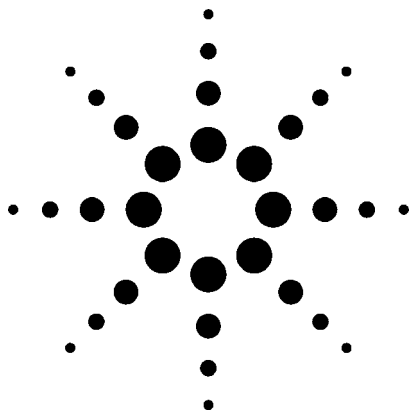


药用植物提取物——红景天的反相LC分离



应用

药物分析

作者

William Long and Ronald Majors
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

摘要

用新型反相色谱柱Agilent TC-C18分离中药红景天的主要成分。本文报导了这项技术。

前言

红景天(*Rhodiola rosea* L.)是生长在西伯利亚、西藏,以及阿拉斯加和欧洲北部的一种植物。这种植物高75英寸,有芳香的黄色花朵。几百年来,俄罗斯和中国都将这种植物的根广泛用作滋补品、抗抑郁药、调理剂和抗炎药物。在美国,从蔷薇根景天的根中提取草药。这种复杂的天然产物中包含了许多化学物质。这种草药的主要化学成分是cinnamyl glycosides(图1)。通常认为提取物的效用取决于红景天甙和Rosavin的量,但其它成分也有独特的性质,也许更有潜在生物活性。因此,要有一种能测定各种糖甙的分析技术,特别是测定日常用药中的各种糖甙。

对红景天曾经做过深入的研究,特别是前苏联[1, 2]。这些研究已经测定出了5个主要成分,如图1所示。第一篇HPLC同时测定这5种标志化合物的应用报导采用的是反相技术[3]。由于这种植物提取物中含有大量的丹宁酸,它会吸附在常用色谱的支持剂上,所以,要在色谱分析前将丹宁酸除去,或者在色谱分离后从柱子中洗去。到目前为止,还没有一项样品前处理技术能成功地去掉丹宁酸而不损失某些感兴趣的化合物[3]。

这篇应用报告的目的就是介绍一种新的反相色谱柱,它非常适用于复杂天然产物提取物的分离。在这一研究中,我们还将对某些市售提取物产品中的组分进行鉴定。

样品制备

我们的样品制备方法基本采用了Ganzer等[3]的报导,在此基础上稍微进行了改进。分析了两种样品:粉末提取物和根,均来自洛杉矶Novel Ingredient Services。红景天提取物的粉末浓度相当高,因此取1/2克研细的样品,与5 mL甲醇充分混合,超声10分钟。提取物离心去除固体物质。虽然其他人采用膜过滤的方法[3],但由于膜上可能丢失样品,所以不用这种方法。



