

川西獐牙菜与抱茎獐牙菜中吡酮的高效液相色谱分析

宋娅莉^{1,2}, 胡凤祖¹, 林鹏程³, 卢永昌³, 师治贤¹

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039;
3. 青海民族学院化学系, 青海 西宁 810007)

摘要 : 采用反相高效液相色谱法同时分离和测定了龙胆科獐牙菜属的川西獐牙菜和抱茎獐牙菜中几种吡酮的含量。色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.60 mm i. d., 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 的磷酸水溶液(体积比为 73: 27), 流速 1 mL/min, 检测波长 260 nm, 柱温 20 °C。实验结果表明, 该方法具有很好的线性关系与精密度, 方法简单、准确、实用性强。

关键词 : 反相高效液相色谱, 吡酮, 川西獐牙菜, 抱茎獐牙菜

中图分类号 : O658 文献标识码 : A 文章编号 : 1000-8713(2004)01-0051-03

Determination of Xanthones in *Swertia mussotii* and *Swertia franchetiana* by High Performance Liquid Chromatography

SONG Yali^{1,2}, HU Fengzu¹, LIN Pengcheng³, LU Yongchang³, SHI Zhixian¹

(1. Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;
2. Graduate School of The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;
3. Department of Chemistry, Qinghai Institute for Nationalities, Xining 810007, China)

Abstract : A simple and rapid method for simultaneous separation and determination of xanthones in *Swertia mussotii* and *Swertia franchetiana* by high performance liquid chromatography has been established. The analysis was performed on a Kromasil C₁₈ column (250 mm × 4.60 mm i. d., 5 μm) (at 20 °C) eluted with methanol and 0.1% aqueous phosphoric acid (73: 27 in volume ratio) as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and with UV detection at 260 nm. Results showed that xanthones were separated successfully from each other and from other interfering components. There was a good linear relationship between the content of component and its peak area for each xanthone, with the correlation coefficients of 0.999 2 – 0.999 9. The convenient method can be used for quantitative analysis of xanthones.

Key words : reversed-phase high performance liquid chromatography; xanthones; *Swertia mussotii*; *Swertia franchetiana*

川西獐牙菜(*Swertia mussotii*)和抱茎獐牙菜(*Swertia franchetiana*)系龙胆科(*Gentianaceae*)獐牙菜属(*Swertia*)植物, 主要产于青海、西藏及四川等地, 是藏族民间常用的单方草药, 俗名“藏茵陈”。具有清热解毒, 利胆退黄之功能, 可治疗肝炎、黄疸型肝炎、肝胆等疾病^[1]。孙洪发、丁经业等^[2-5]对其化学成分作了研究, 从中分离得到多种类型的化合物。我们对用于质量评价的芒果甙、当药黄素、齐墩果酸等的含量已经作了测定^[6]。但作为獐牙菜属植物重要活性成分的吡酮类化合物, 用高效液相色谱法(HPLC)的测定尚未见报道。吡酮又叫苯骞色原酮, 是一种特殊类型的黄酮类化合

物^[7], 在自然界中分布有限, 仅分布于龙胆科、藤黄科、远志科等高等植物及一些低等植物中^[8]。吡酮类化合物具有广泛的生理活性, 是良好的中枢神经抑制剂、心血管兴奋剂, 具有利胆和抑制结核杆菌, 抑制鼠脑腺体单胺氧化酶等作用^[8-11]。对吡酮物质的研究已越来越引起人们的重视, 国外有学者采用薄层色谱^[12]、气相色谱^[13]、高效液相色谱^[14]等方法对吡酮及其衍生物鉴别进行过研究。近年来, 国内学者也采用各种方法致力于吡酮类物质的分析, 薄涛等^[15-18]对蝉翼藤(*Securidaca inappendiculata*)进行了系统的研究并采用高效毛细管电泳对其吡酮进行了测定, 李丽等^[19]采用高效液相色谱法

