

苗药走马胎超临界 CO₂ 流体萃取物中 挥发性成分的 GC-MS 分析

杨碧仙¹, 胡奇志², 胡馨³, 云雪林^{2*}

(1. 贵阳学院生物与环境工程系, 贵阳 550005; 2. 贵阳中医学院药学院, 贵阳 550002;
3. 贵州高原彝药厂, 贵阳 550004)

[摘要] 目的:研究苗药走马胎的挥发性化学成分。方法:采用超临界 CO₂ 萃取法(SFE)从苗药走马胎中萃取挥发性成分,萃取条件为:萃取釜压力 25 MPa,温度 50 ℃,萃取时间 2 h。用气相色谱法-质谱法(GC-MS)分离测定萃取物,结合计算机检索鉴定化合物结构,应用色谱峰面积归一化法计算各成分相对百分含量。结果:SFE 萃取物得率 1.7%,鉴定出 54 个化学成分,匹配度 >90% 的成分 38 个,占挥发油总数的 70.37%,主要为黄樟脑(29.44%)、榄香素(23.58%)、谷甾醇(12.43%)、亚麻油酸(11.32%)、安息香酸苄酯(4.64%)、洋橄榄油酸(3.37%)等。结论:苗药走马胎超临界 CO₂ 流体萃取条件及其挥发性成分的 GC-MS 研究,为利用和深入研究该药提供了依据。

[关键词] 苗药走马胎; 挥发性成分; 超临界 CO₂ 萃取; 气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0127-05

Chemical Constituents of the Volatile Oil from the Root of *Cinnamomum camphora* by Supercritical Carbon Dioxide Fluid Extraction by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

YANG Bi-xian¹, HU Qi-zhi², HU Xin³, YUN Xue-lin^{2*}

(1. Department of Biology and Environmental Engineering, Guiyang University, Guiyang 550005, China;
2. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;
3. Guizhou Plateau Yi Pharmaceutical, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of the volatile oil from the root of *Cinnamomum camphora*. **Method:** The essential oil was obtained by supercritical carbon dioxide fluid extraction (SFE). Extraction conditions were: extracting 2 h at 50 ℃, 25 MPa. Separation and determination of the extract were performed by GC-MS, structures were identified with computer retrieval technology, calculated the relative content of the extract with chromatographic peak area normalization method. **Result:** The extraction efficiency of SFE was 1.7%, 54 chemical constituents were separated and identified, 39 chemical compositions which matching degree above 90%, accounting for 70.37% of total volatile oil. Main constituents include safrole (29.44%), elemicin (23.58%), stigmasterol (12.43%), linoleic acid (11.32%), benzyl benzoate (4.64%), elaidinic acid (3.37%), etc. **Conclusion:** This paper reports the conditions of supercritical carbon dioxide fluid extraction of the root *C. camphora* and research the composition of volatile oils by GC-MS for the first time. Provides a basis for the use and in-depth study.

[Key words] *Cinnamomum camphora*; volatile oils; supercritical CO₂ fluid extraction; GC-MS

[收稿日期] 20120403(003)

[基金项目] 贵阳学院 2008 年度科研项目(2008036)

[第一作者] 杨碧仙, 硕士, 副教授, 从事中药及民族药化学成分及质量控制研究, E-mail: baidusan@163.com

[通讯作者] * 云雪林, 本科, 教授, 从事中药、民族药与民族医药方剂学研究, E-mail: tiemukun@163.com

走马胎是贵州苗族民间习用药材之一,又名香樟根,苗药名豆收,收载于《贵州省中药材、民族药质量标准》(2003 年版),为樟科樟属植物樟的干燥树根。走马胎药性辛温,具有祛风除湿、温中止痛、辟秽和中、活血通络等功效,用于胃脘疼痛、吐泻、风湿痹痛、跌打肿痛、皮肤瘙痒等病症^[1],广布于亚热带地区,贵州主要分布于从江、黎平、锦屏、天柱、惠水、赤水、贵阳等地,资源丰富。目前,可见有关香樟枝、叶精油及其抗氧化作用研究的报道^[2-5],尚未见有关苗药走马胎(香樟根)的研究报道。植物的挥发性成分在镇痛、抗风湿等方面表现出明显的药理作用^[6-7]。走马胎味辛,气味芳香浓郁,挥发性成分含量较高,是其镇痛祛风主要的药效成分。为充分利用走马胎药材和便于成方制剂质量控制,本研究采用超临界 CO₂ 流体萃取技术(SFE)从走马胎中提取挥发性成分,并用气相色谱-质谱联用法进行研究,为走马胎的进一步开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 HA120-40-0.5LSFE 装置(江苏华安科研仪器公司,中国科学院地球化学研究所),Agilent 7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦科技公司),多功能自动进样器(CTC);二氯甲烷为国产色谱纯试剂。

