

SFE-CO₂ 等方法提取没药化学成分及其 GC-MS 研究王 勇^{1,2}, 赵艳红^{1,2}, 陈 彦¹, 潘国梁^{1,2}, 贾晓斌^{1,2*}

(1. 江苏省中医药研究院 江苏省现代中药制剂工程技术研究中心, 江苏 南京 210028; 2. 江苏大学, 江苏 镇江 212013)

没药为常用中药, 为橄榄科植物没药树 *Commiphora myrrha* Engl. 或爱伦堡没药 *Balsamodendron ehrenbergianum* Berg. 皮部渗出的树脂, 主要含 2.5%~9% 的挥发油、25%~35% 的树脂、57%~65% 的树胶等成分, 具活血、消肿止痛的功效。榄香烯(包括 α 、 β 和 γ -榄香烯 3 种)是近年来我国首先从姜科植物温郁金(温莪术)的根茎中提取的有效成分, 现代药理和临床研究^[1~4]表明榄香烯有很好的抗肿瘤功效, 对多种肝癌细胞的生长、增殖、凋亡有重要影响, 是一种新型的抗癌药物。杨卫贤^[5]的研究表明 β -榄香烯在没药挥发油中含的较多, 本研究采用 4 种方法提取没药, GC-MS 对各提取物及其成分进行了分析比较, GC 法测定 β -榄香烯, 为进一步研究没药提供了有益参考。

1 仪器与试剂

没药购于南京江宁区康怡中药饮片有限公司, 经鉴定为橄榄科植物没药树 *Commiphora myrrha* Engl. 树皮渗出的树脂。 β -榄香烯对照品(质量分数大于 98%), 大连医药科学研究所李志教授赠送。丙酮等为分析纯。Agilent 6890N 气相色谱仪, Agilent 6890N 气质联用仪, 超临界 CO₂ 萃取实验台(江苏大学、江苏海安应用石油设备制造厂联合研制); 超声器 KQ-100B 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

2 没药的 4 种提取方法及供试品溶液的制备

2.1 水蒸气蒸馏法(SD): 称取没药粗粉 80 g, 精密称定, 依 2000 年版《中华人民共和国药典》一部提取没药挥发油, 用无水 Na₂SO₄ 脱水, 计算得率。

2.2 超临界 CO₂ 萃取法(SFE-CO₂): 称取没药粗粉 80 g, 置超临界 CO₂ 萃取釜中, 萃取条件为: 压力 25 MPa, 萃取温度 45 °C, CO₂ 流量 100 L/h, 解析釜温度 55 °C, 萃取时间 8 h, 得没药超临界 CO₂ 萃取物, 计算得率。

2.3 索氏提取法(SX): 称取没药粗粉 80 g, 精密称

定, 置索氏提取器中, 石油醚提取至提取液近无色, 合并提取液并滤过, 回收石油醚后得淡黄色提取物, 计算得率。

2.4 超声提取法(SC): 称取没药粗粉 80 g, 精密称定, 石油醚超声 2 次, 合并提取液并滤过, 回收石油醚后得黄色提取物, 计算得率。

2.5 供试品溶液的制备: 取以上 4 种方法所得没药提取物各 60 mg, 精密称定, 置 2 mL 量瓶中以丙酮溶解并稀释至刻度, 作为供试品溶液。

3 色谱条件及测定结果

3.1 GC 条件: Agilent 6890N 气相色谱仪, FID 检测器, 载气为氮气, HP-5 MS 毛细管石英柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μ m); 升温程序: 150 °C $\xrightarrow{2\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 250 °C; 柱前压 65 kPa; 分流比 50 : 1, 气化室温度 250 °C, 检测器温度 250 °C; 进样量 2 μ L。

3.2 GC-MS 条件: Agilent 6890N 气质联用仪, 载气为氦气, HP-5 MS 毛细管石英柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μ m); 升温程序: 150 °C $\xrightarrow{2\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 250 °C; 柱前压 65 kPa; 分流比 50 : 1, 气化室温度 250 °C, 检测器温度 250 °C; 分辨率 600, 电离方式 EI, 电离电压 70 eV, 离子源温度 200 °C; 扫描范围 30~350 amu, 扫描速度 1 s/dec; 进样量 1 μ L。

