

金银花脂溶性成分的气相-质谱联用分析

王 静, 李 峰, 陈永新, 刘亚鲁

(山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355)

[摘要] 目的: 探讨金银花脂溶性成分的组成及其研究意义。方法: 采用索氏提取法提取脂溶性成分, 用气相毛细管柱进行分析, 归一化法测定其相对含量, 并用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法鉴定其化学成分。结果: 检出37个色谱峰, 鉴定出25个化合物, 占总组分的98.87%。脂溶性成分主要为脂肪酸和烃类, 其中10种脂肪酸占总脂溶性成分的46.18%, 9种烃类化合物占总脂溶性成分的33.88%; 酯类成分和植物甾醇为次要成分, 分别占总脂溶性成分的9.21%和8.39%。结论: 金银花中的脂溶性成分种类丰富并具有一些药理活性, 气相-质谱联用技术能够有效地分析金银花中脂溶性成分。

[关键词] 金银花; 脂溶性成分; 气相色谱-质谱

[中图分类号] R284.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-659X(2011)05-0450-03

GC-MS analysis of liposoluble contents from the flowers of *Flos Lonicerae japonicae* WANG Jing, LI Feng, CHEN Yong-xin, LIU Ya-lu (College of Pharmacology of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] Objective: Analyze the chemical constituents of the liposoluble contents from *Flos Lonicerae japonicae* and its significance. Methods: The liposoluble contents of *Flos Lonicerae japonicae* were extracted by Soxhlet extraction and separated with GC capillary column. The relative content of every compound was determined by normalization method and the chemical compositions were evaluated by GC-MS. Results: Total 37 kinds of chromatographic peaks were isolated and 25 compounds were identified, accounting for 98.87% of the total liposoluble contents in *Flos Lonicerae japonicae*. The essential components of *Flos Lonicerae japonicae* were fatty and acid hydrocarbon compounds, 46.18% of the total liposoluble contents were 10 kinds of fatty acid, 33.88% of the total liposoluble contents were 9 kinds of hydrocarbon compounds. Phytosterol and esters contents were the secondary composition, accounting for 9.21% and 8.39%. Conclusion: There are many kinds of liposoluble contents in *Flos Lonicerae japonicae* and they also have some certain pharmacological activity. GC-MS method can analyze the liposoluble contents of *Flos Lonicerae japonicae* effectively.

[Key words] *Flos Lonicerae japonicae*; liposoluble contents; GC-MS

金银花为忍冬科忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或初开的花, 具有清热解毒、凉散风热之功效, 用于痈肿疔疮, 喉痹, 丹毒, 热毒血痢, 风热感冒, 温病发热^[1]。目前金银花的质量判断标准公认为绿原酸、木犀草苷的含量, 2010版《中华人民共和国药典》中规定金银花中绿原酸的含量不得少于1.5%; 黄酮类化合物木犀草苷的含量不得少于0.050%^[1]。有关金银花的研究众多, 热点也大多集中在抗氧化活性^[2]、挥发油化学成分的分析^[3]和解热抗炎活性成分如黄酮类、皂苷类、有机酸类等^[4-7], 关于脂溶性成分的分析却较少。但郭承军等^[8]在体外抗病毒实验中发现用石油醚提取的金银花脂溶性

成分抗流感病毒活性效果最为明显; 另有陈永新等^[9]认为提取金银花水溶性成分之前, 先提取脂溶性成分使其脱脂, 可更大程度地利用其脂溶性成分。故笔者为了进一步研究金银花脂溶性成分及其对金银花质量评价的影响, 利用全新的提取及甲酯化方法, 再结合气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术系统地分析了其化学成分, 旨在为金银花有效成分的进一步研究提供科学依据。

1 仪器和材料

1.1 药材 金银花购于山东省平邑县药材市场, 经山东中医药大学药学院李峰教授鉴定为忍冬科忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾或初开的花, 符合《中华人民共和国药典》(2010版)规定。

