

独一味中洋丁香苷和连翘酯苷 B 对照品的制备

刘 婕¹, 许 浚², 张铁军^{2*}

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

摘 要:目的 研究从独一味中分离制备连翘酯苷 B 和洋丁香苷对照品的方法。方法 结合大孔吸附树脂、葡聚糖凝胶、制备 HPLC 法分离制备独一味中连翘酯苷 B 和洋丁香苷单体。结果 分离制备的连翘酯苷 B 的质量分数达 98.93%, 洋丁香苷的质量分数达 99.91%。结论 该方法所得洋丁香苷和连翘酯苷 B 质量分数高, 可用于制备中药定性、定量分析使用的对照品。

关键词:独一味; 洋丁香苷; 连翘酯苷 B; 对照品

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)12-1905-03

Preparation of acteoside and forsythoside B reference substances from *Lamio-phlomis rotata*

LIU Jie¹, XU Jun², ZHANG Tie-jun²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for the isolation and preparation of forsythoside B and acteoside reference substances from *Lamio-phlomis rotata*. **Methods** Forsythoside B and acteoside in *L. ro-tata* were isolated and purified by macroporous resin, Sephadex column, and preparative HPLC. **Results** Analysis with HPLC showed the content of the prepared acteoside and forsythoside B reached to 98.93% and 99.91%, respectively. **Conclusion** This method is effective for the high purity of prepared acteoside and forsythoside B. It can be used as reference substances for the qualitative and quantitative analyses of Chinese herbal medicine.

Key words: *Lamio-phlomis rotata* (Benth.) Kudo; acteoside; forsythoside B; reference substance

独一味为唇形科独一味属植物独一味 *Lamio-phlomis rotata* (Benth.) Kudo 的干燥全草, 是藏族习用药材, 性味甘、苦、平, 具有活血止血、祛风止痛、干黄水的功效, 用于跌打损伤、外伤出血、风湿痹痛、黄水病等^[1]。独一味主要含有黄酮类、苯乙醇苷类、环烯醚萜类等成分。连翘酯苷 B 和洋丁香苷是独一味中主要的苯乙醇苷类化合物, 具有抗炎、抑菌、抗病毒、抗氧化等作用, 化学结构见图 1。随着国内外研究的深入, 科研人员发现包括洋丁香苷在内的一些苯乙醇苷类成分还具有改善老年痴呆症、帕金森病等神经退行性疾病的作用^[2~6], 相关药理学研究近年来备受关注, 开发并利用含有此类成分的天然药物前景广阔。《中国药典》2005 年版并未对量较多的苯乙醇苷类成分加以控制, 而以水解黄酮苷类成分木犀草素不得少于 0.15% 作为独一味药材

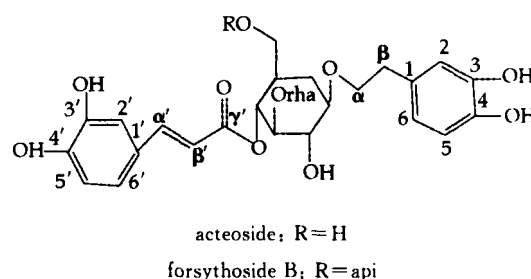


图 1 连翘酯苷 B 和洋丁香苷的结构

Fig. 1 Structure of forsythoside B and acteoside

质量的评价指标。本研究采用 RP-HPLC 制备色谱方法从独一味药材中分离制备苯乙醇苷类成分连翘酯苷 B 和洋丁香苷单体, 为常规分析检测、新药研发, 以及进一步综合、全面地探讨控制独一味药材及其制剂的质量标准提供高质量分数的对照品。

1 仪器与药品

世纪通恒制备液相系统(北京创新通恒科技有

收稿日期: 2009-04-02

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划资助项目(2006BAI06A01-02; 2007BAI41B06)

