

三叶苷质量标准初步研究*

郑斌婕¹, 王李婷¹, 熊佩¹, 张凤娥², 蔡伟^{1△}

(1. 湖南医药学院药学院, 湖南 怀化 418000; 2. 湖南医药学院·侗医药研究湖南省重点实验室, 湖南 怀化 418000)

摘要:目的 初步研究三叶苷的质量标准。方法 取木姜叶柯药材, 采用热水提取及乙醇热饱和和结晶制得三叶苷纯品, 测定三叶苷纯品的水分, 并利用碳谱、氢谱及薄层色谱鉴定其真伪。结果 经上述波谱及薄层色谱鉴定, 水分平均值为 3.55%, 其结构为三叶苷。结论 该方法可用于三叶苷质量标准的初步研究。

关键词: 木姜叶柯; 三叶苷; 对照品; 纯品; 质量标准; 薄层色谱法; 结构鉴定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)18-0008-02

Quality Standard of Tilobatin

ZHENG Binjie¹, WANG Liting¹, XIONG Pei¹, ZHANG Feng'e², CAI Wei¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Hunan University of Medicine, Huaihua, Hunan, China 418000; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Dong Medicine, Hunan University of Medicine, Huaihua, Hunan, China 418000)

Abstract: Objective To study the quality standard of tilobatin. **Methods** The pure trilobatin was extracted from *Lithocarpus litseifolius* by hot water extraction and ethanol crystallization by thermal saturation. The moisture content of trilobatin was determined. The authenticity of trilobatin was identified by ¹³C nuclear magnetic resonance(NMR), ¹H NMR and TLC. **Results** The average moisture content of trilobatin was 3.55% and the structure was identified as trilobatin by the above spectrum and TLC. **Conclusion** This method can be used for the preliminary study of the quality standard of trilobatin.

Key words: *Lithocarpus litseifolius*; trilobatin; reference substance; pure product; quality standard; TLC; structural identification

木姜叶柯 *Lithocarpus litseifolius*(Hance) Chun 为壳斗科柯属常绿植物, 多分布在长江以南的低山密丛中^[1], 药食兼用, 可做茶、糖、药^[2]。其有清热利尿、滋肝养胃、化痰、祛风、降压等功效, 可用于治疗湿热痢疾、皮肤瘙痒、肺热咳嗽、高血压等症^[3]。近代医学研究证明, 木姜叶柯具有抗氧化^[4]、免疫抑制^[5]、降血糖^[6]等药理作用。三叶苷是其主要活性成分之一, 具有抗糖尿病^[7]、抗人类免疫缺陷病毒(HIV)-1 感染^[8]、抗炎^[9-10]等作用。文献[11]报道的三叶苷单体分离步骤烦琐, 耗时较长。为高效提取、纯化三叶苷并对其进行质量控制, 本试验中采用热水回流提取, 乙醇热饱和和结晶得成品, 并结合波谱及薄层色谱对其进行鉴定。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

1260 型高效液相色谱仪, 包括 G1311B 四元泵、4212BDAD 型二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司); AUW120D 型电子分析天平(日本 Shimadzu 公司); Mighty-10 型超纯水机(上海砾鼎水处理设备有限公司); BZF-50 型真空干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂); 薄层色谱(青岛海洋化工厂)。

1.2 试药

三叶苷对照品(四川省维克奇生物科技有限公司, 批号为 WKQ18052505, 含量 > 98.0%); 所用试剂均为分析纯, 水为超纯水。木姜叶柯药材购自湖南省溆浦县君健中药材专业合作社, 经湖南医药学院蔡伟副教授鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 提取、分离与结晶

取木姜叶柯药材 0.1 kg, 用粉碎机稍加粉碎, 过 2 号筛, 置 2 000 mL 圆底烧瓶中, 以 10 倍量水在 80 ℃ 条件下提取 3 次, 每次 1 h, 得残渣和滤液, 合并滤液, 于冰箱冷藏静置 12 h, 滤过, 得黄色沉淀物, 减压干燥(55 ℃)24 h, 得三叶苷粗品。在无水乙醇溶液中缓慢加入三叶苷粗品, 边加热边溶解, 待三叶苷饱和和溶解后, 冷却溶解液得结晶, 重复 3 次, 干燥, 得三叶苷纯品。

2.2 水分测定

按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0832 项下水分测定法第二法(烘干法)测定三叶苷纯品中的水分。取三叶苷纯品约 2 g, 置干燥至恒重的称量瓶中, 精密称定, 打开锥形瓶瓶塞, 置 105 ℃ 干燥箱中干燥 5 h, 移出, 并迅速盖上瓶盖, 置干燥器中冷却 30 min, 精密称定, 继

*基金项目: 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目[湘教通[2016]96 号]。

第一作者: 郑斌婕, 女, 在读大学本科, 研究方向为体内药物分析, (电子信箱)1320847657@qq.com。

△通信作者: 蔡伟, 男, 博士研究生, 副教授, 研究方向为体内药物分析, (电子信箱)20120941161@bucm.edu.cn。

续干燥1 h, 迅速取出, 冷却后称定质量, 连续2次干燥后的质量差小于5 mg时停止干燥, 根据损失的质量, 计算三叶苷纯品中水分含量, 重复3次。结果三叶苷纯品水分含量为 $(3.550 \pm 0.163)\%$ 。

