

固相微萃取 /GC - MS分析透骨草的挥发性成分

杨再波, 钟才宁, 孙成斌, 毛海立, 邓维先

(贵州省黔南民族师范学院化学与化工系, 贵州 都匀 558000)

摘要: 目的 分析透骨草中的挥发性成分。方法 采用固相微萃取 /GC - MS法。结果与结论 分离出 83个组分, 鉴定了 69个, 用归一化法测定其百分含量占总挥发油总含量的 97. 42%。主要成分为白菖烯 (14. 91%)、 β - 石竹烯 (11. 05%)、 α - 姜黄烯 (5. 99%)等化合物。

关键词: 透骨草; 挥发性成分; 固相微萃取; 气相色谱质谱联用

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0103(2008)04 - 0388 - 04

Analysis of the volatile constituents from *Incarvillea sinensis* Lam. by SPME - GC - MS

YANG Zai - bo, ZHONG Cai - ning, SUN Cheng - bin, MAO Hai - li, DENG Wei - xian

(Chemistry and Chemical Department, Guizhou Province Qiannan Normal University for Nationalities, Duyun 558000, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To analyze the chemical components of essential oil from *Incarvillea sinensis* Lam. **METHODS** Using SPME - GC - MS method **RESULTS and CONCLUSION** 83 components were separated and 69 components was identified by GC - MS. The content of the components was determined by normalization method, which was 97. 42% of the total essential constituents. The main chemical components are Calarene (14. 91%), β - caryophyllene (11. 05%) and α - curcumene (5. 99%).

Key words: *Incarvillea sinensis* Lam.; Volatile chemical components; SPME; GC - MS

CLC number: R284

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103(2008)04 - 0388 - 04

透骨草 *Incarvillea sinensis* Lam. 系紫葳科角蒿属植物, 主要分布在辽宁、吉林、河北、河南、山东、山西、陕西、甘肃等地; 具有祛风、除湿、舒筋活血、止痛等功效。临床用于治疗风湿痹痛、寒湿脚气、疮癣肿毒等症^[1,2]。透骨草的挥发性化学成分的提取可采用乙醚冷浸法、蒸馏萃取法^[3,4]。文中采用固相微萃取装置 (SPME) 提取并用 GC - MS法分析了透骨草的挥发性化学成分。SPME^[5]技术是近年来发展起来的一种新颖的样品处理手段, 集采样、萃取、浓缩、进样于一体; 具有无需萃取溶剂、样品用量少、操作简单、方便和快速等优点。因此, 适宜于萃取透骨草的挥发性化学成分。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

HP6890GC/5973MS气相色谱 - 质谱联用仪 (美国惠普); 手动固相微萃取 (SPME) 装置 (美国 Supelco); 萃取纤维头为 65 μ m PDMS/DVB。透骨草药材采于贵州省黔南州都匀市, 经鉴定为紫葳科角蒿属植物透骨草 *Incarvillea sinensis* Lam.。

1.2 方法与结果

1.2.1 提取方法

基金项目: 贵州省黔南民族师范学院 2007年度院级科研项目资助 (2007Z16)

作者简介: 杨再波 (1976 -), 男, 侗族, 贵州石阡, 硕士, 讲师, 从事有机化学的教学及天然产物的研究工作。E - mail: yzb1976110@sohu.com

15 ml专用采样瓶中, 插入装有 65 μ m PDMS/DVB纤维头的手动进样器, 90°C下顶空萃取, 保持 30 min取出, 立即插入色谱仪进样口中, 脱附 1.5 min。

1.2.2 GC - MS的分析条件 色谱条件为 HP5 - MS石英弹性毛细管柱 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 载气 He, 流量 1 ml $\cdot$ min⁻¹; 进样口温度 250°C; 色谱柱初始温度 60°C (保持 1 min), 以 8°C $\cdot$ min⁻¹升温至 250°C (保持 15 min); 不分流进样。

质谱条件的电离方式: EI源, 能量 70 eV, 离子源温度 230°C, 四极杆温度 150°C, 传输线温度 280°C, 质量范围 30 ~ 350 amu; 电子倍增器电压 1765 V。谱图采用 Nist98和 Wiley275 L 谱库进行检索。