1.2 药材 走马胎购于贵州省药材公司,经贵阳中医学院生药教研室孙庆文副教授鉴定为 *Cinnamomum camphora* (L.) Presl. 的干燥树根。

2 方法

2.1 走马胎 SFE-CO₂ 萃取 将走马胎药材粉碎过 20 目筛,称量 130 g 装入萃取釜中,萃取温度为 50 °C,萃取压力为 25 Mpa,经循环萃取,并保持恒温恒压 2 h 后分离器出口出料,得到的超临界流体萃取物具有特殊气味,呈淡黄色半透明油脂状,重 2.2 g,得率为 1.7%。取走马胎 SFE-CO₂ 萃取物 0.1 g 用

10 mL 二氯甲烷溶解,过 0.45 μm 微孔滤膜放置于 5 °C 的冰箱中,待测。

2.2 GC-MS 分析条件

2.2.1 色谱条件 HP-5MS(5% 苯取代甲基硅酮)色谱柱(0.25 mm × 30 m × 0.25 μm),程序升温:60 °C 保持 5 min,然后以 2 °C · min⁻¹ 速率升温至 280 °C,保持 20 min,进样口温度 280 °C,载气高纯 He,柱流量 1 mL · min⁻¹,进样量 1.0 μL,分流比 10:1。

2.2.2 质谱条件 离子源温度 230 °C,四级杆温度 150 °C,电离方式 EI,电离电压 70 eV,辅助加热区 280 °C,溶剂延迟 2.00 min,采集模式:全扫描(Scan),质量扫描范围 *m/z* 35 ~ 450。

2.2.3 定性、定量分析 取待测走马胎 SFE-CO₂ 萃取物二氯甲烷溶液 1 μL,用 GC-MS 联用仪分析鉴定,质谱数据经计算机检索,通过美国 NIST08、Willy08 质谱图库检索并结合有关质谱图文献解析定性,采用峰面积归一化法定量分析,计算出各化学成分的相对百分含量。

3 结果与分析

按上述色谱-质谱条件对样品进行分析,获得苗药走马胎挥发性成分的总离子流图,见图 1。各色谱峰相应的色谱图和质谱数据经美国 NIST08、Willy08 质谱图库进行计算机检索,同时结合有关质谱图文献解析定性,采用峰面积归一化法定量分析,计算出各化学成分的相对百分含量,见表 1~2。

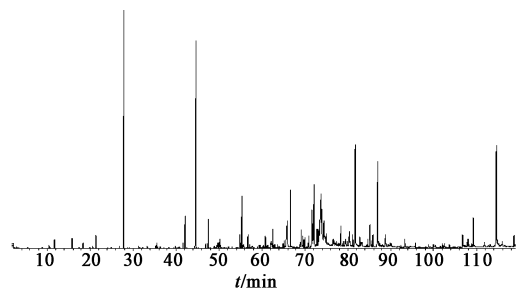


图 1 苗药走马胎挥发性成分的总离子流

表 1 苗药走马胎挥发性化学成分(匹配度 ≥ 90%)

No.	t _R /min	分子式	化合物	匹配度	相对含量/%
1	2.93	C ₇ H ₈	toluene 甲苯	90	0.04
2	7.05	C ₁₀ H ₁₆	α-pinene α-蒎烯	91	0.02
3	8.76	C ₁₀ H ₁₆	1,3-cyclohexadiene α-水芹烯	94	0.02
4	8.98	C ₆ H ₁₂ O ₂	hexanoic aci 正己酸	95	0.02
5	10.43	C ₆ H ₁₀ O ₂	5-hydroxyhexanoic acid lactone 己醇内酯	94	0.56
6	11.66	C ₁₀ H ₁₈ O	cineole 桉叶油醇	99	0.52
7	15.79	C ₁₀ H ₁₈ O	linalool L-芳樟醇	91	0.65

