

高效液相色谱分析青藏高原长梗喉毛花植物中的吡酮

师治贤* 胡风祖 刘梅

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

1 引言

龙胆科 (Gentianaceae) 植物长梗喉毛花 (*Comastoma Pedunculatum* [Rogge ex D. Dou] Holub) 分布在西藏、青海、甘肃和四川北部, 生长在海拔 3000 ~ 4800 m 的河滩和高山草甸等环境中。《晶珠本草》记载: 植物长梗喉毛花比之加滴色淡而软, 叶微黄。藏名“桑斗”, 藏医常用药。全草入药, 性味苦寒, 有利湿祛痰、清热解暑、舒肝利胆等功效。

藏药长梗喉毛花富含吡酮类化合物, 吡酮又称苯并色原酮。自然界得到吡酮是黄色的酚性化合物, 它是有广泛的生理活性, 具有解肝毒、护肝、抗炎、抗病毒和显著抑制黄嘌呤氧化酶等活性, 近年研究发现, 吡酮化合物在血小板凝集和 ATP 释放, 抑制血管紧张素的活性, 降血糖, 抗肿瘤, 增强免疫功能有明显的疗效。

为了深层次的挖掘和研究藏药的独特药效和生理活性物质的分布, 为藏药的现代化提供理论和实践基础。因此, 我们用长梗喉毛花的新鲜植物全草甲醇提取物, 溶剂回收后的浸膏经水液分散, 分步萃取, 在醋酸乙酯和正丁醇萃取的部位, 经聚酰胺柱粗分, 得到的药用有效部位, 用反相高效液相色谱进行了分离和分析, 取得了满意的结果。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂 Toyo Soda HLC-803A 高效液相色谱仪 (东亚曹达公司), 紫外检测, U6k 进样阀, RE-121 旋转蒸发仪 (瑞士公司)。试剂: 甲醇 (色谱纯), 甲醇 (A. R.), 正丁醇 (A. R.) (北京化学试剂厂), 石油醚 (A. R.), 醋酸乙酯 (A. R.), 氯仿 (A. R.) (西安化学试剂厂)。水为去离子水。

2.2 实验材料 实验用植物样系 1992 年 8 月采自青海省共和县黑马河乡青海湖畔亚高山草甸, 海拔 3290 m, 物候期为盛花期。

2.3 吡酮成分的提取 实验用新鲜植物全草, 经干燥粉碎后, 用 6 倍于样品的甲醇浸泡 3 天后, 在 80 °C 水浴加热回流提取 3 h, 同法提取 4 次。合并提取液, 回收溶剂至膏状。然后将膏状经水液分散, 用石油醚除去叶绿素, 分步用氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 其间醋酸乙酯和正丁醇萃取部分基本相同, 回收溶剂, 合并萃取液, 经聚酰胺柱色谱粗分, 在甲醇-水洗脱部分为有效部位, 合并浓缩, 浓缩液用 0.45 μm 滤膜过滤, 保存在冰箱备用。

2.4 色谱条件的选择 吡酮为原色酮, 紫外吸收光谱中最大的吸收峰位一般比原色酮的波长要长, 一般在 230、260、310、380 nm 左右出现最大峰值, 经实验选择提取物的吡酮在 254 nm 基本合适。吡酮在 C₁₈ 化学键的色谱填料柱上, 经过流动相的选择, 以等度洗脱, 流动相为甲醇-水 = 45:55 (V/V), 流速为 1.0 mL/min 分离效果理想。

经实验选择色谱条件: 色谱柱: Nucleosils C18 (3000 × 4 mm); 流动相: 甲醇-水 = 45:55 (V/V); 紫外检测: 254 nm; 流速: 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。

3 结果与讨论

3.1 色谱峰的定性定量 根据有效部位的分离, 提取物中含有 8 个重要组分, 用重要吡酮的标准品在同一色谱条件下, 进行标样加入法和保留值的比较, 初步确定具有重要药用价值的 4 种重要成分。用相对峰面积归一化法计算了它们的含量, 占主要有效成分的 79.8%。这 4 种成分中具有药用价值的重要的吡酮化合物是: 峰 3: 1-σ[-D-吡喃木糖-(1-6)-D-吡喃葡萄糖]-8-羟基-3, 7-二甲氧基吡酮 (1-σ[-D-xylopyranosyl-(1-6)-D-glucopyranosyl]-8-hydroxy-3, 7-dimethoxyxanthone) 占 25.0%; 峰 4: 1-σ- D-吡喃葡萄糖-3, 8-二羟基-7-甲氧基吡酮 (1-σ- D-glucopyranosyl-3, 8-dihydroxy-7-methoxyxanthone) 占 35.9%; 峰 5: 1-σ[-D-吡喃木糖-(1-6)-D-吡喃葡萄糖]-3, 5-二甲氧基吡酮 (1-σ[-D-xylopyranosyl-(1-6)-D-glucopyranosyl]-3, 5-dimethoxyxanthone) 占 0.96%; 峰 6: 1-σ[-D-吡喃木糖-(1-6)-D-吡喃葡萄糖]-3, 7, 8-三甲氧基吡酮 (1-σ[-D-xylopyranosyl-(1-6)-D-glucopyranosyl]-3, 7, 8-trimethoxy xanthone) 占 17.9%。未鉴定的 4 种组分占 21.20%。

3.2 4 种吡酮化合物的分离分析 为了进一步确定这 4 种重要药用吡酮的存在, 根据反相色谱的分析模式, 由于 4 种重要组分的分离度比较大, 因此采用聚酰胺柱色谱进行放大实验, 用 15% ~ 40% 的乙醇分步洗脱, 薄层色谱检查, 相同部分合并, 回收溶剂, 得到 4 种黄色或淡黄色的结晶。经紫外光谱、红外光谱和核磁共振谱鉴定确定 4 种吡酮化合物的存在。因此, 反相高效液相色谱在等度的甲醇-水体系中吡酮类化合物能够得到很好的分离和分析, 可作为进一步纯化和制备天然吡酮的信息。

2001-12-19 收稿; 2002-05-08 接受