

RP-HPLC与离心分配色谱技术在木脂素研究中的应用进展

杨毅,武同兴,潘鑫复*

(兰州大学化学化工学院 应用有机国家重点实验室,甘肃 兰州 730000)

木脂素(lignans)是由 C₆C₃单元氧化聚合而成的一类天然产物,目前已有 200多种化合物,具有广泛的生理活性:抗癌、抗病毒、抑制生物体内的酶活力、保肝、降低应激反应和中枢神经系统的作用等。在近年来的研究工作中,各种分离新技术的采用有力地推动了木脂素化学的发展。其中表现最为突出的是 HPLC 与离心分配色谱(CPC)的广泛采用。本文就 HPLC 与 CPC 在其分离过程中的应用综述如下:

1 HPLC技术

反相色谱在现代液相色谱中应用广泛,自 70年代以来,每年约有四分之三用反相色谱柱分离。其中有 95%使用的是 C₁₈反相硅胶,它对于非极性与极性较弱的化合物比较方便。实际应用时一般先利用分析型 HPLC 来进行洗脱剂条件的选择,然后将其转化为制备型分离的洗脱剂条件。对木脂素的分析型

HPLC分离的研究目前进行的较多^[1-6],制备型的探索则相对较少。

化合物 1和 2(图 1),分自川党参的根部,采用 TSKgel ODS-120T制备型 HPLC,先以甲醇-水作为流动相,以 0.000 6%产率分得化合物 1,接着以 0.03%三氟醋酸和 43%甲醇作为流动相以 0.000 5%产率分得化合物 2 其中的三氟醋酸用三菱化成业株式会社的 Diaion HP-20柱以水作为流动相除去^[7]。

芝麻素苷 3~ 5(图 1)的分离,依次采用 Develosil ODS-10, Develosil ODS-5色谱柱(甲醇-水作为流动相),Develosil SI-60-5色谱柱(正己烷-乙酸乙酯作为流动相),分离效果非常好^[8]。

2 CPC技术

HPLC并不能解决所有的分离问题,而 CPC对此是一个

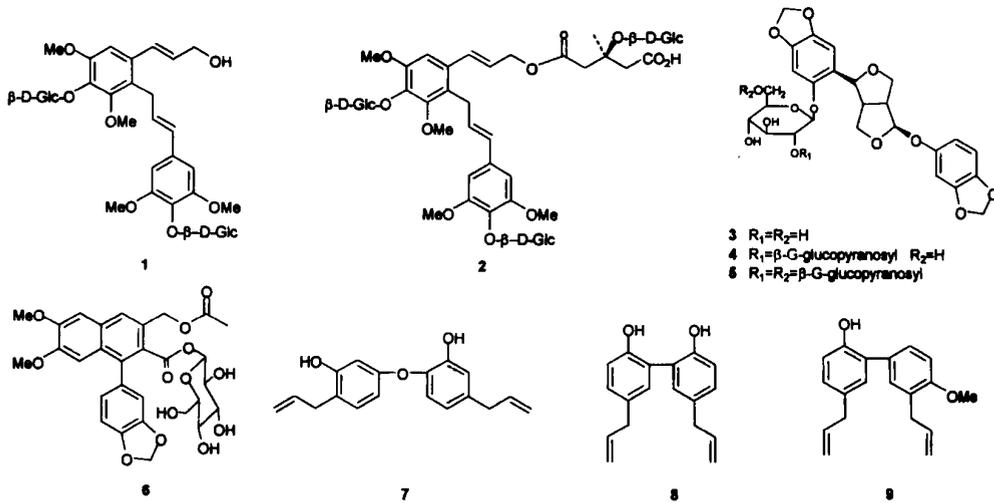


图 1 应用实例分离的化合物结构式

很好的补充。为了提高分离效率,近年来对固定相上保持流动相的稳定流速,增加两相的接触面,两相混合时被分物质转移分配的最佳途径以及如何减少流动引起样品带的扩散等问题进行了研究,并于 60年代后期相继出现了各种形式的逆流层析色谱(countercurrent chromatography),其原理一种是流体静力学平衡系统(HSES),另一种是流体动力学平衡系统(HDES)。试验表明流体动力学平衡系统的分离效果优于流体静力学平衡系统。

