

合样品来源较困难的糖组分分析。

参考文献:

- [1] 车振明. 虫草多糖生物活性研究进展及其应用前景 [J]. 食用菌, 2004, 12(6): 3-5.
- [2] 李承范, 于学技. 真菌多糖的生物化学研究 [J]. 延边大学学报, 2004, 27(4): 321-323.
- [3] 陈俐彤, 曹红峰, 黄文芳. 蛹虫草的化学成分 [J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 192-195.
- [4] 王 蕾, 于荣敏, 张 辉, 等. 人工培养蛹虫草多糖的分离纯化及其结构的初步研究 [J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(1): 23-25.
- [5] 宾 文, 宋丽艳, 于荣敏, 等. 人工培养蛹虫草多糖的抗炎及免疫作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2003, 14(1): 1-2.
- [6] 李 信, 许 雷. 蛹虫草菌产生胞外多糖及其理化性能和抗氧化活性的初步研究 [J]. 微生物学杂志, 1997, 17(3): 13-15.
- [7] Yu R M, Wang L, Zhang H, *et al.* Isolation, purification and identification of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris* [J]. *Fitoterapia*, 2004, 75: 662-666.
- [8] Yu R M, Song L Y, Zhao Y, *et al.* Isolation and biological properties of polysaccharide CPS-1 from cultured *Cordyceps militaris* [J]. *Fitoterapia*, 2004, 75: 465-472.
- [9] Bonn G. High-performance liquid chromatographic elution behavior of oligosaccharides, monosaccharides and sugar degradation products on series-connected ion-exchange resin columns using water as the mobile phase [J]. *J Chromatogr*, 1985, 322: 411-424.
- [10] 墨淑敏, 梁立娜, 蔡亚岐, 等. 高效阴离子交换色谱在易极化阴离子痕量分析中的应用 [J]. 色谱, 2005, 33(4): 557-561.
- [11] Lacourse W R. *Pulsed Electrochemical Detection in High Performance Liquid Chromatography* [M]. New York: John Wiley & Sons Inc, 1997.

桑皮苷 A 对照品的制备研究

舒树苗¹, 潘 勤^{2*}, 肖 峰², 朱小兰²

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津中新药业研究中心, 天津 300457)

摘 要:目的 研究从桑白皮中制备桑皮苷 A 对照品的制备方法。方法 结合大孔树脂吸附、硅胶柱色谱和凝胶柱色谱对桑白皮提取物进行分离、纯化, 利用 TLC 和 HPLC-ELSD 对分离产物进行质量分数检测, 并通过各种波谱手段等对其进行结构确证。结果 从桑白皮中分离、纯化出桑皮苷 A 对照品, 质量分数 > 98.5%。结论 该方法制备出的桑皮苷 A 对照品符合中药化学对照品的相关要求, 可作为桑白皮药材和含桑白皮成药质量控制, 以及中药药效物质基础研究用的化学对照品。

关键词:桑白皮; 桑皮苷 A; 对照品

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)04-0535-02

Preparation of reference substance of mulberroside A from root bark of *Morus alba*

SHU Shu-miao¹, PAN Qin², XIAO Feng², ZHU Xiao-lan²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. R & D Center of Tianjin Zhongxin Pharmaceuticals, Tianjin 300457, China)

Abstract: **Objective** To establish a separation method for reference substance of mulberroside A from the root bark of *Morus alba*. **Methods** Ethanol-extract of the root bark of *M. alba* was isolated and purified by macroporous resin, silica gel, and Sephadex LH-20 column chromatography. The purity of mulberroside A was identified by TLC and ELSD-HPLC. Its structure was identified by spectral analysis. **Results** The compound was completely separated from the root bark of *M. alba*. The purity of the reference substance was not less than 98.5%. **Conclusion** The compound prepared by the above-mentioned method is accorded with the relative demands of chemical reference substance in Chinese materia medica. It can be used as a reference substance for the quality control and the research of herbal medicine.

Key words: the root bark of *Morus alba* L.; mulberroside A; reference substance

桑白皮为桑 *Morus alba* L. 去除栓皮的根皮, 主要用于肺热咳喘、水肿、胀满尿少、面目肌肤浮肿

等症。桑白皮水或甲醇提取物具有祛痰、抗炎、降血糖、降压、抗癌、抗菌等作用^[1], 其中桑皮苷 A 为桑

收稿日期: 2007-06-30

作者简介: 舒树苗 (1980—), 女, 天津人, 硕士, 2007 年获得天津中医药大学中药系硕士学位, 研究方向为植物化学。

E-mail: shushumiao22@sina.com

* 通讯作者 潘 勤 E-mail: qinpan@vip.sina.com

白皮发挥镇咳平喘作用的主要有效成分^[2]。目前未见桑皮苷对照品的研究,因此桑白皮药材和含桑白皮的复方药物均缺乏有效的将特征成分定量的质量控制手段。本文报道桑白皮制备桑皮苷 A 作为质量控制和药效物质基础研究用化学对照品的研究。

1 仪器和材料

Waters 2695 高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列紫外检测器, Quattro MicroTM APT 质谱仪, Bruker Avance 600 核磁共振仪, Perkin-Elmer Lambda 25 紫外分光光度仪, WQF-310 傅里叶变换红外光谱仪。

