

氢氧化钾溶液显红色,与对照品芦荟大黄素共薄层色谱,Rf值斑点颜色一致,相互混合熔点不下降,故确定该化合物为芦荟大黄素(abe emodin)。

化合物:无色针状结晶(MeOH),mp180。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,300MHz):4.71(1H,d,J=3.0Hz,OH),4.62(1H,d,J=3.0Hz,OH),4.49(2H,dd,J=4.5,6.6Hz,OH),4.35(1H,d,J=5.4Hz,OH),3.14~3.61(6H,m,C<sub>1-6</sub>-H)。<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>,75MHz):72.4(C-1),70.1(C-2),83.9(C-3),72.6(C-4),70.9(C-5),72.0(C-6),59.7(OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[8]</sup>报道芹菜素D-3-O-甲基肌醇一致,故该化合物鉴定为D-3-O-甲基肌醇(D-3-O-methylinositol)。

化合物:无色颗粒状结晶(MeOH),mp189~190,ILC紫外灯(254nm)下无荧光,喷5%磷钼酸溶液显兰色,与对照品蔗糖共薄层色谱,Rf值斑点颜色一致,相互混合熔点不下降,故确定该化合物为蔗糖(sucrose)。

## 参 考 文 献

- [1] 宋立人主编.中华本草(4).上海:上海科技出版社,1999:398.
- [2] 田莉,刘圣,陈象清,等.番泻叶泻作用的药理学研究概况.基层中药杂志,2004,14(1):53.
- [3] J. Lemli, S. Topper, J. Cuveele, et al. Naphthalene glycosides in *Cassia senna* and *Cassia angustifolia*. *Planta Med*, 1981, 43(1): 11-17.
- [4] 王艳,陆蕴如.刺蒺藜化学成分的研究.西北药学杂志,1990,5(4):14-17.
- [5] 张嫚丽,李作平,贾湘曼.麻叶荨麻化学成分研究.天然产物研究与开发,2005,17(2):175-176.
- [6] 向兰,郑俊华,果德安,等.窄叶大黄蒽醌类化学成分研究.中草药,2001,32(5):395-397.
- [7] 张海娟,陈业高,黄荣.白花蛇舌草黄酮成分的研究.中药材,2005,28(5):385-387.
- [8] 杨秀伟,蒋玉梅,李君山,等.骆驼刺中一个新的黄酮葡萄糖甙化合物.中草药,1996,27(12):707-711.

(2007-03-29收稿)

## 紫荆花总黄酮的分离纯化与光谱分析

徐美奕<sup>1,2</sup>,韩雅莉<sup>2</sup>,东野广智<sup>1</sup>,张立坚<sup>1</sup>

(1. 广东医学院分析中心,广东湛江 524023; 2. 广东工业大学轻工化工学院,广东广州 510006)

**摘要** 目的:从紫荆花中分离、纯化总黄酮,对其黄酮成分及含量进行光谱分析。方法:以55%乙醇于100℃水浴回流提取紫荆花中的总黄酮,用聚酰胺树脂柱层析进行分离纯化,以芦丁、槲皮素、山柰酚为对照品,在200~600nm波长范围内进行紫外可见吸收光谱扫描及含量测定,用KBr压片法在400~4000cm<sup>-1</sup>范围内进行红外光谱扫描。结果:粗黄酮平均得率为7.32%,纯化后的生药中总黄酮得率为2.20%;紫外可见吸收及红外扫描光谱结果显示,紫荆花总黄酮纯品中含有芦丁、槲皮素、山柰酚3种黄酮甙元,含量分别为0.8271、0.2169、0.3007mg/ml。结论:经聚酰胺树脂柱层析纯化的紫荆花黄酮纯品中的总黄酮甙含量为24.30%。总黄酮含量为0.5346%。

