

龙血素 B 化学对照品研究*

Study on the Chemical Reference Substance of Loureirin B

刘布鸣, 卢文杰, 陈家源, 林 宵, 牙启康

LIU Bu-ming, LU Wen-jie, CHEN Jia-yuan, Lin Xiao, YA Qi-kang

(广西中医药研究所, 广西南宁 530022)

(Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要: 从中药龙血竭中提取、分离、纯化制备龙血素 B, 经 UV、IR、NMR、MS 和 TLC、HPLC 等方法测定结构和纯度。结果得到结构正确、纯度达到 99% 以上、符合中药化学对照品技术要求、可作为龙血素 B 的化学对照品。

关键词: 龙血竭 龙血素 B 化学对照品

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2006)02-0133-02

Abstract: Loureirin B was isolated and identified from resin of *Dracaena cochinchinensis* as the chemical reference substance. The structure and purity of loureirin B was determined by analyzing spectra (UV, IR, NMR, MS) and chromatography (TLC, HPLC). The structure of compound was correct and the purity was more than 99%. It can be used as chemical reference substance to control quality.

Key words: Resin of *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Ghen., loureirin B, chemical reference substance

龙血竭是百合科植物剑叶龙血树 [*Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S. C. Ghen.] 含脂木材提取的树脂状药材, 具有活血化瘀、定痛止痛、敛疮生肌等功效, 用于跌打损伤、瘀血作痛、妇女气血凝滞、外伤出血、脓疮久不收口等症^[1]。龙血竭主要化学成分含黄酮等。黄酮的主要成分龙血素 B (loureirin B)^[2,3] 的化学名为 4'-羟基-2,4,6-三甲氧基双氢查耳酮 (C₁₈H₂₀O₅), 其化学结构见图 1。龙血竭及制剂的国家药品标准均规定龙血素 B 作为指标性成分^[1,4], 以控制和评价药品质量。目前对龙血素 B 化学对照品的系统研究未见报道, 我们参考了文献^[5], 对龙血素 B 化学对照品进行了分离提取、制备、结构确证、杂质检查、纯度与含量测定研究, 建立其化学对照品的技术标

准, 为龙血素 B 化学对照品提供系统的基础化学信息和分析测试依据。

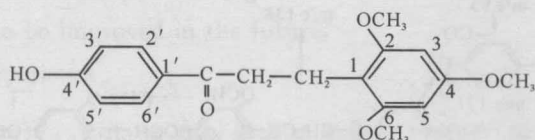


图 1 龙血素 B 化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of loureirin B

1 实验部分

1.1 样品

龙血竭由广西药材公司提供。

1.2 仪器与试剂

美国 PE Lambda 12 紫外光谱仪; 日本岛津 IR 470 红外光谱仪; 美国 Varian INOVA-500 核磁共振波谱仪; 美国安捷伦 GC6890/MS5973 色谱/质谱仪; 美国 Waters 515、UV2487 液相色谱仪、美国安捷伦 1100、DAD G1315B 液相色谱仪。层析硅胶 H, 氘代氯仿, 内标 TMS; 甲醇、乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其它溶媒为分析纯。

收稿日期: 2005-12-13

作者简介: 刘布鸣(1956-), 男, 湖南人, 研究员, 主要从事药物化学成分、质量标准与质量控制方法研究。

* 广西科技攻关项目“广西大型科学仪器设备协作共用研究与应用(桂科攻 0428011-4)”资助。

1.3 提取分离

取龙血竭,粉碎,用氯仿提取多次,滤过,合并滤液,回收氯仿,得氯仿提取物,经硅胶柱层析,用石油醚(60~90℃)-醋酸乙酯混合溶剂洗脱。收集含龙血素 B 的流分,合并,再进行硅胶柱层析,用石油醚(60~90℃)-醋酸乙酯混合溶剂洗脱,得粗结晶。将粗结晶反复进行硅胶 H 柱层析(加压)用氯仿-甲醇混合溶剂洗脱,得龙血素 B 结晶。经石油醚(60~90℃)-氯仿混合溶剂重结晶,得无色针状结晶。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

