

# 从布渣叶中制备异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的研究

李坤平<sup>1</sup>, 曾玉冰<sup>1</sup>, 高崇凯<sup>1</sup>, 李卫民<sup>2</sup>

(1. 广东药学院 药科学院, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学 中药学院, 广东 广州 510006)

**摘要:** 目的 从布渣叶中分离制备高纯度异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷。方法 采用大孔吸附树脂富集布渣叶总黄酮, 用 Sephadex LH-20 凝胶柱从布渣叶总黄酮中分离化合物单体, 并采用 IR、MS 和 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 对其进行结构鉴定, 利用 TLC 和 HPLC 对其纯度进行测定。结果 从布渣叶中分离出异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷, 其质量分数大于 98.0%。结论 该方法简便有效, 可以从布渣叶中制备异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷对照品。

**关键词:** 布渣叶; 异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷; 对照品

中图分类号: R284.1 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1006-8783.2011.01.008

文章编号: 1006-8783(2011)01-0031-03

Preparation of isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside from *Microcos paniculata* L.

LI Kun-Ping<sup>1</sup>, ZENG Yu-bing<sup>1</sup>, GAO Chong-kai<sup>1</sup>, LI Wei-ming<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

**Abstract: Objective** To obtain high purity of isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside from *M. paniculata* L. **Methods** Firstly, the total flavonoids of *M. paniculata* L. was enriched and purified with macroporous resin, and then separated by Sephadex LH-20 column chromatography. The purity of isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside was determined by TLC and HPLC. Its structure was demonstrated by IR, MS, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectral analysis. **Results** Isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside was successfully separated from *M. paniculata* L., and the purity was above 98.0%. **Conclusion** This method is simple, convenient and effective, which can be used as a reference substance for the quality control of *M. paniculata* L. and its preparations.

**Key words:** *Microcos paniculata* L.; isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside; reference substance

布渣叶为椴树科植物破布树 (*Microcos paniculata* L.) 的叶, 其味甘淡, 性微寒, 具清热消滞、利湿退黄之功效, 广泛用于“王老吉”、“广东凉茶”等中成药和凉茶饮料中, 收载于 2010 年版《中国药典》<sup>[1-2]</sup>。异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷具有抗氧化、抗肿瘤、抗病毒等多种生物活性<sup>[3]</sup>, 是布渣

叶中主要的黄酮类成分<sup>[4]</sup>, 但尚未见异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷对照品分离制备的报道。本试验建立了一种从布渣叶中利用大孔树脂富集、凝胶柱色谱分离制备高纯度异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的方法。

收稿日期: 2010-09-02

基金项目: 广东高校优秀青年创新人才培养计划项目 (LYM10092), 广东省中医药局科研课题 (2010418)

作者简介: 李坤平 (1978 -), 男, 博士, 从事中药制药工程方面的教学与研究, Email: lkpchina@hotmail.com。

网络出版时间: 2011-01-21 17:20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1413.R.20110121.1720.021.html>

## 1 仪器与试剂

RE52A 型旋转蒸发器(巩义市予华仪器有限公司); Vector 33 型傅立叶变换红外光谱仪(德国 Bruker 公司); Q-ToF micro 四极杆飞行时间质谱[电喷雾离子源(ESI)及 MassLynx 4.1 数据处理系统, Waters 公司]; Avance III 型核磁共振谱仪(500 MHz, 瑞士 Bruker 公司); LC-10AT 高效液相色谱仪( SPD-10A Vp Plus 检测器, LC solution LITE 色谱工作站, 岛津公司)。

Sephadex LH-20(瑞典 Pharmacia 公司); D101 大孔树脂(天津海光化工有限公司); 聚酰胺薄膜(台州路桥四甲生化塑料厂); 甲醇为色谱纯, 磷酸为分析纯, 水为自制超纯水。