续表

No.	t_R /min	分子式	化合物	匹配度	相对含量/%
8	18.36	C ₁₀ H ₁₆ O	alcanfor 樟脑	98	0.37
9	19.75	C ₁₀ H ₁₈ O	borneol 龙脑	90	0.06
10	20.53	C ₁₀ H ₁₈ O	4-carvomenthenol 4-萜烯醇	96	0.17
11	21.97	C ₁₀ H ₁₂ O	4-allylanisole 草蒿脑	91	0.02
12	24.1	C ₁₀ H ₂₀ O	citronellol 香茅醇	98	0.05
13	24.84	C ₁₀ H ₁₆ O	cis-citral Z-2,6-二甲基-3,5,7-辛三烯-2-醇	90	0.09
14	26.81	C ₁₀ H ₁₆ O	citral 柠檬醛	97	0.22
15	27.86	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	safrole 黄樟脑	98	29.44
16	28.74	C ₁₆ H ₃₄	hexadecane 正十六烷	90	0.11
17	32.19	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	eugenol 丁香酚	97	0.09
18	33.21	C ₁₅ H ₂₄	α -cubebene 榄香烯	94	0.19
19	35.33	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	methyl eugenol 甲基丁香酚	98	0.25
20	35.57	C ₁₂ H ₂₄ O	dodecanal 月桂醛	91	0.41
21	36.32	C ₁₅ H ₂₄	α -caryophyllene α -石竹烯	93	0.11
22	41.69	C ₁₄ H ₂₈ O	tetradecanal 肉豆蔻醛	92	0.43
23	42.18	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	myristicin 肉豆蔻醚	96	2.77
24	44.59	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	elemicin 榄香素	95	23.58
25	46.95	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)phenol 4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯酚	98	0.40
26	48.84	C ₁₅ H ₂₆ O	elemol 橄榄醇	91	0.27
27	49.53	C ₁₅ H ₂₆ O	α -cadinol 愈创醇	90	0.27
28	49.68	C ₁₀ H ₈ O ₃	3,4-methylenedioxycinnamaldehyde 3,4-亚甲二氧基肉桂醛	96	0.45
29	50.44	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	tridecanoic acid 十三酸	99	0.28
30	52.26	C ₁₅ H ₃₀ O	2-pentadecanone 2-十五酮	91	0.16
31	55.36	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	benzyl benzoate 安息香酸苯酯	98	4.64
32	57.12	C ₁₆ H ₃₀ O	9-hexadecenal 9-十六烯醛	91	0.30
33	73.58	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	linolic acid 亚麻油酸	99	11.32
34	73.89	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	elaidinic acid 洋橄榄油酸	99	3.37
35	106.7	C ₂₀ H ₃₈ O ₆	cubebinolide 葎澄茄内脂	93	1.20
36	111.74	C ₂₈ H ₄₈ O	ergost-5-en-3-ol 菜油甾醇	99	0.58
37	114.58	C ₂₉ H ₅₀ O	stigmast-5-en-3-ol 谷甾醇	99	12.43
38	118.7	C ₂₉ H ₄₈ O	stigmast-4-en-3-one 豆甾-4-烯-3-酮	99	1.37

表 2 苗药走马胎挥发性化学成分(匹配度 83% ~ 89%)

No.	t_R /min	分子式	化合物	匹配度	相对含量/%
1	3.37	C ₆ H ₁₂ O	hexanal 己醛	85	0.03
2	5.52	C ₈ H ₈	cinnamene 苏合香烯	83	0.04
3	8.03	C ₇ H ₁₂ O	trans-2-heptenal (<i>E</i>)-2-庚烯醛	83	0.02
4	8.89	C ₁₀ H ₁₆	beta-pinene β -蒎烯	88	0.06
5	17.51	C ₉ H ₁₀ O	phenylacetone 苯基丙酮	83	0.09
6	19.91	C ₁₀ H ₁₈ O	4-terpineol 4-松油醇	86	0.04
7	21.43	C ₁₀ H ₁₈ O	alpha-terpineol α -松油醇	87	0.92

