

水飞蓟全草不同部位的组成特征

王 芸, AZEEM Intisar, BOIMA KIAZOLU J, 刘海燕, 张维冰*

(华东理工大学化学与分子工程学院, 上海 200237)

摘要 :为了考察水飞蓟全草不同部位的组成特征,采用不同的提取溶剂对水飞蓟的幼草、根、茎、叶、花、种子等不同部位提取后,通过高效液相色谱法(HPLC)进行分析。以Hypersil ODS2色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)为分离柱,以50 mmol/L磷酸二氢钾溶液和甲醇为流动相,梯度洗脱,检测波长为254 nm。在此条件下,水飞蓟不同部位的样品得到了很好的分离,发现不同部位组成差别很大,得到的组分数从幼草、种子、花、叶、根、茎依次减少。水飞蓟不同部位所含的组分极性有很大差别,不同提取方法得到的样品组成也有较大差别。实验结果可为水飞蓟全草的指纹图谱构建及应用开发提供实验依据。

关键词 :高效液相色谱;组分;水飞蓟;中草药

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2010)12-1192-04

Structural features in composition of different parts of *Silybum marianum* (L.) Gaertn

WANG Yun, AZEEM Intisar, BOIMA KIAZOLU J, LIU Haiyan, ZHANG Weibing*

(School of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract :To investigate the characters of different parts of *Silybum marianum* (L.) Gaertn, a high performance liquid chromatographic (HPLC) method was used to analyze the extracts of different parts (including tender sprouts, roots, stems, leaves, flowers, seeds, etc.) of *Silybum marianum* (L.) Gaertn with different solvents. There was much difference in the composition of different parts of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. The sequence of the total number of components existed is as follows :tender sprouts, seeds, flowers, leaves, roots, stems. The obvious differences of polar components were observed not only in the nature of the compounds extracted by different solvents. The experiments will provide results for the development of fingerprint and application of *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

Key words :high performance liquid chromatography (HPLC); composition ;*Silybum marianum* (L.) Gaertn ; Chinese herbal medicine

水飞蓟(*Silybum marianum* (L.) Gaertn), 别名乳蓟、奶蓟,为菊科水飞蓟属一二年生草本植物。水飞蓟原产于南欧和北非。我国于1972年引种紫花水飞蓟,现已在陕西、黑龙江、辽宁、新疆和山西等地推广种植。水飞蓟全草可用于治疗肿瘤及丹毒,种子及提取物对于肝脾疾病有良好疗效,可以降低异常升高的转氨酶^[1,2]。研究表明水飞蓟全草含有黄酮类化合物及延胡索酸^[3];种子含有以水飞蓟素为主的黄酮类化合物^[4]和以亚油酸为主的水飞蓟油^[5]。现代药理学研究也证实水飞蓟种子中的

水飞蓟素是其生物活性的主要有效成分^[6],具有清除自由基^[7]、抗脂质过氧化、保护肝细胞膜、促进肝细胞修复再生^[8]、抗肝纤维化^[9]、抗肿瘤、降血脂、预防糖尿病等功能^[10]。

药用水飞蓟素大多采用有机溶剂萃取或加热回流的提取方法得到,在水飞蓟素的提取方法中乙酸乙酯提取法和醇提法^[11]最为常用。史劲松等^[12]采用乙酸乙酯-超声辅助浸提法提取水飞蓟种皮中的水飞蓟素,可以在较短的时间达到超过70%的提取率。以往报道大多集中在对水飞蓟种子的研究上,

* 通讯联系人:张维冰,博士,教授。E-mail:lyj310@163.com, weibingzhang@ecust.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 20675083)和国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(No. 01CB5m202).

收稿日期:2010-09-09

而对其他部位的研究相对较少。由于欧洲民间有食用去刺后的水飞蓟叶和用水飞蓟花作为药用的传统,因此提示水飞蓟不同部位可能具有不同的功效。本文采用不同极性的溶剂对水飞蓟的不同部位进行提取之后进行高效液相色谱(HPLC)分析,系统地探讨水飞蓟不同部位的组成特征,为水飞蓟生药资源的开发提供一定参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1201 梯度高效液相色谱系统,包括 P1201 高压恒流泵、UV1201 紫外-可见波长检测器、7725i 手动进样阀、ZW II 柱温箱和 EC2006 工作站(大连依利特分析仪器有限公司);实验用水由超纯水仪(德国 Sartorius 公司)制备;用于 HPLC 分析的甲醇为色谱纯,其余药品均为分析纯。

