

拉伯糖苷(querctin-3- O - α - D -arabinofuranoside)。

化合物 9: 25. 6~ 26. 5 min 时一级质谱给出准分子离子峰 m/z : 483. 1 $[M + Cl]^-$ 和 m/z : 447. 0 $[M - 1]^-$; 二级质谱 447. 0 $[(M + Cl) - 36]^-$ 为失去 1 个氯化氢的碎片离子峰; 三级质谱 301. 0 $[(M + Cl) - 36 - 146]^-$ 为失去 1 个鼠李糖的碎片离子峰。与已分得的槲皮苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为槲皮苷(querctin)。

化合物 10: 28. 2~ 29. 2 min 时一级质谱给出准分子离子峰 m/z : 461. 1 $[M - 1]^-$; 二级质谱 327. 9 $[(M - 1) - 133]^-$ 为失去 1 个木糖的碎片离子峰; 三级质谱 312. 9 $[(M - 1) - 133 - 15]^-$ 为失去 1 个木糖和 1 个甲基的碎片离子峰。与已分得的 3, 3'-二甲基鞣花酸-4- O - β - D -木糖苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为 3, 3'-二甲基鞣花酸-4- O - β - D -木糖苷(3, 3'-di- O -methylellagic acid-4- O - β - D -xylopyranoside)。

化合物 11: 31. 3~ 31. 6 min 时一级质谱给出准分子离子峰 m/z : 467. 0 $[M + Cl]^-$; 二级质谱 431. 1 $[(M + Cl) - 36]^-$ 为失去 1 个氯化氢的碎片离子; 三级质谱 284. 9 $[(M + Cl) - 36 - 146]^-$ 为失去 1 个氯化氢和 1 个鼠李糖的碎片离子峰。与已分得的山柰酚-3- O - β - D -鼠李糖苷的质谱图相同, 由此推断该化合物为山柰酚-3- O - β - D -鼠李糖苷(kaempferol-3- O - β - D -rhamnoside)。

化合物 12: 34. 9~ 35. 5 min 时一级质谱给出准分子离子峰 m/z : 329. 0 $[M - 1]^-$; 二级质谱 313. 9

$[(M - 1) - 15]^-$ 为失去 1 个甲基的碎片离子峰; 三级质谱 298. 9 $[(M - 1) - 15 - 15]^-$ 为失去 2 个甲基的碎片离子峰。与已分得的 3, 3'-二甲基鞣花酸的质谱图相同, 由此推断该化合物为 3, 3'-二甲基鞣花酸(3, 3'-di- O -methylellagic acid)。

3.3 讨论: 质谱检测器灵敏度远远高于 UV 与 TLC, 特别是对于紫外吸收较弱的物质, 可检测到较明显的信号, 结合多级质谱 MS^n 提供的特征碎片离子信息, 有利于中草药等复杂样品中微量成分的检测^[3]。离子阱质谱(ion trap mass spectrometry, ITMS) 属于多级质谱, 不仅可以给出化合物的相对分子质量, 还可以根据其多级质谱(multiple stage MS , MS^n) 的碎片信息来进一步推导化合物的结构。离子阱亦属于时间串联质谱, 偏重于定性, 有助于对未知结构化合物的解析^[4]。同时质谱作为一种痕量检测器, 可以通过液质联用的方法对特定化合物的可能存在进行药材种类上的广泛筛选, 以此为基础进行进一步的柱分离, 此法较薄层板点准确、灵敏度高, 降低柱分离的费用, 将反复柱色谱变为有效柱色谱。

参考文献:

- [1] 马金双, 程用谦. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 郭跃伟. 液相色谱/光谱(紫外、质谱及核磁共振)联用技术在中草药有效成分研究中的应用 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(5): 456-461.
- [3] 赵维民, 杨一鸣, 秦国伟, 等. 热喷雾液质联用技术在药用植物化学研究中的应用 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(3): 82-87.
- [4] 张尊建, 王源园, 李茜, 等. 密花石斛的 HPLC/UV/MS 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2004, 35(4): 393-395.