作者简介: 刘 婕, 天津中医药大学中药学研究生。Tel: 13116108163 E-mail: liujietj@yahoo.cn

* 通讯作者 张铁军 Tel: (022)23006848 E-mail: tiezheng4@sina.com

限公司), UV3000 紫外分光检测器, P3050 高压输液泵, CXTH-3000 色谱工作站, CO-601 柱温箱 (天津市正通科技有限公司); Waters 高效液相色谱仪 (Waters 515 泵, 2487 紫外检测器), OV-2001 柱温箱, HS 色谱数据工作站 V4.0 +; Bruker AV400 核磁共振仪 (瑞士布鲁克公司); Edwards 冻干机; 瑞士 MettlerToledo AB204-N、PB303-N 电子分析天平。HPD-100 大孔吸附树脂 (沧州宝恩化工有限公司), LH-20 葡聚糖凝胶 (台州市路桥四甲生化塑料厂), 甲醇、乙腈均为色谱纯 (天津康科德科技有限公司), 冰醋酸为分析纯 (天津凯信化学工业有限公司), 水为纯净水。

独一味样品采自甘肃, 经天津药物研究院张铁军研究员鉴定为唇形科植物独一味 *L. rotate* (Benth.) Kudo 的干燥全草。

2 方法与结果

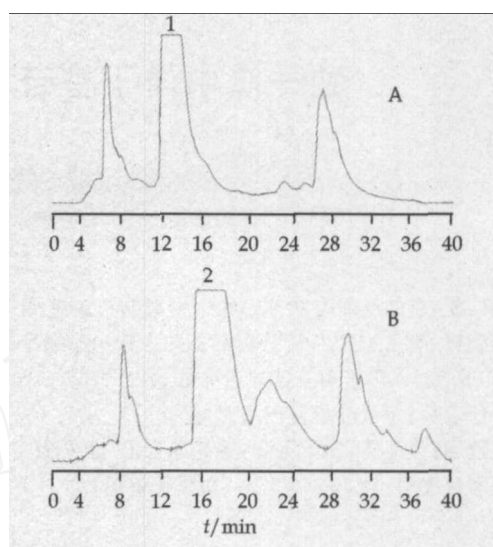
2.1 样品的处理: 称取独一味药材 1 kg, 用 80% 乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h, 滤过, 合并滤液, 减压回收浓缩至无醇味, 即得独一味提取液。独一味提取液通过 HPD-100 型大孔吸附树脂柱 (柱体积为 2 L) 吸附, 依次用 10 L 蒸馏水、50% 乙醇 6 L 洗脱。收集 50% 乙醇洗脱部分, 减压浓缩的干粉 53 g。取 5 g 干粉以 20 mL 蒸馏水溶解, 经 500 mL 葡聚糖凝胶 LH-20 柱纯化, HPLC 法跟踪检测, 合并含主要组分相同的馏份, 旋转蒸发浓缩至适量体积后, 分别得到馏份 I (主要含连翘酯苷 B) 和馏份 II (主要含洋丁香苷) 两部分溶液。

2.2 制备色谱条件: Zorbax Rx-C₁₈ (250 mm×9.4 mm, 5 μm) 色谱柱; 柱温: 室温; 流动相: 甲醇 (A)-1% 醋酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0.00~25.00 min, A-B (35:65), 25.10~35.00 min, A-B (55:45); 体积流量: 2 mL/min; 检测波长: 334 nm; 进样量: 1 mL。

2.3 对照品的制备: 将上述馏分 I、II 两部分分别用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过, 得制备色谱用样品溶液, 分别进样, 并收集保留时间为 12、16 min 的组分, 色谱图见图 2。减压浓缩收集液, 冷冻干燥, 得到连翘酯苷 B 和洋丁香苷对照品。

2.4 对照品的质量分数检测: Diamonsil C18 (200 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 以乙腈-甲醇-1% 醋酸水溶液 (10:15:75) 为流动相; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温为 35 °C; 检测波长为 334 nm。色谱图见图 3。用面积归一化法计算, 确定产品质量分数分别为 98.93%、99.91%。

