

评价软件”计算各样本与共有模式指纹图谱的相似度,结果见表 1。

表 1 显示, I 类样品与共有模式的相似度值大于 0.93, II 类的相似度值在 0.93~0.91, III 类样品的相似度值小于 0.91。聚类分析和相似度软件分析结论一致。

3 讨论

3.1 文献报道染料木素最大吸收波长位于 261 nm 处^[6],异黄酮类化合物的最大吸收在 245~270 nm^[6],本实验采用二极管阵列检测器(PAD)提取了 245~270 nm 的色谱图,结果表明,在 261 nm 处峰数目较多,多数峰响应较大。因此,选择 261 nm 作为检测波长。

3.2 在实验过程中比较了甲醇-水(H₃PO₄、HAC 调节不同 pH)、甲醇-乙腈-水(HAC 调节不同 pH)、甲醇-SDS-磷酸盐缓冲液(调节不同 pH)、乙腈-SDS-磷酸盐缓冲液(调节不同 pH)。结果表明,以甲醇-水(冰醋酸调 pH 3.2)梯度洗脱系统为最佳,各色谱峰分离度较好,保留时间适中。

3.3 色谱指纹图谱是通过比较各样本间色谱图的差异来反映样品化学成分间的差异,不同品种大豆中总异黄酮类成分的指纹图谱相似,各共有峰都存在,但峰面积及相对峰面积却有差异。因此可通过大

豆异黄酮 HPLC 指纹图谱反映不同品种大豆内在质量的差别。

3.4 检验中药样品的指纹图谱是否符合标准应有指纹图谱的标准参照系,人为选择一张指纹图谱作为参照系,会因选择标准的不确定性而变得难以进行。本实验采用“中药色谱指纹图谱相似度评价软件”建立了大豆异黄酮的共有模式,使各样品指纹图谱之间的整体相似性达到最大化。

References:

- [1] Mao J Q, Bi H M. Advanced studies of soybean isoflavones [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (1): 61-64.
- [2] Wang Y X. Study and application on soybean isoflavone [J]. *J Northwest Sci-Tech Univ Agri For: Nat Sci* (西北农林科技大学学报:自然科学版), 2003, 31 (10): 113-116.
- [3] Xu D P, Xiao K, Gu W Y, et al. Isolation of a new isoflavone from soybean germ [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (12): 1065-1067.
- [4] *Technical Requirements of the Fingerprint in Injection of Chinese Materia Medica (Tentative Standard)* (中药注射剂色谱指纹图谱实验研究操作规程指南(试行)) [S]. 2001.
- [5] Huang W Z, Wei J, Wang Z T, et al. RP-HPLC determination of genistein and formononetin in various parts of *Maackia amurensis* [J]. *J Plant Res Environ* (植物资源与环境学报), 2004, 13 (2): 60-61.
- [6] Yao X S. *Chemistry of Natural Medicine* (天然药物化学) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.

微量热法对不同生长年份黄连品质的评价

代春美^{1,2}, 肖小河^{1*}, 王 迪², 孙玉琦¹, 金城¹, 樊冬丽³, 赵艳玲¹, 刘 义⁴, 赵祥军¹

(1. 解放军 302 医院, 北京 100039; 2. 锦州医学院, 辽宁 锦州 121001; 3. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100094; 4. 武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要:目的 尝试构建基于生物热力学表达的中药品质评价方法体系。方法 以不同生长年份黄连为例, 利用微量热法, 测定黄连作用于大肠杆菌生长代谢过程中的热功率图, 建立生物热力学模型, 分析热力学参数、生物活性与化学成分之间的相关性。结果 在不同生长年份黄连的作用下, 大肠杆菌生长代谢的热功率图不尽一致, 呈现较明显的指纹特征; 与正常对照组比较, 不同生长年份黄连均能不同程度地使大肠杆菌生长速率常数减小, 传代时间延长, 最大产热功率降低, 说明不同生长年份黄连对大肠杆菌生长代谢均有不同程度的抑制作用, 其中以含总生物碱最高的四年生黄连的抑制作用最强。结论 不同生长年份黄连作用于大肠杆菌生长代谢过程的部分热力学参数与热生物活性和化学成分之间具有显著的相关性; 是具有实时、在线、微量、高效、高通量、普适性好等特点的生物热力学方法和指标, 既可以间接地反映黄连的生物活性, 也可作为评价中药品质的一种新方法。