水飞蓟全草和种子购于陕西西安中药材市场,经鉴定为菊科植物水飞蓟的全草和瘦果。水飞蓟幼草由加拿大友人提供。

1.2 样品溶液的制备

对水飞蓟幼草、根、茎、叶、花和种子分别采用热回流法进行提取。

将上述不同部位的样品粉碎后,在 40 °C 条件下干燥至恒重。精确称取样品粉末 1.000 g,加入提取溶剂 100 mL,水浴加热回流 4 h,提取溶剂分别为 75% (体积分数,下同) 甲醇溶液、乙醇、乙酸乙酯和纯水,所对应的提取温度分别为 80、78、75、100 °C。重复提取两次,并将提取液合并。抽滤,滤液经减压蒸馏后定容到 10 mL,待测液采用孔径为 0.45 μm 微膜过滤后备用。

1.3 色谱条件

色谱柱:Hypersil ODS2 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。流动相:A 为 50 mmol/L 磷酸二氢钾溶液,B 为甲醇。梯度洗脱程序:0 ~ 5 min, 0% B; 5 ~ 80 min, 0 ~ 45% B; 80 ~ 120 min, 45% B ~ 100% B。流速:1.0 mL/min。检测波长:254 nm。柱温 25 °C。进样量 50 μL。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

近年来 HPLC 法已广泛用于中药组分的研究中^[13-15]。本文以水飞蓟幼草提取物为样品,对流动相组成与洗脱程序进行考察。水飞蓟幼草提取物的成分复杂,使用等度条件洗脱仅能得到少数严重重叠的色谱峰,因此需采用梯度程序洗脱。考察流动

相体系分别为甲醇-水、甲醇-0.1% 乙酸、甲醇-50 mmol/L 磷酸二氢钾溶液时,以及 pH 为 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 时样品的分离效果,结果表明以甲醇-50 mmol/L 磷酸二氢钾溶液为流动相、pH 为 6.0 时色谱峰峰形尖锐,出峰数量最多,分离度最好。

比较 214、254 和 287 nm 波长条件下的色谱图,在 254 nm 波长下色谱图基线稳定,包含的信息量较大,峰信号强,因此选择 254 nm 作为检测波长。

2.2 水飞蓟幼草的不同溶剂提取组分分析

乙酸乙酯可完全提取水飞蓟幼草中弱极性组分,由图 1a 可知,色谱峰大都在 100 ~ 200 min 出峰,同时此处的色谱峰信号较弱,说明水飞蓟幼草中含有的疏水性弱极性组分较少。乙醇提取物的色谱峰主要集中在 40 ~ 110 min(见图 1c),但组分分布不均匀;由于乙醇属于中等极性的溶剂,因此中等极性的组分在谱图上都有所体现,且含量较高。水飞蓟幼草中含有生物碱等强极性组分,可被水提取,但是水对非极性及中等极性组分的提取效果较差,因此以水为提取溶剂的提取物出峰也主要集中在谱图前半部分(见图 1b)。以 75% 甲醇为提取溶剂时,强、中等、弱极性组分均可被提取出来,整个色谱图中色谱峰分布较均匀且强度大(见图 1d)。对比水和乙醇的提取结果,说明 75% 甲醇可对样品中各种极性的组分进行有效的提取,可得到更多信息。谱图中色谱峰的分布情况也显示水飞蓟幼草中组分的极性差异范围很大,中等与强极性组分相对较多,而弱极性组分较少。

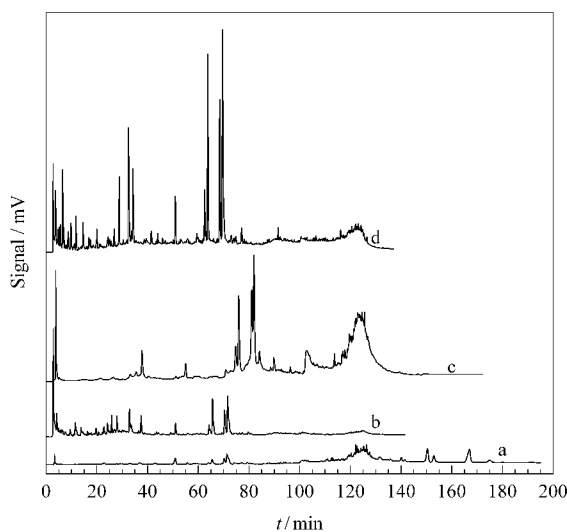


图 1 不同提取溶剂条件下水飞蓟幼草提取物的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of the tender sprouts fraction of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. extracted by different solvents

a. ethyl acetate; b. water; c. ethanol; d. 75% methanol.