2.3 结构鉴定

白色针状结晶。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO) δ : 7.03(2H, d, $J=8.0$ Hz, H-2, H-6), 6.66(2H, d, $J=8.0$ Hz, H-3, H-5), 6.04(2H, s), 4.88(1H, d, $J=7.71$ Hz), 5.36(1H, d, $J=5.82$ Hz), 5.13(1H, d, $J=5.42$ Hz), 2.78(2H, t, $J=7.66$ Hz, H- β)。 ^{13}C -NMR δ : 131.49(C-1), 129.20(C-2, C-6), 155.42(C-4), 115.09(C-3, C-5), 45.77(C- α), 29.32(C- β), 205.07(C=O), 105.23(C-1'), 163.39(C-2', C-6'), 95.07(C-3', C-5'), 163.74(C-4'), 99.52(C-1''), 73.05(C-2''), 76.41(C-3''), 69.41(C-4''), 77.14(C-5''), 60.48(C-6'')。以上数据与文献[12]报道结果基本一致, 故鉴定化合物为三叶苷。

2.4 薄层鉴别

取三叶苷对照品和三叶苷纯品各适量, 分别加甲醇溶解制成对照品溶液和供试品溶液。按2015年版《中国药典(四部)》TLC法试验, 吸取上述2种溶液各10 μL , 分别点于同一硅胶G薄层板上, 分别以石油醚-正丁醇(1:8, V/V)、乙酸乙酯-正丁醇(2:1, V/V)、乙酸乙酯-丙酮(3:2, V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置日光下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 详见图1。

3 讨论

三叶苷是木姜叶柯具有降糖活性的主要成分, 对

α -葡萄糖苷酶有明显抑制作用^[7], 与阿卡波糖效果相当。现有文献关于木姜叶柯中三叶苷提取、分离报道较少, 且大多采用乙醇水溶液进行提取^[13-14]。本试验中以水提取, 相对于乙醇更环保。

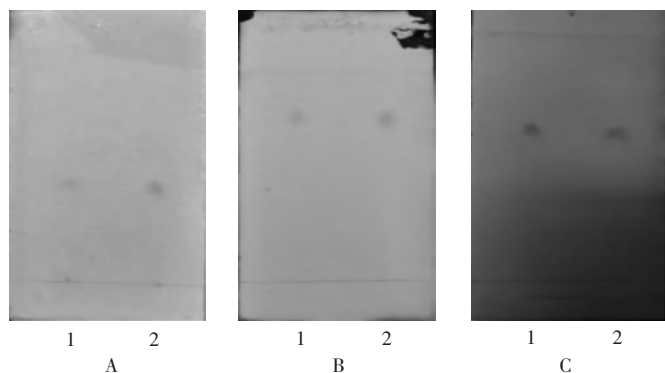
传统的重结晶溶剂多采用甲醇, 毒性很大, 在使用过程中, 对人体的神经系统和血液系统影响较大, 经消化道、呼吸道或皮肤摄入都会产生毒性反应, 特别是甲醇蒸气对呼吸道黏膜和视力损伤很大。本试验中采用乙醇进行热饱和结晶, 得到三叶苷的纯度高, 污染小, 水分小, 经碳谱、氢谱、薄层色谱鉴定均为正品。

综上所述, 该方法可用于三叶苷质量标准的初步研究。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第22卷[M]. 北京: 科学出版社, 1977: 201-202.
- [2] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴: 第1册[M]. 北京: 科学出版社, 1972: 434.
- [3] 杨勇, 彭炳华, 马庭升, 等. 保健甜茶-多穗柯的研究与开发[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(4): 1014-1015.
- [4] 李胜华, 伍贤进, 曾军英. 多穗柯中总黄酮的体内和体外抗氧化研究[J]. 中国药理学杂志, 2014, 49(9): 731-735.
- [5] 陆晓宇, 曾耀英, 叶燕霞, 等. 根皮素的抗炎和免疫抑制作用(英文)[J]. 药学报, 2009, 44(5): 480-485.
- [6] Ehrenkranz JRL, Lewis NG, Ronald KC, et al. Phlorizin: a review[J]. Diabetes/metabolism Research and Reviews, 2005, 21(1): 31-38.
- [7] 张毅, 宁正祥, 董华强. 多穗柯三叶苷的抑制糖尿病关键酶活性和抗氧化性[J]. 食品科学, 2011(5): 32-35.
- [8] YIN SW, ZHANG XX, LAI FY, et al. Trilobatin as an HIV-1 entry inhibitor targeting the HIV-1 Gp41 envelope[J]. FEBS Letters, 2018, 592(13): 2361-2377.
- [9] 范小龙, 董华强, 张英慧, 等. 多穗柯三叶苷对脂多糖诱导小鼠炎症反应的保护作用[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 186-189.
- [10] FAN X, ZHANG Y, DONG H, et al. Trilobatin attenuates the LPS-mediated inflammatory response by suppressing the NF- κ B signaling pathway[J]. Food Chemistry, 2015, 166: 609-615.
- [11] 广西普亮健生物科技有限公司. 一种从木姜叶柯中提取三叶苷的工艺: 中国, 108948104A [P]. 2018-12-07.
- [12] 肖坤福, 廖晓峰. 多穗柯黄酮类化合物的分离与鉴定[J]. 林产化学与工业, 2006(3): 85-87.
- [13] 中南大学. 一种用于三叶苷分离纯化的改性树脂及其在木姜叶柯中的应用: 中国, 108102012A [P]. 2018-06-01.
- [14] 中国农业科学院特产研究所. 一种大量分离天然甜味剂三叶苷的方法: 中国, 104974201B [P]. 2017-12-15.

(收稿日期: 2019-01-24)



1. 对照品溶液 2. 供试品溶液

A. 石油醚-正丁醇 B. 乙酸乙酯-正丁醇 C. 乙酸乙酯-丙酮

图1 薄层色谱图

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 欢迎投稿! 欢迎订阅!

邮发代号: 78-130, 各地邮局均可订阅; 补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真: (023) 86592565

网上投稿: <http://www.zhongguoyaoye023.com> 或 中国药业在线投稿系统