关键词: 黄连; 微量热法; 中药品质评价

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)02-0205-05

收稿日期: 2005-04-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39970911; 30371724)

作者简介: 代春美(1977—), 女, 硕士, 主要研究方向为药理学及生物热力学研究。E-mail: xiaod1176@sina.com

* 通讯作者 肖小河 Tel: (010) 66933322 E-mail: pharmacy302@sohu.com

Quality evaluation of *Rhizoma Coptidis* in different growing years by microcalorimetryDAI Chun-mei^{1,2}, XIAO Xiao-he¹, WANG Di², SUN Yu-qi², JIN Cheng¹,FAN Dong-li³, ZHAO Yan-ling¹, LIU Yi⁴, ZHAO Xiang-jun¹

(1. No. 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China; 2. Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001, China;

3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China; 4. College of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: Objective To establish a set of methods of Chinese materia medica quality evaluation based on biothermodynamics. **Methods** Using microcalorimetry, the thermal power of *Escherichia coli* metabolism affected by *Rhizoma Coptidis* in different growing years was measured. According to the thermokinetic model, the relationship of the thermokinetic parameters, caloric bioactivity and chemical constituent was analyzed. **Results** There were obvious difference in the caloric active fingerprints of *E. coli* metabolism affected by *Rhizoma Coptidis* in different growing years, which presented significant finger character. Compared with the normal groups, the metabolism of *E. coli* was inhibited in different levels by *Rhizoma Coptidis* in different growing periods, the multiplication rate constants and heat output were decreased, and the generation time was prolonged. Especially, *Rhizoma Coptidis* under four years' growing period with the highest content of total alkaloids showed a significant inhibitory effect on *E. coli*. **Conclusion** There are evident correlation among the thermokinetic parameters of *E. coli* metabolism affected by *Rhizoma Coptidis* in different growing years, the caloric bioactivity, and chemical composition. The thermokinetic parameters can indirectly reflect caloric bioactivity of *Rhizoma Coptidis*. As the method of biothermodynamics is on line, microamount, high throughout screening, and universality. The microcalorimetry is considered to be a useful mean for Chinese materia medica quality evaluation.

Key words: *Rhizoma Coptidis*; microcalorimetry; Chinese materia medica quality evaluation

中药品质评价是中药研究与生产中的难点和热点问题,也是中药现代化的重要基础和关键。由于中药本身的复杂性,现行的评价主要基于指标性成分测定的中药内在质量标准难以体现中医药的整体观念,难以客观的评价中药的品质。

生长年份对中药的品质会产生重要的影响,在协同分析中医药学和生物热力学关联性的基础上,本实验以不同生长年份的黄连为研究对象,应用生物热力学方法——微量热法,以能量(热量)为基点考察不同生长年份黄连作用于大肠杆菌生长代谢过程的能量转移和热变化,并进行热动力学的拟合,以期对中药的品质评价提供新的思路和技术平台。

1 仪器、材料与方方法

1.1 仪器:瑞典 Thermometric 公司产的 TAM Air 微量热仪。

1.2 材料:大肠杆菌菌株(*Escherichia coli* CCTCC AB91112),由武汉大学中国典型培养物保藏中心提供。L. B 培养基:取 10 g 蛋白胨、5 g 酵母膏和 5 g NaCl,溶于 1 000 mL 二次蒸馏水中,调 pH 值为 7.0 后分装,121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min,4 °C 冰箱中放置备用。所有黄连药材均由四川省中药研究所方清茂副研究员采集提供,产地为重庆市石柱县黄连主产区。经解放军 302 医院肖小河研究员鉴定,不

同生长年份黄连均为毛茛科草本植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎。

1.3 黄连药材的处理及测定:分别取二年生、三年生、四年生和五年生黄连药材各 20 g,水煎煮 3 次,每次 10 倍量水,煎煮 1 h,合并煎液,浓缩、真空干燥,得浸膏。以灭菌二次蒸馏水为溶剂,配制成混悬液(每毫升溶液相当于 250 mg 原药材)。采用分光光度法测定不同生长年份黄连中总生物碱(以盐酸小檗碱计)^[1],以高效液相色谱法测定不同生长年份黄连中的小檗碱^[2],结果见表 1。

