

两面针中氯化两面针碱对照品的制备*

Preparation of Reference Substance of Nitidine Chloride from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.

黄艳^{1,2}, 刘布鸣^{1,2**}, 赖茂祥^{1,2}, 杨刚劲^{1,2}, 蒋秀珍^{1,2}, 文建文^{1,2}

HUANG Yan^{1,2}, LIU Bu-ming^{1,2}, LAI Mao-xiang^{1,2}, YANG Gang-jing^{1,2}, JIANG Xiu-zhen^{1,2}, WEN Jian-wen^{1,2}

(1. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022; 2. 广西壮族自治区中医药研究院, 广西南宁 530022)

(1. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要: 建立从两面针中制备氯化两面针碱对照品的方法, 利用硅胶柱层析、重结晶和反相制备高效液相色谱对两面针的乙醇提取物进行分离纯化, 以 HPLC 对氯化两面针碱进行纯度检查和含量测定, 并通过 UV、IR、MS、¹HNMR 等对其进行结构确证。从两面针叶中分离、纯化出氯化两面针碱对照品, 质量分数 > 99.0%。所建的制备方法简单, 制备出的氯化两面针碱对照品符合中药化学对照品的相关要求, 可作为两面针药材和含两面针成药质量控制, 以及中药药效物质基础用的化学对照品。

关键词: 两面针 氯化两面针碱 对照品 制备

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2013)03-0258-03

Abstract: To establish a separation method for reference substance of nitidine chloride from leave of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC., ethanol-extract of the leave of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. was isolated and purified by RP-HPLC combining with column chromatography and recrystallization. Its structure was identified by means of UV, IR, MS and ¹HNMR. The nitidine chloride was completely separated from the leave of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC., and the purity of the reference substance was no less than 99.0%. The method is simple and convenient, and 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: *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC., nitidine chloride, reference substance, preparation

随着中药研究和药效物质基础研究的不断深入, 对中药化学对照品的需求越来越大, 高纯度的中药化

学对照品的制备研究尤为重要。中药化学对照品是药品检测中使用的参比物, 用于确定中药的真伪和评价药品质量的优劣。

两面针系芸香科花椒属植物两面针 [*Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.] 的干燥根, 收载于《中国药典》2010 年版一部^[1]。两面针为广西特色药材, 其性味辛、苦、微温, 小毒, 具有祛风通络、胜湿止痛、消肿解毒等作用^[2], 其中氯化两面针碱是两面针的主要有效成分, 是两面针药材及其制剂的主

收稿日期: 2013-04-26

修回日期: 2013-08-16

作者简介: 黄艳 (1987-), 助理研究员, 硕士研究生, 主要从事中药、天然药化学成分与质量标准研究。

* 广西科技基础条件平台建设项目 (10-108-27-F) 资助。

** 通讯作者: 刘布鸣 (1956-), 男, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中药、天然药化学成分与质量标准研究。Email: liubuming@tom.com。

要质量控制指标性成分,具有抗肿瘤、强心、降血压、抗真菌作用,特别是抗肿瘤活性方面具有研究价值和开发利用前景^[3]。目前,对于氯化两面针碱的研究多是提取、含量测定等方面的研究,未见有氯化两面针碱对照品的研究,因此两面针药材和含两面针的复方药物均缺乏有效的特征成分定量的质量控制手段。本文报道氯化两面针碱作为质量控制和药效基础研究用化学对照品的研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

日本岛津 UV-2550 型紫外光谱仪;德国 Bruker TENSOR 27FT IR 红外光谱仪;德国 BRUKER AVANCE 600 核磁共振波谱仪;美国 Thermo fisher LTQ Orbitrap Velos 质谱仪;美国 Waters 1525、Waters 2998 检测器液相色谱仪。200-300 目柱层析硅胶(青岛海洋化工公司),氘代甲醇,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。两面针药材经广西中医药研究院赖茂祥研究员鉴定为芸香科花椒属植物两面针 [*Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC.]。

