

# 高速逆流色谱分离青叶胆中的生物碱<sup>\*</sup>



字 敏, 袁黎明, 刘 频, 艾 萍, 陈业高

(云南师范大学 化学化工学院, 云南 昆明 650092)

ZI M

摘 要: 以氯仿甲醇 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液(pH 值 4.8) 32:51 为溶剂系统, 上相为固定相, 下相为流动相, 从红河青叶胆生物碱中分得 5 个成分, 其中 3 个成分与碘化铋钾试剂反应显桔红色, 还用硅胶薄层板验证了分离效果, 并用光谱法证实了其中一个生物碱为龙胆碱, 含量 30%。

关键词: 生物碱; 青叶胆; 高速逆流色谱

中图分类号: O657.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2002)01-0074-03

高速逆流色谱(high speed countercurrent chromatography, 简称 HSCCC), 具有两大突出优点: (1) 线圈中固定相不需要载体, 因而清除了气液色谱中由于使用载体而带来的吸附现象; (2) 特别适用于制备性的分离, 每次进样体积较大, 进样量也较多。

云南獐牙菜又称青叶胆(*Swertia yunnanensis*), 为龙胆科獐牙菜属植物, 产地红河。该属植物资源丰富, 药用价值较高, 所以在研究与应用方面都占有很重要的地位<sup>[1,2]</sup>。民间用于治疗急性病毒性肝炎、温热黄疸、食欲不振、尿路感染、带状疱疹等。龙胆宁碱(gentianine)、次龙胆碱(gentianadine)、龙胆黄碱(gentiofavinine)是青叶胆中的有效成分, 具有抗炎、解毒、降压以及调节中枢神经等作用<sup>[2]</sup>。字敏等从青叶胆中提取 酮苷和内酯类化合物<sup>[3]</sup>。本研究采用高速逆流色谱对红河青叶胆中总生物碱进行分离, 一次进样 20 mg, 得到了 3 种生物碱。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

GSIOAZ 型高速逆流色谱仪; NS-1007PUMP 单活塞往复恒流泵; 8823A-UV 紫外检测器(均为北京新技术研究所研制)。所用样品青叶胆采自云南省红河洲。层析用硅胶、硅胶 G 均系青岛海洋化工厂出品。

### 1.2 样品预处理

取青叶胆全草粗粉 1 kg, 用 95% 的乙醇冷浸 48 h, 减压回收乙醇, 得黄褐色浸膏。加 2% 的盐酸到上述浸膏中, 充分搅拌后放入冰箱中放置过夜。随后常压过滤。用氯仿萃取稀酸溶液, 弃掉氯仿层。再用氨水溶液调节 pH 值 9.6, 再用氯仿萃取此水溶液, 弃掉水层, 蒸发溶剂, 得黄褐色固体, 即青叶胆总生物碱<sup>[4]</sup>。

### 1.3 HSCCC 溶剂系统及分离操作

溶剂系统为氯仿甲醇 $\text{NaH}_2\text{PO}_3$ 缓冲液(32:51), 上相为固定相, 下相为移动相。每次取总生物碱 20

\* 收稿日期: 2001-06-14

基金项目: 云南省教委基金资助项目(9842062)

作者简介: 字敏(1963-), 女(白族), 云南昆明人, 副教授, 硕士生, 从事天然产物化学研究。

mg, 溶于 2 mL 的溶剂系统(上相下相各 1 mL), 用注射器一次进样, 流动相流速 2.00 mL/min, 仪器转速 800 r/min, 检测器波长 254 nm, 记录仪灵敏度范围 1 A(吸光度), 量程 50 mV, 纸速 4 mm/min<sup>[5]</sup>。

## 2 结果与讨论

本方法的最大优点是每次进样量大, 但分离的关键是溶剂系统的选择和优化, 而且溶剂系统在静止时要求能明显地分成两相, 样品在两相中要有合适的分配系数, 并且固定相能实现较高的保留。为了达到很好的分离效果, 作者用硅胶薄层色谱将各种溶剂系统对青叶胆中生物碱的影响进行了初选, 根据薄层层析的分离结果, 再用高速逆流色谱进一步对初选的溶剂系统进行测试, 最后得到满意的溶剂系统氯仿-甲醇- $\text{NaH}_2\text{PO}_3$ 缓冲液(32:51)。

