

凹叶景天的生理活性成分研究

乔剑峰,胡伟,李祖光,胡宝祥,王瑾

(浙江工业大学 化学工程与材料学院,浙江 杭州 310014)

摘要:采用自建保肝药物筛选新模型对中草药凹叶景天的生理活性部位进行跟踪测试,并对其生理活性成分进行了分离、鉴定。

关键词:凹叶景天;保肝;生理活性成分

中图分类号:O658

文献标识号:A

文章编号:1671-8798(2003)S0-0026-03

凹叶景天为景天属植物凹叶景天(*Stedum Emarginatum Migo*)的全草,性味性平,味微酸。主治肝炎,疱毒,痢疾,痈疖,吐血,衄血,血崩,跌打损伤等症;具清热解毒,止血利湿之功效^[1]。江南民间用其治疗肝炎效果显著,但是其化学成分的研究在国内外尚未见文献报道。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器:GC3800 / MS Saturn 2000 气相色谱 - 质谱联用仪,配有液体化学源(色谱级乙腈为化学电离反应试剂)(美国 Varian 公司);红外分光光度计(美国尼高力公司);紫外分光光度计(美国 Varian 公司);高效液相色谱(美国 Varian 公司);气相色谱仪(温岭福立仪器厂);

药材:凹叶景天采自杭州天目山,经浙江中医学院资源鉴定科陈锡林教授鉴定;试剂:四氯化碳,氯仿,乙酸乙酯,正丁醇,乙醇(以上试剂均为分析纯),以及联苯双酯(购之药店)。

1.2 生理活性部位的测试方法

在参考活体小白鼠实验模型,细胞器实验模型和酶解游离肝细胞法^[2]的基础上,自建了生理活性部位的测试方法模型。

(1)试验环境条件:室温 不透光 密封(模拟人体内部环境)。

(2)实验过程:取相同小瓶若干分别加等量试验药物,有效药物对照组加联苯双酯,空白对比组加等量溶剂;在各组中加等量致伤剂四氯化碳;从猪肝内部取一小块新鲜部位,把其切成若干相等薄片,分别加入到各组;取出肝切片居中切成对半,比较肝切片损伤程度。

(3)实验结果分类: VG(very good) G(good) M(medium) B(bad) VB(very bad)

1.3 活性成分提取分离

按文献[3]用预实验试剂对中草药凹叶景天进行系统有效成分预实验,以生理活性成分的提取分离及生理活性部位的跟踪测定指导,结合有效成分预实验及 HPLC 结果,经过对 3 种不同的分离提取系统的比较,对提取物经多次分离条件优化选择,选出了较优的分离提取系统(图 1),对每一步的分离部位进行活性跟

收稿日期: 2003-09-10

作者简介: 乔剑峰(1978-),男,在读硕士研究生,浙江工业大学医药科技协会副会长。李祖光(1971-),男,江西上饶人,副教授,博士,主要从事分析化学的教学和科研工作,已发表学术论文 40 余篇(其中 SCI 或 EI 收录 10 篇)。

踪,最后再对活性部位进行柱色谱分离。

2 结果与分析

2.1 系统有效成分预实验

根据文献方法对中草药凹叶景天进行系统有效成分预实验,结果见表 1。

由表 1 可知,酸化碘化铋钾显黄色加酸有沉淀说明有生物碱存在,斐林试剂变黄色加热有沉淀说明有糖类或甙存在,用热乙醇有肉色沉淀说明有蛋白质,酸化三氯化铁显棕褐色说明有酚类物质,2-4-二硝基苯肼显黄色及氯仿浓硫酸下层变色说明可能有皂甙。

表 1 有效成分预实验表

加入试剂	结果或现象	加入试剂	结果或现象
酸化碘化铋钾	黄,加酸有沉淀	2-4-二硝基苯肼	黄色
斐林试剂	变黄色加热有沉淀	铁氰化钾	茶黄色
浓硫酸	浅黄色	氯仿浓硫酸	下层变色
酸化三氯化铁	棕褐色	氢氧化钾	浅黄色
醋酐浓硫酸	黄色		

