

表 1 獐牙菜不同部位中齐墩果酸

部位	齐墩果酸 /%			
	川西獐牙菜(野生)	川西獐牙菜(栽培)	抱茎獐牙菜(野生)	抱茎獐牙菜(栽培)
花	0.067 1 ± 0.001 6	0.057 1 ± 0.001 6	0.059 8 ± 0.001 1	0.074 0 ± 0.002 9
茎	0.014 0 ± 0.002 9	0.010 7 ± 0.001 9	0.013 5 ± 0.001 4	0.012 9 ± 0.000 9
叶	0.061 4 ± 0.002 1	0.055 1 ± 0.002 2	0.062 9 ± 0.000 9	0.061 0 ± 0.001 4
根	0.002 8 ± 0.000 4	0	0.005 3 ± 0.001 1	0.002 3 ± 0.000 9
整株	0.013 4 ± 0.000 9	0.012 2 ± 0.000 8	0.020 4 ± 0.000 8	0.021 2 ± 0.000 9

表中数据为平均值 ± 标准误

3 结论

液相色谱条件采用乙腈-水溶液(65:35v/v)流动相,体积流量 0.8 mL/min, 210 nm 检测波长,对照品和样品基线平稳、分离度良好。质谱分析表明为单一目标成分。

引种到低海拔的两种獐牙菜,无论是川西獐牙菜还是抱茎獐牙菜,野生和人工栽培植物全株中齐墩果酸的质量分数无显著变化。对野生和人工栽培不同生境条件下生长的獐牙菜,整株抱茎獐牙菜中齐墩果酸量均高于川西獐牙菜中齐墩果酸的质量分数,花、叶、茎和根不同部位齐墩果酸质量分数不尽相同,齐墩果酸主要集中在植物的花和叶中,花和叶中齐墩果酸最高,植物根中齐墩果酸质量分数最低,不到花或叶质量分数的十分之一。结果表明人工栽培的川西獐牙菜和抱茎獐牙菜药材仍具有优良的品质。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1988. 62:400-401.
- [2] 陈桂琛,卢学峰,孙 菁,等. 藏药川西獐牙菜的引种栽培研究[J]. 安徽农业科学,2005,33(2):272-273.
- [3] 韩友吉,李锦萍,王延花,等. 不同肥料对椭圆叶花锚生长发育的比较研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(27):11861-11863.
- [4] 马玉花,纪兰菊,陈桂琛,等. 抱茎獐牙菜中当药黄酮的 HPLC 测定研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(8):3248-3249.
- [5] 马玉花,陈桂琛,吉文鹤,等. 川西獐牙菜中不同部位 3 种药用成分的反相高效液相色谱测定[J]. 药物分析杂志,2005,(9):1079-1081.

- [6] Hsu H Y, Yang J J, Lin C C. Effects of oleanolic acid and ursolic acid on inhibiting tumor growth and enhancing the recovery of hematopoietic system postirradiation in mice [J]. *Cancer Lett*, 1997, 111 (1-2): 7-13.
- [7] Braga F, Ayres-Saraiva D, Gattass C R, et al. Oleanolic acid inhibits the activity of the multidrug resistance protein ABCB1 (MRP1) but not of the ABCB1 (P-glycoprotein): Possible use in cancer chemotherapy [J]. *Cancer Lett*, 2007, 248 (1): 147-152.
- [8] Zhang Yi-Nan, Zhang Wei, Hong Di, et al. Oleanolic acid and its derivatives: New inhibitor of protein tyrosine phosphatase 1B with cellular activities [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16 (18): 8697-8705.
- [9] Reisman S A, Aleksunes L M, Klaassen C D. Oleanolic acid activates Nrf2 and protects from acetaminophen hepatotoxicity via Nrf2-dependent and Nrf2-independent processes [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77 (7): 1273-1282.
- [10] Yan S L, Huang C Y, Wu S T, et al. Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in four human liver cancer cell lines [J]. *Toxicol in Vitro*, 2010, 24(3):842-848.
- [11] 黄湘兰,彭拓华. 正交试验对女贞子提取工艺的优选[J]. 中药材,2000,23(10):644-645.
- [12] 方 罗,林能明. 四味消扶协定方乙醇提取液中熊果酸及齐墩果酸的含量测定[J]. 中华中医药学刊,2009,27(10):2145-2147.
- [13] 李路军,喻世涛,刘维雷,等. 中华雪胆中总皂甙和齐墩果酸的含量测定[J]. 湖北大学学报:自然科学版,2006,28(4):411-413.