猫须草超临界 CO_2 萃取物的 GC-MS 分析及其抑菌作用

赵雪梅¹, 谭昌恒², 张显忠³, 费洪荣¹, 王桂玲^{1*}

(1 泰山医学院药学院, 山东 泰安 271016; 2 中国科学院上海药物研究所 新药研究国家重点实验室, 上海 201203; 3 泰山医学院 生物科学系, 山东 泰安 271016)

摘要:目的 对猫须草超临界 CO_2 萃取法制备的提取物进行化学成分分析及体外抑菌作用研究。方法 利用超临界 CO_2 萃取法提取猫须草中化学成分, 利用 GC-MS 法分离并分析其化学成分, 采用面积归一化法定量; 采用 Kirby-Baue 纸片扩散法观察提取物对各种细菌的抑制效果。结果 CO_2 超临界萃取法的萃取率为 0.8%, 鉴定出 19 种成分, 以萜烯类化合物为主要成分, 其数量占总量的 67.17%。醇类化合物次之, 数量占总量的 26.10%。不同浓度的猫须草超临界 CO_2 萃取物对各种细菌生长都有一定的抑制作用, 并随提取物浓度的降低, 抑菌效果明显减弱; 其中, 猫须草超临界 CO_2 萃取物对肺炎链球菌的抑制效果最明显, 其次对金黄色葡萄球菌、福氏 II 型杆菌的抑菌效果也比较明显。结论 猫须草超临界 CO_2 萃取物中的化合物均为首次分离鉴定, 其在体外有一定的抑菌作用。

* 收稿日期: 2010-02-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30600780); 山东省医药卫生计划面上项目(2007HW027)

作者简介: 赵雪梅(1970—), 女, 山东省寿光市人, 教授, 硕士生导师, 长期从事天然药物化学的教学、科研工作。

Tel: (0538) 6229751 E-mail: zhaoxuemei@sina.com

关键词:猫须草;超临界 CO₂ 萃取;气质联用分析;抑菌作用

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)09-1437-04

猫须草又称肾茶,来源于唇形科多年生草本植物猫须草 *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. Y. Wu 的全草^[1]。原产于印度尼西亚、缅甸、马来西亚、菲律宾等热带地区,近年发现肾茶在我国广西、云南等地海拔为 950~1 050 m 的热带、亚热带地区有野生分布。从 20 世纪 60 年代起,我国广东、广西、福建、台湾、四川米易等地大量引种栽培^[2-3]。我国对肾茶功效应用的记载,主要见于《云南植物志》、《海南植物志》、《中国中药资源志》、《中药大辞典》等。如《中药大辞典》谓其“性味甘淡微苦、凉”,“能清热祛湿,排石利水。治急、慢性肾炎,膀胱炎,尿路结石,风湿性关节炎。”其余文献的记载大同小异^[1]。猫须草主要的化学成分有黄酮类化合物、甾体皂苷类、蒽醌类及苷类、氨基酸、多肽、蛋白质、有机酸、糖类、多糖类、多酚类化合物等^[4,5]。但是关于猫须草超临界 CO₂ 萃取物成分及其活性的研究至今未见报道。二氧化碳超临界流体萃取(SFE-CO₂)的萃取温度低,且 CO₂ 易得,回收方便,易于分离,产品中无溶剂残留。为了解猫须草中的有效成分,实验分别采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)和 Kirby-Baue 纸片扩散法,对猫须草超临界 CO₂ 萃取法制备的提取物进行化学成分分析及体外抑菌作用研究,为开发利用猫须草资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验仪器、试剂与材料:气相色谱-质谱联用仪(Shimadzu QP2010 Plus,美国 Finnigan 公司);超临界萃取装置(HA221-50-06,南通华安超临界萃取有限公司),电子天平(AB104 型,瑞士 Mettler Toledo 公司)。CO₂ 气体(体积分数>99.5%,济南德洋特种气体有限公司);二氯甲烷(天津市恒兴化学试剂制造有限公司);乙醇等均为分析纯。