2.2 提取的活性部位

经过对 3 种不同的分离提取系统的比较,对提取物经多次分离条件优化选择,选出了较优的分离提取系统,按优化的 60% 的乙醇分离提取系统(见图 1),对每一步的分离部位进行活性跟踪。不同提取部位的活性比较见表 2。

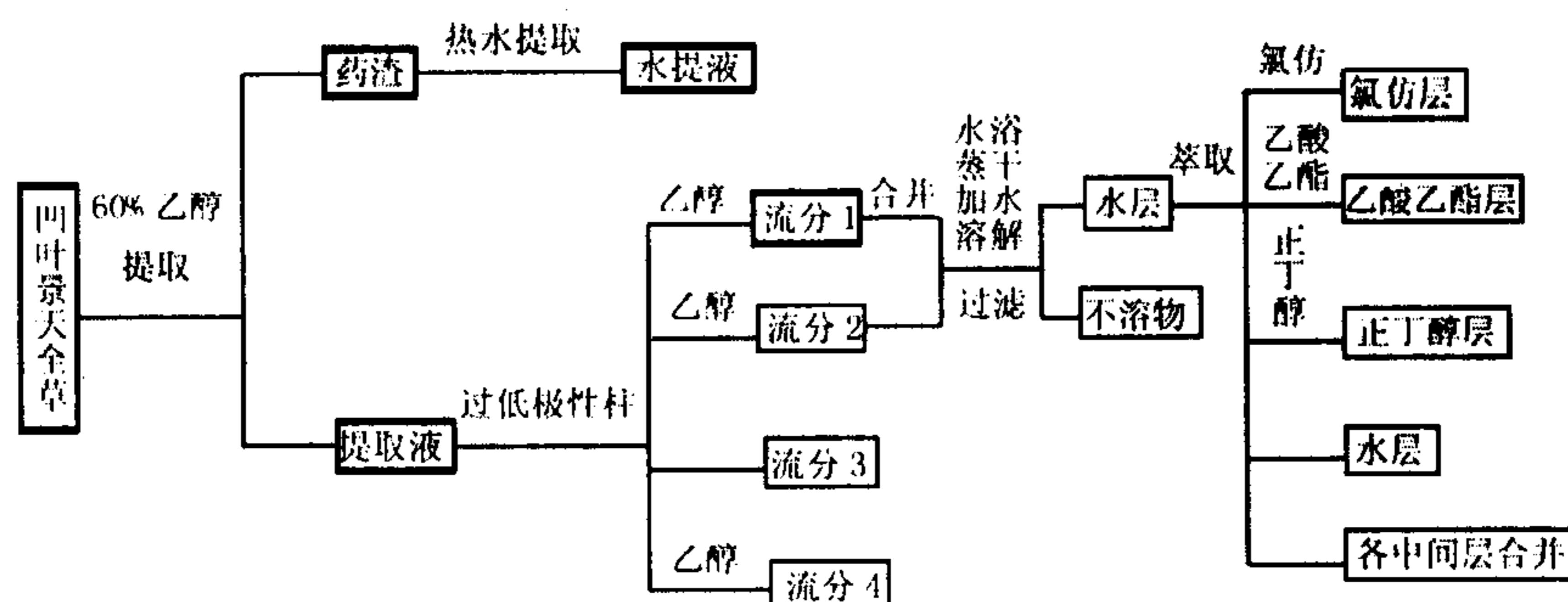


图 1 活性部位的提取分离流程图

表 2 提取的生理活性部位跟踪测试表

提取部位	肝切片形态	提取部位	肝切片形态
水提取液	G	氯仿层	M
60% 乙醇提取液	VG	乙酸乙酯层	M
流分 1	VG	正丁醇层	G
流分 2	VG	水层	VG
流分 3	G	各中间层混合	VG
流分 4	M	不溶物	M
联苯双酯组	VG	空白对照组	B