超临界 CO₂ 萃取秦艽化学成分的气相色谱-质谱分析

王燕萍

(兰州大学第一医院药剂科,甘肃 兰州 730000)

摘要:目的 对超临界萃取的秦艽化学成分进行分析。方法 采用超临界二氧化碳流体萃取法(SFE-CO₂)对秦艽进行提取,利用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对提取物的化学成分进行分离分析。结果 从秦艽超临界萃取提取物中分

收稿日期:2010-05-18

基金项目:甘肃省中医药科研项目(No.05-GZK-16)

作者简介:王燕萍(1975—),女,硕士,副主任药师,主要从事药物分析及药物制剂工作。Tel:13088715500, E-mail:Wangyp317@sina.com

离出 49 种成分,并对其中 47 种进行了鉴定。结论 该实验结果为深入了解秦艽的化学成分及进一步开发利用提供了依据。

关键词:秦艽;超临界流体萃取;气相色谱-质谱联用

中图分类号:R284.1

文献标志码:B

文章编号:1001-1528(2011)06-1070-03

秦艽为重要的中医传统用药,始载于《神农本草经》,列为中品,具祛风湿、清湿热、止痹痛、退虚热之功效。《中国药典》2010 年版收载为龙胆科植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.、麻花秦艽 *G. straminea* Maxim.、粗茎秦艽 *G. crassicaulis* Duthie ex Burk. 及小秦艽 *G. dahurica* Fisch. 4 种植物的根,富含龙胆苦苷、獐牙菜苦苷等环烯醚萜类及齐墩果酸、 β -谷甾醇、牻牛儿苗酸等三萜及甾体类成分^[1-3],具有明显的抗炎镇痛、抗溃疡、调节免疫等作用^[4-7]。现代分析研究多以液相色谱法测定其中的生物碱及龙胆苦苷等物质^[8-12],鉴于中药有效成分的复杂性,本实验采用超临界流体萃取技术(SFE- CO_2)对秦艽进行提取,利用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对提取物中的脂肪酸等极性成分进行分离分析,为进一步阐明秦艽中未报道的化学物质,深层次开发利用秦艽资源提供科学数据。

1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪,5973N 四级杆质谱仪,Chemstation 色谱工作站(美国安捷伦科技有限公司);美国 NIST02L 谱库;HA121-50-01 型超临界流体萃取仪(江苏南通华安超临界有限公司)。 CO_2 为医用级,其余试剂均为分析纯。秦艽药材:采自甘肃省甘南藏族自治州临潭县冶力关镇,为栽培品,经鉴定为龙胆科植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall. 的根。

2 方法

2.1 超临界 CO_2 萃取条件 萃取釜压力:30 MPa,温度:40 $^{\circ}\text{C}$;分离釜 I、II 压力:6 MPa,温度:45 $^{\circ}\text{C}$;流体: CO_2 。

2.2 色谱条件 AT-SE54 毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm);进样口温度:260 $^{\circ}\text{C}$;程序升温:初始 80 $^{\circ}\text{C}$,以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 290 $^{\circ}\text{C}$,保持 30 min;载气:高纯氦气(纯度 $\geq 99.999\%$),体积流量:1.2 mL/min,线速度:40 cm/sec;进样量:1 μL 。

2.3 质谱条件 EI 离子源;离子源温度:230 $^{\circ}\text{C}$;四级杆温度:150 $^{\circ}\text{C}$;接口温度:280 $^{\circ}\text{C}$;离子源电离能:70 eV。

3 供试品溶液的制备

将秦艽样品粉碎,过三号筛,称取适量,置萃取釜中,以 CO_2 为流体,对萃取釜、分离釜 I 和分离釜 II 分别加热、升压,当萃取釜温度达 40 $^{\circ}\text{C}$,分离釜 I、II 温度达 45 $^{\circ}\text{C}$,萃取釜压力达 30 MPa、分离釜 I、II 压力达 6 MPa 时,开始进行循环萃取,保持恒温恒压萃取 2 h,得到黄棕色油状膏体。取膏体适量,加无水乙醇使溶解,加 5% 氢氧化钠与 10% 甲醇等容混合溶液 10 mL,置 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴皂化 30 min,放冷,加稀盐