猫须草于 2007 年 10 月采自云南西双版纳,经中国科学院上海药物研究所谭昌恒副研究员鉴定。

大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、奇异变形杆菌、福氏 II 型杆菌、肺炎链球菌、铜绿假单胞菌(泰山医学院附属医院检验科提供)、药敏片(红霉素、复方新诺明、阿米卡星、氯霉素、环丙沙星、氟哌酸、氯霉素等)(北京太洋药业有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 猫须草超临界 CO₂ 萃取物的制备:将猫须草在自然条件下晾干,粉碎后过 0.4 mm 筛,利用超

临界 CO₂ 萃取装置提取化学成分。将 200 g 实验材料装入萃取釜中,按以下工艺参数进行萃取:萃取压力为 25 MPa;萃取温度为 38 ℃;分离压力为 5.8 MPa;分离温度为 40 ℃;CO₂ 流量为 10 kg/h;萃取时间为 2 h。总萃取率为 0.8%。

1.2.2 抑菌试验:Kirby-Baue 纸片扩散法:以药敏片做阳性对照,生理盐水浸润的滤纸片作阴性对照,样品配制成 0.6(I)、0.3(II)、0.06 g/mL(III)3 种不同的质量浓度。用数显游标卡尺测量抑菌圈的直径,每组实验重复 3 次。判断标准:抑菌圈直径大于 6 mm 者判为有抑菌作用;抑菌圈直径小于或等于 6 mm 者判为无抑菌作用;3 次重复试验均达到有抑菌作用结果者判为合格。阴性对照组应无抑菌圈产生,否则实验无效^[6]。

1.3 气相色谱-质谱条件

1.3.1 样品制备:约 20 mg 提取物溶于 10 mL 二氯甲烷中,质量浓度约为 2 mg/mL,上柱前用 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

1.3.2 气相色谱条件:色谱柱为 RTX-5ms 石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);载气为氦气(1.2 mL/min),取 1 μL 测试液注入,分流比为 1:15,柱温 50 ℃,程序升温 5 ℃/min 终温达到 280 ℃;注射温度为 240 ℃,检测器温度为 280 ℃。

1.3.3 质谱条件:电离方式 EI,电离能 70 eV,扫描时间间隔为 1 s,扫描范围:45~550 amu。He 为载气,注射温度为 250 ℃,检测器温度为 230 ℃。

化合物的质量分数用面积归一法进行计算。

2 结果

2.1 猫须草 CO₂ 超临界提取物 GC-MS 分析

2.1.1 对猫须草 CO₂ 超临界萃取提取物成分 GC-MS 的总离子色谱图:采用数据库检索,各色谱峰相应质谱图经计算机谱库正、反两向检索定性鉴别,选择高匹配度的检索结果,并逐个人工解析各峰相应的质谱图,确定了 19 种成分,均为首次从猫须草中分离鉴定。采用面积归一化法计算各成分相对质量分数。

2.1.2 猫须草 CO₂ 超临界萃取提取物成分及分析:由表 1 可知,本实验中已鉴定化合物 19 种,其中质量分数在 5% 以上的有 α-姜烯(24.17%)、植醇(23.68%)、β-倍半水芹烯(12.18%)、α-姜黄烯(9.10%)和 β-没药烯(6.49%)。质量分数在

表 1 猫须草超临界 CO₂ 萃取物成分及分析Table 1 Components extraction of *C. spicatus* and analysis by SFE CO₂