1.2.3 实验结果 按“1.2.2”项条件实验, 共分离出 83个组分, 通过对总离子流色谱图 (图 1) 中的各峰进行质谱扫描后得质谱图, 经过质谱数据系统检索, 并查对有关质谱文献^[6], 从基峰相对丰度等几个方面进行直观比较, 从而确定出透骨草挥发性化学成分中的 69个组分, 并通过 HPLSD 化学工作站数据处理系统, 按峰面积归一化法确定了各组分在挥发性成分中的相对含量, 其相对含量占总挥发性化学成分总含量的 97. 42%, 结果见表 1。

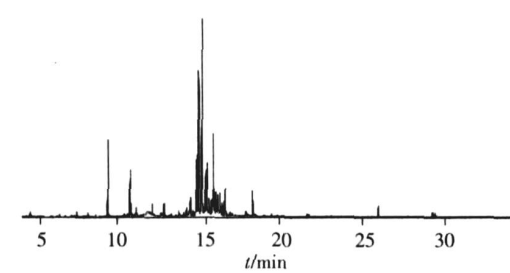


图 1 透骨草挥发性化学成分的总离子流图

Fig 1 GC - MS total ion current graph of chemical component of essential oil from Incarvillea sinensis Lam

分析结果表明,在透骨草挥发性成分中主要是萜烯类及其含氧衍生物、醇类和酯类,也含有烷烃、醛酮等化合物,含量较高的成分是白菖烯(14.91%)、 β -石竹烯(11.05%)等化合物。萜类化合物是存在于植物界的一大类化合物,具有多种生物活性,在透骨草挥发性成分中的主要萜类化合物为 α -蒎烯、芳樟醇、樟脑、乙酸芳樟酯、 β -榄香烯、 β -马榄烯、 α -依兰烯、白菖烯、 β -石竹烯、 α -姜黄烯和 α -律草烯等,分别具有发汗、驱虫、镇痉、平喘、强心、镇咳、祛痰、抗菌、抗病毒等作用^[7]。

表 1 透骨草挥发性化学成分和相对含量

Table 1 Chemical components and relative contents of essential oil from Incarvillea sinensis Lam.

Na	<i>t_R</i> /min	Compounds	<i>M_w</i>	MF	Similarity/%	Relative content/%
1	1.32	未鉴定	-	-	-	0.19
2	1.46	未鉴定	-	-	-	0.33
3	2.25	未鉴定	-	-	-	0.36
4	2.58	未鉴定	-	-	-	0.21
5	3.59	未鉴定	-	-	-	0.26
6	5.44	α -pinene(α -蒎烯)	136	C ₁₀ H ₁₆	97	0.14
7	6.15	sabinene(桉烯)	136	C ₁₀ H ₁₆	94	0.06
8	6.23	β -pinene(β -蒎烯)	136	C ₁₀ H ₁₆	97	0.06
9	6.53	cyclotetrasiloxane, octamethyl(八甲基环四硅烷)	296	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	91	0.39
10	7.09	benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-(间-伞花烯)	134	C ₁₀ H ₁₄	95	0.10
11	7.17	l-limonene(1-柠檬烯)	136	C ₁₀ H ₁₆	93	0.13
12	7.24	1,8-cineole(1,8-桉树脑)	154	C ₁₀ H ₁₈ O	98	0.29
13	7.73	γ -terpinene(γ -松油烯)	136	C ₁₀ H ₁₆	97	0.15
14	8.49	linalool(芳樟醇)	154	C ₁₀ H ₁₈ O	96	4.32
15	8.56	nonanal(壬醛)	142	C ₉ H ₁₈ O	90	0.14
16	9.39	camphor(樟脑)	152	C ₁₀ H ₁₆ O	95	0.11
17	9.45	未鉴定	-	-	-	0.10
18	9.54	l-menthone(1-薄荷酮)	154	C ₁₀ H ₁₈ O	98	0.19
19	9.74	Menthone(薄荷酮)	154	C ₁₀ H ₁₈ O	95	0.19
20	9.87	menthanol(薄荷醇)	156	C ₁₀ H ₂₀ O	91	2.83
21	9.97	4-terpineol(4-松油醇)	154	C ₁₀ H ₁₈ O	96	0.79
22	10.10	未鉴定	-	-	-	0.08
23	10.21	α -terpineol(α -松油醇)	154	C ₁₀ H ₁₈ O	90	0.15
24	10.28	<i>p</i> -Mentha-3,8-diene(对-薄荷-3,8-二烯)	136	C ₁₀ H ₁₆	95	0.63
25	10.33	dihydrocarvone(二氢香芹酮)	152	C ₁₀ H ₁₆ O	93	0.22
26	10.99	2-furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl) [5-(羟甲基)-2-呋喃甲醛]	126	C ₆ H ₆ O ₃	95	2.50
27	11.11	未鉴定	-	-	-	0.28
28	11.17	carvone(香芹酮)	150	C ₁₀ H ₁₄ O	96	0.48
29	11.30	linalyl acetate(乙酸芳樟酯)	196	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	97	0.63
30	11.37	piperitone(胡椒酮)	152	C ₁₀ H ₁₆ O	95	0.06
31	11.83	1-tridecene(1-十三烯)	182	C ₁₃ H ₂₆	91	0.13
32	11.89	<i>trans</i> -anethole(反-茴香脑)	148	C ₁₀ H ₁₂ O	98	0.30
33	12.03	tridecane(十三烷)	184	C ₁₃ H ₂₈	97	1.19
34	12.48	未鉴定	-	-	-	0.15
35	12.77	δ -elemene(δ -榄香烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	98	0.13
36	12.88	piperitenone(胡椒烯酮)	150	C ₁₀ H ₁₄ O	95	0.11
37	12.94	camphene(茨烯)	136	C ₁₀ H ₁₆	93	0.55
38	13.26	2,5-dimethylacetophenone(2,5-二甲基苯乙酮)	148	C ₁₀ H ₁₂ O	90	0.50
39	13.44	α -copaene(α -古芭烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	99	0.68
40	13.54	α -cedrene(α -雪松烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	96	0.27