3.3 测定方法及结果: 取各供试品溶液, 依 GC-MS 和 GC 条件进行测定, 结果见表 1、2。

SFE-CO₂ 萃取物中鉴定出 39 个成分, 萃取物中含有较多的挥发油, 其中 β -榄香烯、呋巴烯、大根香叶烯、 γ -榄香烯等质量分数较高; 除含有挥发油外, 还含有较多五环三萜等树脂成分; 水蒸气蒸馏物中鉴定出 32 个成分, 绝大部分为挥发性强的单萜、倍半萜等挥发油, 挥发油中 β -榄香烯等质量分数最高; 超声和索氏提取物中分别鉴定出 27 和 30 个成分, 提取物中主要为挥发油, 其中 β -榄香烯质量分数均为最高。

收稿日期: 2004-10-20

基金项目: 江苏省 135 工程重点人才资助项目(65RC2002065)

作者简介: 王 勇(1978—), 男, 河南驻马店人, 江苏大学 2002 级硕士研究生, 研究方向为中药新剂型开发。

Tel: (025)85637809 E-mail: wydream2003@yahoo.com.cn

* 通讯作者 贾晓斌 Tel: (025)85637809 E-mail: jxiaobin@yahoo.com.cn

表 1 4 种没药提取物 GC-MS 分析结果

Table 1 Analytic results of four Myrrha extracts by GC-MS

序号	化学成分	4 种提取物中各成分质量分数/%				序号	化学成分	4 种提取物中各成分质量分数/%			
		SFE-CO ₂	SD	SC	SX			SFE-CO ₂	SD	SC	SX
1	4-乙烯基-4-甲基-3-(1-甲基乙 烯基)-1-(1-甲基亚乙基)环 己烯	1.19	8.34	1.65	2.29	23	2,6-甲基-咪啉	0.99	1.10	0.45	1.00
2	呋巴烯	9.14	7.07	—	1.94	24	γ-榄香烯	6.48	1.25	0.98	1.46
3	2,6,6,9-四甲基,三环[5.4.0. 02,8]十一-9-烯	3.24	0.27	—	0.35	25	(1aR,4aR,7R,7aR,7bS,-) (+)-[(+)-香橙烯]	0.17	0.30	—	—
4	α-毕澄茄烯	1.41	0.31	1.34	0.10	26	喇叭醇	0.34	—	—	0.84
5	2,6-二甲基-6(4-甲基-3-戊烯 基,双环[3.3.1]七-2-烯	—	1.28	—	0.26	27	2-环庚三烯酚酮	5.08	5.30	—	—
6	α-柏木烯	0.16	—	0.19	0.19	28	2,3-二胺-甲苯	0.48	5.87	—	—
7	[1a,2,3,4,4a,5,6,7b-8-氢- 1,1,4,7-四甲基-1H-环内 基[e]甘菊环]	—	2.30	—	0.15	29	十氢-4a-甲基-8-亚甲基-2-(1- 甲基亚乙基)萘烷醇	1.29	2.42	0.31	0.55
8	β-榄香烯	10.33	13.26	4.06	9.42	30	(-)-斯巴醇	5.23	6.93	0.26	—
9	2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基,双 环[4.4.0]十一-烯	1.00	2.85	0.32	0.28	31	杜松醇	0.48	0.56	—	—
10	(+)-epi-bicyclosesquiphellan- drene	3.86	2.03	0.37	0.32	32	十氢,α,4a-三甲基-8-亚甲基- 2-萘甲醇	1.19	0.78	0.22	—
11	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲 基-4-亚甲基-1-(1-甲基亚乙 基)萘	4.70	5.23	0.41	0.34	33	2-氨基-3-羟基-安息香酸或邻 氨基苯甲酸	—	—	—	0.24
12	β-石竹烯	2.35	0.44	0.17	0.16	34	4-异丙基-1,6-二甲基萘	0.81	1.14	4.03	3.70
13	大根香叶烯	6.36	2.04	0.09	1.84	35	十七烷	0.32	—	0.69	0.74
14	十氢-4a-甲基-1-亚甲基-7-(1- 甲基乙炔基)	—	—	1.71	2.49	36	β-elemenone	0.90	0.33	1.65	1.59
15	α-菝葜烯	—	0.61	—	—	37	癸二酸二乙酯	0.39	0.40	1.04	1.20
16	2-异丙烯基-4a,8-二甲基-1,2, 3,4,4a,5,6,8a-八氢萘	2.36	—	1.38	1.50	38	northiaden	—	—	0.15	—
17	1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲 基-1-(1-甲基亚乙基)萘	3.00	1.23	0.89	0.73	39	3,5,6,7,8,8a-六氢-4,8a-二甲 基-6-(1-甲基乙炔基),2(1H) 萘酮	1.52	1.71	—	—
18	十八烷	0.57	—	0.16	—	40	urs-12-en-24-oic acid,3-oxo, methyl ester	1.76	—	0.12	—
19	十五烷	0.35	—	—	—	41	olean-12-ene	3.65	—	—	0.03
20	4-乙烯基-α,α,三甲基-3-(1- 甲基乙炔基)环己烷甲醇	2.03	—	1.08	1.19	42	2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲 基-4-(1-甲基乙炔基),5(1H)- 甘菊酮	—	0.56	—	—
21	1,2,3,4,4a,7-六氢-1,6-二 甲基-4-(1-甲基亚乙基)萘	—	0.35	—	—	43	胆固醇	2.36	1.57	—	—
22	β-新丁香环三烯	1.02	0.98	1.45	0.44	44	12a,14,14a,14b-octadecahy- dro-2H-p-icen-3-one	1.53	—	0.21	—
						45	十六甲基-1,1,3,3,5,5,7,7, 9,9,11,11,13,13,15,15- 八硅氧烷	0.46	—	—	0.12
						46	β-香树脂醇	1.33	—	—	0.35
						47	D-α-生育酚	1.00	0.24	—	—