表 1 不同生长年份的黄连中总生物碱和小檗碱

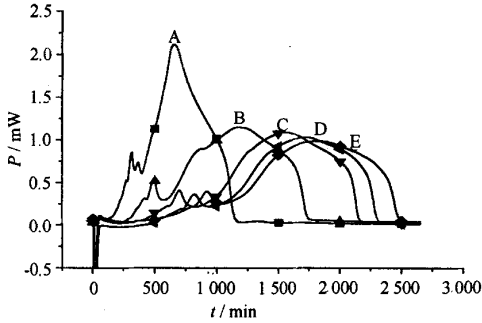
Table 1 Total alkaloids and berberine in *Rhizoma Coptidis* in different growth years

生长年限	总生物碱/%	小檗碱/%
二年生黄连	9.76	5.84
三年生黄连	10.80	4.74
四年生黄连	16.97	3.67
五年生黄连	12.05	4.34

1.4 方法:采用安瓿法。每个安瓿瓶精确加入 5 mL 培养基,接种大肠杆菌,菌接种量为 1×10^5 /mL,加入一定量(10 mg/mL)黄连浸膏药液,加盖瓶塞,密封放入微量热仪中。上述均为无菌操作。在 37 °C 下跟踪记录细菌生长代谢热谱曲线,当曲线回到基线后,结束实验。

2 结果

2.1 大肠杆菌生长代谢热谱曲线:在 37℃下,采用安瓿法测定大肠杆菌生长代谢热谱曲线以及 10 mg/mL 黄连作用下的生长代谢热谱曲线见图 1。在相同的实验条件下,实验结果有良好的重现性。



A-对照 B-二年生黄连 C-三年生黄连
D-五年生黄连 E-四年生黄连
A-control B-*Rhizoma Coptidis* under two years
C-*Rhizoma Coptidis* under three years D-*Rhizoma Coptidis*
under five years E-*Rhizoma Coptidis* under four years

图 1 大肠杆菌在黄连作用下的生长代谢热谱曲线

Fig. 1 Thermogenic curves of *E. coli* growth affected by *Rhizoma Coptidis* in different growth years

2.2 大肠杆菌生长速率常数:在细菌指数生长期中: $P_t = P_0 \exp(kt)$ 或 $\ln P_t = \ln P_0 + kt$ (其中 P_0, P_t 分别是细菌在指数生长的起始点和 t 时的热功率)。将热谱曲线上指数生长期 $\ln P_t$ 对 t 进行线性拟合可得出大肠杆菌在不同条件下生长速率常数 k 。由 $t_G = (\ln 2)/k$ 得出不同条件下的细菌传代时间 t_G ^[3-5]。对大肠杆菌在 37℃下 k 进行了重复性试验,结果见表 2。大肠杆菌在不同生长年份黄连作用下的 k , 传代时间 t_G , 指数生长期最大发热功率 P_1 及出峰时间 t_1 , 第二生长期最大发热功率 P_2 及出峰时间 t_2 , 见表 3。由表 2 可得 $k = (0.02775 \pm 0.00150) \text{ min}^{-1}$, 可见其结果有很好的重现性, 相关系数 (r) 均大于 0.9955, 有很好的相关性。

表 2 正常大肠杆菌指数生长期生长速率常数

Table 2 Growth rate constants of normal *E. coli* in logarithmic phase

试验号	k/min^{-1}	r
1	0.028 93	0.998 5
2	0.028 31	0.997 6
3	0.027 82	0.997 0
4	0.029 64	0.995 6
5	0.026 78	0.996 8
6	0.025 05	0.995 5

表 3 不同生长年份的黄连作用于大肠杆菌的热动力参数

Table 3 Thermokinetic parameters of *E. coli* growth affected by *Rhizoma Coptidis* in different growth years

