPK 通路中发挥作用,对糖代谢及脂代谢产生影响,降低脂质在肝脏的累积。下一步,我们将进行该化合物对代谢影响的研究。

综上所述,传统利胆中药茵陈中的活性成分之一是 PHA,具有促进胆汁分泌和调节脂肪代谢的作用。若将 PHA 作为先导化合物,有望研发出更好的可促进胆汁分泌和调节血脂代谢的药物。

【参考文献】

- [1] 胡照明,张文康,朱庆生,等.中华本草(第7册)[M].上海:上海科学技术出版社,1999:687-693.
- [2] 谢韬,梁敬钰,刘净.茵陈化学成分和药理作用研究进展[J].海峡药学,2004,16(1):8-13.

- [3] 曹锦花.茵陈的化学成分和药理作用研究进展[J].沈阳药科大学学报,2013,30(6):489-494.
- [4] 董岩,王新芳,崔长军,等.茵陈蒿的化学成分和药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2008,19(04):874-876.
- [5] Yoon M, Kim MY. The anti-angiogenic herbal composition Ob-X from *Morus alba*, *Melissa officinalis*, and *Artemisia capillaris* regulates obesity in genetically obese ob /ob mice [J]. *Pham Biol*, 2011, 49(6): 614-619.
- [6] 向怀,覃薛文.茵陈清热利胆汤治疗妊娠期肝内胆汁淤积症30例总结[J].湖南中医杂志,2013,29(6):49-50.
- [7] 张林丽.茵陈的药理研究和临床应用近况[J].广西医学,2003,25(11):2184-2185.
- [8] 李佳佳,罗贞恋,覃川,等.茵陈蒿汤加味方对高脂血症小鼠血清总胆固醇和甘油三酯影响的实验研究[J].贵阳中医学院学报,2014,36(6):24-27.
- [9] Richard A J, Fuller S, Fedocenco V, et al. *Artemisia scoparia* enhances adipocyte development and endocrine function *in vitro* and enhances insulin action *in vivo* [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(6): e98897.
- [10] 王喜军,李廷利,孙晖.茵陈蒿汤及其血中移行成分6,7-二甲氧基香豆素的肝保护作用[J].中国药理学通报,2004,20(2):239-240.
- [11] 阙金花,黄鸣清,郑海音,等.复方熊胆茵陈颗粒的保肝、降血脂、抗脂肪肝药效学研究[J].中国医院药学杂志,2015,35(19):1736-1740.
- [12] Wang Z Q, Zhang X, Yu Y, et al. *Artemisia scoparia* extract attenuates non-alcoholic fatty liver disease in diet-induced obesity mice by enhancing hepatic insulin and AMPK signaling independently of FGF21 pathway [J]. *Metab Clin Exp*, 2013, 62(9):1239-1249.

[收稿日期] 2015-12-28 [修回日期] 2016-05-30

[本文编辑] 李睿旻