**关键词** 总黄酮;紫荆花;纯化;黄酮成分;光谱分析

中图分类号:R284.2/Q946.91 文献标识码:A 文章编号:1001-4454(2007)10-1252-04

### Separation, Purification and Spectrum Analysis of Total Flavonoids from *Cercis chinensis*

XU Mei-yi<sup>1,2</sup>, HAN Ya-li<sup>2</sup>, DONG YE Guang-zhi<sup>1</sup>, ZHANG Li-jian<sup>1</sup>

(1. Analysis Center, Guangdong Medical College, Zhangjiang 524023, China; 2. Faculty of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

**Abstract** Objective: To separate, purify total flavonoids from *Cercis chinensis* Bge and analyze their flavonoid aglycones and content by spectrum method. Methods: The total flavonoids from *Cercis chinensis* Bge were extracted by 15 volume of 55% ethyl alcohol and hot water reflux at 100℃ and separated, purified by polyamide resin chromatography. Based on reference substances of rutin, quercetin, kaempferol, it was analyzed and detected by UV-V is spectroscopy at 200~600nm and by KBr infrared spectroscopy at 400

基金项目:广东省湛江市科技攻关项目(No 2005042)

作者简介:徐美奕,男,广东湛江人,高级实验师,硕士研究生,从事应用化学研究;E-mail myxugdnc@126.com

~4000 cm<sup>-1</sup>. Results: Average extraction rate of crude total flavonoids was 7.32%, and extraction rate of purified total flavonoids was 2.20%. The results of UV-Vis and IR scanning spectrum showed that purified total flavonoids from *Cercis chinensis* Bge contained of 3 kinds of flavonoid aglycones of rutin, quercetin, kaempferol, and their content was 0.8271, 0.2169, 0.3007mg/ml respectively. Conclusion: Content of total flavonoid aglycones in purified flavonoids of *Cercis chinensis* Bge was 24.30%, and content of total flavonoid was 0.5346%.

**Key words** Total flavonoid; *Cercis chinensis* Bge; Purify; Flavonoid; Spectrum analyze

研究表明,黄酮类化合物具有抗肿瘤、抗突变、抗炎、抗菌、降血脂、镇痛、治疗心血管疾病等广泛生物活性,能有效抑制血小板聚集和防治血栓形成<sup>[1-4]</sup>。紫荆花(*Cercis chinensis* Bge)是豆科紫荆属紫荆的花,具有清热、凉血、祛风解毒的功效,可用于治疗风湿筋骨疼痛,外用治疗鼻中疳疮,民间应用紫荆花治疗血小板减少性紫癜<sup>[5,6]</sup>。紫荆花总黄酮的分离、纯化研究在国内外文献尚未见报道,本研究对紫荆花总黄酮进行分离、纯化,并应用紫外-可见吸收光谱、红外光谱对其黄酮成分进行初步分析,旨在为进一步的开发应用提供实验依据。

## 1 仪器与材料

1.1 仪器 3101PC型 UV-Vis扫描分光光度计(日本岛津公司),175C-3UMA500型傅里叶变换红外光谱仪(美国 Bio-rad公司),R205B型旋转蒸发器(上海申生科技有限公司),SUPERMODULO型冷冻干燥机(英国 EDWARDS公司),FS862A型药物粉碎仪(浙江)。

1.2 试剂 紫荆花采集于广东医学院校园内,采集时间为2006年11~12月,采摘干净的花,摘除花柄,置于阴凉通风处晾干,用不锈钢剪刀将花瓣剪碎,粉碎,密封后置-20℃保存备用;芦丁、槲皮素对照品由 Sigma公司提供,山柰酚对照品由上海友思生物技术有限公司提供;层析用聚酰胺树脂(60~80目)由上海摩速科学器材有限公司提供;其它实验试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