样品	$C/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	t_1/min	P_1/mW	k/min^{-1}	t_2/min	P_2/mW	$I/\%$	t_G/min	$\text{IC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$
对照	0	312	0.827 7	0.027 75	655	2.054 1	0	24.9783	
二年生黄连	1.0	303	0.762 7	0.026 86	655	1.779 4	3.207 2	25.805 9	9.309 7
	2.5	315	0.750 0	0.025 15	689	1.645 3	9.369 4	27.560 5	
	5.0	439	0.604 4	0.018 33	1 029 ^b	1.255 6	33.945 9	37.814 9	
	7.5	522	0.517 1	0.016 99	1 220	1.101 8	38.774 8	40.797 4	
	10.0	489	0.530 0	0.013 36	1 163	1.129 7	51.855 9	51.882 3	
三年生黄连	1.0	309	0.791 1	0.024 56	658	1.786 6	11.495 5	28.222 6	7.321 8
	2.5	330	0.728 3	0.022 51	736	1.538 5	18.882 9	30.792 9	
	5.0	441	0.610 0	0.016 25	1 004	1.266 9	41.441 4	42.655 2	
	7.5	537	0.524 4	0.014 89	1 288	1.141 1	46.342 3	46.551 2	
	10.0	702	0.392 6	0.009 03	1 558	1.081 6	67.459 5	76.760 5	
四年生黄连	1.0	313	0.832 0	0.022 46	664	1.782 6	19.063 1	30.861 4	4.822 0
	2.5	341	0.744 5	0.018 19	782	1.417 8	34.450 5	38.105 9	
	5.0	437	0.590 9	0.011 93	1 054	1.191 6	57.009 0	58.101 2	
	7.5	739	0.391 3	0.007 83	1 717	0.987 0	71.783 8	88.524 5	
	10.0	927	0.359 8	0.005 33	1 833	0.952 5	80.792 8	130.046 4	
五年生黄连	1.0	310	0.820 9	0.022 57	658	1.814 4	18.666 7	30.711 0	5.430 3
	2.5	336	0.747 8	0.018 26	765	1.496 2	34.198 2	37.959 9	
	5.0	401	0.590 6	0.015 53	914	1.260 2	44.036 0	44.632 8	
	7.5	630	0.433 0	0.008 34	1 528	1.008 8	69.945 9	83.111 2	
	10.0	827	0.356 1	0.006 78	1 729	1.022 9	75.569 6	120.968 1	

2.3 生长速率常数(k)与黄连质量浓度(C)的关系:二年、三年、四年、五年生黄连作用于大肠杆菌的热谱曲线形状相似,相对于对照组大肠杆菌的停滞期均延长,曲线的第一生长峰和第二生长峰出峰时

间均后移,峰形变得平缓,其整个代谢过程的时间增加。表明不同生长年份黄连对大肠杆菌的生长代谢均有不同程度的抑制作用,生长速率常数 k 值作为表征细菌生长代谢过程的特征常数之一,在其他条

件相同而加入不同抑制性药物时, k 值的改变可作为评价药物抑菌作用大小的参数。由表 3 可知, 随着黄连质量浓度的增加, 大肠杆菌指数生长期的生长速率常数 k 降低, 以生长速率常数 k 对药材质量浓度 C 作线性回归, 其斜率绝对值愈大, 药物抑菌作用越强。本研究中四年生黄连抑菌作用最强, 而二年生黄连抑菌作用最弱。生长速率常数 k 对药材质量浓度 C 的回归方程为: 二年生黄连: $k=0.0281-0.0015C$, $r=0.9774$; 三年生黄连: $k=0.0262-0.0017C$, $r=0.9855$; 四年生黄连: $k=0.0231-0.0019C$, $r=0.9828$; 五年生黄连: $k=0.0236-0.0018C$, $r=0.9812$ 。

2.4 细菌生长抑制率和半数抑制浓度 (IC_{50}): 细菌生长抑制率 $I=(k_1-k_2)/k_1 \times 100\%$ (式中 k_1 为对照组细菌的生长速率常数, k_2 为试样组细菌受到黄连抑制时的生长速率常数^[6~9])。不同生长年份黄连在不同质量浓度时对大肠杆菌的抑制率 I 见表 3。以 I 对药材质量浓度 C 作线性回归可求得 IC_{50} 即抑制率为 50% 时药物的质量浓度。药物的 IC_{50} 可用于衡量细菌对药物的敏感性。 IC_{50} 越小, 表明细菌对药物越敏感, 药物抑菌效果越强。四年生黄连的 IC_{50} 为 4.8210 mg/mL, 表现出较强的抑制作用, 五年生黄连、三年生黄连、二年生黄连所表现的抑制作用依次减弱。细菌生长抑制率 I 对药材质量浓度 C 的线性回归方程及 IC_{50} 分别为: 二年生黄连: $I=-0.0111+0.0549C$, $r=0.9974$, $IC_{50}=9.3122$ mg/mL; 三年生黄连: $I=0.0563+0.0606C$, $r=0.9855$, $IC_{50}=7.3257$ mg/mL; 四年生黄连: $I=0.1668+0.0691C$, $r=0.9828$, $IC_{50}=4.8210$ mg/mL; 五年生黄连: $I=0.1492+0.0646C$, $r=0.9812$, $IC_{50}=5.4350$ mg/mL。