无色针状结晶,熔点 136~138℃,溶于甲醇、氯仿、乙腈。IR(KBr) ν/cm^{-1} 3106(-OH), 3036(苯环), 2940, 2830(-CH₂-, -OCH₃), 1640(C=O, 有共轭), 1598, 1567(苯环)。UV(甲醇) nm 220, 277(有不饱和和共轭体系)。¹HNMR(CDCl₃, 500MHz, TMS) δ : 2.96, 2.99(2H, m, β -H), 3.01, 3.05(2H, m, α -H), 3.76(6H, s, 2, 6-OCH₃), 3.80(3H, s, 4-OCH₃), 6.13(2H, s, 3, 5-H), 6.85, 6.87(2H, d, 3', 5'-H, J=9.0Hz), 7.92, 7.93(2H, d, 2', 6'-H, J=9.0Hz)。MS m/z: 316 (M⁺), 196, 195, 182, 181(100), 168, 136, 122, 121, 107, 93, 主要特征离子和裂解途径见图 2。光谱数据与龙血素 B 结构相符,并与文献值[1]基本一致,确定为龙血素 B(4'-羟基-2,4,6-三甲氧基双氢查耳酮)。

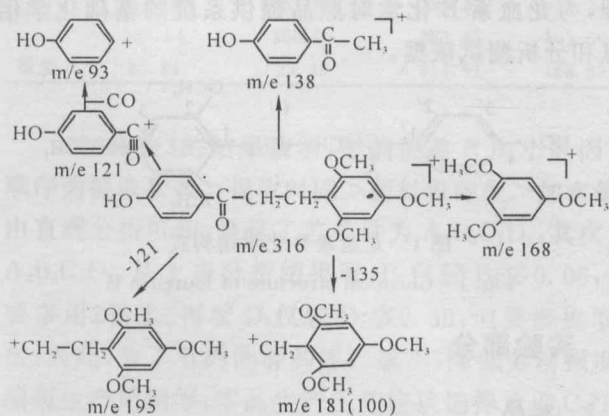


图 2 主要特征离子和裂解途径

Fig. 2 The characteristic ions and fragmentation patterns in EI/MS

2.2 纯度分析

2.2.1 薄层色谱分析

薄层板:硅胶 H-0.7%羧甲基纤维素钠(1:2.8)。3种展开剂系统:醋酸乙酯-石油醚(60~90℃)(3.5:6.5);苯-丙酮(7.5:2.5);氯仿-甲醇(9.5:0.5)。点样:在同一板上,按 20 μ g, 40 μ g, 60 μ g, 80 μ g,

100 μ g 不同的浓度梯度点样。展距 15cm。定位在碘蒸气中放置 30min,日光下检视。结果在薄层色谱中,可见棕黄色的单一斑点,3种展开剂系统,5个不同浓度的梯度点样,均为单一斑点,未见杂质斑点,符合化学对照品要求。

2.2.2 HPLC 分析

色谱条件: C-18 柱 4.6mm \times 250mm, 5 μ m; 流速 1ml/min; 进样量 20 μ l; 面积归一化法定量。系统(1)的流动相为:甲醇:水=60:40, 检测波长 277nm; 系统(2)的流动相为:乙腈:1.1%冰醋酸溶液=40:60, 检测波长 260nm。

含量与纯度测定:精密称取于 105℃干燥至恒重的对照品适量,加流动相制成每 1ml 含 1mg 的溶液,在测定条件下,进样 20 μ l(约相当于 20 μ g),注入液相色谱仪,用两个流动相溶剂系统分别记录色谱图至主成分的出峰保留时间的 2.5 倍以上,用面积归一化法计算含量。结果系统(1)测定对照品含量为 99.94%,系统(2)为 99.91%,均在 98%以上。分别在两个流动相溶剂系统记录的色谱图中,除溶剂峰外,杂质峰面积总和均小于 2.0%。系统(1)的 HPLC 图见图 3。