2.1 紫荆花粗黄酮的提取 称取紫荆花花粉10g,加入15倍量体积55%乙醇,于100℃水浴回流2h,纱布过滤,滤渣中再加入55%乙醇150ml于100℃水浴回流2h,重复1次,合并滤液,抽滤。滤液用旋转蒸发器减压浓缩,真空干燥,得到粗黄酮。一共提3次,紫荆花中粗黄酮平均得率为7.32%。

### 2.2 粗黄酮的纯化<sup>[7]</sup>

2.2.1 树脂预处理:用95%乙醇浸泡聚酰胺树脂24h,湿法装柱,用95%乙醇淋洗至洗脱液与蒸馏水混合(1:5)不呈白色混浊,再用蒸馏水洗至无醇味,然后用3倍柱体积0.5mol/L NaOH洗脱,加入蒸馏

水浸泡树脂1h后水洗至中性,用3倍柱体积0.5mol/L HCl洗脱,加入蒸馏水浸泡树脂1h后水洗至中性,备用。

2.2.2 上柱洗脱:将真空干燥的粗黄酮用无水乙醇溶解,取1/3倍树脂体积的样品上柱,分别以3倍量柱体积的蒸馏水、10%乙醇、30%乙醇、70%乙醇进行梯度洗脱。收集各个洗脱部分,浓缩,点样,进行薄层层析,用乙酸丁酯:甲酸:水(14:5:5)展开,以绿原酸作对照。薄层层析结果显示,水、10%乙醇洗脱部分绿原酸斑点清晰,30%乙醇洗脱部分斑点模糊,70%乙醇洗脱部分基本无相应斑点。结果表明,紫荆花总黄酮主要集中在70%的乙醇洗脱部分。

2.2.3 精制黄酮的制备:以70%乙醇洗脱液为黄酮收集液,用水、30%乙醇洗涤,旋转浓缩,真空干燥,即制得黄酮纯品,制得的生药中纯化总黄酮得率为2.20%。

### 2.3 黄酮纯品的紫外-可见光谱分析<sup>[8]</sup>

2.3.1 测定波长的选择:准确称取芦丁、槲皮素、山柰酚对照品各5.0mg,用无水乙醇溶解,分别定容于25ml容量瓶中,摇匀,得3种对照品溶液,浓度均为0.200mg/ml,分别吸取3种对照品溶液1.0ml于25ml容量瓶中,加入5%亚硝酸钠溶液1ml,摇匀,放置6min,加入10%硝酸铝溶液1ml,摇匀,放置6min,加入10%氢氧化钠10ml,加水至刻度,摇匀,放置15min。在200~600nm波长范围内对各显色溶液进行紫外-可见吸收光谱扫描。结果显示,芦丁在393.50nm处、槲皮素在323.00nm、山柰酚在252.50nm处的吸收峰面积最大,分别选择393.50、323.00、252.50nm为芦丁、槲皮素、山柰素、山柰酚的测定波长。

称取适量经柱层析制得的黄酮纯品,用无水乙醇溶解,定容于25ml容量瓶中,摇匀。吸取样品溶液1.0ml于25ml容量瓶中,加入5%亚硝酸钠溶液1ml,摇匀,放置6min,加入10%硝酸铝溶液1ml,摇匀,放置6min,加入10%氢氧化钠10ml,加水至刻度,摇匀,放置15min。在200~600nm波长范围内进行UV-Vis扫描,样品的吸收图谱见图1。