续表 1

Na	t _R /min	Compounds	M _w	MF	Similarity/%	Relative content/%
41	13. 62	cedr- 8 - ene(雪松 - 8 - 烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	91	0. 48
42	13. 68	β - elemene(β - 榄香烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	99	1. 31
43	13. 86	α - bergamotene(α - 香柠檬烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	93	0. 77
44	14. 04	β - maaliene(β - 马榄烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	98	3. 98
45	14. 09	α - ylangene(α - 依兰烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	91	4. 05
46	14. 19	β - caryophyllene(β - 石竹烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	99	11. 05
47	14. 32	gemacrene d(大根香叶烯 d)	204	C ₁₅ H ₂₄	92	0. 58
48	14. 39	calarene(白菖烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	98	14. 91
49	14. 52	epizonaren(表姜烯酮)	204	C ₁₅ H ₂₄	95	0. 72
50	14. 58	δ - cadinene(δ - 杜松烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	90	0. 73
51	14. 64	trans - β - farnesene(反 - β - 金合欢烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	98	2. 83
52	14. 73	α - humulene(α - 律草烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	95	4. 33
53	14. 86	β - cubebene(β - 毕澄茄油烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	95	1. 77
54	14. 91	(-) - β - acoradiene[(-) - β - 菖蒲二烯]	204	C ₁₅ H ₂₄	95	0. 51
55	14. 99	cyclododecane, 1 - ethyl - 2 - methyl - (1 - 乙基 - 2 - 甲基环十二烷)	210	C ₁₅ H ₃₀	93	1. 03
56	15. 05	α - cubebene(α - 毕澄茄油烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	94	1. 11
57	15. 11	α - curcumen(α - 姜黄烯)	202	C ₁₅ H ₂₂	99	5. 99
58	15. 17	β - cubebene(β - 毕澄茄油烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	96	2. 28
59	15. 29	pentadecane(十五烷)	212	C ₁₅ H ₃₂	97	3. 55
60	15. 41	γ - elemene(γ - 榄香烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	95	2. 86
61	15. 55	β - bisabolene(β - 红没药烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	98	1. 91
62	15. 61	(+) - cuparene[(+) - 花侧柏烯]	202	C ₁₅ H ₂₂	98	0. 77
63	15. 70	α - terpinene[α - 松油烯]	136	C ₁₀ H ₁₆	97	1. 44
64	15. 87	δ - cadinene(δ - 杜松烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	98	3. 36
65	16. 00	α - patchoulene(α - 广藿香烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	94	0. 17
66	16. 17	cis - α - bisabolene(顺 - α - 红没药烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	98	0. 40
67	16. 28	α - calacorene(α - 白菖考烯)	200	C ₁₅ H ₂₀	95	0. 36
68	16. 50	未鉴定	-	-	-	0. 10
69	17. 18	(-) - caryophyllene oxide[(-) - 石竹烯氧化物]	220	C ₁₅ H ₂₄ O	96	0. 39
70	17. 27	hexadecane(十六烷)	226	C ₁₆ H ₃₄	97	0. 18
71	17. 35	2, 2, 7 - trimethyl - bicyclo(4. 3. 0) non - 6 - ene 2, 2, 7 - [三甲基 - 双环(4. 3. 0)壬 - 6 - 烯]	164	C ₁₂ H ₂₀	90	0. 11
72	17. 60	α - cedrol(α - 雪松醇)	222	C ₁₅ H ₂₆ O	99	2. 32
73	17. 74	未鉴定	-	-	-	0. 15
74	18. 79	未鉴定	-	-	-	0. 21
75	19. 43	heptadecane(十七烷)	240	C ₁₇ H ₃₆	91	0. 09
76	21. 02	α - gurjunene(α - 古芸烯)	204	C ₁₅ H ₂₄	91	0. 26
77	21. 12	1, 4 - naphthalenedione, 2 - methoxy - (2 - 甲氧基 - 1, 4 - 萘二酮)	188	C ₁₁ H ₈ O ₃	98	0. 27
78	21. 47	ethyl myristate(肉豆蔻酸乙酯)	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	93	0. 12
79	22. 22	未鉴定	-	-	-	0. 08
80	22. 54	未鉴定	-	-	-	0. 08
81	25. 51	hexadecanoic acid, ethyl ester(十六酸乙酯)	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	99	1. 05
82	28. 93	ethyl linoleate(亚油酸乙酯)	308	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	99	0. 46
83	29. 08	oleic acid, ethyl ester(油酸乙酯)	310	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	99	0. 50