2.5 对照品的结构鉴定



1-连翘酯苷 B 2-洋丁香苷

1- forsythoside B 2-acteoside

图 2 馏份 I (A) 和 II (B) 的制备 HPLC 色谱图

Fig. 2 Preparative HPLC chromatograms of fractions I (A) and II (B)

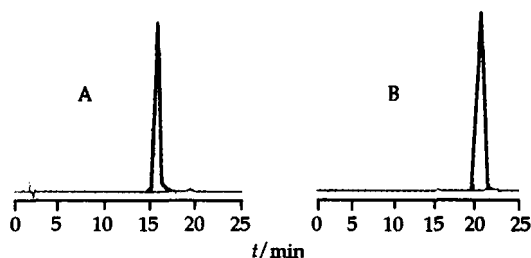


图 3 连翘酯苷 B (A) 和洋丁香苷 (B) 的色谱检测图

Fig. 3 HPLC Analyses of forsythoside B (A)

and acteoside (B)

2.5.1 连翘酯苷 B: ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 2.80 (2H, dt, J = 2.0, 8.0 Hz, H-β), 3.71, 4.01 (2H, m, H-α), 4.36 (1H, d, J = 8 Hz, glu-H-1), 4.91 (1H, d, J = 2 Hz, api-H-1), 5.17 (1H, d, J = 1.6 Hz, rha-H-1), 6.27 (1H, d, J = 16 Hz, H-α'), 6.56 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6), 6.67 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.69 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.95 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 7.05 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-2'), 7.58 (1H, d, J = 16 Hz, H-β'). ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 131.46 (C-1), 115.26 (C-2), 146.13 (C-3), 144.69 (C-4), 116.34 (C-5), 121.29 (C-6), 72.35 (C-α), 36.63 (C-β), 127.65 (C-1'), 114.76 (C-2'), 146.86 (C-3'), 149.84 (C-4'), 116.53 (C-5'), 123.23 (C-6'), 117.13 (C-α'), 148.04 (C-β'), 168.16 (C-γ'), 104.26 (glu-C-1), 81.59 (glu-C-2), 76.18 (glu-C-3), 70.42 (glu-C-4), 74.63 (glu-C-5), 68.46 (glu-C-6), 103.03 (rha-C-1), 72.35

(rha-C-2), 72.07 (rha-C-3), 73.78 (rha-C-4), 70.89 (rha-C-5), 18.43 (rha-C-6), 111.05 (api-C-1), 78.15 (api-C-2), 80.64 (api-C-3), 75.09 (api-C-4), 65.69 (api-C-5)。以上 NMR 数据与文献报道的连翘酯苷 B 的氢谱和碳谱测定结果基本一致^[7]。

2.5.2 洋丁香苷: ¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ: 2.78(2H, dt, J = 2.0, 8.0 Hz, H-β), 3.71, 4.05(2H, m, H-α), 4.37(1H, d, J = 8 Hz, glu-H-1), 5.18(1H, d, J = 1.2 Hz, rha-H-1), 6.26(1H, d, J = 16 Hz, H-α'), 6.55(1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6), 6.67(1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.69(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.77(1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.94(1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 7.05(1H, d, J = 1.6 Hz, H-2'), 7.59(1H, d, J = 16 Hz, H-β')。 ¹³C-NMR(100 Hz, CD₃OD) δ: 131.48(C-1), 117.11(C-2), 146.12(C-3), 144.66(C-4), 116.31(C-5), 121.26(C-6), 72.34(C-α), 36.55(C-β), 127.63(C-1'), 115.23(C-2'), 146.84(C-3'), 149.83(C-4'), 116.52(C-5'), 123.21(C-6'), 114.68(C-α'), 148.02(C-β'), 168.30(C-γ'), 104.20(glu-C-1), 76.01(glu-C-2), 81.63(glu-C-3), 70.39(glu-C-4), 76.01(glu-C-5), 62.34(glu-C-6), 102.99(rha-C-1), 72.34(rha-C-2), 72.06(rha-C-3), 73.78(rha-C-4), 70.39(rha-C-5), 18.44(rha-C-6)。以上 NMR 数据与文献报道的洋丁香苷的氢谱和碳谱测定结果基本一致^[7]。