2.5 热功率与黄连质量浓度的关系: 在不同生长年份黄连的作用下, 大肠杆菌代谢热功率的峰值均下降, 说明黄连的抑制作用可以通过影响大肠杆菌代谢热功率的形式体现。大肠杆菌在指数生长期之后, 体内的与能量代谢有关的酶系统处于旺盛阶段, 本研究中黄连在此阶段对最大产热功率 P_2 的抑制作用表现得更强, 由表 3 可知, 随着黄连药材质量浓度的增加, 整个生长代谢过程的最大发热功率 P_2 会随之降低, 其中四年生黄连对于 P_2 的抑制程度最强, 以 P_2 对药物质量浓度 C 做线性回归方程为: 二年生黄连: $P_2=1.7931-0.0790C$, $r=0.9289$; 三年生黄连: $P_2=1.7624-0.0768C$, $r=0.9509$; 四年生黄连: $P_2=1.7259-0.0884C$, $r=0.9397$; 五年生黄连: $P_2=$

$1.7773-0.0878C$, $r=0.9413$ 。

3 讨论

中药的品质与生长年份有关, 药用植物的根、茎、叶都有一定的生长和成熟期, 其中有效成分的高低将随不同生长年份而异, 一般黄连栽培 4~6 年后可采收。本研究以生物热力学方法检测不同生长年份黄连对大肠杆菌的抑制作用, 得到了一系列热活性参数, 如生长速率常数、最大产热功率等。热活性参数体现了黄连的生物活性即抑菌作用, 与黄连的总生物碱相关, 而与小檗碱无明显的相关性, 其中四年生黄连的总生物碱量最高, 与微量热法检测四年生黄连的抑菌作用较强相符合, 同时不同生长年份黄连的总生物碱量越高, 其生物活性越强, 推测总生物碱为黄连生物热活动的主要物质, 表明生物热力学方法的检测结果具有一定的客观性。

大肠杆菌在指数生长期之后, 体内的与能量代谢有关的酶系统处于旺盛的阶段, 黄连在此阶段对产热功率的抑制作用表现得更强, 提示黄连可能通过抑制大肠杆菌的酶系统而使产热量减少, 黄连在药性上表现为寒性可能通过干预生命活性的能量代谢而实现的, 与已有研究寒凉药能降低中枢神经系统的兴奋性、减弱呼吸、循环和代谢活动有较好的对应性。

中药从某种意义上讲, 生物活性测定与化学成分测定相比, 更具有实用价值和优势, 它反映了中药的整体效应, 符合中医药的整体观。生物热力学方法实际上是一种生物热活性检测技术, 具有实时、在线、灵敏、准确、高效、普适性好等特点, 热力学指标体现了药物作用于生物体生长代谢的整体能量变化和热效应。因此, 生物热力学的的方法和指标有望为中药的品质评价提供新的思路和技术平台。

References:

- [1] Zhao Q G, Wu S T, Wang Y. Measuring on the content of total alkaloids of different *Coptis* root [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2001, 12 (11): 974.
- [2] Wu J F, Li H Y, Yang A P. Determination of berberine in different preparations of *Rhizoma Coptidis* by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21 (8): 408.
- [3] Xie C L, Tang H K, Qu S S, et al. Microcalorimetric study of bacterial growth [J]. *Thermochim Acta*, 1988, 123: 33.
- [4] Barros N, Feijo S, Simoni J A, et al. Microcalorimetric study of some Amazonian soils [J]. *Thermochim Acta*, 1999, 328: 99.
- [5] Shen X S, Liu Y, Zhou C P, et al. Thermochemical studies on the quantity-antibacterial effect relationship of fluorquinolones [J]. *Acta Chem Sin* (化学学报), 2000, 58 (11): 1463-1466.
- [6] Li X X, Pan X R, Wu L L, et al. Microcalorimetric study on the action of Maidong affecting on the growth of *Escherichia coli* [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med* (山东中医药大学学报), 2001, 25 (4): 307-309.
- [7] Liu Y, Yan C N, Qu S S. Kinetics of the toxic action of Pb^{2+}

- on *Rhizopus nigricans* as studied by microcalorimetry [J]. *Thermochim Acta*, 1999, 333 (2): 103-108.
- [8] Zhou S H, Xiao X H, Zhao Y L. Biothermokinetic studies on four Properties of traditional Chinese medicine; Comparison of properties of Zuojinwan and Fanzuojin by microcalorimetry [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29 (12).
- [9] Zhou S H, Pan W J, Xiao X H. Biothermokinetic studies on Four Properties of traditional Chinese medicine; Comparison of properties of different preparations of *Rhizoma Coptidis* by microcalorimetry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (11): 1231.