续表

No.	t_R /min	分子式	化合物	匹配度	相对含量/%
8	29.17	C ₁₁ H ₂₂ O	undecanal 十一醛	86	0.05
9	30.45	C ₉ H ₁₀ O ₂	2-methoxy-4-methylbenzaldehyde 4-甲基-2-甲氧基苯甲醛	83	0.03
10	34.63	C ₈ H ₈ O ₃	vanillin 香草醛	84	0.02
11	39.89	C ₁₅ H ₂₂	curcumene 姜黄烯	87	0.19
12	40.42	C ₁₅ H ₂₄	germacrene 吉马烯	88	0.06
13	40.66	C ₁₅ H ₂₄	β -selinene β -瑟林烯	86	0.15
14	40.86	C ₁₅ H ₂₄	α -selinene α -瑟林烯	89	0.08
15	49.36	C ₁₅ H ₂₆ O	nerolidol 橙花叔醇	84	0.05
16	125.15	C ₂₉ H ₄₈ O ₂	stigmastane-3,6-dione 5 α -豆甾烷-3,6-二酮	87	0.97

共鉴定出 54 种化合物,经计算机 NIST08、Willy08 质谱图库检索,图谱匹配度 $\geq 90\%$ 的化合物共有 38 种,占已鉴定化合物总数的 70.37%,其中相对含量较高的化合物包括黄樟脑(29.44%)、榄香素(23.58%)、谷甾醇(12.43%)、亚麻油酸(11.32%)、安息香酸苄酯(4.64%)、亚油酸(3.37%)、肉豆蔻醚 2.77%、豆甾-4-烯-3-酮 1.37%、萜澄茄内酯 1.2% 等 9 种,其含量总和占挥发油总量的 90.12%;匹配度介于 83~89% 的挥发性化学成分共 16 种,占已鉴定化合物总数的 29.63%。

4 讨论

比对以往有关香樟叶、香樟果实的挥发性成分研究报道^[4,8],苗药走马胎中所含挥发性化学成分有较大不同。其主要成分中,黄樟脑具有麻醉镇静的作用,还是生产香精、香料的主要原料^[9];榄香素、肉豆蔻醚具有镇痛、抗过敏、抗炎等药理作用^[10];安息香酸苄酯可以作为樟脑的代用品;谷甾醇是植物界常见的植物甾体物质,具有清除自由基、抗氧化、降低血清胆固醇的作用^[11];亚油酸为不饱和脂肪酸,是人体必须且不能合成的脂肪酸,具有降低血清胆固醇和甘油三酯,防止动脉粥样硬化及血栓形成,预防心脑血管疾病的作用^[12]。表明苗医传统以香樟的根部作走马胎入药具有一定的科学依据,并与苗医将该药材用于治疗风湿痹痛等疾病的临床经验相吻合,将来可进一步对其药理作用机制进行深入探讨研究。

《中华本草》记载的走马胎药材为紫金牛科植物走马胎 *Ardisia gigantifolia* Stapf 的干燥根及根茎^[13],其相关的药材鉴定、化学成分、药理作用的研究

有一些报道^[14-17],但调研发现贵州苗族习用并称之为走马胎(苗药名:豆收 Det dleb)的药材来源为香樟根,《贵州省中药材、民族药质量标准》(2003 年版)已将香樟根作为走马胎药材加以收载。目前,有关香樟根的研究鲜有报道,而该药材作为黔产“冰枢伤痛气雾剂”和“复方伸筋胶囊”两种苗药制剂的主要成分,其化学成分、药效及质量控制研究非常必要。本文通过对苗药走马胎挥发性成分的提取与分析研究,对完善苗药走马胎的质量标准、合理开发利用苗药走马胎资源具有重要的意义。

[参考文献]