Agilent Technologies

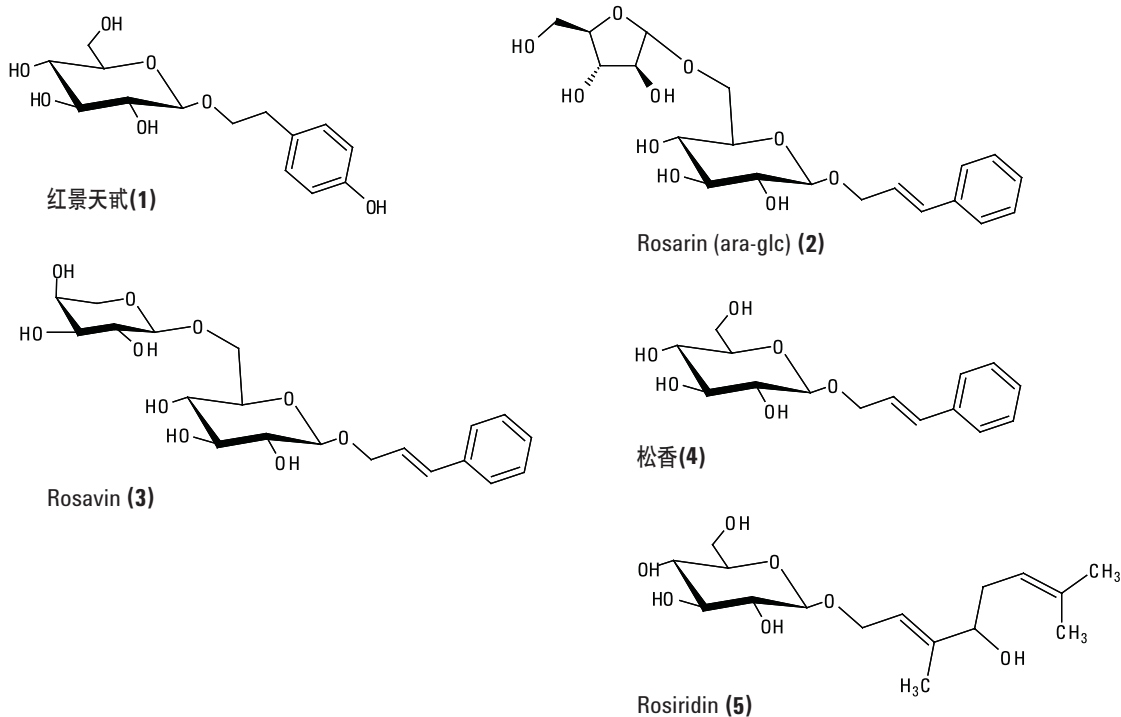


图1. 红景天主要化学成分的结构

将根切成片，用乳钵彻底研成细粉。干燥的根容易研磨。取1克粉末，用甲醇(3 mL)提取3次。合并提取液，离心去除固体物质。上清液移至10 mL容量瓶中，用甲醇稀释至刻度。

色谱条件

HPLC系统: 安捷伦系列1100, 配备DAD检测器

色谱柱: Agilent TC-C18, 4.6 mm×150 mm, 5 μm

流动相: 溶剂A: 25-mM KH₂PO₄, pH 3.0

溶剂B: 乙腈

溶剂C: 甲醇, 含0.1%磷酸

梯度洗脱程序:	时间 (分钟)	%A	%B	%C
	0	95	5	0
	30	80	20	0
	31	0	0	100
	36	0	0	100
	37	95	5	0
	47	95	5	0

流速: 1 mL/min

检测器: UV, DAD 205和254 nm

温度: 60 °C

进样: 10 μL

结果和讨论

制备了两种不同的红景天粉末样品。色谱图2a和2b是根提取物在两个不同波长下的梯度洗脱结果。上图(图2a)是254 nm的色谱图，下图(图2b)是205 nm的色谱图。

对许多天然产物来说，难以获得图1中所示的组分的对照品，所以，我们采用了其它方法对色谱图中的主要峰进行鉴别。由于这两个色谱图与Ganzera 等[3]的结果非常接近，而他们分离了对照物质，并获得了每个峰的UV光谱图，由此推出峰的归属见图1。从更早一些对红景天粉末的研究报导[4]中，我们得到了红景天甙的质谱图，可以断定这个粉末提取物中存在这一成分，见图2b中的峰1。红景天甙和rosiridin在254 nm都没有UV吸收，所以，为了检测它们，我们选用了较低的波长。