峰号	化合物名称	质量分数/%	峰号	化合物名称	质量分数/%
1	龙脑	1.51	11	α -愈创木烯	1.89
2	牛儿醇	0.91	12	异喇叭烯	2.13
3	β -柠檬醛	1.76	13	α -金合欢烯	4.79
4	乙酸香叶酯	1.99	14	β -没药烯	6.49
5	橙花叔基乙酸酯	2.41	15	β -葑澄茄烯	0.58
6	β -石竹烯	2.40	16	β -倍半水芹烯	12.18
7	α -石竹烯	1.00	17	1,1,7-三甲基-4-亚甲基 十氢-1H-环丙萹烯	0.68
8	α -姜黄烯	9.10	18	石竹烯氧化物	0.58
9	β -桉烯	1.75	19	植醇	23.68
10	α -姜烯	24.17			

1.0%~5.0%的有 α -金合欢烯(4.79%)、橙花叔基乙酸酯(2.41%)、 β -石竹烯(2.40%)、异喇叭烯(2.13%)、乙酸香叶酯(1.99%)、 α -愈创木烯(1.89%)、 β -柠檬醛(1.76%)、 β -桉烯(1.75%)、龙脑(1.51%)和 α -石竹烯(1.00%)。

2.2 猫须草超临界 CO₂ 萃取提取物抑菌作用: 实验结果表明, 不同质量浓度的猫须草超临界 CO₂ 萃取提取物对各种细菌均有一定的抑制作用, 并随提取物质量浓度的降低, 抑菌效果明显减弱。在萃取物质量浓度为 I (原液, 0.6 g/mL) 时, 对肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、福氏 II 型杆菌的抑菌圈直径分别为(9.10±0.20)、(8.50±0.20)、(8.03±0.15) mm; 在萃取物质量浓度为 III(稀释 10 倍, 0.06 g/mL) 时, 对肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、福氏 II 型杆菌的抑菌圈直径分别为(7.30±0.21)、(6.77±0.25)、(6.17±0.47) mm, 均具有抑菌效果, 但是对大肠杆菌、奇异变形杆菌、铜绿假单胞菌则无抑菌效果。表明猫须草超临界 CO₂ 萃取提取物对肺炎链球菌的抑制效果最明显, 其次对金黄色葡萄球、福氏 II 型杆菌的抑菌效果也比较明显; 但对大肠杆菌的抑制效果相对最差。

3 讨论

3.1 主要成分波谱分析及其药理作用: 占总峰面积 24.17%的 α -姜烯的 EI-MS m/z : 204[M]⁺, 主要碎片离子为 161、119 和 93, 其中 m/z 119 和 93 为 α -姜烯主要特征离子, 与文献报道相符^[7]。 α -姜烯具有很强的抗菌作用^[8]; 尤其对于胃细胞损害及胃溃疡有显著保护作用^[9]。

植醇又称叶绿醇或叶黄烯醇, 占总峰面积 23.68%, 其 EI-MS m/z : 278[M-18]⁺, 主要离子碎片为 196、140、123、111、95、81、71 和 57, 与标准

谱图一致, 未出现分子离子峰[M]⁺, 而出现对应于分子离子失去一分子 CO 的特征峰 278(M-18), 即 m/z = 296。植醇在降低胆固醇方面具有显著功效, 还可预防或抑制结肠癌、直肠癌以及皮质癌^[10]。

α -姜黄烯占峰总面积的 9.01%, 其 EI-MS m/z : 主要碎片离子为 202、145、132、119。¹H-NMR (CDCl₃) δ : 1.19 (3H, d), 1.5 和 1.65 (各 3H, s), 1.48~1.57 (2H, m), 2.30 (3H, s), 2.60~2.67 (1H, m), 4.97 (2H, s), 5.26~5.45 (1H, m), 7.16 (4H, s)。含有 α -姜黄烯的生姜精油具有保护胃黏膜、抗溃疡的作用, 以及抑制中枢神经系统和抗炎的作用, 药用价值较高^[11]。