从蒺藜科(Zygophyllaceae)植物三齿拉里亚 *Larrea tridentate* 中分出的主要木脂素成分 mal. 4(又称作 malachi 4: 5-6)具有显著抗艾滋病病毒作用,它的分离采用早期的正交轴螺

旋管行星式离心分离仪(Cross-axis CPC)与多层逆流色谱(MLCCC)相结合,采用含水溶剂系统己烷-乙酸乙酯-甲醇-0.5% NaCl(6: 4: 5: 5),并加入少量氯化钠以防止乳化^[9]。

叶下珠斯泰汀 A(phyllanthostatin A)(化合物 6,图 1)是一种植物体内含量较少的木脂素苷,它的分离采用正己烷-二氯甲烷-甲醇-水(2: 5: 4: 2)作为溶剂体系,有机相作为移动相。经过 CPC富集后,需要再过一次反向液相色谱柱,然后可得纯品^[10]。

新木脂素(7~ 9,见图 1)分自木兰科植物弗吉尼亚木兰 *Magnolia virginiana* 中,它能杀灭虫媒病毒病如登革热(dengue fever),黄热病(yellow fever)的媒介埃及伊蚊,而且

* 收稿日期: 2001-09-17
 基金项目: 国家自然科学基金资助(20172023)
 * 通讯作者

具有杀菌和抗真菌效果 具体分离过程如下:植物的己烷粗提物采用 CPC比采用普通柱色谱或快速色谱法分离都更为经济有效 溶剂系统采用己烷-乙腈-乙酸乙酯-水(8:7:5:1),以其中的下层作为流动相进行分离获得了良好的效果^[1]

3 小结

CPC技术目前的应用还不如 HPLC技术的应用广泛,但它具有其它色谱技术所没有的独特选择性,往往能在其它色谱方法不能奏效时获得很好的分离效果,现已成功应用于多种分子的分离

综上所述,随着现代科学技术的不断发展,色谱技术也不断进步,使得复杂的分离工作得到简化的同时,也必将推动木脂素化学的深入发展。

参考文献:

- [1] Ma C H, Luo S R. Studies on separation and determination of the lignans in *Diphylleia sinensis* LI by RP-HPLC [J]. Chin Chem Lett, 1992, 3(9): 719-720.
- [2] 李慧义,罗淑荣. RP-HPLC法测定莠子中木脂素的含量 [J]. 药学学报, 1995, 30(1): 41-45.
- [3] 马辰,罗淑荣,何秀峰. 反向高效液相色谱法测荷叶中木脂素含量 [J]. 色谱, 1993, 11(6): 356-357.
- [4] Fujimoto T, Nose M, Takeda T, et al. Quantitative analy-

sis of lignan components in chinese crude drugs [J]. Shoyakugaku Zasshi, 1993, 47(2): 218-221.