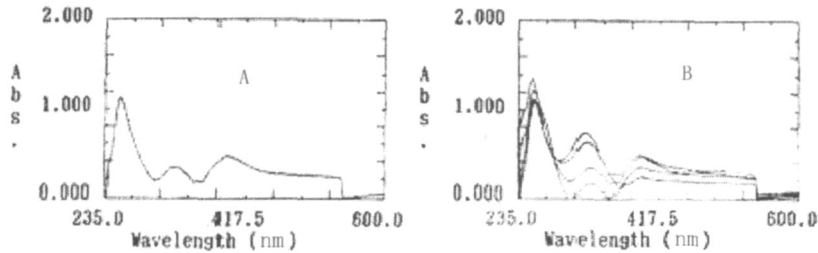


图 1 紫荆花总黄酮的 UV-Vis 吸收图谱

A. 样品的吸收图谱 B. 样品与 3 种对照品的吸收叠加图谱

图 1-A 的结果显示,样品在 393.50、325.00、254.00 nm 处有强吸收峰,图 1-B 为黄酮样品与芦丁、槲皮素、山柰酚的可见紫外吸收叠加图谱,结果显示,样品与三种对照品有明显的重叠性,提示紫荆花总黄酮中含有芦丁、槲皮素、山柰酚三种黄酮甙元。

2.3.2 标准曲线的制备及样品中总黄酮含量的测定:分别准确吸取 3 种对照品溶液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml 置于 25 ml 容量瓶中,按 2.3.1 项进行显色处理,在 2.3.1 项中确定的测定波长处分别测吸光度(A),以吸光度 A 为纵坐标,浓度 C 为横坐标,建立 3 种对照品溶液吸光度 A 浓度 C 回归方程。准确吸取 6 份黄酮样品各 1.0 ml 置于 25 ml 容量瓶中,按 2.3.1 项进行显色处理,在 2.3.1 项中选择的测定波长处分别测吸光度(A),根据 3 种对照品溶液的回归方程,计算样品中 3 种黄酮甙的含量及总黄酮含量。3 种对照品溶液的吸光度 A 浓度 C 回归方程及紫荆花样品中三种黄酮甙含量见表 1。

表 1 对照品溶液的吸光度 A 浓度 C 回归方程及实验结果

对照品	回归方程	r 值	紫荆花样品中的黄酮甙含量 (mg/ml)
芦丁	$A = 11.538C + 0.187$	0.9841	0.8271
槲皮素	$A = 71.347C - 0.1133$	0.9953	0.2169
山柰酚	$A = 192.91C - 0.5348$	0.9928	0.3007

紫荆花中总黄酮甙含量计算<sup>[5]</sup>:总黄酮甙含量 = (芦丁含量 + 槲皮素含量 + 山柰酚含量) × 2.51, 结果紫荆花黄酮纯品中总黄酮甙含量为 24.30%, 紫荆花中总黄酮含量为 0.5346%。

2.4 黄酮样品的红外光谱分析<sup>[9-11]</sup> 取芦丁、槲皮素、山柰酚对照品及冻干紫荆花总黄酮纯品各 2 mg, 加入 200 mg 干燥的 KBr 晶体, 在红外灯照射下于研钵中轻轻研磨至极细, 用压片机压片, 用红外光谱仪于 400 ~ 4000  $\text{cm}^{-1}$  范围内进行中红外区扫描, 结果如下:

芦丁的主要官能团红外吸收峰出现在 3433.49  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{OH}$ )、2938.74  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}$ )、1656.16  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$ )、1606.26  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$ )、1362.4  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{OH}$ )、1297.15  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}-\text{C}$ ), 指纹区在 1204.54  $\text{cm}^{-1}$ 、1170.04  $\text{cm}^{-1}$ 、1089.7  $\text{cm}^{-1}$ 、1065.95  $\text{cm}^{-1}$ 、935.982  $\text{cm}^{-1}$ 、880.486  $\text{cm}^{-1}$ 、808.739  $\text{cm}^{-1}$ 、595.11  $\text{cm}^{-1}$  有吸收峰。

槲皮素的主要官能团红外吸收峰出现在 3410.5  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{OH}$ )、1661.16  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$ )、1612.04  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$ )、1451.18  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{OH}$ )、1382.34  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{OH}$ )、1200.02  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$ ), 指纹区在 1169.58  $\text{cm}^{-1}$ 、1132.36  $\text{cm}^{-1}$ 、1014.97  $\text{cm}^{-1}$ 、940.384  $\text{cm}^{-1}$ 、825.435  $\text{cm}^{-1}$ 、796.188  $\text{cm}^{-1}$ 、722.644  $\text{cm}^{-1}$ 、639.204  $\text{cm}^{-1}$ 、519.013  $\text{cm}^{-1}$ 、472.441  $\text{cm}^{-1}$  有吸收峰。

