

高速逆流色谱分离长瓣金莲花中的黄酮类物质

冯顺卿, 李药兰, 邱玉明, 许少玉, 岑颖洲

(广州暨南大学化学系, 广东 广州 510632)

关键词: 高速逆流色谱, 黄酮类物质, 牡荆甙, 长瓣金莲花

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2003)06-0627-01

长瓣金莲花为毛茛科植物金莲花(*Trollius chinensis* Bunge)的干燥花,具清热解毒之功效,临床观察表明,金莲花水浸膏片对急性阑尾炎、痢疾、上呼吸道感染及绿脓杆菌感染等有较好的疗效^[1]。现代药理研究表明该花的水煎液对多种细菌有明显的抑制作用。其中抑菌有效成分为总黄酮,主要为荜草甙和牡荆甙^[2]。本实验首次尝试用高速逆流色谱(HSCCC)分离长瓣金莲花中的黄酮类物质,并成功地得到一纯化学成分,通过红外光谱确证其为牡荆甙。

1 实验部分

1.1 仪器、材料与试剂

GS10A2型高速逆流色谱仪,包括SI007单缸柱塞泵和8823A紫外检测器(北京市新技术应用研究所);聚四氟乙烯柱,柱内径1.6 mm,柱容积230 mL,转速0~1 000 r/min;聚酰胺粉,200~400目,柱色谱专用;聚酰胺薄膜,200目(浙江台州四青生化材料厂);乙酸乙酯、甲醇、丙酮、氯仿及冰醋酸皆为分析纯(广州化学试剂厂)。长瓣金莲花由中国药材公司提供并鉴定。

1.2 粗总黄酮的提取和两相溶剂的制备

(1)称取15 g粉碎的金莲花,用索氏抽提器抽提,先用乙醚脱脂,再用180 mL 60%(体积分数)乙醇提取3次,每次90 min,所得乙醇抽提液用旋转蒸发器减压浓缩后得膏状物。将膏状物用聚酰胺柱分离,先用水洗至洗脱液无色,再用甲醇洗脱至洗脱液无色。收集甲醇洗脱液,减压浓缩得粗总黄酮作为下一步待用样品^[3]。(2)把溶剂系统按照配比配好,放入分液漏斗中充分振摇后放置过夜,以使两相溶剂互相饱和。在实验前将上下两相溶剂分开,备用。(3)将待分离样品分别溶于所选定溶剂系统等体积的上相和下相。

1.3 HSCCC的分离操作

高流速泵入固定相,待固定相充满整个管路后,停泵,启动工作鼓,把转速调至800 r/min,然后以2.00 mL/min的流速泵入流动相,同时用量筒接收流出的固定相。当出口端开始流出流动相,并在量筒中不断透过固定相液层到达量筒底部时,读取量筒中排出的固定相的体积,用螺旋管柱的总体积(230 mL)减去排出的固定相的体积,再除以230 mL,便得知固定相的保留值。停泵,通过六通阀进样,继续以2.00 mL/min的流速泵入流动相。紫外检测波长254 nm,灵敏度1 A,记录仪量程0~100 mV,记录纸速度6 cm/h。根据出峰顺序用自动收集仪依次收集各组分峰。

2 结果与讨论

2.1 长瓣金莲花总黄酮中牡荆甙的分离

采用乙酸乙酯-甲醇-水(体积比为4:1:5)为溶剂系统,以上相作为固定相,下相作为流动相。每次分离称取总黄酮220 mg左右,分别溶于2 mL的两相溶剂(等体积的上、下相)中,选择HSCCC仪的螺旋管转速为800 r/min,流动相流速为2.00 mL/min,采用连续进样方式进行分离,总黄酮样品的HSCCC色谱图见图1。

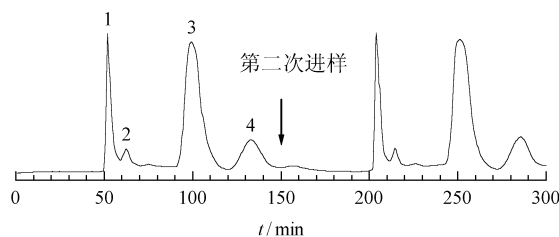


图1 金莲花总黄酮的高速逆流色谱图

2.2 对各组分峰的分析

将所收集的色谱峰分别减压浓缩,然后进行聚酰胺薄膜色谱分离(展距为8 cm),用氯仿-丙酮-甲醇-冰醋酸(体积比为2:1:2:0.05)作为展开剂,用10 g/L AlCl₃的乙醇溶液作为显色剂,在紫外灯下观察。结果如图2所示,峰2和峰4均为单一物质。峰4的R_f值与牡荆甙标准品的R_f值一致,证实是牡荆甙,其红外光谱图与标准品的光谱图基本一致。

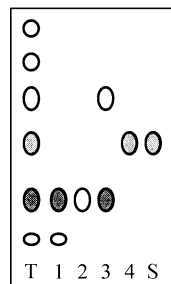


图2 金莲花HSCCC各分离组分的薄层色谱图

1 2 3 4 分别为图1中峰1 2 3 4组分 S为牡荆甙标准品; T为金莲花总黄酮。

参考文献:

- [1] 刘丽娟,王秀坤,付起凤,王丽英,刘晶,李群. 中草药, 1992, 23(9):461
- [2] 苏连杰,刘丽娟,郭桂滨,张平,李艳波. 中医药信息, 1996, 13(2):49
- [3] 叶绍明,李药兰,杨宜婷,岑颖洲. 中国中药杂志, 2002, 27(6):463

收稿日期: 2002-12-26

作者简介: 冯顺卿,女,1978年生,硕士研究生。

通讯联系人: 岑颖洲,男,教授, Tel (020) 85223420, E-mail: cfx@jnu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金(20172020), 广东省自然科学基金(2001Y10010401)和广东省中医药管理局资助课题(100064)。