3 讨论

独一味提取物样品经过大孔吸附树脂柱和葡聚糖凝胶柱纯化后,除去样品中大量杂质的同时,使连翘酯苷 B 和洋丁香苷分离在两个馏分中,分别制备,降低了 RP-HPLC 制备的难度,增加了制备色谱柱载样量,缩短制备周期,大大提高了制备效率。

参照分析色谱条件,本实验考察了乙腈-水、甲醇-水、乙腈-1%醋酸水溶液等系统,最终确定以甲醇-1%醋酸水溶液系统为流动相。此系统可使主峰和杂质峰充分分离,并能节约制备成本。而且甲醇沸点要低于乙腈,避免了回收溶剂时因温度过高而破坏单体。

本实验建立了从独一味药材中分离制备连翘酯苷 B 和洋丁香苷对照品的方法,操作比较简便,重现性好,符合对照品质量分数的要求,可供中药定性、定量分析。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [2] 许敬英,苏奎,周静. 苯丙素苷类化合物的研究进展(II)[J]. 时珍国医国药,2007,18(7):1770-1772.
- [3] 高燕,蒲小平. 洋丁香苷抗鱼藤酮致 SH-SY5Y 细胞损伤机制的研究[J]. 中国药理学通报,2007,23(2):161-165.
- [4] 赵磊,蒲小平. 洋丁香苷对 MPTP 所致帕金森病小鼠模型的神经保护作用[J]. 中国药理学通报,2007,23(1):42-46.
- [5] 朴景华,蒲小平,马建,等. 洋丁香苷对东莨菪碱所致记忆获得性障碍的改善作用[J]. 中国药理学通报,2001,17(6):625-627.
- [6] 景富春,陈虹. 肉苁蓉的神经保护作用研究进展[J]. 时珍国医国药,2006,17(10):1878-1879.
- [7] 鲁春华,沈月毛. 紫珠的水溶性成分[J]. 中国天然药物,2008,6(3):176-178.

基于氢核磁共振-主成分分析建立洁尔阴洗液质量控制的研究

罗乔奇¹,田祥琴¹,张琦²,唐敏¹,谭小燕¹,钟雪梅¹,黄静^{1*}

(1. 四川大学华西药学院,四川 成都 610041; 2. 西南民族大学,四川 成都 610041)

摘要:目的 从全面的角度出发,建立一种基于氢核磁共振-主成分分析的洁尔阴洗液质量控制新方法。方法 将洁尔阴洗液与不同的缺味制剂(缺蛇床子、缺黄柏、缺苦参、缺辅料制剂或缺全药材制剂)用相同的方法处理后,以¹H-NMR 技术测定样品的全化学成分信息,然后对图谱进行数据提取和分析。结果 所得的数据通过模式识别法中的主成分分析(PCA),在得分散点图中实现了对不同种类的制剂的区分。结论 氢核磁共振-主成分分析是一种有效的全成分分析法,能够更全面地体现药品质量情况,并且操作简便,因此可作为洁尔阴洗液质量控制的手段之一。

关键词:洁尔阴洗液;¹H-NMR;主成分分析(PCA)

中图分类号:R284.2;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)12-1907-05

收稿日期:2009-03-17

作者简介:罗乔奇(1982—),男,四川成都人,在读硕士研究生,从事天然药物化学研究。

Tel:(028)85503045 E-mail:georgelaw82@gmail.com

* 通讯作者 黄静 Tel:(028)85503045 E-mail:huangj_pharm@scu.edu.cn