

组培茅苍术挥发油的气相色谱质谱联用分析

陶燕, 巢建国, 刘海萍
(南京中医药大学, 江苏 南京 210046)

摘要:目的:分析组织培养再生植株栽培后所得茅苍术的根茎中所含挥发油的化学成分,对组织培养技术生产的茅苍术药材进行品质评价。方法:采用水蒸气蒸馏提取法提取药材挥发油,利用GC-MS联用技术进行分析。结果:从组织培养再生植株栽培茅苍术的根茎中鉴定出22个化合物。结论:组织培养技术所生产的茅苍术主要含有β-桉叶醇、苍术醇、苍术素等成分,与野生茅苍术所含成分没有显著差异。
关键词:茅苍术;气质联用;组织培养;挥发油
中图分类号:R284 **文献标识码:**A
文章编号:1007-2349(2007)02-0039-02

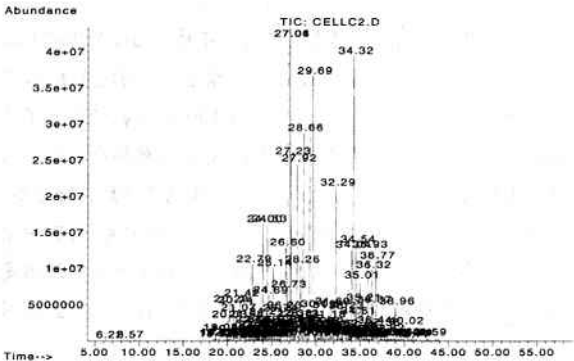


图1 茅苍术组培品的总离子流图

表1 组培茅苍术挥发油的主要化学成分

序号	化合物名称	分子式	分子量	相对含量 (%)
1	Unidentified 未鉴定	C ₁₅ H ₂₄	204	0.084
2	1R-α-蒎烯(1R-α-Pinene)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.012
3	α-水芹烯(α-Phellandren)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.012
4	Unidentified 未鉴定	C ₁₅ H ₂₄	204	0.214
5	11-α-桉叶烯(11-α-Eudesmene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.360
6	石竹烯(Caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.282
7	γ-榄香烯(γ-Elemene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.412
8	葑烯(Humulene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.216
9	Unidentified 未鉴定	C ₁₁ H ₁₈	150	0.092
10	1-甲基-4(1,5-二甲基-4-乙基基)苯 (1-methy-4(1,5-dimethy-4-hexene)-benzene)	C ₁₅ H ₂₂	202	0.271
11	β-桉叶-7(11)-烯(β-Eudesm-7(11)-en)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.056
12	11-β-桉叶烯(11-β-Eudesmene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.895
13	β-倍半水芹烯(β-Sesquiphellandene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.191
14	4,11-桉叶二烯(4,11-dien-eudesn)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.603
15	Unidentified 未鉴定	C ₁₅ H ₂₂	202	0.294
16	榄香醇(Elemol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.012
17	Unidentified 未鉴定	C ₁₅ H ₂₂	202	0.495
18	Unidentified 未鉴定	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.985
19	石竹烯氧化物(Caryophyllene oxide)	C ₁₂ H ₁₈ O	178	0.186
20	愈创醇(Guaiol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.266
21	Unidentified 未鉴定	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.393
22	苍术醇(Hinesol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	3.216
23	β-桉叶醇(β-Eudesmol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	14.304
24	Unidentified 未鉴定	C ₁₂ H ₈	152	4.562
25	Unidentified 未鉴定	C ₁₃ H ₁₀ O	182	0.243
26	苍术素(Atractylodin)	C ₁₅ H ₂₂ O	218	5.167
27	7-苯基-2-庚烯-4,6-二炔-1-醇 (7-phenyl-2-heptene-4,6-diyn-1-ol)	C ₁₃ H ₁₀ O	182	22.676
28	棕榈酸(Palmitic acid)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.616
29	Unidentified 未鉴定	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	162	1.131
30	Unidentified 未鉴定	C ₁₄ H ₂₀	188	1.142
31	Unidentified 未鉴定	C ₁₄ H ₂₀	188	1.368
32	亚油酸(Noleic acid)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	0.286
33	2-[(3,7)-二甲基-2,6-辛二烯]-4-甲氧基苯酚 (2-[(3,7)-Dimethyl-octa-2,6-dieryl]-4-methoxy-phenol)	C ₁₇ H ₂₄ O ₂	260	0.092
34	7-乙基-1,4-二甲基茚并芳庚(Azulene-7-ethyl-1,4-dimethyl)	C ₁₄ H ₁₆	184	0.41

茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 为菊科多年生草本植物,根茎作苍术入药,临床应用广泛。采用组织培养技术进行其快速繁殖,可获得大量再生植株,栽培后得到茅苍术组培药材,利用GC-MS联用技术进行分析,从而对组织培养技术能否应用于茅苍术药材生产进行初步评价。

1 仪器和样品

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 HP5973-GC6890 气相色谱-质谱联用仪;

1.1.2 试剂 乙醚(分析纯)。

1.2 样品 茅苍术组培药材;2004年4月于南京中医药大学药用植物组织培养实验室培育出茅苍术试管苗,炼苗2~3天后移栽至江苏省宜兴市,10月采收。

2 实验方法

2.1 挥发油的提取 将药材洗净,除去须根,放阴凉处干燥,粉碎,过80目筛。取样品10g,置于500 ml圆底烧瓶中,加入200 ml蒸馏水,浸泡30min,用挥发油提取器按水蒸气提取法提取至油量不再增加。所得挥发油为褐色,有浓烈香气,用乙醚定容至2 ml,备用。

2.2 GC-MS分析条件 色谱柱:HP-5MS(30m×0.32mm,0.25μm)弹性石英毛细管柱;程序升温:初始温度60℃,保持5min,以5℃/min的速率升温至230℃,保持20min;分流进样,分流比为20:1,流速为1μl/ml;进样口温度250℃;倍增器电压:1600V;溶剂延迟:4min。

3 结果

按上述的GC-MS条件对挥发油进行分析,得到总离子流图,见图1。

对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图,经过质谱计算机数据系统检索,人工谱图解析,按各色谱峰的质谱裂片图与文献核对,查对有关质谱资料,对基峰、质核比和相对丰度进行直观比较,同时对一些主要组分采用标准物质对照,分别对各色谱峰加以确认,综合各项分析鉴定,确定出组培茅苍术挥发油中的化学成分。

从组培茅苍术中分离出71个色谱峰,鉴定出22个成分,采用气相色谱数据处理系统,以面积归一化法获得挥发油各组分相对百分含量,主要成分见表1。

基金项目:江苏省中医药局科研课题资助项目(2003)
作者简介:陶燕(1981~),女,硕士研究生,主要从事中药资源的研究。

多指标考察三七皂苷的大孔树脂法纯化工艺

杨日丽¹, 刘 慧², 任 宏¹

(1. 广东化工制药职业技术学院, 广东 广州 510520; 2. 广东怡康制药有限公司, 广东 广州 510520)

摘 要:目的:多指标考察三七皂苷的大孔树脂法提取工艺。方法:采用高效液相梯度洗脱法作为含量测定方法,以三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rb1 三个指标考察了三七皂苷的大孔树脂纯化工艺。结果:高效液相梯度洗脱法用于三七纯化工艺中各皂苷的含量测定,各皂苷得到良好分离,结果准确、可靠。三七中各皂苷,随脂溶性的增大,大孔树脂纯化的收率呈下降趋势。结论:用高效液相梯度洗脱法测定三七中三种皂苷能更加有效的评估大孔树脂纯化工艺,有利于工艺优化。

关键词:DI01 大孔树脂;三七高效液相;三七皂苷 R1;人参皂苷 Rg1;人参皂苷 Rb1

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1007-2349(2007)02-0040-02

五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Bruk.) F. H. Chen, 具有散瘀止血,消肿定痛的功效,其中三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rb1 是其主要的药效成分。采用大孔树脂提取纯化三七皂苷,是较为成熟的工艺,但一般只用紫外分光光度法测定总皂苷做为评价指标^[1~2]。Rb1 的含量考察了三七皂苷的大孔树脂纯化工艺,方法更加专属、准确。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪包括二元高压泵、2487 检测器、Waters Xterra RP18 5 μ m (4.6 $\times$ 150mm) 柱、Breeze 工作站(美国 Waters);三七为市售;三七皂苷 R1、人参皂苷 Rg1、人参皂苷