用注射器一次进样 20 mg, 开始流出移动相, 接着在色谱图上出现了分离较好的 5 个峰(图 1)所示。按照图示在每个色谱峰的最大值处收集一定量的分离物。将所收集的各个组分在硅胶薄层板上点样, 用溶剂系统展开, 以碘化铋钾显色。结果各组分在硅胶板上皆显一个单色谱点, 而且均显橘红色。

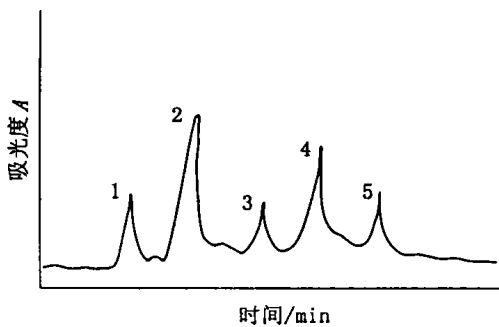


图 1 pH 值 4.8 时 HSCCC 谱图

Fig. 1 HSCCC chromatogram at pH value 4.8

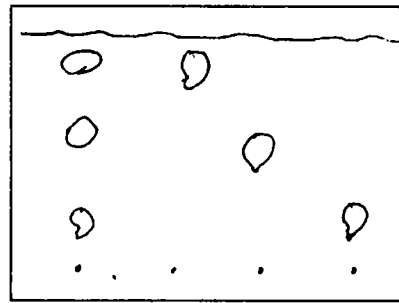


图 2 生物碱的 TLC 谱图

Fig. 2 TLC chromatograms of alkaloid

最后将收集到的峰 2 进行光谱分析, 结果如下: 红外光谱,  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 1727, 1628, 1590, 1564; 1478, 1125, 1045。质谱  $m/e$ : 175 ( $\text{M}^+$ ), 147, 130, 117, 103, 90, 76, 63, 50, 39(基峰)。由此可以证实该碱为龙胆碱, 分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$ , 分子质量为 175。

HSCCC 是一种较新的分离技术, 它对天然产物的有效分离和制备具有很大的优势, 特别是对进样量较大的样品具有独特的优点。从红河青叶胆的总生物碱中分得 5 个成分, 其中 3 个成分与碘化铋钾试剂反应显桔红色, 还用硅胶薄层板验证了分离效果, 并用光谱法证实了其中一个生物碱为龙胆碱, 含量 30%。

随着分离技术的不断完善, 高速逆流色谱将成为分离领域中的一种新颖有效的手段<sup>[6]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 宋万志. 中国龙胆科药用植物概况[J]. 中药通报, 1986, 11(11): 3.
- [2] PURUSOTAM B S, et al. Bellidifolin: a potent hypoglycemic agent in sereptozotocin (STZ) included diabetic rats from *Sweretia japonica*[J]. Planta Med, 1994, 60: 507.
- [3] 字 敏, 罗 钊, 辛晓燕, 等. 獐牙菜属药用植物化学成分研究[J]. 林产化学与工业, 2000, 20(3): 85-87.
- [4] 何仁远, 聂瑞麟. 青叶胆植物中苦味甙的研究[J]. 云南植物研究, 1980, 2(4): 480.
- [5] SANDLIN J, BOWERS G. High-speed preparative countercurrent chromatography with a coil plant centrifuge[J]. J Chromatogr, 1984, 7(4): 244.
- [6] 袁黎明, 傅若农, 张天佑. 高速逆流色谱分离苦参中的生物碱[J]. 北京理工大学学报, 1997, 17(2): 244.