HPLC 用甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Tedia 公司), 水为二次蒸馏水, 其余试剂均为分析纯; 柱色谱用硅胶(60~100 目, 200~300 目)和薄层色谱用硅胶均由青岛海洋化工厂生产, 十八烷基键合硅胶由日本 YWG 公司生产, Sephadex LH-20 由瑞典 Pharmacia 生产。

桑白皮购自天津中新药业集团股份有限公司药材分公司, 经天津中新药业集团股份有限公司袁英群高级工程师鉴定为桑 *M. alba* L. 的干燥根皮。

2 方法与结果

2.1 对照品的制备

2.1.1 药材的提取: 桑白皮药材 10 kg, 70% 乙醇浸泡, 渗漉, 收集渗漉液, 减压浓缩至无醇味, 即得桑白皮提取液。

2.1.2 化合物的分离: 将桑白皮提取液用 3 倍量水提取, 浓缩, 以等体积正丁醇萃取 3 次。将正丁醇提取物以硅胶柱于柱色谱分离, 氯仿-甲醇(9:1~6:4)梯度洗脱, 根据薄层色谱检查, 合并相同的斑点部分。将含有桑皮苷 A 流份合并浓缩至干, 用水溶解后上样于反相硅胶柱, 用甲醇-水(10:90~40:60)梯度洗脱, 以 HPLC 法检查, 合并含桑皮苷 A 的流份, 得粗品 750 mg。粗品以甲醇溶解, 经 Sephadex LH-20 分离, 甲醇洗脱纯化后, 减压回收甲醇, 以少量蒸馏水复溶, 冷冻干燥至水分小于 0.5%, 得白色粉末 628 mg。

2.2 对照品的结构确证: 所得白色粉末 ESI-MS 显示 m/z 567[M-1], 提示相对分子质量为 568。IR ν (KBr) cm^{-1} : 3 310, 1 606, 1 580, 1 680。¹H-NMR (600 Hz, CD₃OD- d_4) δ : 7.31(1H, d, $J=16.3$ Hz, H- α), 6.94(1H, d, $J=16.2$ Hz, H- β), 6.44(1H, t, $J=2.1$ Hz, H-4'), 6.58(1H, d, $J=1.8$ Hz, H-3), 6.59

(1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3'), 6.62(1H, d, $J=1.2$ Hz, H-5), 6.78(1H, s, H-6'), 7.42(1H, d, $J=9$ Hz, H-6); 糖的质子分布在 δ 3.30~4.20。¹³C-NMR (150 Hz, CD₃OD- d_4) δ : 120.2(C-1), 157.2(C-2), 103.9(C-3), 159.6(C-4, 5'), 109.3(C-5), 124.9(C-6), 141.9(C-1'), 107.2(C-2'), 160.4(C-3'), 104.8(C-4'), 108.1(C-6'), 127.6(C- α), 128.4(C- β); 糖上碳信号归属: δ 102.1(C-1), 74.8(C-2), 77.9(C-3), 71.3(C-4), 78.1(C-5), 62.4(C-6), 102.3(C-1'), 74.9(C-2'), 77.9(C-3'), 71.3(C-4'), 78.2(C-5'), 62.5(C-6')。以上数据与桑皮苷 A 的文献报道^[3]一致, 因此确证该化合物为桑皮苷 A (mulberroside A)。

2.3 对照品的质量分数的测定

2.3.1 对照品杂质的检查: 按薄层色谱法, 选用硅胶薄层板, 点样量为 100 μg , 分别以醋酸乙酯-甲醇(5:1)、氯仿-甲醇(7:3)、氯仿-甲醇-醋酸-水(15:7:1:2)为展开剂, 以 10% 浓硫酸为显色剂, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min, 薄层板上均呈一个红色斑点, 未见其他杂质斑点。

2.3.2 对照品质量分数的检测: 以 HPLC 法, 紫外检测器串联 ELSD 检测器进行检测, 峰面积归一化法确定对照品的质量分数。采用 Diamonsil (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 甲醇-水(25:55)为流动相, 体积流量为 1.0 mL/min, 紫外检测波长 320 nm, ELSD 漂移管温度 105 $^{\circ}\text{C}$, 氮气体积流量 3.0 mL/min, 样品进样量为 20 μg , 采集时间为主峰保留时间的 3 倍, 样品质量分数分别为 98.6%, 99.3%。样品质量分数符合国家食品药品监督管理局颁布的《中药新药研究的技术要求》有关规定, 可以作为化学对照品使用。

3 讨论

桑皮苷 A 为桑白皮的特征和有效成分, 适合作为中药化学对照品。本实验提取、分离、纯化所获得的桑皮苷 A 对照品, 符合中药化学对照品的相关要求, 可作为桑白皮药材和含桑白皮成药质量控制, 以及中药药效物质基础研究用的化学对照品。

参考文献:

- [1] 黎琼红, 张国刚, 董淑华. 桑属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(5): 386-390.
- [2] 阎启明, 李春玲, 刘玉兰, 等. 桑皮苷的镇咳平喘作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 6(23): 388-391.
- [3] Hirakura K, Fujimoto Y. Two phenolic glycosides from the root bark of the cultivated mulberry tree (*Morus chou*) [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(2): 218-224.