- [5] Bastos J K, Burandt C L J, Nanayakkara, et al. Quantitation of aryl tetralin lignans in plant parts and among different populations of *Podophyllum peltatum* by reverted-phase high-performance liquid chromatography [J]. J Nat Prod, 1996, 59(4): 406-408.
- [6] 司徒冰. 异型南五味子木脂素的 HPLC法测定 [J]. 中草药, 1996, 27(8): 465-466.
- [7] Yuda M, Ohtani K, Mizutani K, et al. Neolignan glycosides from roots of *Codonopsis tangshen* [J]. Phytochemistry, 1990, 29(6): 1989.
- [8] Katsuzaki H, Kawakishi S, Osawa T. Sesaminol glucosides in sesame seeds [J]. Phytochemistry, 1994, 35: 773.
- [9] Gnabre J N, Ito Y, Ma Y, et al. Isolation of anti-HIV-1 lignans from *Larrea tridentate* by countercurrent chromatography [J]. J Chromatogr A, 1996, 719: 353.
- [10] Pettit G R, Schaufelberger D E. Isolation and Structure of the cytostatic lignan Glycoside phyllanthostatin A [J]. J Nat Prod, 1988, 51(6): 1104.
- [11] Nitao J K, Nair M G, Thorogood D L, et al. Bioactive neolignans from the leaves of *Magnolia virginiana* [J]. Phytochemistry, 1991, 30: 2193.

国外对法菲西研究进展

卞庆亚,罗崇念,马小军

(中国医学科学院药用植物研究所 生物技术研究室,北京 100094)

法菲西,俗称巴西人参(Suma),为苋科(Amaranthaceae)植物巴西人参 *Pfaffia paniculata* 的根,主要分布在南美洲巴西等国家热带雨林地区,于 1826 年被植物学家首次记载 当地居民和草药学家使用法菲西这种植物已经有 300 多年的历史,最主要的用途是作为滋补剂 催欲药及降血糖药使用 今天,法菲西的应用范围已越来越广泛,如在厄瓜多尔法菲西被用来治疗诸如心血管系统 中枢神经系统 生殖系统 消化系统 激素平衡紊乱 性机能障碍 不育症 动脉硬化 糖尿病 关节炎和支气管炎等多个系统疾病的治疗;在欧洲,人们使用法菲西来恢复神经和腺体的功能,调节内分泌,增强免疫系统的功能,并用于治疗不育症,停经或月经不调等症状,及用于减少节育药物的副作用,而且,还可用于高胆固醇血症和解毒 现代实验科学的研究结果为法菲西的民间应用提供了实验依据 本文将对法菲西的主要实验研究结果作一综述。

1 化学成分

日本学者对法菲西的化学成分做过较多研究^[1-4] 法菲西含有 19 种氨基酸,大量电解质,维生素 A_B B₆ E K,泛酸和微量矿物质包括铁 镁 钴 硅 锌,及高含量的锗 在法菲西中含有超过其干重 1% 的皂苷成分。这其中包括法菲西酸

(paffic acid) 及其苷类(如法菲西苷 paffosides A-F),三萜类(nortriperene)及其苷类,脱皮甾醇类激素(如蜕皮甾酮 ecdysterone)、蕨甾酮(pterosterone)、足甾酮(podocdysonone)、豆甾醇(stigmasterol)、谷甾醇(sitosterol)及其苷类等。

2 药理作用

2.1 抗肿瘤作用: Watanabe 等报道^[5],皮下或腹腔注射法菲西提取物后能明显抑制 S₁₈或艾氏腹水瘤等荷瘤小鼠中癌细胞的生长,并且认为,法菲西对癌细胞的抑制活性可能是通过其刺激增强机体的网织内皮系统的吞噬功能,增强自然杀伤细胞和细胞毒性 T 淋巴细胞的功能而发挥作用的。

Takashi 等报道^[6],4 周龄的雌性 AKR/J 小鼠口服给予法菲西粉,每周 3 次共 8 周,结果发现,与对照组相比给药小鼠的胸腺瘤增长明显受到抑制($P < 0.01$) 在第一次给药后,内源性小鼠重组白血病病毒(MuLV)的增殖也明显受到抑制($P < 0.05$) 实验还发现,从 28 周龄接受口服给药的实验小鼠的胸腺中,提取无细胞的胸腺提取物再注入正常的 3 周龄的雌性 AKR/J 小鼠的胸腺中,这些小鼠因发生胸腺瘤而死亡的进程明显延迟,表明法菲西对雌性 AKR/J 小鼠因 MuLV 病毒而引