2.3 水飞蓟种子的不同溶剂提取组分分析

水飞蓟种子中主要含水飞蓟油及黄酮类化合物等成分。水飞蓟油的含量约为 26% ,其中含亚油酸 46.46%、亚麻酸 2.46%^[5] ;黄酮类化合物等组分为水飞蓟素,水飞蓟素为黄酮木脂素类组分。由图 2d 可知,75% 甲醇提取出的组分较多,分布均匀,多为中等极性和疏水性组分,水飞蓟的有效成分集中在 80 ~ 100 min 之间。从图 2a ~ d 可以明显看出,乙醇对黄酮类组分的提取率高于其他 3 种溶剂。乙醇提取的组分可分为 3 簇,每簇都含有许多小峰,可推测其性质、结构相似。水飞蓟种子中的组分主要以亲脂性成分居多,并含有少量中等极性的组分。

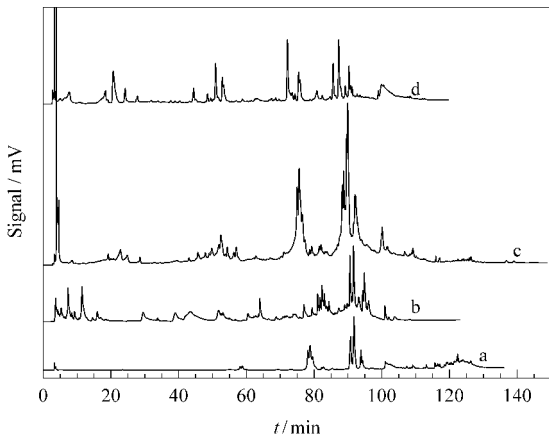


图 2 不同提取溶剂条件下水飞蓟种子提取物的色谱图
 Fig. 2 Chromatograms of the seed fraction of *Silybum marianum* (L.) Gaertn extracted by different solvents
 a. ethyl acetate ; b. water ; c. ethanol ; d. 75% methanol.

2.4 水飞蓟花的不同溶剂提取组分分析

由图 3 可知,水飞蓟花中含大量的亲水性、中等

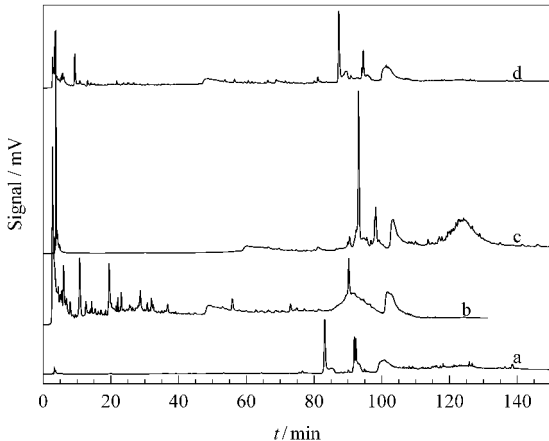


图 3 不同提取溶剂条件下水飞蓟花提取物的色谱图
 Fig. 3 Chromatograms of the flower fraction of *Silybum marianum* (L.) Gaertn extracted by different solvents
 a. ethyl acetate ; b. water ; c. ethanol ; d. 75% methanol.

