

- 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<sup>[1]</sup>。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), GF<sub>254</sub> (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<sup>Duo</sup> 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<sup>[2]</sup>。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 C<sub>18</sub> 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

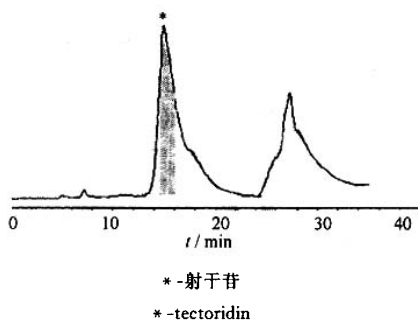


图 1 射干苷半制备 RP-HPLC 色谱图及中心切割示意图

Fig. 1 Central incision of tectoridin by semi-preparative RP-HPLC

2.2.1 薄层色谱检测:取白色结晶样品分别配制成 1.8 mg/mL 和 40 μg/mL 乙醇溶液,经薄层色谱分析。实验条件为:硅胶 GF<sub>254</sub>板,氯仿-甲醇-冰醋酸(8:2:0.1)为展开剂,点样量 10 μL,展开,展距 15 cm,取出晾干后在 UV 254 nm 下观察,在绿色荧光背景下均只呈现单一暗斑(图 2)。

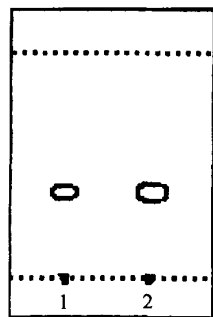


图 2 射干苷 TLC 图  
Fig. 2 TLC Chromatogram of tectoridin

2.2.2 HPLC 纯度分析:分别取 0.9 mg/mL 和 9 μg/mL 的白色结晶样品乙醇液进 HPLC 分析。实验条件:武大 ODS C<sub>18</sub> 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm),36%~60% 甲醇水为流动相;体积流量为 1 mL/min,265 nm 波长室温检测。以面积归一化法计算,主峰面积质量分数为 98.3%。然后分别用 40%、50%、60% 甲醇水洗柱,均未发现杂质峰。HPLC 图见图 3。

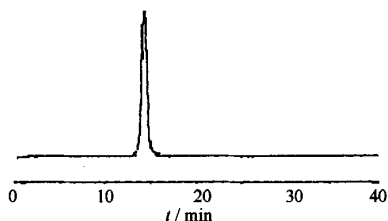


图 3 射干苷样品 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC Chromatogram of tectoridin sample

2.2.3 结构分析:白色结晶的熔点为 257~258 ℃。UV 扫描在 331、265 nm 处有吸收峰,265 nm 为主峰,331nm 为肩峰。IR<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup>: 3 423.6(s, -OH),

1 628 (s, -OH), 1 516, 1 585, 1 614 (m, 苯环);核磁数据为:<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD) 3.405~3.541 (6H, br, 糖 H-2'', 3'', 4'', 5'', 6'') 3.879 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 5.085 (1H, d, H-1''), 6.836 (1H, d, H-3', 5'), 6.859 (1H, s, H-8), 7.382 (1H, d, H-2', 6'), 8.171 (1H, s, H-2); <sup>13</sup>C-NMR (DMSO) 60.315 (q, 6-CH<sub>3</sub>), 60.647 (t, 糖, C-6''), 69.641 (d, 糖, C-2''), 73.131 (d, 糖, C-3''), 76.709 (d, 糖, C-4''), 77.300 (d, 糖, C-5''), 94.022 (d, C-8), 100.125 (糖, C-1''), 106.472 (s, C-10), 115.108 (d, C-3' 5'), 121.055 (s, C-3), 121.066 (s, C-1'), 130.209 (d, C-2' 6'), 132.444 (s, C-6), 152.493 (s, C-5), 152.912 (s, C-9), 154.570 (d, C-2), 156.646 (d, C-7), 157.489 (s, C-4'), 180.795 (s, C-4)。ESI-MS 数据为:m/z 461 (苷), 299 (苷元), 284 (苷元-CH<sub>3</sub>), 281 (苷元-H<sub>2</sub>O)。

经以上测定结果分析,并与文献报道对照<sup>[3]</sup>,确认该物质为射干苷。

### 3 讨论

本实验以川射干为原料,采用乙醇提取结合大孔吸附树脂柱色谱和半制备型 HPLC 两级分离纯化制备了高纯度射干苷。产品经过多种检测技术分析,纯度符合新药审批办法规定对对照品的要求。

实验发现,在对药材进行乙醇提取前进行石油醚脱脂,可以有效减少脂溶性成分对柱色谱的干扰,提高柱色谱的效率。在比较了 D101、D101-1、DA201、DM301、DM401 树脂,发现 DM401 型树脂的吸附与解吸效果最好。半制备型色谱条件以川射干总黄酮提取物的分析型色谱分离条件为基础,但由于上样量、体积流量等的改变,制备峰形不佳,主峰与杂质峰未完全分开。本实验采用中心切割法收集 14.5~16 min 内目标物洗脱液,有效避免了杂质的干扰。

### References:

- [1] Pan J, Xu T, Preparative separation of D (+)-β-(3, 4-dihydrophenyl)-lactate sodium from *Salvia miltiorrhiza* by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (2): 125-127.
- [2] Wang W, Yan X Y, Ye L Y, et al. Study on optimum extraction process for *Rhizoma Belamcandae* with orthogonal design [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 20 (4): 259-261.
- [3] Zhong M, Xie Z H, Shi Y Q. Preparation of tectoridin reference substance [J]. *Guangdong Pharm* (广东药学), 2001, 11 (2): 16.