龙脑又称樟醇、冰片, 占峰总面积 1.51%, 其 EI-MS m/z : 154[M]⁺, 139[M-CH₃]⁺, 主要离子碎片为 121、110、95、82、67、55 和 41。其¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 49.5 (G-1), 77.4 (G-2), 39.0 (G-3), 45.1 (G-4), 28.3 (G-5), 25.9 (G-6), 48.0 (G-7), 18.7 (G-8), 20.2 (G-9), 13.3 (G-10)。龙脑不但有发汗、兴奋、解痉和防止虫蛀等作用, 还具有显著的抗氧化功能, 用于治疗冠心病、心绞痛^[12]。

3.2 猫须草 CO₂ 超临界萃取物成分分类: 从结果可以看出猫须草 CO₂ 超临界萃取提取物成分的组成中以萜烯类化合物(相对分子质量为 204 的同分异构体)为主, 共有 12 种, 占到总量的 63% 以上, 萜烯类化合物质量分数达到 67.17%; 其次, 以醇类化合物为辅, 其质量分数达到 26.10%; 另外, 猫须草 CO₂ 超临界萃取提取物中还含有少量的酯、醛等成分。

本研究首次报道了猫须草 CO₂ 超临界萃取物的化学成分的组成、定量及其分类, 并通过实验证明不同质量浓度的猫须草超临界 CO₂ 萃取提取物都有一定的抑菌作用, 并随提取物质量浓度的降低, 抑菌效果明显减弱; 其中, 猫须草超临界 CO₂ 萃取提取物对肺炎链球菌的抑制效果最明显, 其次对金黄色葡萄球菌、福氏 II 型杆菌的抑菌效果也比较明显, 但对大肠杆菌的抑制效果相对较差。这为猫须草的进一步研究及开发提供了科学依据。

致谢: 山东农业大学园艺学院的战琨友博士在气相色谱-质谱测试中提供的帮助。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986
- [2] 张平, 李伯儒. 肾茶移栽密度、荫蔽度和追肥量的研究初报 [J]. 热带农业科学, 1997, 3: 39-41
- [3] 陈建白, 白旭华, 蒋桂芝. 肾茶开发利用的初步研究 [J]. 云南热作科技, 1998, 21(3): 6-7

- [4] 颜文祝. 猫须草主要化学成分初步试验 [J]. 海峡药学, 1995, 7(3): 3-4
- [5] 陈伊蕾, 谭俊杰, 陆露露, 等. 肾茶的水溶性成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 689-693
- [6] 卫生部卫生法制与监督司. 消毒技术规范 [S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2002
- [7] 宋国新, 邓春晖, 吴丹, 等. 固相微萃取-气相色谱/质谱分析生姜的挥发性成分 [J]. 复旦大学学报: 自然科学版, 2003, 42(6): 939-944, 949
- [8] 谭龙飞, 钟彩莲, 陈颖姬, 等. 咖喱粉精油的抗菌作用研究及 GC/MS 分析 [J]. 中国调味品, 2003, 11: 6-10
- [9] 张雪红, 李华昌. 姜辣素的研究进展 [J]. 矿冶, 2003, 12(4): 96-98
- [10] 刘照娟, 何进, 喻子牛. 紫花苜蓿挥发性成分的气相色谱质谱分析 [J]. 化学与生物工程, 2006, 23(4): 60-62
- [11] 葛毅强, 倪元颖, 张振华, 等. 生姜精油的研究新进展 [J]. 中国调味品, 2004, 9: 3-9
- [12] 林启寿. 中草药成分化学 [M]. 北京: 科技出版社, 1977.