山柰酚的主要官能团红外吸收峰出现在 3411.19  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{OH}$ )、2815.59  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CH}$ )、1659.15  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$ )、1616.45  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{C}$ )、1571.12  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{V}_{\text{C}=\text{C}}$ )、1380.99  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{V}_{\text{OH}}$ ), 指纹区在 1225.48  $\text{cm}^{-1}$ 、1176.26  $\text{cm}^{-1}$ 、1088.98  $\text{cm}^{-1}$ 、976.674  $\text{cm}^{-1}$ 、884.56  $\text{cm}^{-1}$ 、797.234  $\text{cm}^{-1}$ 、703.226  $\text{cm}^{-1}$ 、566.847  $\text{cm}^{-1}$ 、501.824  $\text{cm}^{-1}$  有吸收峰。

样品的主要官能团红外吸收峰出现在 3401.89  $\text{cm}^{-1}$ 、2926.42  $\text{cm}^{-1}$ 、2856.15  $\text{cm}^{-1}$ 、1727.74  $\text{cm}^{-1}$ 、1654.31  $\text{cm}^{-1}$ 、1608.03  $\text{cm}^{-1}$ 、1446.27  $\text{cm}^{-1}$ 、1363.24  $\text{cm}^{-1}$ 、1283.53  $\text{cm}^{-1}$ 、1206.05  $\text{cm}^{-1}$ , 指纹区在 1176.45  $\text{cm}^{-1}$ 、1119.74  $\text{cm}^{-1}$ 、1071.52  $\text{cm}^{-1}$ 、836.993  $\text{cm}^{-1}$ 、813.827  $\text{cm}^{-1}$ 、521.13  $\text{cm}^{-1}$ 、457.464  $\text{cm}^{-1}$  有吸收峰。结果表明, 紫荆花总黄酮样品中含有芦丁、槲皮素、山柰酚 3 种黄酮甙元。

### 3 讨论

3.1 本研究用 15 倍量体积的 55% 乙醇于 100 水浴回流提取紫荆花中的总黄酮, 用聚酰胺树脂进行柱层析分离, 分别用蒸馏水、10% 乙醇、30% 乙醇、70% 乙醇进行梯度洗脱, 收集 70% 乙醇洗脱部分, 分别用水、30% 乙醇洗涤, 旋转浓缩, 真空干燥, 制得

的生药中纯化总黄酮得率为 2.20%。

3.2 以芦丁、槲皮素、山柰酚作对照品,对紫荆花黄酮样品与对照品的乙醇溶液进行显色处理,于 200~600 nm 波长范围内进行 UV-Vis 扫描,扫描结果显示,紫荆花总黄酮中含有芦丁、槲皮素、山柰酚 3 种黄酮甙元,确定以 393.50、323.00、252.50 nm 分别为芦丁、槲皮素、山柰酚的测定波长,并建立 3 种对照品溶液的吸光度 A 浓度 C 回归方程。结果表明,紫荆花黄酮纯品中的芦丁、槲皮素、山柰酚 3 种黄酮甙含量分别为 0.8271、0.2169、0.3007 mg/ml,总黄酮含量为 24.30%,紫荆花中总黄酮含量为 0.5346%。

3.3 应用 KBr 压片法对芦丁、槲皮素、山柰酚及黄酮纯品于 400~4000 cm<sup>-1</sup> 范围内进行中红外区扫描,通过比较样品与 3 种对照品的主要官能团及指纹区红外吸收峰,结果表明,紫荆花总黄酮中含有芦丁、槲皮素、山柰酚 3 种黄酮甙元,与谭鸣鸿<sup>[12]</sup>的研究结果基本相符。

#### 参 考 文 献

[1] Landolfi R, Mower R L, Steiner M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations. *Biochem Pharmacol*, 2000, 33(9): 1525-1529.