1.2 仪器和试剂 GC6890N/5975I型气相色谱/质谱联用仪(美国安捷伦公司); 石油醚(60~90℃), 无水乙醚、苯、氢氧化钾、无水甲醇等均为分析纯, 蒸馏水。

2 实验方法

2.1 金银花脂肪酸及其脂溶性成分的提取 取金

[收稿日期] 2010-11-19

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(编号: 2007CB512601); 山东省科技发展计划课题(编号: 2006GG2202017、2006GG3202003)

[作者简介] 王静(1986-), 女, 山东滨州人, 2009年硕士研究生。

[通讯作者] 李峰, 教授, 电话: 0531-89628172; E-mail: lifeng@sdu.tcm.edu.cn。

银花将其粉碎,过40目筛。称取20.00 g,用定量滤纸包裹后置于索氏提取器中,加入300 ml石油醚(60~90 °C)80 °C回流8 h,回收石油醚得浅黄色油状物0.54 g。

2.2 脂肪酸的甲酯化 在上述备用样品中加入2 ml 乙醚-苯(1:1)混合溶剂,使之溶解后加入0.8 mol·min⁻¹ 氢氧化钾-甲醇溶液摇匀,于常温下放置30 min,然后加入蒸馏水至刻度,待分层清晰后取上清液作色谱分析试样。

2.3 色谱条件 GC-MS 条件:色谱柱 HP-5 弹性石英毛细管柱(30 m×250 μm×0.25 μm);载气为氦气(99.999%),流量1 ml·min⁻¹;柱前压63 kPa,进样口温度250 °C,程序升温:80 °C→8 °C·min⁻¹→150 °C→

5 °C·min⁻¹→210 °C(3 min)→4 °C·min⁻¹→230 °C→5 °C·min⁻¹→280 °C(15 min);进样量:0.2 μl,分流比40:1,MS 条件:EI 离子源70 eV;离子源温度230 °C;连接器温度250 °C;溶剂延迟3 min;加速电压250 eV;扫描质量范围为50~550 amu。

3 结果

按照上述 GC-MS 条件对金银花提取液甲酯化后样品进行分析,其总离子流色谱图(TIC)见图1,通过 GC-MS 联用仪标准质谱数据库 NIST 2.0 进行检索,确认各化合物;通过 GC-MS 联用仪工作站数据处理系统,按峰面积归一化法计算各化合物相对的量,结果见表1。

表1 金银花脂溶性成分组成

序号	保留时间(<i>t</i> /min)	名称	分子式	相对分子量	相对含量(%)
1	4.26	1,1-二甲基-2-(3-甲基-1,3-丁间二烯基)环丙烷	C ₁₀ H ₁₆	136	0.13
2	23.97	十六酸甲酯(棕榈酸甲酯)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	8.05
3	27.23	(<i>Z,Z</i>)-9,12-十八烷二烯酸甲酯(亚油酸甲酯)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	10.88
4	27.38	9,12,15-十八烷三烯酸甲酯(亚麻酸甲酯)	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	14.56
5	27.66	(<i>E</i>)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇(植物醇)	C ₂₀ H ₄₀	296	1.20
6	27.95	16-甲基-十七酸甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	2.06
7	32.16	顺-11,14-二十碳二烯酸甲酯	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	322	1.98
8	32.90	二十酸甲酯(花生酸甲酯)	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	1.22
9	36.60	顺-7-十四烯酸醋酸酯	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	6.40
10	36.75	3-乙烯基-环辛烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.58
11	37.18	二十二酸甲酯(山萘酸甲酯)	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354	1.30
12	40.16	9-甲基-十九烷	C ₂₀ H ₄₂	282	3.41
13	40.70	木蜡酸甲酯	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382	3.02
14	41.75	1-溴二十烷	C ₂₀ H ₄₁ Br	361	0.46
15	43.25	二十一烷	C ₂₁ H ₄₄	296	16.49
16	43.74	蜡酸甲酯	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	410	1.22
17	44.68	2-甲基十一烷	C ₁₂ H ₂₆	170	0.45
18	46.31	8-庚基-十五烷	C ₂₂ H ₄₆	310	7.93
19	46.43	顺-5-二十烯	C ₂₀ H ₄₀	280	4.72
20	46.96	9-甲基-十九烷	C ₂₀ H ₄₂	282	1.88
21	48.86	二十八酸甲酯	C ₂₉ H ₅₈ O ₂	400	1.88
22	49.58	豆甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412	1.74
23	50.56	亚硫酸丁基十二烷酯	C ₁₆ H ₂₀ SO ₄	306	2.27
24	50.98	β-谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	414	5.44
25	51.44	16-妊娠双烯醇酮	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314	1.29