天胡荽化学成分的研究

蒲首丞¹, 郭远强², 高文远^{1*}

(1 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2 南开大学药学院, 天津 300071)

摘要:目的 研究天胡荽 *Hydrocotyle sibthorpioides* 的化学成分。方法 利用硅胶色谱、Sephadex LH-20 色谱以及反相 HPLC 等手段进行分离纯化, 应用 NMR 等方法鉴定结构。结果 从天胡荽中分离鉴定了 12 个化合物, 分别为 chlorogenic acid methyl ester (1)、正丁基- α - β -D-吡喃果糖苷 (2)、当归棱子芹醇葡萄糖苷 [(-)-angelicoid-enol 2- α - β -D-glucopyranoside, 3]、槲皮素 3- α - β -D-半乳糖苷 (4)、槲皮素 (5)、3'- O -methylquercetin (6)、芹菜素 (7)、山柰酚 (8)、5-hydroxymaltol (9)、齐墩果酸 (10)、 β -谷甾醇 (11)、豆甾醇 (12)。结论 化合物 1~3, 7~10 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 天胡荽; 槲皮素; 正丁基- α - β -D-吡喃果糖苷

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)09-1440-03

天胡荽 *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam. 始载于《千金·食治》, 孙思邈在书中云:“别有一种近水渠中温湿处, 冬生, 其状类胡荽, 亦名鸡肠菜, 可以疗痔病, 一名天胡荽。”为伞形科天胡荽属植物天胡荽的全草, 多年生草本^[1]。天胡荽有清热利湿、退黄功用, 治疗肝胆湿热之黄疸, 可单用, 若与茵陈、柴胡等同用, 则利湿退黄效果更好。治下痢日久, 湿热不清, 可与刺梨根、石榴皮等水煎服, 以清热利湿, 涩肠止痢。湿热蕴结下焦, 肾或膀胱结石, 小便不利, 甚或刺痛尿血者, 可单用本品煎汤, 或与石苇、海金沙等清热利尿药同用。生于潮湿路旁、草地、山坡、墙脚、河畔、溪边^[1-2]。从天胡荽中分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为 chlorogenic acid methyl ester (1)、正丁基- α - β -D-吡喃果糖苷 (2)、当归棱子芹醇葡萄糖苷 [(-)-angelicoid-enol 2- α - β -D-glucopyranoside, 3]、槲皮素 3- α - β -D-半乳糖苷 (4)、槲皮素 (5)、3'- O -methylquercetin (6)、芹菜素 (7)、山柰酚 (8)、5-hydroxymaltol (9)、齐墩果酸 (10)、 β -谷甾醇 (11)、豆甾醇 (12)。其中化合物 1~3, 7~10 为首次从该植物中分得。

1 仪器与材料

Varian 公司 INOVA 500 MHz 超导核磁共振仪, HPLC-ODS 柱 YMG-Pack ODS-A (250 mm × 20 mm), 制备 HPLC (日本丰光公司), Sephadex LH-20 (美国 Amersham Pharmacia Biotech 公司), 薄层色谱和柱色谱硅胶等为青岛海洋化工厂产品。天胡荽药材购于安国市美威药材公司, 经天津大学高文远教授鉴定为 *Hydrocotyle sibthorpioides* Lam., 样品存放于天津大学药物科学与技术学院天然药物实验室。

2 提取与分离

干燥的天胡荽药材 9 kg, 用 95% 和 65% 乙醇回流提取各 2 次, 每次 3 h, 减压浓缩至无乙醇味, 然后加适量水分散浸膏, 浸膏加水溶解, 水溶液依次分别用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇反复萃取, 醋酸乙酯萃取物 (80 g) 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇 (98: 2~8: 2) 进行洗脱, 然后经 Sephadex LH-20 氯仿-甲醇 (1: 1) 洗脱, 再经 HPLC-ODS 得到化合物 6 (19 mg)、7 (17 mg)、8 (18 mg)、9 (13 mg)、10 (14 mg)、11 (19 mg)、12 (22 mg); 正丁醇萃取物 (106 g) 经大

* 收稿日期: 2009-11-24

基金项目: 天津市应用基础研究计划项目 (07JCZDJC05400)

* 通讯作者 高文远 Tel/Fax: (022) 87401895 E-mail: pharmgao@tju.edu.cn