布渣叶购自广州致信中药饮片有限公司, 由广州中医药大学中药学院李卫民教授鉴定为椴树科植物破布树(*Microcos paniculata* L.) 的叶。

## 2 方法与结果

### 2.1 布渣叶总黄酮的富集纯化

取布渣叶药材 2 kg, 70% (体积分数, 下同) 乙醇回流提取, 提取液减压浓缩至无醇味, 加入 5 倍量水, 离心, 上清液倒入 500 g 处理好的 D101 大孔树脂中, 室温静态吸附过夜。依次用水、20% (体积分数, 下同) 乙醇、70% 乙醇洗脱, 收集 70% 乙醇洗脱部位, 减压蒸干即为布渣叶总黄酮。

### 2.2 化合物的分离

将布渣叶总黄酮用少量甲醇溶解, 上 Sephadex LH-20 凝胶柱(3 cm × 40 cm), 甲醇洗脱, 聚酰胺薄层色谱分析后合并相同流份, 再用 Sephadex LH-20 凝胶柱(1.5 cm × 200 cm) 进行纯化, 甲醇-水(体积比 500:50) 洗脱, 将异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷流份减压蒸干后甲醇重结晶, 真空干燥, 得黄色粉末 32 mg。

### 2.3 对照品的结构确证

黄色粉末, 盐酸-镁粉反应阳性, Molish 反应为阳性。IR(KBr)  $\gamma/\text{cm}^{-1}$ : 3 382, 1 654, 1 602, 1 503, 1 453。ESI-MS  $m/z$ : 623 [M - H]<sup>-</sup>; ESI-TOF-MS/MS:  $m/z$  477 [M - rha - H]<sup>-</sup>, 315 [M - rha - glc - H]<sup>-</sup>。<sup>1</sup>H-NMR(500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 6.20 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-6), 6.42 (1H, d,  $J$  =

2.0 Hz, H-8), 7.85 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-2'), 7.50 (1H, dd,  $J$  = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-5'), 3.83 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>) 和 0.96 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, rha-CH<sub>3</sub>)。其<sup>13</sup>C-NMR 数据如表 1 所示。上述数据与文献 [5, 6] 报道一致, 因此鉴定该化合物为异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷。

### 2.4 对照品纯度的测定

**2.4.1 对照品杂质的检查** 参考 2010 年版《中国药典》附录 VI B 薄层色谱法, 点样量 1  $\mu\text{L}$ , 分别以甲醇-HAC-水(体积比 10:1:0.5) 聚酰胺薄膜展开和三氯甲烷-甲醇(体积比 7:3) 硅胶板展开, 以 3% (质量浓度) AlCl<sub>3</sub> 为显色剂, 105  $^{\circ}\text{C}$  加热 5 min 后均为一个亮黄色斑点, 无其他杂质斑点。

表 1 化合物的<sup>13</sup>C-NMR(125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 数据

Table 1 <sup>13</sup>C-NMR(125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) data of the compound

位置	化学位移	位置	化学位移
2	156.5	OCH <sub>3</sub>	55.7
3	133.0	glc	3-O-glc
4	177.4	1	101.2
5	161.2	2	74.3
6	98.8	3	76.4
7	164.1	4	70.1
8	93.9	5	75.9
9	156.5	6	66.9
10	104.0	rha	(1→6) rha
1'	121.0	1	100.9
2'	113.2	2	70.3
3'	146.9	3	70.6
4'	149.4	4	71.8
5'	115.3	5	68.3
6'	122.3	6	17.7

**2.4.2 对照品纯度的检测**<sup>[4]</sup> 采用 HPLC 法, 峰面积归一化法确定对照品的质量分数。色谱条件为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 柱温为 35  $^{\circ}\text{C}$ ; 流动相为甲醇(A)-水(含 0.2% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, B), 依下列程序梯度洗脱: 0~8 min 80% B~70% B; 8~35 min 70% B~50% B; 35~60 min 50% B~20% B; 流速为 1 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长为 276 nm。测得样品质量分数为 98.2%, 见图 1。