# SEPARATION OF ALKALOIDS FROM *SWERTIA YUNNANENSIS* BY HIGH-SPEED COUNTERCURRENT CHROMATOGRAPHY

ZI Min, YUAN Li-ming, LIU Pin, AI Ping, CHEN Ye-gao

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China)

**Abstract:** Alkaloids from *Swertia yunnanensis* were isolated successfully by high speed countercurrent chromatography with the two phase solvent system  $\text{CHCl}_3\text{CH}_3\text{OHNaH}_2\text{PO}_4$  (pH 4, 8) 32, 5l to obtain 5 components, in which 3 components exhibited orange-red color with bismuth potassium iodide reagent. Results were verified by TLC and five components were isolated pure. One was characterized as gentianine(30%) by spectroscopic analysis.

**Key words:** alkaloid; *Swertia yunnanensis*; high-speed countercurrent chromatography

## 《天然产物研究与开发》征稿、征订启事

《天然产物研究与开发》由中国科学院成都分院、中国科学院成都文献情报中心与中国科学院成都地奥制药公司、国家天然药物工程技术中心合办。刊号: CN 51-1335/Q; ISSN 1001-6880。学科横跨生物、化学、生物化学和药学。内容既有基础理论,又包括应用技术。该刊从1989年创办以来,已先后被美国化学文摘(CA)、中国生物学文摘、中国药化学文摘、中国化学化工数据库、中国农林数据库等收录。据《美国化学文摘(CA)资料来源索引》统计,《CA》收录的14 000多种期刊、专利、会议录、学位论文中,1992年中国科技期刊仅有45种入选“CA千名表”,该刊居中国期刊第29名。

1. 该刊欢迎有关天然产物研究与开发的各方面稿件,包括植物(重点是天然药物)、动物、微生物、生物高分子等天然产物的资源、鉴定、提取、分析、改性、合成、仿生和利用方面的研究论文、实验报告、综述或报道、开发动向等。

2. 来稿要求内容充实、论据可靠、论点明确、文字精炼,每篇文章不超过5 000字,论文应附中、英文文摘与关键词,英文要求打字。

3. 文中插图应用硫酸描图纸描绘,描绘一定要用墨汁,图中文字须打印、植字,并附上准确的底图,附表应尽量精简、清晰。

4. 所附参考文献须注明作者、出处、年份和卷期号,外文部分要求打字。

5. 来稿文责自负,该刊有权作文字删改,如不愿删改者请事先申明。

6. 该刊将在接到来稿半年内通知作者是否采用,未用稿件一律负责退还。

7. 该刊按中国科学院有关文件酌情收取发表费并支付稿酬。

8. 来稿请寄四川省成都市人民南路4段9号中国科学院成都文献情报中心《天然产物研究与开发》编辑部,邮编: 610041。

9. 该刊通过邮局发行,邮发代号: 62-107,双月刊,每期96页,每本定价10.00元,全年60.00元(含邮费),欢迎补订。订费可通过邮局直接汇至该刊编辑部,或通过银行信汇至中国科学院成都文献情报中心。开户行:成都市交行磨支科分处;帐号:0149002028。

## 《新世纪最有开发价值的树种》出版

国家林业局泡桐研究开发中心暨中国林业科学研究院经济林研究开发中心侯元凯博士等主编、中国工程院副院长沈国舫院士作序的《新世纪最有开发价值的树种》一书已由中国环境科学出版社出版。

该书作者通过对树木市场多年的调查和对林业高新技术前沿的把握,精选了新世纪初最具有开发价值的速生丰产和珍费用材林、名特优新经济林和园林绿化树种,其中绝大多数是新近培育的树木品种、引进树种和珍稀树种,均具有独特的特性和市场开发价值,每个树种均扼要介绍了品种来源、特征特性、栽培要点、适生范围、开发价值等。内容丰富,取材新颖,技术先进,使用价值较高,尤其对希望进行农业产业结构调整的基层政府,希望从事林业产业开发的企业、农民、林业技术推广人员可以作为一部新颖、时效性强的生产中急需的参考书,也可供林业院校师生参考。全书20万字,大32开本,定价25元(每本需另付邮资2元)。有意购买者,请速从邮局汇款。

汇款地址:邮编100083,北京林业大学148信箱。收款人:李明志。

注:请将汇款人地址、姓名填写详细、清楚,编辑部将据此寄书;另请注明“购书名称及数量”,如“购树种书××本”)