在透骨草挥发性成分中,鉴定出的只有 1 - 柠檬烯、α - 雪松烯、α - 依兰烯、樟脑、γ - 榄香烯、β - 石竹烯、十六烷、十六酸乙酯、亚油酸乙酯、油酸乙酯几种成分与文献^[3,4]报道的相同。在已鉴定的组分中,α - 蒎烯、桉烯、芳樟醇、薄荷醇、5 - (羟基甲基) - 2 - 呋喃甲醛、β - 马榄烯、白菖烯、反 - β - 金合欢烯、α - 律草烯、β - 毕澄茄油烯、α - 姜黄烯、δ - 杜松烯、β - 红没药烯等化合物为首次鉴定。而对文献^[3,4]中的一些主要成分苯甲醛、6 - 甲基 - 5 - 庚烯 - 2 - 酮、1 - 辛烯 - 3 - 醇、苜醇、1, 2 - 二甲

氧基 - 4 (2 - 丙烯基) 苯、2, 6 - 二甲基 - 二环庚 - 2 - 烯、5 - 甲基 - 3 (1 - 亚甲基) 环己烯、长叶酸等在文中实验的样品中并未发现。

2 讨论

采用固相微萃取法萃取透骨草的挥发性化学成分,再用 GC - MS联用技术进行分离鉴定,与文献^[3,4]结果有较大差异。可能是由于透骨草的产地、气候、地理环境、土壤条件、生育期等的不同,使植物精油成分的生物合成过程不同;也可能因样品

的前处理过程不同所致。由于固相微萃取的纤维头对化合物的吸附具有选择性,某些选择性高的化合物被吸附,而选择性低的未被吸附,有待进一步改进。

参考文献:

[1] 朱亮锋,陆碧瑶,李宝灵,等. 芳香植物及其化学成分 [M]. 海口:海南出版社,1993. 15 - 50.

[2] 江苏新医学院. 中药大辞典 (附编) [M]. 上海:上海科学技术出版社,1979. 305 - 587.