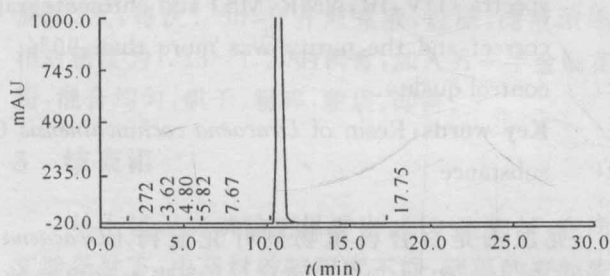


图 3 HPLC 图

Fig. 3 HPLC Chromatogram of 277nm

色谱峰纯度检查:取对照品适量,用 DAD 进行峰纯度检查,5点光谱图完全重合见图 4,纯度因子 999.994,表明为单一物质峰。

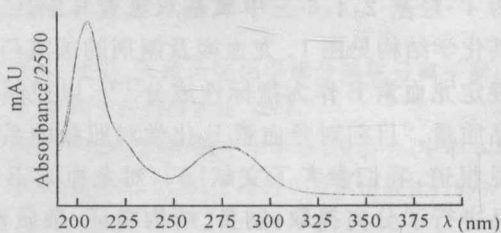


图 4 色谱峰纯度检查 5 点光谱图

Fig. 4 The spectrum of chromatogram from 5 points

3 结论

分离、纯化的龙血素 B 化学对照品,在光谱结构确认后,经 3 个展开系统 5 个不同浓度的 TLC 检测, (下转第 138 页 Continue on page 138)

W, et al. The use of alanine as solid dosimeter [J]. Radiant Res, 1962, 17: 11.

- [3] 王连元, 高钧成. 丙氨酸剂量计在放射治疗中的试用 [J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2002, 11(1): 71.
- [4] VITALY NAGYA, SERGEY V SHOLOMB. Uncertainties in alanine dosimetry in the therapeutic dose range [J]. Applied Radiation and Isotopes, 2002, 56: 917-929.
- [5] KUDYNSKI R. The application of EPR dosimetry for radiotherapy and radiation protection [J]. Applied Radiation and Isotopes, 1993, 44(6): 903-906.
- [6] BARTOLOTTA A. Sources of uncertainty in therapy

level alanine dosimetry [J]. Applied Radiation and Isotopes, 1993, 44(1~2): 13-17.

- [7] DE ANGELIS C, FATTIBENE P. Alanine/EPR dosimetry as a reference system in radiotherapy [C]// International Symposium on Standards and Codes of Practice in Medical Radiation Dosimetry, Book of Extended Synopses. Vienna (Austria); [s. n.], 2002, 276: 165-166.

(责任编辑: 邓大玉)

(上接第 134 页 Continue from page 134)

2 个流动相系统和 2 个不同波长的 HPLC 检测, 同时对色谱峰用 DAD 做纯度检查, 表明符合中药含量测定用化学对照品的要求, 含量大于 98%。本研究结果建立了龙血素 B 化学对照品的技术标准。

参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药品标准 [S]. WS3-082(Z-016)-99(Z).
- [2] 卢文杰, 王雪芬, 陈家源, 等. 剑叶龙血树氯仿部位化学

成分的研究 [J]. 药学报, 1998, 33(10): 755.

- [3] 文东旭. 龙血竭的研究进展 [J]. 中草药, 2001, 32(11): 1053.
- [4] 国家药品监督管理局. 国家药品标准 [S]. WS3-B-2541-2001.
- [5] 陈德昌. 中药化学对照品工作手册 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000.

(责任编辑: 邓大玉)