“—”表示未检出

“—”not be detected

表 2 4 种方法提取得率及各提取物中 β-榄香烯质量分数

Table 2 Yields by four methods and β-elemenone in every extract

提取方法	得率/%	β-榄香烯/%
SFE-CO ₂ 萃取	12.09	7.84
水蒸气蒸馏	1.58	8.15
索氏提取	5.75	1.48
超声提取	3.56	1.48

4 结论

SFE-CO₂ 萃取得率和 β-榄香烯质量分数较高,且萃取物中成分种类多,除含有效部位挥发油外还含有树脂等成分,同时又避免了提取过程中的高温和有机溶剂残留,总体评价该法优于其他 3 种方法。

5 讨论

5.1 李洪玉等^[6]的研究结果表明,没药炮制前后挥发油中 β-榄香烯质量分数均较高,为其中的主要成分之一;杨卫贤^[5]对没药挥发油成分的 GC-MS 分析表明,β-榄香烯质量分数达 16.6%,为挥发油中的主要成分,与胡珊梅等^[7]的研究结果基本一致;本研究表明 β-榄香烯为没药挥发油中主要成分之一,与文献报道基本相同。

5.2 没药挥发油为其有效部位之一,而挥发油中的 β-榄香烯质量分数相对较高且其具有独特的抗肿瘤药理作用,故选其质量分数为测定的指标。

5.3 GC-MS 鉴定结果表明,4 种萃取物中以 SFE-

CO₂ 萃取物种类较多,除文献报道的绝大部分成分外,还鉴定出环庚三烯酚酮、大根香叶烯和喇叭醇等;且萃取出了除挥发油外的树脂成分,如 urs-12-en-24-oci acid, 3-oxo, methyl ester, olean-12-ene、 β -香树脂醇等,以上成分在没药的研究中未见报道。传统认为没药挥发油为其有效部位,而 Mester^[8]的研究表明,树脂中的 2 个固醇类化合物在体外和体内试验证明有降血脂和脂肪分解作用,并可抑制肝匀浆胆固醇的合成;Tariq^[9]认为没药的油树脂石油醚提取物可明显抑制角又菜胶与棉球肉芽肿所致炎症,且小鼠试验证明有明显退热作用。以上研究说明挥发油只是没药有效部位之一,其树脂是否为有效部位有待于进一步探索。