实验检出37个色谱峰,鉴定出25个化合物,占总组分的98.87%。其中10种脂肪酸占总脂溶性成分的46.18%,不饱和脂肪酸占总脂肪酸含量的59.38%,其中亚麻酸(14.56%)、亚油酸(10.88%),其余为饱和脂肪酸,其中十六酸(8.05%);9种烃类化合物占总脂溶性成分的33.88%;3种酯类成分和3种植物甾醇为次要成分,分别占总脂溶性成分的9.21%和8.39%。

4 讨论

4.1 金银花临床上应用广泛,其有效成分被公认为是绿原酸和木犀草苷,研究二者的文章比比皆是。然由中医的“整体观”^[10]可推知金银花中的各种成分均有其各自的功用,金银花脂溶性成分也不例外。

4.2 金银花脂溶性成分主要为脂肪酸(甲酯)和烃类,其中饱和脂肪酸十六酸具有一定抗肿瘤作用^[11]。不饱和脂肪酸亚油酸与脂类代谢、胆固醇代谢密切

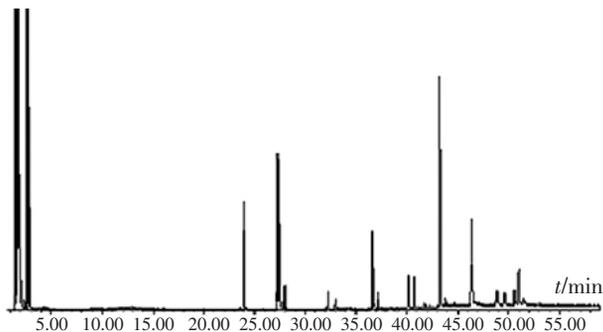


图1 金银花脂溶性成分GC-MS总离子流色谱图

相关,具有降低血脂和胆固醇、减少动脉粥样硬化^[12]等作用,并且有利于大脑发育^[13]和抑制癌细胞生长^[14]。另外,食品和药品中适量加入亚麻酸能降低血压和增加血液流动性。酯类成分和植物甾醇为次要化学成分,其中 β -谷甾醇具有抗肿瘤和抗炎活性^[15],因此,金银花脂溶性成分可认为具有一定的药理活性,金银花在抗肿瘤、治疗心血管疾病方面可以起到一定的作用。

4.3 金银花功效卓越、临床效果好,是目前应用非常广泛的一种中药。《中华人民共和国药典》2010年版中仅仅收录了水分、绿原酸及木犀草苷的测定项目,而未涉及脂溶性成分等方面。随着脂溶性成分研究的深入,笔者建议可以将其具体化并收入药典。金银花脂溶性成分的充分利用对提高金银花资源的综合利用效率以及增加金银花商品的内在价值具有重要意义。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中

国医药科技出版社,2010:205-206.