极性及亲脂性组分,其中最主要的是亲水性的组分,中等极性组分次之,亲脂性组分最少。除种子外,欧美民间也用水飞蓟花作为药物。由于花中常含有大量色素,因此水飞蓟花的水提取物中亲水性组分可能大部分为水溶性色素,对药物活性贡献不大。水飞蓟中活性成分主要为亲脂性组分,而花中亲脂性组分较少。因此中等极性组分可能对药物活性有较重要的贡献。4 种提取溶剂中,乙醇对水飞蓟花中中等极性组分的提取率最高,对亲脂性组分也有一定的提取效果,能得到更多有关水飞蓟花中组分的信息。

2.5 水飞蓟叶的不同溶剂提取组分分析

实验中发现,水飞蓟叶中含有的组分主要为疏水性化合物,亲水性的组分其次,中等极性的组分较少。水飞蓟叶的谱图(见图 4)与幼草的谱图(见图 1)相比较,水提样品共有峰有 10 个,从 44 ~ 132 min 的组分数都明显减少;乙酸乙酯提取物谱图共有峰有 6 个。除了疏水性的组分没有减少外,其他各组分的含量都明显较少。这一结果说明尽管水飞蓟生长过程中其叶片中有一些组分被保留,但在色谱图中 80 ~ 100 min 的黄酮类组分用 4 种提取溶剂都没有发现,证实在水飞蓟叶中类黄酮类化合物组分已经转移。

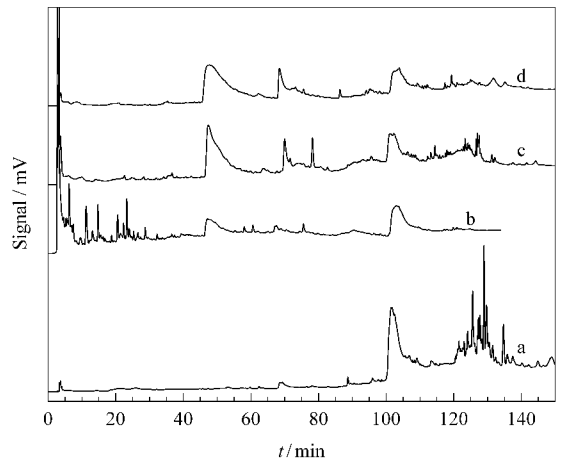


图 4 不同提取溶剂条件下水飞蓟叶提取物的色谱图
 Fig. 4 Chromatograms of the leaf fraction of *Silybum marianum* (L.) Gaertn extracted by different solvents
 a. ethyl acetate ; b. water ; c. 75% methanol ; d. ethanol.

2.6 水飞蓟茎的不同溶剂提取组分分析

茎输导的大多数都是分子较小而且能溶于水的有机物,如小分子的葡萄糖、氨基酸、甘油和脂肪酸等简单的有机物。采用 4 种不同溶剂提取水飞蓟茎的色谱分离结果(见图 5)也证实了这一点。可以看出水飞蓟茎中化合物的种类和含量均比种子、花和

叶中都要少。水提取物的组分最多,主要集中在 60 min 之前,中等极性和疏水性的组分较少。

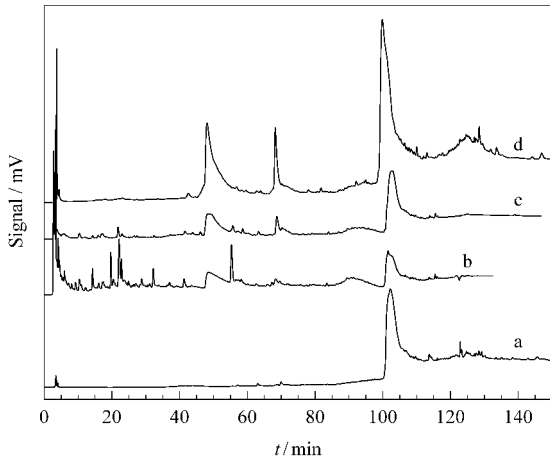


图 5 不同提取溶剂条件下水飞蓟茎提取物的色谱图

Fig. 5 Chromatograms of the stem fraction of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. extracted by different solvents

a. ethyl acetate ; b. water ; c. 75% methanol ; d. ethanol.