1.2 方 法

1.2.1 粗品的提取分离

两面针根 10kg,粉碎,加 pH 值=3 的 70%乙醇回流提取 3 次,第 1 次加酸性乙醇 12 倍量,加热回流 2h;第 2 次和第 3 次加酸性乙醇 6 倍量,分别加热回流 2h;合并酸醇提取液,滤过,合并滤液,减压浓缩至无醇味,得两面针浸膏。将两面针浸膏用氯仿反复研磨,所得沉淀用甲醇溶解,加盐酸至 pH 值为 2,放置后析出淡黄绿色针状结晶,用甲醇重结晶,为氯化两面针碱粗结晶。

1.2.2 对照品的制备

氯化两面针碱粗品再用甲醇溶解,超声 30min,加热至 80~100℃,趁热过滤,滤液放冷,静置 24h 重结晶,析出淡黄色细针状结晶,纯度达 90%~95%。将粗结晶用制备高效液相色谱法分离纯化,色谱柱为 kromasil KR100-5 (15mm×250mm, 5μm) C-18 柱,利用乙腈:0.1%三氟乙酸(30:70)为流动相洗脱,流速为 5 ml/min,检测波长为 271nm,柱温为室温;收集氯化两面针碱组分,并对所收集的每一份洗脱液利用 HPLC 检测(色谱柱:C-18 柱;流动相:乙腈:0.1%三氟乙酸(30:70);检测波长:271nm;流速:1.0ml/min)合并保留时间相同而且纯度大于 98%以上的氯化两面针碱,减压浓缩,得到大于 98%以上的氯化两面针碱对照品。

2 结果与分析

2.1 对照品的结构确证

制备得到的对照品为淡黄色晶体,热溶于甲醇,mp 280~282℃。UV λ^{EtOH} max nm:271,329。IR ν_{KBr} max cm⁻¹:1685、1500、1431(苯环),1273,1036,939。MS(ESI)m/z:348。¹HNMR(MeOD,600MHz,TMS)δppm:9.84(1H,s,H-6),8.85(1H,d,J=8.4Hz,H-11),8.32(1H,s,H-7),8.29(1H,s,H-10),8.25(1H,d,J=8.4Hz,H-12),7.87(1H,s,H-4),7.74(1H,s,H-1),6.34(2H,s,-OCH₂O-),4.88(3H,s,-NMe),4.22(3H,s,-OMe),4.04(3H,s,-OMe)。以上数据与氯化两面针碱的文献^[4,5]报道一致,因此确证该化合物为氯化两面针碱(Nitidine chloride)。结构式见图 1。

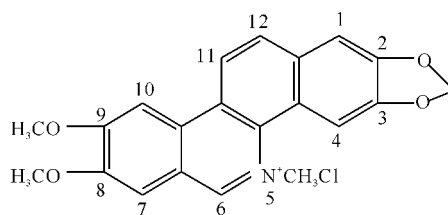


图 1 氯化两面针碱的结构式

Fig.1 The structure of nitidine chloride

2.2 对照品的纯度检查

2.2.1 薄层色谱法检查

取制备得到的对照品氯化两面针碱适量,用甲醇制 1mg/ml 的溶液,在同一聚酰胺薄膜上,按不同的点样量梯度点样,点样量分别为 0.5 μg、1 μg、3 μg、5 μg、10 μg。用 3 个不同系统的展开剂:系统(1)氯仿-甲醇(12:1);系统(2)氯仿-乙醇(10:1);系统(3)乙酸乙酯-乙醇(15:1)。进行展开,置紫外灯(365nm)下检视。结果在薄层色谱中,可见蓝色的单一荧光斑点,均未见有杂质斑点,