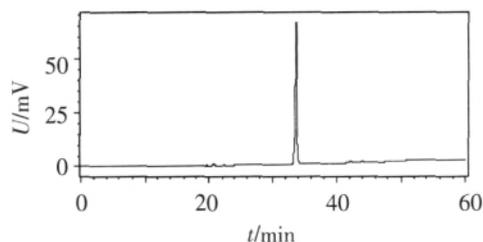


图 1 异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的 HPLC 图

Figure 1 HPLC chromatography of Isorhamnetin-3-O-β-D-rutinoside

### 3 讨论

异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷具有很强的抑制肿瘤和抑制 EB 病毒早期抗原活性<sup>[3]</sup>, 且在不同产地布渣叶药材中含量均较大<sup>[4]</sup>。采用大孔树脂富集结合凝胶柱色谱法制备布渣叶中异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷, 样品损失少, 方法简单, 可快捷有效地制备异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷对照品。

广东药学院中心实验室芮雯老师和姜苗苗老师在测试过程中给予大力帮助, 谨致谢意。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 88.
- [2] 潘天玲, 李坤平, 林赞菲, 等. 不同产地布渣叶总黄酮含量及其清除自由基活性研究 [J]. 广东药学院学报, 2009, 25(5): 452-454.
- [3] HIDEYUKI I, MASATERU M, EISEI N, *et al.* Anti-tumor promoting activity of polyphenols from *Cowania mexicana* and *Coleogyne ramosissima* [J]. *Cancer Lett*, 1999, 143(1): 5-13.
- [4] 李坤平, 潘天玲, 高崇凯, 等. HPLC 法测定布渣叶中牡荆苷和异鼠李素-3-O-β-D-芸香糖苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 950-952.
- [5] MARKHAM K R, TERNAI B, STANLEY R *et al.* Carbon-13 NMR studies of Flavonoids-III: Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 1978, 34(9): 1389-1397.
- [6] 冯世秀, 刘梅芳, 魏孝义, 等. 布渣叶中三萜和黄酮类成分的研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2008, 16(1): 51-56.

(责任编辑: 刘晓涵)

## 美国 FDA 批准一种预防早产药物 Makena

美国 FDA 于 2011 年 2 月 4 日通过快速审批程序批准 Makena (己酸羟孕酮, hydroxyprogesterone caproate) 用于有早产病史的孕妇预防早产, 但不适用于怀有双胞胎或多胞胎的孕妇。

FDA 相关主管官员指出, 早产是美国的一个重大的公共卫生问题, Makena 是 FDA 批准的首个旨在降低孕妇早产风险的药物。Makena 为注射剂, 具体用法为在孕期第 16~21 周每周为孕妇通过臀部注射一次。

FDA 对 Makena 的安全性与其有效性数据进行了评估。这些数据是通过一项多中心随机双盲临床试验获得的, 该试验由 463 名 16~43 岁的有早产病史的单胞胎孕妇参加。在服用 Makena 的孕妇中, 37% 发生早产 (怀孕 37 周前), 而对照组有 55% 的孕妇发生早产。

另外一项研究对参加试验的孕妇所生小孩的生长发育情况进行了评估。在该项研究中, 不论孕妇当初在临床试验中的治疗情况如何, 其小孩在 2.5~5 岁时均达到了相似的生长发育指标。该项研究目前仍在进行中, 预计在 2018 年全部完成, 届时将总共有 580~750 名婴幼儿被跟踪研究。

Makena 最常见的副作用有疼痛、注射部位肿胀或者瘙痒、出现疹子、恶心和腹泻, 其他严重副作用很罕见。Makena 由位于加州 Sunnyvale 的 Hologic 公司研究研发生产。FDA 曾在 1956 年批准己酸羟孕酮用于预防流产, 当时商品名为 Delalutin。但原生产厂家在 2000 年申请该药退市, 退市的原因与其安全性并无关联。

(来源: 美国 FDA 政府公告 2011-02-04 夏训明编译)