- [2] 黄雄,李萍,张重义,等. HPLC同时分析金银花中绿原酸和黄酮类成分的方法建立及其应用[J]. 中国药学杂志,2005,40(10):781-783.
- [3] 张宁,曹光群,林贵坤,等. 金银花叶的抑菌活性和抗氧化性研究[J]. 香料香精化妆品,2008,6(3):1-2.
- [4] 李会军,张重义,李萍. 忍冬不同药用部位挥发油成分分析[J]. 中药材,2002,25(7):476-477.
- [5] 邢俊波,李会军,李萍,等. 中药金银花质量标准研究——总黄酮的含量测定[J]. 中国现代应用药学,2002,19(3):169-170.
- [6] 张雪,何丙辉,杨宪. HPLC法测定金银花中常春藤皂苷元、齐墩果酸、槲皮素、木犀草苷和绿原酸[J]. 中草药,2008,39(10):1576-1577.
- [7] 周凤琴,冉蓉,李佳,等. 山东10个不同种质金银花绿原酸含量及其品质评价[J]. 山东中医杂志,2007,26(7):478-480.
- [8] 郭承军,石俊英. 金银花抗小鼠流感作用的谱效关系研究[J]. 中药药理与临床,2009,25(4):50-52.
- [9] 陈永新,李峰,周正礼,等. 金银花脂溶性成分的GC-MS分析[J]. 中国中医药信息杂志,2010,17(9):37-38.
- [10] 孙广仁. 中医基础理论[M]. 北京:中国中医药出版社,2002:62.
- [11] 胡志国. 卵叶娃儿藤生物碱的提取及其活性功能[D]. 南昌:南昌大学,2007:3.
- [12] Barzanti V M. Effects of oil, having different m6 and m3 fatty acid content on cholesterolemia and serum acid liver fatty acid composition in rats[J]. Riv Sci Aliment, 1986, 15(1-2):49.
- [13] 张庭延,高留英. 必需脂肪酸的生理病理意义[J]. 国外医学·生理、病理科学与临床分册,1998,18(2):148-151.
- [14] Cesano A, Visonneau S, Scimeca J A, et al. Opposite effects of linoleic acid and conjugated linoleic acid on human prostatic cancer in SCID mice[J]. Anticancer Res, 1998, 18:1429.
- [15] 董贺,张太平,李俊,等. 山楂中谷甾醇抑制肿瘤细胞的研究[J]. 中国生化药物杂志,2009,30(4):10.

信息之窗

我国专家发现国人肺癌易感位点

日前,南京医科大学公共卫生学院院长沈洪兵教授领衔的研究团队,在对8000余名肺癌患者和9000余名健康人的基因组进行分析比较后,成功筛查出6个肺癌风险基因位点,其中4个位点是首次报道的中国人肺癌易感位点。该研究结果7月初发表在国际顶尖学术期刊《自然·遗传》上。

据介绍,该研究是第一个中国人肺癌全基因组关联研究。全基因组关联研究是目前研究常见复杂疾病遗传易感性最重要和最有效的方法之一。该研究在国家“863”重大专项课题和国家自然科学基金重点项目等的资助下,由南京医科大学与中国医学科学院肿瘤医院、华中科技大学、复旦大学、中国医科大学、上海交通大学和广州医学院等国内多家单位合作完成。

据沈洪兵介绍,该项目运用高密度基因多态性(SNP)芯片,在全基因组范围检测了大样本量的肺癌患者和正常对照者的基因变异,并经过从南京、北京、上海、武汉、沈阳和广州地区收集到的大样本、多阶段的病例-对照验证,发现了4个染色体区域的6个遗传变异与中国人肺癌发病显著相关。位于染色体5p15区域的rs2736100变异与吸烟状态及吸烟量有基因-环境交互作用,该位点的危险性在女性、非吸烟人群以及肺腺癌患者中尤为显著。

该研究成果不但填补了肺癌全基因组关联研究中中国人数据的空白,而且对深入研究肺癌发生的分子机制、对肺癌高危人群的筛查、早期诊断和治疗等具有重要价值。

(摘自《健康报》2011年7月19日第1版)