Rb1 含量测定对照品(中国药品生物制品检定所);DI01 型大孔树脂(天津农药股份有限公司树脂分公司);自制重蒸馏水;色谱纯乙腈(德国 Merck);其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 树脂型号选择 选用普遍用于皂苷分离的 DI01 型大孔树脂。

2.2 树脂预处理 用工业乙醇浸泡数天,装柱后用工业乙醇洗至流出液与水 1:2 混合不产生混浊,改用大量水洗,水浸泡备用。

2.3 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填料;乙腈:0.05%磷酸溶液梯度洗脱。0~20min,比例从 15:85 线性增加到 30:70;20~25min,比例从 30:70 线性增加到 45:55;25~30min,比例从 45:55 线性递减到 15:85。检测波长为 203nm,流速 1.0ml/min^[3~4]。

2.4 对照品溶液的制备 精密称取在五氧化二磷干燥器中干燥至恒重的三七皂苷 R1 1.00mg、人参皂苷 Rg1 2.5mg、人参皂苷 Rb1 2.00mg 置 5ml 量瓶中,加乙腈-水(19:81)至刻度,摇匀,即得(每 1ml 含三七皂苷 R1 0.20mg, Rg1 0.50mg, Rb1 0.40mg)。

2.5 供试品溶液的制备 取药材粉末或者样品适量,置 5ml 容量瓶中,加乙腈-水(19:81)4ml,超声处理 45min,放冷,定容。

2.6 线性关系及线性范围 取对照品溶液,分别以 2、4、12、16 μ L 进样,测定峰面积。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐

一步的试验进行验证。

参考文献:

- [1]吉力,敖平,潘炯光,等. 苍术挥发油的气相色谱-质谱联用分析[J]. 中国中药杂志,2001,26(3):182~185.
- [2]贾春晓,毛多斌,张文叶,等. 大别山野山苍术挥发油化学成分研究[J]. 中药材,2004,27(8):571~574.
- [3]孟青,冯毅凡,郭晓玲,等. 苍术有效部位化学成分的研究[J]. 中草药,2004,35(2):140~141.
- [4]刘晓东,阎雪,卫永第,等. 苍术挥发油成分的分析[J]. 分析测试学报,1998,17(3):56~57.
- [5]黄昌全,雷正杰,张忠义,等. 苍术超临界 CO₂ 萃取物化学成分分析[J]. 中药材,2001,24(10):726~727.
- [6]王锡宁,郭明才. 茅苍术挥发油化学成分的分析研究[J]. 中药卫生检验杂志,2003,13(3):295~297.

(收稿日期:2006-09-11.)

4 讨论

在鉴定出的组分中,组培茅苍术主要含有 β -桉叶醇(14.304%)、苍术素(5.167%)、苍术醇(3.216%)^[1~3]、4,11-桉叶二烯(1.603%)、7-苯基-2-庚烯-4,6-二炔-1-醇(22.676%)等成分。其中前三者已有多数文献报道,但在相对含量上有较大差异。其他如棕榈酸^[4](0.616%)、 γ -榄香烯^[5](0.412%)、亚油酸^[4](0.286%)、石竹烯^[5~6](0.282%)、愈创醇^[2,4](0.266%)、葎草烯^[1,2,5](0.216%)、石竹烯氧化物^[6](0.186%)、榄香醇^[1~3,5~6](0.012%)、 α -蒎烯^[1~3,6](0.012%)、 α -水芹烯^[1~3,5~6](0.012%)等成分也有报道。萜醇类组分和倍半萜烯类组分在挥发油中相对含量较高,另含有少量苯、苯酚类化合物。

组培茅苍术的主要化学组分与野生茅苍术所含的主要成分相似,但在含量上有一定的差异,因此组培茅苍术是否能够真正代替野生或栽培茅苍术用于临床还需要进