2.7 水飞蓟根的不同溶剂提取组分分析

由图 6 可以看出,用 75% 甲醇溶液作为溶剂的提取物的谱图中,从开始到结束的 147 min 内共有 125 种组分被检出。水飞蓟根中以疏水性的组分最多,因此乙酸乙酯对疏水性的组分提取效率较高。

欧美民间有利用水飞蓟根治疗忧郁症等精神类疾病的传统,由乙酸乙酯提取谱图中可以得到多于 20 个组分,推断水飞蓟根中有效的药效组分为疏水性的脂溶性成分,而且含量较高,这一结果可以为今后对水飞蓟根的药用价值的评价提供参考。

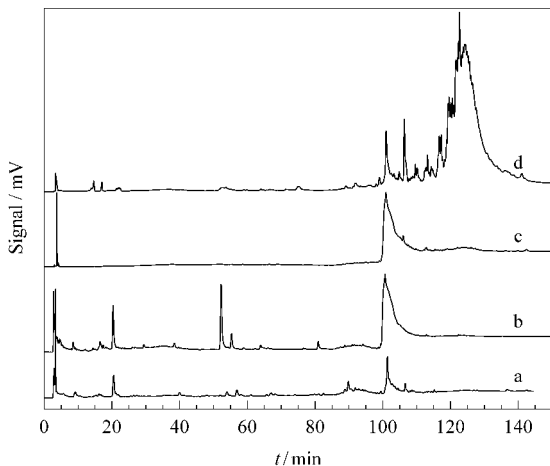


图 6 不同提取溶剂条件下水飞蓟根提取物的色谱图

Fig. 6 Chromatograms of the root fraction of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. extracted by different solvents

a. 75% methanol ; b. water ; c. ethanol ; d. ethyl acetate.

3 结语

以 75% 甲醇溶液、乙醇、乙酸乙酯和纯水为提取溶剂分别对水飞蓟幼草、种子、花、叶、茎、根 6 个部位加以提取,并进行 HPLC 分析,考察提取效果及不同部位组成的差异。结果表明水飞蓟各部位的出峰数量从多到少的排序为:幼草、种子、花、叶、根、茎。由于不同部位组分的差异,应采取不同的溶剂进行提取,才能更充分地提取出有效成分。通过对所得到的色谱图的综合评价,为水飞蓟药材有效成分的组成提供了一种直观、简便的方法,从而为水飞蓟的相关药效研究、指纹谱图构建提供了基础依据。

参考文献:

- [1] Minakmetov R A, Onuchak L A, Kurkin V A, et al. Chem Nat Comp, 2001, 37(4): 318
- [2] Wang B E, Xie X C, Duan Z P, et al. Drug Evaluation (王宝恩, 谢贤春, 段钟平, 等. 药品评价), 2007, 4(2): 68
- [3] Medical Encyclopedia: Herba Silybi. [2009-09-08]. http://www.wiki8.com/shuifeiji_22825/
- [4] Ke M Q. Physicochemical and Pharmacological Properties of the Effective Components in Chinese Herbal Medicine. Changsha: Hunan Science and Technology Press (柯铭清. 中草药有效成分理化与药理特性. 长沙: 湖南科学技术出版社), 1979
- [5] He W M, Xu M D, Yang Q, et al. Acta Nutrimenta Sinica (何维明, 许牡丹, 杨菁, 等. 营养学报), 1996, 18(2): 163
- [6] Kidd P, Head K. Alternative Medicine Review, 2005, 10(3): 193
- [7] Yu L C, Gu C H. Chinese Journal of Hospital Pharmacy (于乐成, 顾长海. 中国医院药学杂志), 2001, 21(8): 493
- [8] Kren V, Walterova D. Biomed Papers, 2005, 149(1): 29
- [9] Wang Y, Jia J D. National Medical Journal of China (王宇, 贾继东. 中华医学杂志), 2005, 85(17): 1219
- [10] Huseini H F, Larijani B, Heshmat R, et al. Phytother Res, 2006, 20(12): 1036
- [11] Ding T M, Shi Y H, Tian S J, et al. Chinese Traditional and Herbal Drugs (定天明, 施蕴华, 田颂九, 等. 中草药), 1999, 30(8): 637
- [12] Shi J S, Sun D F, Gu G P, et al. Chinese Wild Plant Resources (史劲松, 孙达峰, 顾龚平, 等. 中国野生植物资源), 2006, 25(6): 52
- [13] Wang X H, Liu T, Li Q, et al. Chinese Journal of Chromatography (王晓辉, 刘涛, 李清, 等. 色谱), 2006, 24(5): 486
- [14] Yu H Y, Zhou Y Y, Cheng X M. Chinese Journal of Chromatography (于海英, 周永妍, 程秀民. 色谱), 2009, 27(4): 447
- [15] Liu Y, Zhou J L, Li P. Chinese Journal of Chromatography (刘颖, 周建良, 李萍. 色谱), 2009, 27(5): 682