5.4 没药为树脂类中药,高温容易结块,从而导致有效成分提取不完全、提取效率低,而传统的提取方法如水蒸气蒸馏等都需要高温,不利于没药有效成分的提取;而 SFE-CO₂ 萃取避免了以上缺点,较传统提取方法有优势,又该法以 CO₂ 为溶剂,尤其适用于没药等含脂溶性成分较多的药物;SFE-CO₂ 萃取还有一独特的优点即提取过程中使用夹带剂可得到不同极性的有效成分,GC-MS 测定结果也说明了这一点,即其他 3 种方法所得提取物中绝大部分为挥发油,而 SFE-CO₂ 萃取物中含有相对分子质量、极性相对较大的树脂等成分,对没药 SFE-CO₂ 萃取

过程中使用夹带剂情况有待于进一步研究。

致谢:江苏大学陈钧、欧阳臻、崔恒林老师在试验及 GC-MS 测试过程中给予的热心指导! β -榄香烯对照品由大连医药科学研究所李志教授馈赠。

References:

- [1] Zhang H, Zuo Y F, Zhang Y Z, et al. Experimental study on antitumor effect of elemene on ascites hepatoma cell line Hca-F₂₅/CL-16A₃N. Antitumor effect of elemene and observation on microscope and transmission electron microscope [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1997, 13(1): 19.
- [2] Xu X J, Zhou Z C. Elemene-induced apoptosis of SMMC-7721 cells of human hepatocellular carcinoma [J]. *Acta Acad Med Mil Tert* (第三军医大学学报), 1999, 21(4): 268.
- [3] Sun D J, Fang Q, Wang J S. Elemene induces apoptosis and regulates expression of Bcl-2 protein in human hepatic cancer 7402 cells and cervix cancer Hela cells [J]. *J Fudan Univ; Med Sci* (复旦大学学报:医学科学版), 2001, 28(5): 403.
- [4] Zuo Y F, Zhang Y Z, Wei W, et al. Experimental study on antitumor effect of elemene on ascites hepatoma cell line Hca-F₂₅/CL-16A₃ III. The effect of elemene on change of serum fatty acid relative composition [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1997, 13(1): 17.
- [5] Yang W X, Yuan Z R. GC-MS analysis of the constituents of volatile oil in Myrrha [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1989, 12(6): 34.
- [6] Li H Y, Sun J Y. Comparative study on main components of volatile oil from *Commiphora Myrrha* before and after being prepared by GC-MS combination [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1998, 20(9): 20.
- [7] Hu S M, Xu X H, Li L. Analysis on components of volatile oil from *Commiphora Myrrha* by GC-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(10): 733.

短葶山麦冬化学成分的研究

程志红, 吴 波, 余伯阳*, 徐璐珊

(中国药科大学 中药复方研究室, 江苏 南京 210038)

短葶山麦冬为百合科山麦冬属植物短葶山麦冬 *Liriope muscari* (Decn.) Bailey 的干燥块根, 是《中华人民共和国药典》1995 年版新增品种山麦冬的原植物之一^[1]。长期以来, 在市场上尤其是在福建省泉州、惠安、仙游等地作为麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L. f.) Ker-Gawl. 的替代品使用^[2]。国内外学者对该植物化学成分研究报道甚少, 仅有的文献集中在研究小组对其皂苷部分的研究上^[2]。已有的研究资料^[3]表明, 山麦冬属植物须根中的总皂苷远高于其块根, 为了全面反映该种植物的活性物质基础, 并对

其作为麦冬替代品做出初步的阐释, 同时也为进一步扩大药用植物资源, 对短葶山麦冬的须根进行了化学成分的研究, 共从中分离并鉴定了 11 个化合物, 分别为正二十五烷酸(I)、正三十一烷酸(II)、 β -谷甾醇棕榈酸酯和豆甾醇棕榈酸酯混合物(III)、齐墩果酸和熊果酸混合物(IV)、25(R)和 25(S)鲁斯可皂苷元混合物(V)、香草酸(VI)、对羟基桂皮酰酪胺(VII)、谷氨酸酐(VIII)、25(R)鲁斯可皂苷元-1-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃岩藻糖苷

收稿日期: 2004-08-21

基金项目: 江苏省“333 工程”基金资助(2000); 国家药品监督管理局科研基金资助(1998)

* 通讯作者 余伯阳 Tel: (025)85391042 E-mail: boyu@public1.ppt.js.cn