分析了黄花倒水莲(*Polygala fallax*)中的两种吡酮。为了深入研究和开发獐牙菜中的吡酮类化合物,本研究采用反相高效液相色谱法分离测定了川西獐牙菜和抱茎獐牙菜中 6 种吡酮的含量。该方法准确、快速,具有很高的实用价值。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,配备二极管阵列检测器、色谱工作站。HS3120 超声波清洗器。

甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为去离子水。1,3,5,8-四羟基吡酮(代号 S_1)、1-羟基-3,7,8-三甲氧基吡酮(代号 S_2)、1,5,8-三羟基-3-甲氧基吡酮(代号 S_3)、1-羟基-3,5-二甲氧基吡酮(代号 S_4)、1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡酮(代号 S_5)、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡酮(代号 S_6) 6 种标准对照品均由原本所植化室丁经业副研究员实验室制备,纯度均在 96% 以上。

1.2 色谱条件

色谱柱:Kromasil C_{18} 柱(250 mm × 4.60 mm

i. d., 5 μm) ;流动相:甲醇-体积分数为 0.1% 的磷酸水溶液(体积比为 73: 27);检测波长 260 nm ;流速:1 mL/min ;柱温 20 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 样品溶液的制备

准确称取干燥粉碎的植物样品 1.00 g,加甲醇 40 mL,超声提取 40 min,过滤,滤液定容至 50 mL,过 0.45 μm 滤膜,即为样品溶液。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的确定

自然界得到的吡酮是一类黄酮酚性化合物,其紫外光谱表明在 230,260,310,380 nm 左右有吸收峰^[7]。经实验选择检测波长为 260 nm。

2.2 标准曲线的绘制和精密度试验

依据待测样品含量范围,分别配制含有不同质量浓度的 6 种吡酮对照品溶液进行测定。以相应组分的色谱峰面积(Y)对其含量($X, \mu\text{g}$)绘制标准曲线。将一种混合标准品溶液进样 10 μL ,连续进样 5 次,测定各峰面积,计算各吡酮标准品的测定精密度。结果如表 1 所示。

表 1 线性关系和精密度($n = 5$)
Table 1 Linearity and precision ($n = 5$)

| Component [*] | Linear range/ μg | Linear equation | Correlation coefficient | RSD/% |
|------------------------|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|-------|
| S_1 | 0.002 - 0.600 | $Y = 35.10 + 11356.16X$ | 0.999 2 | 1.15 |
| S_2 | 0.002 - 0.600 | $Y = -10.43 + 12013.01X$ | 0.999 8 | 1.21 |
| S_3 | 0.002 - 0.600 | $Y = 41.25 + 7961.54X$ | 0.999 9 | 1.78 |
| S_4 | 0.003 - 0.700 | $Y = 32.86 + 4521.77X$ | 0.999 9 | 1.96 |
| S_5 | 0.003 - 0.576 | $Y = 35.89 + 74968.05X$ | 0.999 8 | 2.03 |
| S_6 | 0.003 - 0.504 | $Y = -13.82 + 8184.73X$ | 0.999 9 | 2.11 |

* S_1 : 1,3,5,8-(OH)₄ xanthone; S_2 : 1-OH-3,7,8-(OCH₃)₃ xanthone; S_3 : 1,5,8-(OH)₃-3-OCH₃ xanthone; S_4 : 1-OH-3,5-(OCH₃)₂ xanthone; S_5 : 1,8-(OH)₂-3,7-(OCH₃)₂ xanthone; S_6 : 1,8-(OH)₂-3,5-(OCH₃)₂ xanthone.

