

复方藏药当佐脂溶性成分 GC-MS 分析

李 岑^{1,2,3}, 杨红霞^{1,2,3}, 杜玉枝^{1,2}, 魏立新^{1,2*}

1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008

2. 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810008

3. 中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要: **目的** 对复方藏药当佐中脂溶性化学成分进行分离鉴定, 以探索其药理效应的物质基础。**方法** 采用柱色谱法将当佐的脂溶性提取物分离为 3 个流份: 非极性、弱极性和极性流份, 并运用 GC-MS 联用法进行分离鉴定。**结果** 从 3 个不同极性的流份中, 共分离出 103 个色谱峰, 所有化合物均得到鉴定, 并用面积归一化法确定各成分质量分数。**结论** 藏药当佐中脂溶性成分得到全面分析, 并发现存在多种活性化合物, 为揭示当佐药理和毒理效应的物质基础提供了参考。

关键词: 当佐 (复方藏药); 脂溶性成分; GC-MS; 面积归一化法; 物质基础

中图分类号: R 284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)12-2413-05

GC-MS analysis of liposoluble components from Compound Tibetan medicine Dangzuo

LI Cen^{1,2,3}, YANG Hong-xia^{1,2,3}, DU Yu-zhi^{1,2}, WEI Li-xin^{1,2}

1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China

2. Qinghai Province Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Assessment, Xining 810008, China

3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Key words: Dangzuo (a compound preparation of Tibetan medicine); liposoluble constituent; GC-MS; area normalization method; material basis

当佐为藏医临床常用传统复方制剂, 由石榴籽、肉桂、白豆蔻、荜茇、红花及珍宝药物佐太共 6 味药组成, 具有温胃益火、化滞除湿、温通经脉、保肝健胃等功效, 主要用于消化不良、食欲不振、寒性腹泻、慢性肠胃炎及肝胆疾病等病症。本制剂临床应用广泛, 疗效确切, 但是关于当佐中脂溶性化学成分的分析, 尚未见文献报道。

现代研究表明, 当佐中的植物配伍药 (如石榴籽、肉桂、白豆蔻等) 含有大量的挥发性及脂溶性成分, 并且具有显著药理活性^[1-5]。本研究采用柱色谱法将当佐脂溶性提取物分离为 3 个部分, 即非极性、弱极性和极性流份, 并运用 GC-MS 法进行分离鉴定, 为探讨当佐药理和毒理效应的物质基础提供参考。

1 仪器与材料

Agilent 7890A/5975MS 型气相色谱质谱联用仪

(美国 Agilent 公司); 色谱柱为 DB-5 石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); AG135 精密天平 (瑞士 Mettler-Toledo 公司); KQ-2500DE 数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); Millipore 超纯水器 (美国 Millipore 公司); 索氏提取器 (天津市天玻玻璃仪器有限公司)。

石油醚、正己烷、二氯甲烷、甲醇均为分析纯; 甲醇 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 三氟化硼 (GR, Sigma 公司)。

当佐样品由青海玉树州藏医院扎西副院长于 2009 年 11 月提供。

2 方法

2.1 样品提取

精密称取当佐样品 5 g, 滤纸包好, 置于索氏提取器中提取, 得到具有芳香气味的浅黄色油状物, 即当佐脂溶性成分, 测得当佐含脂溶性成分 5.442%。

收稿日期: 2011-03-25

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目“藏药佐太、寒水石和诃子特色炮制技术研究”(2007BAI48B02)

作者简介: 李 岑 (1985—), 硕士研究生, 研究方向为药用植物化学。E-mail: licen_601@126.com

*通讯作者 魏立新 Tel: (0971)6143668 E-mail: lxwei@nwipb.ac.cn

2.2 样品预处理

将得到的当佐脂溶性成分再经硅胶-氧化铝柱分离, 分别以正己烷、二氯甲烷和甲醇洗脱, 最终得到3个流份: 非极性、弱极性和极性流份。非极性和弱极性流份直接进行GC-MS分析, 极性流份经三氟化硼-甲醇(1:4)体系, 于60℃下甲酯化24 h, 再经乙醚萃取纯化后进行GC-MS分析。

2.3 测定条件

GC条件: DB-5 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 载气为氦气(99.999%), 横流模式流量1.0 mL/min; 气化室温度: 250℃(保持3 min), 以6℃/min的速率升温至280℃(保持

50 min), 分流比为20:1, 溶剂为乙醚, 进样量10 μL, 进样温度250℃。

MS条件: EI离子源, 电子源电离能70 eV, 离子源温度230℃, 四级杆温度150℃, 接口温度280℃。质量扫描范围30~550 amu; NIST 02L谱库。