[3] 高海翔,鲁润华,魏小宁,等. 透骨草挥发油成分分析 [J]. 中

草药, 2000, 31 (8): 574 - 575.

[4] 侯冬岩,回瑞华,李铁纯,等. GC/MS法分析透骨草化学成分 [J]. 辽宁师范大学学报, 2002, 25 (3): 291 - 293.

[5] 张毕奎,杨志玲. 固相萃取结合 HPLC测定血浆中阿替洛尔及其相对生物利用度的研究 [J]. 华西药学杂志, 2001, 16 (4): 257 - 259.

[6] 丛浦珠. 质谱在天然有机化学中的应用 [M]. 北京:科学出版社,1987. 595 - 650.

[7] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1986. 135 - 136, 65, 182, 824 - 825, 832 - 833.

收稿日期: 2007 - 08

盐酸四环素缓释微球的制备

李 莉^{1,3},黄永灿^{1,3},常 丽²,李驯虎²,张 珏^{1,3},唐 莉^{1,3},邓 力^{3*}

(1. 四川大学华西药学院,四川 成都 610041; 2. 北京德得创业科技有限公司,北京 100085; 3. 四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室干细胞与组织工程研究室,四川 成都 610041)

摘要: 目的 制备盐酸四环素聚乳酸-聚羟基乙酸共聚物 (PLGA)微球并优化其工艺。方法 采用复乳-溶剂蒸发法制备盐酸四环素 PLGA 微球,以微球包封率为检测指标,通过单因素试验和正交试验优选最佳制备工艺。结果 在优化条件下制备的微球形态规则,粒径为 16.72 ± 0.33 μm,载药量为 0.52% ± 0.01%,包封率为 78.56% ± 0.05%,微球的体外释药规律符合 Higuchi 方程 (r=0.9986)。结论 该制备工艺合理,为制备盐酸四环素 PLGA 微球提供了理论基础。

关键词: PLGA;微球;缓释;正交设计

中图分类号: R94

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0103 (2008) 04 - 0391 - 03

Preparation of sustained release microspheres of Tetracycline - HCl

L I L i^{1,3}, HUANG Yong - can^{1,3}, CHANG L i², L I Xun - hu², ZHANG Jue^{1,3}, TANG L i^{1,3}, DENG L i^{3*}

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Beijing Do - Done Technology Co., Ltd, Beijing 100085, China; 3. Division of Stem Cell and Tissue Engineering, State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: OBJECTIVE To study the optimum preparation of Tetracycline - HCl PLGA microspheres. METHODS Tetracycline - HCl PLGA microspheres were prepared by double emulsion method. The optimum preparation were selected with Orthogonal design. RESULTS The microsphere prepared based on optimized formulation exhibited well morphology. The mean particle size was 16.72 ± 0.33 μm. The drug loading and encapsulation efficiency were 0.52% ± 0.01% and 78.56% ± 0.05%, respectively. The in vitro drug release of Tetracycline hydrochloride - PLGA - MS corresponded with Higuchi equation (r=0.9986). CONCLUSION The research provided an optimal method for the preparation of Tetracycline hydrochloride - PLGA - MS.

Key words: PLGA; Microsphere; Sustained release; Orthogonal design

CLC number: R94

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103 (2008) 04 - 0391 - 03

四环素及其无抗生素作用的化学异构衍生物 (CMTs) 具有的特殊药理学特性,包括抑制基质金属蛋白酶 (MMPs) 活性、抑制骨吸收、可恢复成骨细胞的结构和功能、抑制可诱导的氮氧化物合成酶的表达和其他前炎性细胞素等^[1,2]。四环素抑制

MMPs,抑制骨吸收和可恢复成骨细胞的结构和功能特性,在骨科极具潜在的临床应用价值,有学者已将 CMTs 用作观察治疗骨质疏松、骨关节炎等以胶原过度分解为特征的骨科疾病。实验室前期的研究发现:低浓度盐酸四环素,可促进体外培养的人胚成骨

基金项目:国家高技术研究发展计划 (863) 资助项目 (2001AA216011); 北京科学技术委员会科技计划重大资助项目 (H060920050730)

作者简介:李莉 (1981 -), 女,正攻读药理学专业的硕士学位。

* 通讯作者 (Correspondent author), E - mail: dengli2000@ 21cn. com



© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net