2.3 方法的回收率

采用标准加入法,在所选择的样品中加入混合对照品储备液 2 mL,按“1.3”节方法制备样品溶液。进样 10 μL ,测定各成分的回收率分别为 S_1 97.3%, S_2 98.2%, S_3 97.8%, S_4 99.1%, S_5 96.6%, S_6

97.3% ($n = 3$)。

2.4 样品含量的测定

选择不同产地的川西獐牙菜和抱茎獐牙菜共 5 个样品,对其中的吡酮进行分析,结果见表 2,对照品与样品色谱图如图 1 所示。

表 2 样品测定结果
Table 2 Determination results of samples

| Species | Habitat | S_1 | S_2 | S_3 | S_4 | S_5 | S_6 |
|-----------------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <i>Swertia mussotii</i> | Qinghai Yushu | - | 0.68 | - | 0.72 | 0.82 | 0.06 |
| | Sichuan Abazhou | - | 1.09 | - | 0.02 | 0.40 | 0.04 |
| | Sichuan Ganzizhou | - | 1.14 | - | 0.03 | 0.28 | 0.03 |
| <i>Swertia franchetiana</i> | Qinghai Xining | - | 0.06 | 0.48 | 0.74 | 0.44 | 0.08 |
| | Qinghai Bayilinchang | - | 0.01 | 0.40 | 1.07 | 0.53 | 0.09 |

- not detected.

川西獐牙菜和抱茎獐牙菜样品色谱图中 S_1 峰附近都有许多小峰,但由色谱峰在线光谱图比较,均为别类物质;川西獐牙菜中也不含有 S_3 。从分析结果也可看出,川西獐牙菜和抱茎獐牙菜受生态环境,

诸如海拔、土壤、环境和地域的影响比较大,由此而产生的吡酮含量的地域性差异比较显著,四川地区生长的川西獐牙菜中 S_2 的含量高于青海地区生长的川西獐牙菜,而 S_4 的含量又明显低于青海地区。

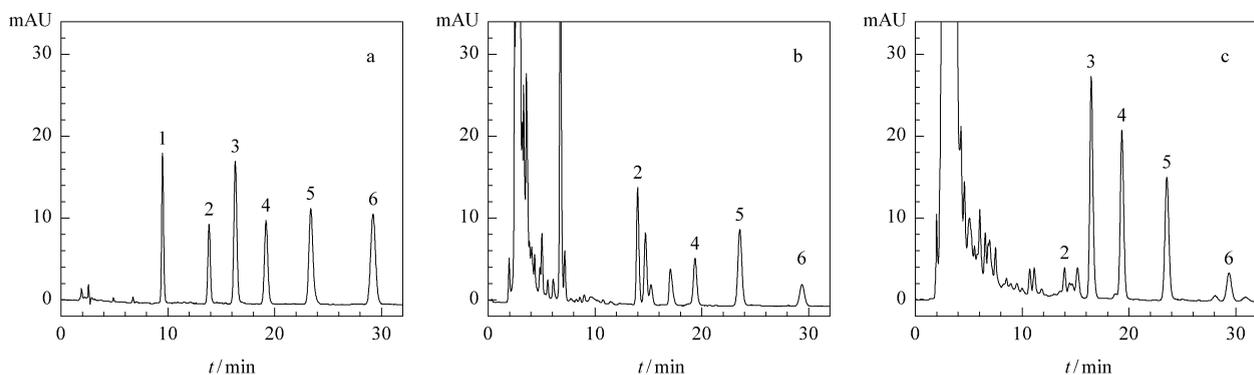


图 1 6 种吡酮对照液 (a)、川西獐牙菜 (b) 和抱茎獐牙菜 (c) 的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of the mixture of controls (a), *Swertia mussotii* (b) and *Swertia franchetiana* (c)

Peaks: 1. 1,3,5,8-(OH)₄ xanthone; 2. 1-OH-3,7,8-(OCH₃)₃ xanthone; 3. 1,5,8-(OH)₃-3-OCH₃ xanthone; 4. 1-OH-3,5-(OCH₃)₂ xanthone; 5. 1,8-(OH)₂-3,7-(OCH₃)₂ xanthone; 6. 1,8-(OH)₂-3,5-(OCH₃)₂ xanthone.