川射干中射干苷的制备方法

柳 伟, 李路军, 李 宇, 韩凤梅, 陈 勇*

(湖北大学 中药生物技术省重点实验室, 湖北 武汉 430062)

摘要:目的 从川射干中制备射干苷。方法 提取液经 DM401 型大孔吸附树脂分离纯化制备川射干总异黄酮, 总异黄酮再经半制备型色谱分离制备射干苷。结果 产品经熔点、薄层色谱、IR、UV、ESI-MS、NMR 分析, 并与文献对比, 确定为射干苷, 质量分数 > 98%。结论 该方法重复性好, 制备的射干苷纯度高。

关键词: 川射干; 射干苷; 制备色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)02-0209-02

Preparative method of tectoridin from rhizome of *Iris tectorum*

LIU Wei, LI Lu-jun, LI Yu, HAN Feng-mei, CHEN Yong

(Hubei Province Key Laboratory of Biotechnology of Traditional Chinese Medicine, Hubei University, Wuhan 430062, China)

Key words: *Iris tectorum* Maxim.; tectoridin; preparative chromatography

川射干是鸢尾科鸢尾属植物鸢尾 *Iris tectorum* Maxim. 的干燥茎根, 为《中国药典》2005 年版新增品种, 功能是清热解毒、消痰利咽、消积, 用于咽喉肿痛、痰咳气喘等症。川射干中总异黄酮较药典其他射干品种高, 射干苷是其中的一个主要活性成分, 常用作药材及其相关制品的质量控制指标。制备型 HPLC 具有分离过程样品不易变性、产品回收率与纯度高、制备周期短等特点, 特别适合某些珍贵和难分离物质的分离纯化^[1]。本实验采用大孔树脂吸附与半制备色谱对川射干乙醇提取液进行了分离纯化, 得到了高纯度的射干苷。

1 仪器与材料

Knauer Smartline 半制备型高效液相色谱仪 (Smartline UV 2500 检测器, Knauer Smartline 工作站), Agilent 1100 HPLC (G1328B DAD 检测器, Agilent 1100 工作站), FD-1A 冷冻干燥机 (北京博医康实验仪器有限公司); DM401 大孔树脂 (天津市海光化工有限公司), 川射干药材 (经本院植物学教研室王万贤教授鉴定), GF₂₅₄ (20 cm × 5 cm) 硅胶薄层板 (青岛海洋化工厂出品), 岛津 UV-1601 紫外

光谱仪, 710FT 红外光谱仪 (尼高利公司), INOVA600 核磁共振仪 (美国 Varian 公司), LCQ^{Duo} 型质谱仪 (美国 Finnigan 公司, 包括电喷雾电离源, TSP AS3000 自动进样器, 自带 Xcalibur 软件)。

2 方法与结果

2.1 射干苷的提取与纯化: 先将 60 目 10 g 川射干干粉用 5 倍量石油醚回流脱脂 1 h, 然后以 80% 乙醇 (固液比 1:8) 回流提取 2 次, 每次 2 h^[2]。合并提取液并浓缩至 100 mL, 上 DM401 大孔树脂柱进行动态吸附, 然后以 3 倍量于柱体积的水洗脱, 再以同样量 20% 乙醇洗脱, 最后用 80% 乙醇洗脱, 体积流量均为 1 mL/min。以盐酸-镁粉反应检测总异黄酮洗脱液 (发生红色反应), 收集含异黄酮洗脱液, 得到 500 mL 收集液。收集液经 0.45 μm 滤膜后进半制备 HPLC 纯化。实验条件: 武大 ODS C₁₈ 柱 (200 mm × 20 mm, 15 μm), 55% 甲醇水流动相, 体积流量为 8 mL/min, 265 nm 波长检测, 上样量 200 μL。收集 14.5~16 min 组分 (图 1), 并减压浓缩后冷冻干燥得白色粉末, 再经重结晶得到白色结晶 25 mg。

2.2 样品检测

收稿日期: 2005-04-19

作者简介: 柳 伟 (1975—), 男, 湖北人, 湖北大学 2003 级硕士研究生, 从事天然药化研究。

* 通讯作者 陈 勇 E-mail: cy101610@npc.gov.cn