酸调节 pH = 1,加乙醚萃取 2 次,每次 10 mL,合并乙醚液,室温挥干,加三氟化硼-甲醇混合溶液(1:4)20 mL,置 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴甲酯化 24 h,放冷,以乙醚-水混合溶液(1:5)50 mL 萃取,分取乙醚液,室温挥干,加二氯甲烷 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

4 结果

精密吸取供试品溶液 1 μL ,注入气相色谱仪-质谱仪进行分析,总离子流图见图 1。经 NIST 谱图库进行检索解析,得到相应的化学成分,结果见表 1。

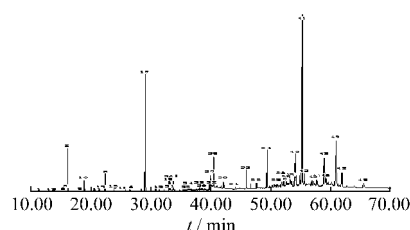


图 1 GC-MS 总离子流图

由表 1 可知,从秦艽超临界 CO_2 萃取的提取物中共分离出 49 个化合物,鉴定出其中 47 个,所鉴定成分占提取物总流出峰面积的 95.3%。在鉴定组分中相对质量分数在 1% 以上的有 14 种,分别是 12-奥利烯(32.051%)、棕榈酸(11.841%)、3-羧基-12-乌散烯(12)-24 β -酸(10.107%)、乙酸-12-奥利烯酯(3- β)(6.326%)、3-甲氧基-升-27-降- γ -蜡烯(13)-21-酮(5.017%)、邻苯二甲酸(3.793%)、正二十六烷酸(3.747%)、3-羧基-12-乌散烯(12)-24 α -酸(3.187%)、正二十四烷酸(1.856%)、12-奥利烯-3-甲氧基(3- β)(1.652%)、 β -香树素(1.481%)、壬二酸(1.262%)、反式-油酸(1.089%)、3-羟基-12-奥利烯-1-酮(1.062%)。

5 讨论

5.1 超临界流体萃取技术具有萃取温度低、效率高、速度快、无污染、不破坏成分等优点,利用超临界萃取技术提取秦艽中的成分,可保证提取完全,并减少热敏成分的破坏与损失。

5.2 脂肪酸类成分是细胞的重要组成部分,有研究表明 α -亚麻酸等脂肪酸具有降血压、降血脂、抗血栓、软化血管、抗癌等生理活性^[13],而本实验表明秦艽超临界 CO_2 萃取物中饱和及不饱和脂肪酸类成分占总提取物的 51.218%,为秦艽的深入开发提供了数据支持。