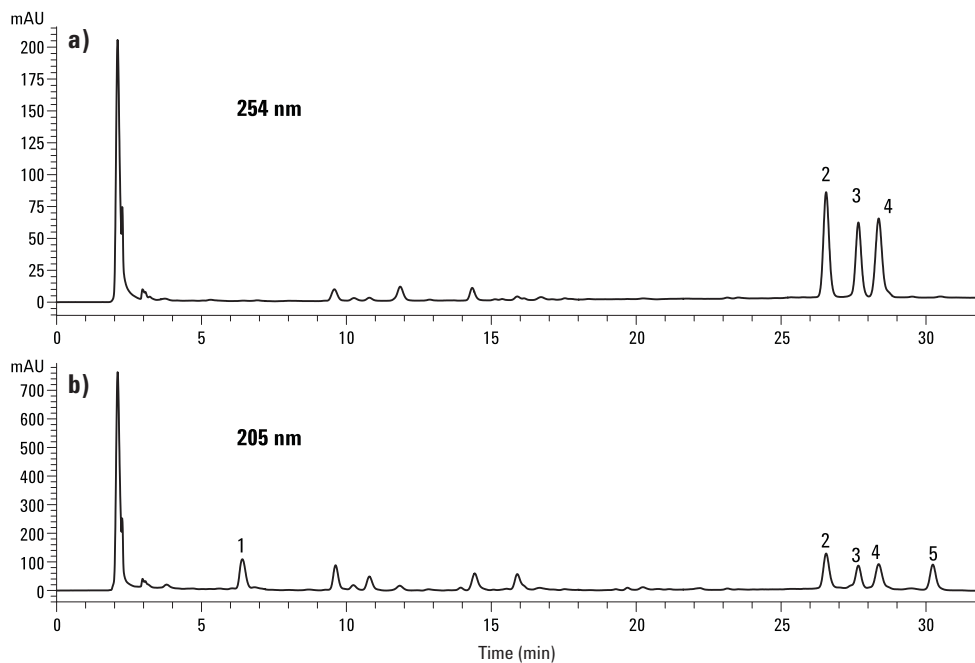


图2. 根提取物的色谱图(各峰号见图1)

粉末提取物的色谱图见图3a和3b。

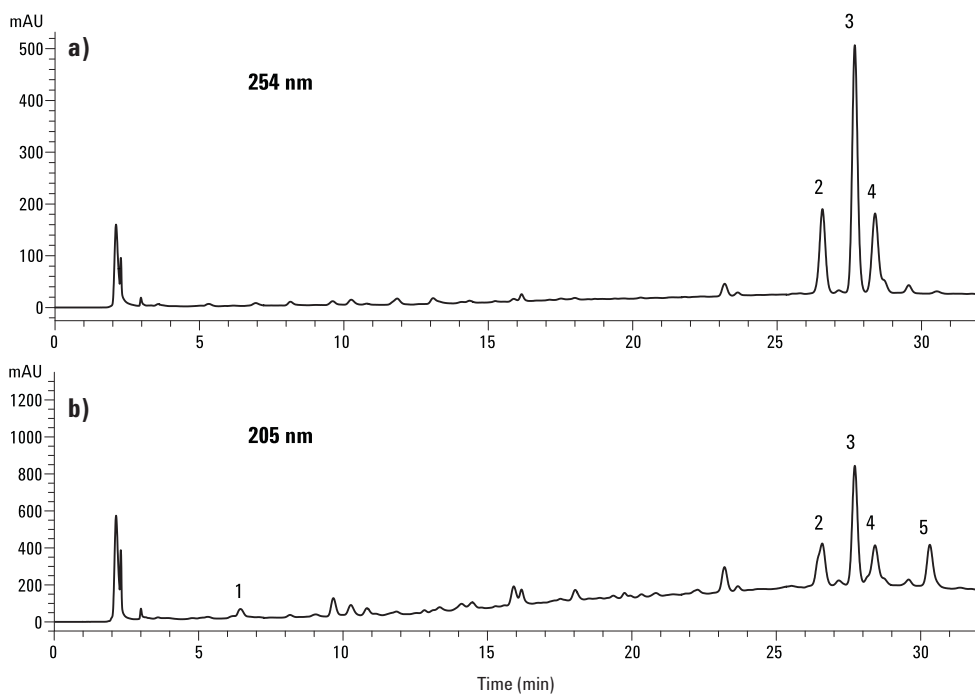


图3. 粉末提取物的色谱图(各峰号见图1)

从图3中可以看到，和根提取物相比，在254 nm和205 nm波长下出现了大量具有UV吸收的化合物。可以认为这是由于粉末提取物比根的提取物更浓缩。请注意粉末(图3b)中红景天甙(峰1)的相对含量比根(图

