

石蒜属植物忽地笑中化学成分的 GC-MS 分析

王晓燕, 黄敏仁*, 韩正敏, 周 坚

(南京林业大学资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

忽地笑是石蒜属多年生草本植物, 多野生于山野阴湿处、丛林下或河岸边^[1]。性温, 味平甘, 有毒, 有消肿、消痛散毒之功效。也为强力催吐药, 可作进口吐根的代用品^[2]。其鳞茎含有多种生物碱, 1977、1985、1990、1995 年《中国药典》均载有加兰他敏氢溴酸盐的原料药和注射液, 1996 年以来, 氢溴酸加兰他敏的注射剂和片剂已成功用于小儿麻痹后遗症、重症肌无力、肠麻痹的治疗及作为抗箭毒类药物和手术麻醉后的催醒剂等^[3]。近年来, 由于毒副作用较少, 作为乙酰胆碱酯酶抑制剂, 氢溴酸加兰他敏已被国内外用于轻至中度阿尔茨海默综合症(AD)的治疗^[4]。本实验采用超声波萃取技术^[5]和 GC-MS 对其生物碱加兰他敏及其他化学成分进行了分析研究, 为石蒜属植物进一步的开发利用提供有力的依据。

1 实验部分

1.1 化学成分的提取: 野生忽地笑采自安徽滁州, 经南京林业大学黄敏仁教授鉴定。将鲜鳞茎去老皮及根须, 切成片状, 80 ℃干燥 24 h, 晾干后粉碎过 100 目筛待用。

称取 500 mg 忽地笑粉末, 加入 0.05 mol/L CHCl₃ 溶液 6.0 mL, 超声波提取 60 min, 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清液 3.0 mL, 加入 0.03 mol/L NaOH 溶液 1.0 mL, 再加入 CHCl₃ 12 000 r/min 离心 5 min, 取 CHCl₃ 层 1.0 mL 进行真空干燥后, 加入 1.2 mL 甲醇溶解, 8 000 r/min 离心 5 min, 取上清液进行检测。

1.2 仪器与实验条件: Thermo Finnigan Trace DSQ 气相-质谱仪(Thermo Quest Corporation, 美国)。

加兰他敏对照品为色谱纯, 美国 Sigma 公司, 甲醇及其他试剂均为色谱纯。

GC-MS 条件: DB-1 柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 载气: He, 载气流速为 1.0 mL/min, 进样品温

度: 260 ℃, 柱温箱升温程序: 200 ℃, 以 4 ℃/min 升温至 260 ℃, 保持 10 min。质量扫描范围: 50~400 aum, 离子源为 EI 源, 离子源温度为 260 ℃, 分流比为 10:1, 溶剂延迟 1.5 min。Nist 2000×calibur 谱库检索。

1.3 实验步骤

1.3.1 定性分析: 取 1.1 项下已提取的甲醇液 1.0 μL 进样, 注入气相色谱-质谱仪进行 GC/MS 分析, 共检出 15 个化合物峰及相对应的质谱峰, 通过 Xcalibur 化学工作站检索 Nist2000 标准质谱图解析, 并结合相关文献人工谱图解析^[4], 鉴定出 8 个化合物。

1.3.2 通过 Xcalibur 化学工作站数据处理系统, 以峰面积归一化法进行计算, 求得各化学成分的质量分数。

2 结果与讨论

忽地笑中鉴定出 8 个成分, 各成分质量分数见表 1。

表 1 化学成分分析结果

Table 1 Analysis of chemical constituents

峰序号	化合物名称	质量分数/%
1	十四烷基酸	1.19
2	加兰他敏	17.86
3	石蒜胺碱(力可拉敏)	50.22
4	pancracine(C ₁₇ H ₁₉ NO ₄)	6.96
5	水仙花碱	3.93
6	galanthan-1-ol, 3,12-didehydro-2,9,10-trimethoxy(1a, 2a)	3.63
7	石蒜碱	2.78
8	galanthan-11,12-diol, 3,12-didehydro-9,10-dimethoxy-(1a, 2a)	16.99

从甲醇提取物中共检出约 15 种化学成分, 其中生物碱占 99.81%, 鉴定出 8 种化合物, 占总成分的 53%(其中生物碱占 99.81%)。生物碱是存在于植物中的一大类化合物, 具有多种生物活性, 并且是一些药物的主要有效成分。生物碱加兰他敏是石蒜属

(下转第 217 页)

收稿日期: 2006-05-12

基金项目: 江苏省高校自然科学基金(04KJB220055); 国家科技部“863”计划部分资助(2002AA241051)

作者简介: 王晓燕(1965-), 女, 副研究员, 河南临颖人, 南京林业大学资源与环境学院博士。

* 通讯作者 黄敏仁

试验结果及方差分析见表 2、表 3。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素			
	A 乙醇体积 分数/%	B 固液比/ (g : mL)	C 提取 时间/h	D 提取 温度/℃
1	50	1 : 5	2	55
2	70	1 : 10	3	70
3	90	1 : 15	4	85