2.2.2 高效液相色谱法纯度检查

精密称取于 105℃干燥至恒重的对照品适量,加 80%甲醇水溶液制成每 1ml 含 1mg 的溶液,色谱条件:Kromasil C₁₈ 色谱柱(250mm×4.6mm,10 μm),流动相为乙腈:0.1%三氟乙酸溶液(33:67);检测波长为 271nm;进样量为 10 μl;流速为 1ml/min,柱温为室温。在该色谱条件下,对照品氯化两面针碱的 HPLC 图见图 2,用二级管阵列检测器 DAD 进行峰纯度检查为单一纯物质峰,用面积归一化法计算氯化两面针碱含量为 99.03%。改变流动相和波长,甲醇:0.1%三氟乙酸溶液(50:50),271nm 为检测波长和乙腈:0.1%三氟乙酸溶液(33:67),254nm 为检测波长分别检测,结果对照品为一个主峰,改变流

动相分析未见有异常峰。

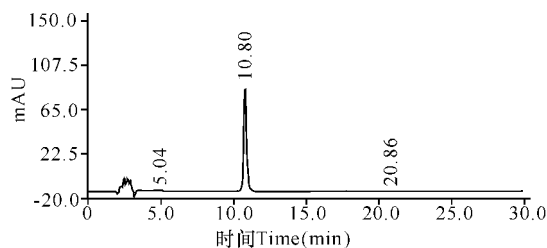


图 2 氯化两面针碱的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC spectra of nitidine chloride

3 结论

氯化两面针碱为两面针的特征和有效成分,适合作为中药化学对照品。本实验提取、分离、纯化得到的氯化两面针碱,符合中药化学对照品的相关要求,可作为两面针药材和含两面针成药质量控制,以及中

药药效物质基础研究用的化学对照品。

参考文献:

- [1] 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: 157.
- [2] 刘华钢, 黄秋洁, 赖茂祥. 中药两面针的研究概况 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 222-223.
- [3] 刘丽敏, 刘华钢. 氯化两面针碱的研究近况 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(1): 60.
- [4] 崔天义, 朱卫. 巴山花椒根的化学成分研究 [J]. 武汉植物学研究, 1994, 12(4): 371-374.
- [5] 郭慧然, 肖耀文, 金鑫. 滑叶花椒的生物碱研究 [J]. 武汉植物学研究, 1987, 5(1): 65-68.

(责任编辑: 陈小玲)

广西科学院与中国科学院云计算中心签署合作框架协议

新闻时间: 2013-8-20

8月19日下午,中国科学院广州分院与广西科学院合作洽谈会暨广西科学院与中国科学院云计算中心战略合作签约仪式在广西科学院举行。广西政府副主席黄日波,自治区发改委、工信委、科技厅、南宁市科技局有关领导以及中国科学院广州分院及中国科学院云计算中心、广西科学院的代表出席了洽谈会及签约仪式。

经过前期认真讨论,签约双方确立了四个方面的发展目标:一是通过打造“以云计算为核心的现代信息服务”产业园,促进广西信息产业和地方经济社会发展、提升广西电子信息产业整体水平。二是建设广西云计算技术堡垒和云计算技术标准。三是利用“自主知识产权”提升本地企业的核心竞争力,使云计算在广西当地实现“本地化服务”及面向东盟国家提供云计算服务。四是利用云计算完成科技人才的引进、培养,形成产业聚集,并培养一批广西本地的云计算科技人才。

黄日波副主席对中科院给予广西的支持表示感谢,他指出:广西与广州分院一直有着良好的合作关系,广西科学院与中科院的院地合作已经进入了实质阶段,取得了包括生物能源方面的重大项目联合攻关、共建“文献情报信息共享服务站”,落实中科院一名干部到广西科学院挂任副院长等方面的阶段性成果,随着广西科学院与中国科学院云计算中心战略合作签约,将会更加有力地推动广西科学院的院地合作上一个新台阶。双方要共同努力,把广西科学院建设成为区域创新的重要基地,成为支撑和服务广西经济发展重要科技力量,成为辐射和影响东盟国家的国际科技合作平台。

摘自广西科技信息网