2b)低。这可以表明生产者采用了特殊的提取条件。粉末中Rosavin(图3a中的峰3)比根提取物(图2a中的峰3)的含量高。

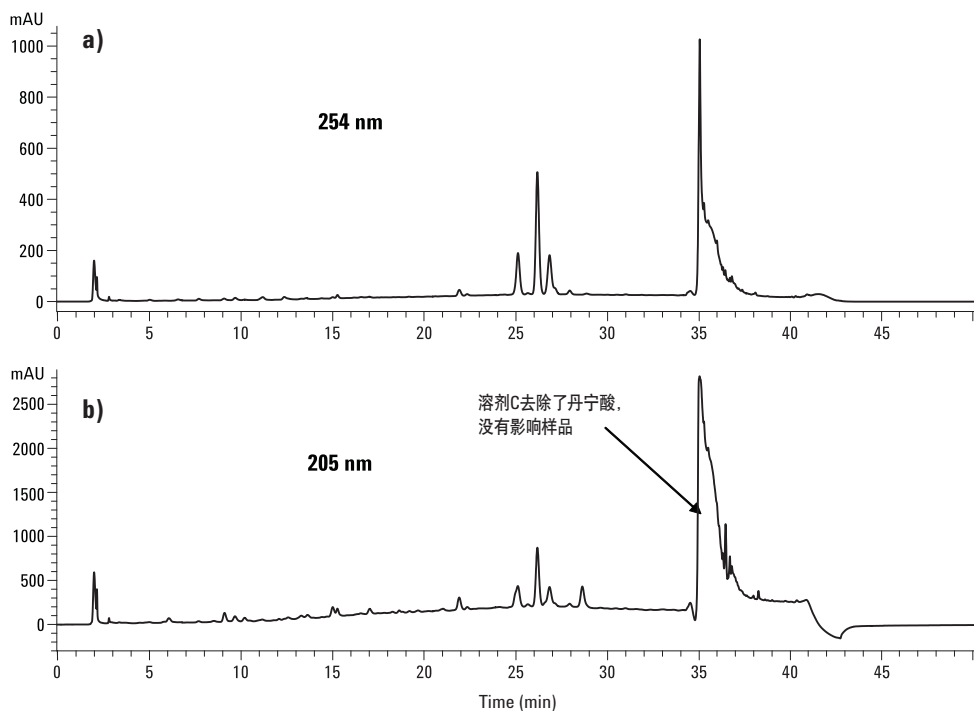


图4. 根样品提取物的全梯度色谱图

请注意，在所用的梯度方法中，梯度结束时有一个清洗步骤，是用0.1%磷酸甲醇洗脱，这对方法的长期使用非常必要。从图4的整个分析过程中可以看到，在这一洗脱过程中，大量有UV吸收的组分被洗脱下来。如果不这么做，在以后的梯度洗脱中基线将会漂移，最终导致检测困难，也会产生色谱柱压力上升等问题。可以肯定，这些化合物是根提取物中的丹宁酸[3]。

结论

用新的反相柱Agilent TC-C18对中药红景天中的主要成分进行了分离。用低UV检测，可以清楚地看到粉末提取物和根样品中的主要组分。为了防止柱压升高和基线漂移，需要进行一个色谱柱清洗步骤，去除丹宁酸。

参考文献

1. M. Furmanowa, E. Skopinska-Rozewska, E. Rogala and M. Hartwich, (1998) *Acta Soc. Bot. Pol.* **67**, 69–73.
2. A. A. Kuryanov, L. T. Bondarenko, V. A. Kurkin, G. G. Zapesochay, A. A. Dubichev, and E. D. Vorontsov, (1991) *Chem-Nat-Compd.* **27** (3), 276–279.

3. M. Ganzera, Y. Yayla, and K. A. Khan, (2001) *Chem.Pharm.Bull.* **49** (4), 465–467.
4. R. E. Majors, C. Woodward, and Q. Wang, “HPLC Preparative Scaleup for Complex Mixtures Products Using Small Particle Sorbents”, Abstract Number 9600-200, Pittcon 2004, Chicago, IL, March 9, 2004.

如需了解更多信息

如需了解有关我们产品和服务的更多信息，请访问我们的网站www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦对本资料中出现的错误，以及由于提供或使用本资料所造成的有关损失不承担责任。

本资料中所涉及的信息、说明，如有更改，恕不另行通告。

© 安捷伦科技公司，2005

中国印刷
2005年10月11日
5989-4096CHCN