[2] Vermylen J, Badenhorst P N, Deckmyn H, et al. Normal mechanisms of platelet function. *Clin Haematol*, 1993, 12(1): 107-110.

[3] Macfarlane S R, Seatter M, J Kanke T, et al. Proteinase-activated receptors. *Pharmacol Rev*, 2001, 53(2): 245-248.

[4] 曹纬国,刘志勤,邵云,等. 黄酮类化合物药理作用的研究进展. *西北植物学报*, 2003, 23(12): 2241-2247.

[5] 国家药典委员会编. *中华人民共和国药典*. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000: 315.

[6] 李尚德,关雄泰. 紫荆花红色素的提取及性能测试. *化学世界*, 1996, (8): 416.

[7] 杨俊,张晓静,田丽娟,等. 金菊双花总黄酮提取与纯化工艺研究. *中药材*, 2005, 28(8): 703-705.

[8] 中国科学院上海药物研究所编著. *中草药有效成分提取与分析*. 上海: 上海科技出版社, 1983: 24-25.

[9] 谢晶曦,常俊标,王绪明. *红外光谱在有机化学和药物化学中的应用*. 北京: 科学出版社, 2001: 403.

[10] 白小红,李晓妮. *药物结构分析*. 北京: 北京医科大学出版社, 2001: 65-70.

[11] 林中乐,严宝珍,胡高飞,等. 由槐米中提取槲皮素的光谱学表征. *光谱实验室*, 2006, 23(3): 431-434.

[12] 谭鸣鸿,张照荣,秦红岩. 紫荆花的化学成分研究( ). *中草药*, 1990, 21(6): 6-8.

(2007 - 04 - 23 收稿)

## 紫花列当化学成分的研究

赵 军<sup>1,2</sup>, 闫 明<sup>2</sup>, 黄 毅<sup>2</sup>, 贺文义<sup>3</sup>, 赵 昱<sup>1\*</sup>

(1. 浙江大学药学院中药与天然药物研究室, 浙江杭州 310031; 2. 新疆药物研究所新疆维吾尔药研究开发重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830002; 3. 中国医学科学院, 中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

**摘要** 采用硅胶、Sephadex LH-20 等色谱技术分离紫花列当 (*Orobanchae coerulea* Steph) 中的化学成分, 通过波谱分析及理化性质鉴定化合物的结构: 甘露醇 ( ), 谷甾醇 ( ), 琥珀酸 ( ), 咖啡酸 ( ), 原儿茶醛 ( ), 胡萝卜苷 ( )。以上化合物均为首次从该植物中分得。

**关键词** 紫花列当; 化学成分

**中图分类号**: R284.1/R284.2 **文献标识码**: A **文章编号**: 1001-4454(2007)10-1255-03

### Study on Chemical Constituents of *Orobanchae coerulea*

ZHAO Jun<sup>1,2</sup>, YAN Ming<sup>2</sup>, HUANG Yi<sup>2</sup>, HE Wen-yi<sup>3</sup>, ZHAO Yu<sup>1</sup>

(1. Department of Traditional Chinese and Natural Drug Research, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China; 2. Xinjiang Key Laboratory for Research and Development of Uighur Medicines, Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830002, China; 3. Chinese Academy of Medical Science & Peking Union College Medicine, Institute of Material Medica, Beijing 100050, China)

基金项目: 国家中医药科学技术研究基金项目 (2000-JM-02)

作者简介: 赵军, 男, 助理研究员, 博士研究生。

\*通讯作者: 赵昱, 男, 教授, 博士生导师, Tel: 0571-88208449, E-mail: dryuzhao@zju.edu.cn