致谢:中国科学院兰州地质研究所孟仟祥老师进行样品的气-质分析。

表 1 秦艽超临界萃取物中化学成分及相对质量分数

序号	分子式	相对分子质量	化合物名称	相对质量分数/%	序号	分子式	相对分子质量	化合物名称	相对质量分数/%
1	C ₁₁ H ₁₀	142	β-甲基萘	0.019	26	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	324	4,8,12,16-四甲基-4-羟基-十七烷酸内酯	0.217
2	C ₁₁ H ₁₀	142	α-甲基萘	0.011	27	—	—	未知	1.007
3	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	癸酸(甲酯)	0.011	28	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	正二十一烷酸(甲酯)	0.051
4	C ₉ H ₁₆ O ₄	188	庚二酸(二甲酯)	0.065	29	—	—	未知	3.648
5	C ₁₂ H ₁₀	154	联苯	0.027	30	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354	正二十二烷酸(甲酯)	0.685
6	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	186	9-羧基-壬酸(甲酯)	0.058	31	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368	正二十三烷酸(甲酯)	0.216
7	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	202	辛二酸(二甲酯)	0.293	32	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382	正二十四烷酸(甲酯)	1.856
8	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194	邻苯二甲酸(二甲酯)	3.793	33	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	396	正二十五烷酸(甲酯)	0.482
9	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	正十二烷酸(甲酯)	0.043	34	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	410	正二十六烷酸(甲酯)	3.747
10	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	216	壬二酸(二甲酯)	1.262	35	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	424	正二十七烷酸(甲酯)	0.374
11	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	正十三烷酸(甲酯)	0.036	36	C ₂₉ H ₄₆	394	豆甾三烯-3,5,22	0.661
12	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	230	癸二酸(二甲酯)	0.276	37	C ₂₉ H ₄₈	396	豆甾二烯-3,5	0.529
13	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	正十四烷酸(甲酯)	0.211	38	C ₂₉ H ₅₈ O ₂	438	正二十八烷酸(甲酯)	0.708
14	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	244	十一烷二酸(二甲酯)	0.129	39	C ₂₉ H ₅₀ O	414	β-谷甾醇	0.767
15	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	4,8,12-三甲基-十三烷酸(甲酯)	0.057	40	C ₃₁ H ₅₀ O ₂	454	3-甲氧基-升-27-降-γ-蜡烯(13)-21-酮	5.017
16	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	正十五烷酸(甲酯)	0.194	41	C ₃₀ H ₅₀	410	12-奥利烯	32.051
17	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	棕榈酸(甲酯)	11.841	42	C ₃₁ H ₅₂ O	440	12-奥利烯-3-甲氧基(3-β)	1.652
18	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	正十七烷酸(甲酯)	0.147	43	C ₃₀ H ₄₈ O	424	12-奥利烯-3-酮	0.631
19	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	亚油酸(甲酯)	0.976	44	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	468	乙酸-12-奥利烯酯(3-α)	0.943
20	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	反式-油酸(甲酯)	1.089	45	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	468	乙酸-12-奥利烯酯(3-β)	6.326
21	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	顺式-油酸(甲酯)	0.169	46	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	440	12-奥利烯-1-酮-3-羟基(3-β)	1.062
22	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	硬脂酸(甲酯)	0.989	47	C ₃₁ H ₄₈ O ₃	468	3-羧基-12-乌散烯(12)-24β-酸(甲酯)	10.107
23	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	正十九烷酸(甲酯)	0.031	48	C ₃₁ H ₄₈ O ₃	468	3-羧基-12-乌散烯(12)-24α-酸(甲酯)	3.187
24	C ₂₀ H ₄₀ O ₃	328	12-甲氧基-十八烷酸(甲酯)	0.371	49	C ₃₀ H ₅₀ O	426	β-香树素	1.481
25	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	正二十烷酸(甲酯)	0.495					

参考文献:

- [1] 陈千良,石张燕,涂光忠,等. 陕西产秦艽的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(19):1519.
- [2] 杨 婕,马 骥,周东星,等. 达乌里秦艽化学成分的研究[J]. 中草药, 2006, 37(2):187.
- [3] 陈千良,孙文基,涂光忠,等. 陕西产秦艽脂溶部位化学成分研究[J]. 中草药, 2005, 36(1):4.
- [4] 李 庆. 秦艽醇提液的抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(9):63.
- [5] 董建勇,李广远,李长天. 大叶秦艽抗炎、调节免疫有效部位的初步研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2006, 23(1):17.
- [6] 李永平,李福安,童 丽,等. 栽培秦艽与野生秦艽的药效学比较研究[J]. 青海医学院学报, 2006, 27(4):254.
- [7] 张芳云,张 斌,刘庆山,等. 西藏地产藏药大叶秦艽的抗溃疡

- 病作用研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(3):312.
- [8] 韦 欣,贺宏升,王 曙. HPLC 测定秦艽中的生物碱和龙胆苦苷[J]. 华西药学杂志, 2006, 21(1):84.
- [9] 晋 玲,张西玲,郭 玫,等. 不同产地秦艽栽培品的药材质量研究[J]. 中药材, 2006, 29(5):437.
- [10] 贾 娜,张雅惠,王 斌,等. 麻花秦艽中落干酸和龙胆苦苷的含量测定及麻花秦艽药材 HPLC 特征图谱的研究[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9):1585.
- [11] 马 潇,朱俊儒,何禄仁,等. 甘肃产秦艽不同部位中龙胆苦苷的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):10.
- [12] 马 潇,朱俊儒,何禄仁,等. 甘肃产秦艽类药材中龙胆苦苷的含量测定[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(5):465.
- [13] 李英霞,武继彪,钟方晓. α-亚麻酸的研究进展[J]. 中草药, 2001, 32(7):667.