- [1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准(2003 年版)[M]. 贵阳:贵州科技出版社, 2003:285.
- [2] 刘亚,李茂昌,张承聪,等. 香樟树叶挥发油的化学成分研究[J]. 分析实验室,2008,27(1):88.
- [3] 吴学文,熊艳,游奎一. 湖南产樟树不同部位精油分析[J]. 天然产物研究与开发,2008,20(6):1035.
- [4] 孙崇鲁,黄克瀛,陈丛瑾,等. GC-MS 分析樟叶和枝中挥发油的化学成分[J]. 香料香精化妆品,2007,35(1):7.
- [5] 刘咏,张宗贤. 香樟叶出油最佳提取条件的实验研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(2):203.
- [6] 赵鑫,朱玲,肖玉平,等. 活络油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):116.
- [7] 孙慧玲,王俊霞,顾雪竹,等. 山胡椒叶及果实挥发性成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):94.
- [8] 梁光义,邱德文,魏惠芬,等. 樟果实挥发油的研究[J]. 贵阳中医学院学报,1994,16(4):59.

重庆后山梔子和国内其他产区梔子 主要药效成分含量对比

陈绍成¹, 石燕红², 杨娜², 王瑞^{2*}

(1. 重庆教育学院生物与化学工程系, 重庆 400067; 2. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203)

[摘要] 目的: 采用超高效液相色谱法测定与比较重庆后山梔子和国内其他产区梔子中梔子苷和西红柿苷-1 的含量。方法: 采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 流动相甲醇-0.2% 磷酸水溶液, 梯度洗脱, 检测波长 238, 440 nm, 流速 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C。结果: 梔子苷在 0.008 1 ~ 1.300 g·L⁻¹ 内呈良好线性 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率 99.6 % (RSD 1.24 %); 西红柿苷-1 在 0.008 7 ~ 1.392 g·L⁻¹ 呈良好线性 ($r=0.999\ 9$); 平均回收率 101.0 % (RSD 1.9%)。结论: 该方法简便可靠, 可为重庆后山梔子的品质评价与进一步开发利用提供科学的参考依据。

[关键词] 重庆后山梔子, 梔子苷, 西红柿苷-1, 超高效液相色谱法, 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0131-04

Comparison of Main Effective Constituent Content of *Gardenia jasminoides* in Chongqing Hou-shan and Other Domestic Areas

CHEN Shao-cheng¹, SHI Yan-hong², YANG Na², WANG Rui^{2*}

(1. Chongqing Education Institute Biology and Chemistry Engineering, Chongqing 400067, China;
2. Shanghai University of Traditional Chinese Medicines, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To determine and compare the main effective constituent (geniposide and crocin-1) content of *Gardenia jasminoides* in Chongqing Hou-shan and other domestic by ultra-performance liquid chromatography (UPLC). **Method:** The samples were separated at 30 °C on a Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) column eluted with methanol and water containing 0.2% phosphate acid as mobile

[收稿日期] 20120328(002)

[基金项目] 重庆市科技攻关项目(CSTC2011AC5173)

[第一作者] 陈绍成, 副教授, 从事天然药物的开发及质量标准的研究, Tel: 13908261395, E-mail: csc1966109@sohu.com

[通讯作者] *王瑞, 副教授, 从事中药活性成分与质量标准研究, Tel: 021-5132 2181, E-mail: wr@shutcm.edu.cn

- [9] 丁智慧, 陈家铃, 丁靖垠. 杜衡的化学成分[J]. 化学研究与应用, 1999, 11(5): 513.
- [10] 吴贻谷. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1034.
- [11] 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): 270.
- [12] 李晓菲, 宋文东, 纪丽丽, 等. 薯蓣块茎脂肪和挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 129.
- [13] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草·第 2 册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 567.
- [14] 杜泽乡. 走马胎及其两种混伪品饮片的鉴别[J]. 中药材, 1995, 18(4): 183.
- [15] 杨竹, 黄敬辉, 王乃利, 等. 走马胎中新的岩白菜素衍生物的提取分离及体外抗氧化活性测定[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(1): 30.
- [16] 沈诗军, 周定刚, 黎德兵. 走马胎提取液体内抗血栓作用研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(9): 2224.
- [17] 李群芳, 娄方明, 段兴丽, 等. 气相色谱-质谱联用法测定走马胎挥发油成分[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2883.

[责任编辑 顾雪竹]