由表 2 可知,60% 乙醇提取了大部分有效成分,60% 乙醇提取液过弱极性柱后流分 1 和流分 2 都显示了很强的活性,把这两部分合并,HPLC 表明此部分包含不同极性的化合物,所以依次用不同极性的溶剂萃取。水层和各中间层混合都显示出很强的活性,由于各中间层混合量很少,故暂不对其进行分离,仅对水层中的

生理活性成分作进一步分离。

2.3 活性部位有效成分预实验

预实验试剂对的活性部位的有效成分预实验结果见表 3。

表 3 预实验试剂对分离系统 C 的活性部位的有效成分预实验表

加入试剂	结果或现象	加入试剂	结果或现象
斐林试剂	无变化,酸化加热有铜色沉淀	明胶	无反应
浓硫酸	浅黄色	冷乙醇	变浑浊,并有不溶部分
三氯化铁 - 铁氰化钾	墨绿色	热乙醇	有不溶
酸化三氯化铁	浅黄绿色	冷水	溶

由表 3 可知,由于加入斐林试剂沸水浴无变化,所以无还原糖苷;酸化加热有沉淀说明有甙类存在。结合系统预实验和提取分离路线,确定活性成分为甙类化合物。

2.4 生理活性部位的分离

生理活性部位的成分分离采用柱色谱分离,用高效液相色谱(HPLC)检测分离成分的纯度。提取的活性部位经旋转蒸发仪浓缩后析出大量晶体,加乙醇,滤取不溶的方状晶体 I ($mp > 300^\circ\text{C}$, 紫外 $\lambda = 254 \text{ nm}$ 基本无吸收)。乙醇溶部分过弱极性柱后,乙醇洗脱部分再过聚酰胺柱,梯度洗脱,在水洗部分得晶体 II ($mp > 300^\circ\text{C}$, 紫外 $\lambda = 254 \text{ nm}$ 基本无吸收),在乙醇洗脱部分得膏状物 3。

2.5 分离成分的波谱鉴定

用气相色谱 - 质谱仪和红外分光光度计对分离成分进行了波谱鉴定,晶体 I, 晶体 II 经红外测定,计算机标准谱库检索,均鉴定为无机硝酸盐。膏状物 3 经质谱,红外测定,质谱 NIST 标准谱库及红外标准谱库检索结合人工检索^[4,5],初步鉴定为氨基糖苷类抗生素新霉素。

3 小 结

本研究用活性筛选模型优化了分离提取系统,确定了生理活性部位,并确定生理活性成分为甙类,还用聚酰胺柱分离得到一个氨基糖苷类化合物。我们认为,凹叶景天中大量的无机硝酸盐成分可能是该植物具有罕见的生命力(放置一个月还有生命)的一个原因;而该中草药对疱毒,痢疾,痈疖等证有效可能与其中存在氨基糖苷类抗生素有关。

参考文献:

- [1] 浙江民间中草药[M]. 杭州:浙江出版社,1982.
- [2] 吕圭源,王涛. 中药新产品开发学[M]. 北京:人民卫生出版社,1997.
- [3] 中草药有效成分提取与分离[M]. 上海:上海科学技术出版社,1983.
- [4] 陈允魁. 红外吸收光谱法及其应用[M]. 上海:上海交通大学出版社,1993.
- [5] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京:科学出版社,1987.

Research of active component in stedum emarginatum migo

QIAO Jian-feng, HU Wei, LI Zu-guang, HU Bao-xiang, WANG Jin

(College of Chemical and Materials Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: Physiological activity part of stedum emarginatum migo is detected by newly model to find medicament that is protective to liver, and its component is isolated and identified.

Key words: protective to liver; stedum emarginatum migo; physiological activity component