参考文献:

- [1] Yang Yongchang, He Tingnong, Lu Shenglian, Huang Rongfu, Wang Zuxiang. Tibetan Medicines. Xining: Qinghai People's Press (杨永昌, 何廷农, 卢生莲, 黄荣福, 王祖祥. 藏药志. 西宁: 青海人民出版社, 1991. 111)
- [2] Sun Hongfa, Ding Jingye. Acta Botanica Sinica (孙洪发, 丁经业. 植物学报), 1981, 23(6): 464
- [3] Sun Hongfa, Hu Bolin, Ding Jingye, Fan Shufen. Acta Botanica Sinica (孙洪发, 胡伯林, 丁经业, 樊淑芬. 植物学报), 1991, 33(1): 31
- [4] Ding Jingye, Fan Shufen, Hu bolin, Sun Hongfa. Acta Biologica Plateau Sinica (丁经业, 樊淑芬, 胡伯林, 孙洪发. 高原生物学集刊), 1982, 1: 267
- [5] Wang Jiannong, Hou Cuiying. Chinese Traditional and Herbal Drugs (王建农, 侯翠英. 中草药), 1994, 25(8): 401
- [6] Hu Fengzu, Song Yali, Liu Mei, Shi Zhixian. Chinese Journal of Chromatography (胡凤祖, 宋娅莉, 刘梅, 师治贤. 色谱), 2003, 21(1): 63
- [7] Wang Yang, Wang Shisheng, Zhou Danhong. Natural Product Research and Development (王杨, 王世盛, 周丹红. 天然产物研究与开发), 2002, 14(5): 85
- [8] Peres V, Nagem T J, de Oliverira F F. Phytochemistry, 2000, 55: 683
- [9] Ignatushchenko M V, Winter R W, Bachinger H P, Hinrichs D J, David J H, Riscoe M K. FEBS Letters, 1997, 409: 67
- [10] Ohishi N, Suzuki T, Ogasawara T, Yagi K. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2000, 10: 291
- [11] Pedro M, Cerqueira F, Sousa M E, Nascimento M, Pinto M. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2002, 10: 3725
- [12] Saleh N A M. J Chromatogr, 1974, 92: 467
- [13] Jefferson A, Stacey C I, Scheinmann F. J Chromatogr A, 1971, 57: 247
- [14] Tomás R, Valery M D. J Chromatogr A, 2003, 995: 109
- [15] Bo Tao, Yang Xuedong, Gao Fei, Li Kean, Liu Huwei, Xiu Lizhen. Chinese Chemical Letters, 2002, 13(3): 269
- [16] Bo Tao, Yang Xuedong, Liu Feng, Li Kean, Xiu Lizhen, Liu Huwei. Analytica Chimica Acta, 2002, 474: 37
- [17] Bo Tao, Gong Suxuan, Yang Xuedong, Li Wei, Li Kean, Liu Huwei. Chinese Journal of Chromatography (薄涛, 贡素萱, 杨学东, 李薇, 李克安, 刘虎威. 色谱), 2003, 21(5): 439
- [18] Bo Tao, Yang Xuedong, Gong Suxuan, Li Kean, Liu Huwei. Chinese Journal of Chromatography (薄涛, 杨学东, 贡素萱, 李克安, 刘虎威. 色谱), 2003, 21(6): 535
- [19] Li Li, Zhu Danni, Yan Yongqing. Journal of China Pharmaceutical University (李丽, 朱丹妮, 严永清. 中国药科大学学报), 2002, 33(1): 42

关于举办“2004 年首届华东色谱学术报告会”的通知

江苏省分析测试协会色谱专业委员会将于 2004 年 8 月中旬在南京市举办首届华东 7 省市(山东、安徽、江苏、江西、浙江、福建、上海)色谱学术报告会和色谱技术培训班。届时将邀请张玉奎院士等色谱界科学家作学术报告及色谱专家授课,并邀请国内外厂商参展色谱类仪器。欢迎广大色谱工作者和国内外厂商踊跃参加。正式通知将于 2004 年 3 月发出,相关事宜可查询江苏省分析测试协会秘书处。

电话/传真 (025)85485860 ;E-mail jsyiqi@jspc.org.cn ;网址 http://www.21etcnet.com