表 2 L₉(3⁴)正交试验结果

Table 2 Results of L₉(3⁴) orthogonal test

编号	A	B	C	D	总黄酮/%
1	1	1	1	1	0.407 7
2	1	2	2	2	0.422 1
3	1	3	3	3	0.581 0
4	2	1	2	3	0.587 4
5	2	2	3	1	0.375 2
6	2	3	1	2	0.500 5
7	3	1	3	2	0.377 5
8	3	2	1	3	0.387 0
9	3	3	2	1	0.261 7
K ₁	1.410 8	1.372 6	1.295 2	1.044 6	
K ₂	1.463 1	1.184 3	1.271 2	1.300 1	
K ₃	1.026 2	1.342 2	1.333 7	1.555 4	
R	0.145 6	0.062 7	0.020 9	0.170 3	

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	自由度	离差平方和	方差	F 值	显著性
A	2	0.037 95	0.018 97	57.2	P<0.05
B	2	0.006 84	0.003 42	10.3	
C(误差)	2	0.000 66	0.000 33		
D	2	0.043 49	0.021 74	65.5	P<0.05

实验结果分析可知,影响蔓荆子总黄酮提取的主次因素为 D>A>B>C,即提取温度>乙醇体积分数>固液比>提取时间。最佳提取工艺为 A₂B₁C₃D₃,即 5 倍量的体积分数为 70%的乙醇在 85℃下提取 4 h 为最佳提取工艺。方差分析可知,A 因素和 D 因素为显著因素,B 因素和 C 因素为不显著因素,即提取温度、乙醇的体积分数对提取蔓荆子总黄酮有显著影响。

2.5 最佳提取工艺的验证:精密称取 3 份干燥的蔓

(上接第 188 页)

植物忽地笑中主要次生代谢物,加兰他敏的氢溴酸盐已被国内外用于轻至中度阿尔茨海默综合症的治疗。通过对忽地笑中有效成分加兰他敏的分析评价,对进一步开发利用石蒜属资源提供了实验依据。

References:

[1] Wang R S. The ecogeography concerning genus *J. Lycoris* [J]. *Southwest Forest Coll* (西南林学院学报), 1999, 10(1): 41-48.

荆子各 10 g,按最佳工艺条件平行操作,测定吸光度,根据回归方程得出蔓荆子中总黄酮的提取率,结果见表 4。

表 4 最佳工艺的验证

Table 4 Results of optimum technology

批 号	总黄酮/%
1	0.654 3
2	0.639 2
3	0.620 0

结果表明:用最佳工艺条件提取,总黄酮的提取率均高于其他各正交试验值,故本最佳工艺条件合理,同时也表明此工艺具有较好的稳定性。

3 讨论

3.1 蔓荆子中所含的黄酮类化合物一般以苷元的形式存在,易溶于氯仿、醋酸乙酯、乙醇、甲醇等有机溶剂中,难溶于水。所以在提取后采取了浓缩后水沉,除去一些水溶性有色物质,以降低分光光度法测定总黄酮的误差。

3.2 蔓荆子中总黄酮的最佳提取条件为:乙醇的体积分数为 70%,固液比为 1 : 5,提取时间为 4 h,提取温度为 85℃。方差分析表明,提取温度和乙醇的体积分数是影响提取效果的显著因素,因此在提取过程中要注意控制温度。蔓荆子中的黄酮类化合物具有多种药理活性,有着良好的开发应用前景;该提取工艺具有稳定性好、黄酮得率高、操作简单、生产成本较低的优点,适用于工业生产,为开发蔓荆子总黄酮提供了较好的理论基础。

References:

[1] Lei Z Q. *Chinese Materia Medica* (中药学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2000.

[2] Xu N. Study on pharmacological active constituents of relaxing blood vessels from *Vitex trifolia* L. var. *simplicifolia* Cham. [J]. *Foreign Med Sci; Tradit Chin Med* (国外医学: 中医中药分册), 1999, 21 (5): 41.

[3] Zhang Z Z, Wei Y. Analysis of vitexin and p-hydroxybenzoic acid in *Fructus viticis* by adsorption thin-layer chromatography [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1994, 6 (3): 59-63.

[4] Wu Y Z, Zhu L H, et al. Comparion of the content of chemical constituents in *Fructus Viticis* from differetn areas [J]. *J Chin Mater Med* (中药材), 2000, 23 (10): 616-619.

[2] Ye J Q. *Bencao Gouchen* (本草钩沉) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technique Publishing House, 1988.

[3] Ma G G. Galanthamin for the treatment of Alzhdimer's Disease. progress [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 1998, 22(2): 153-156.

[4] Cong P Z. *The Application of Mass Spectrum to Natural Inorganic Chemistry* (质谱在天然无机化学中的应用) [M]. Beijing: Science Press, 1987.

[5] Wang X Y, Huang M R, Han Z M. Microwave assisted extraction of galanthamine [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2005, 21(6): 374-375.