3 结果

当佐脂溶性成分的非极性、弱极性和极性流份的总离子流色谱图见图1。从3个不同极性流份中分别分离出27、30和46个色谱峰, 经NIST 02L谱库对照、谱图解析并结合有关文献, 所有化合物均得到鉴定, 结果见表1~3。

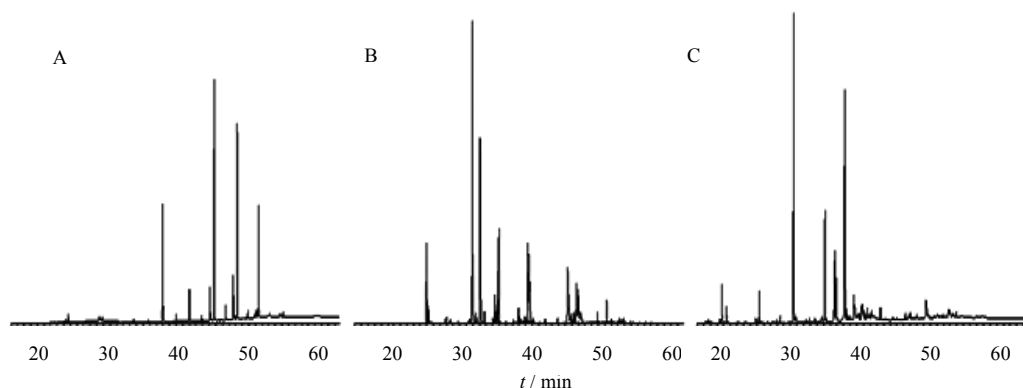


图1 当佐非极性(A)、弱极性(B)和极性(C)流份GC-MS总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of non-polar (A), weak polar (B), and polar (C) fraction from Dangzuo

表1 当佐非极性流份化合物鉴定结果

Table 1 Identification of chemical components from non-polar fraction of Dangzuo

峰号	化合物名称	保留时间/min	质量分数/%	峰号	化合物名称	保留时间/min	质量分数/%
1	反-8-十七烯	23.119	0.421	15	异构-二十七烯	45.406	0.167
2	顺-8-十七烯	23.335	1.041	16	正二十七烷	45.752	26.972
3	正十七烷	23.692	1.260	17	正二十八烷	47.483	1.616
4	反-5-十九烯	28.317	0.365	18	反异构-二十九烯	48.639	4.903
5	顺-5-十九烯	28.563	0.793	19	异构-二十九烯	48.942	0.485
6	正十九烷	28.866	0.452	20	正二十九烷	49.232	22.413
7	正二十烷	31.274	0.128	21	正三十烷	50.858	0.998
8	正二十一烷	33.588	0.401	22	反异构-三十一烯	52.077	0.628
9	正二十二烷	35.810	0.376	23	异构-三十一烯	52.189	0.791
10	正二十三烷	37.965	12.992	24	正三十一烷	52.486	12.250
11	正二十四烷	40.003	0.935	25	正三十二烷	54.184	0.508
12	正二十五烷	41.979	3.722	26	反异构-三十三烯	55.706	0.407
13	正二十六烷	43.872	0.716	27	正三十三烷	56.201	0.847
14	反异构-二十七烯	45.124	3.413				

4 讨论

4.1 非极性流份

从当佐脂溶性提取物的非极性流份中分离出

27个色谱峰, 经NIST 02L谱库对照、人工谱图解析, 27个色谱峰全部得到鉴定。非极性流份主要为正构烷烃、正反烯烃及异构烯烃类, 以正构烷烃系

表 2 当佐弱极性流份化合物鉴定结果

Table 2 Identification of chemical components from weak polar fraction of Dangzuo

峰号	化合物名称	保留时间/min	质量分数/%	峰号	化合物名称	保留时间/min	质量分数/%
1	菲	25.961	9.437	16	苯并(α)苾	48.669	3.904
2	蒽	26.232	1.627	17	苯并(e)苾	48.940	3.254
3	3-甲基菲	28.885	0.488	18	苾	49.365	0.976
4	2-甲基菲	29.045	0.651	19	αβ-降藿烷	51.879	0.944
5	9-甲基菲	29.512	0.325	20	αβ-藿烷	53.293	2.278
6	1-甲基菲	29.630	0.325	21	βα-莫烷	53.989	0.390
7	N-苯基-1,3-二酮- 氢化异吲哚	32.492	0.488	22	αβ-22S-31-升藿烷	55.145	0.325
8	荧蒽	32.903	28.961	23	αβ-22R-31-升藿烷	55.403	0.260
9	苾	34.101	18.549	24	γ-蜡烷	55.792	0.586
10	蒽烯	36.323	2.928	25	αβ-22S-31,32-二升藿烷	56.837	0.228
11	3-甲基-2-苯甲酮基-吲哚	39.888	1.627	26	αβ-22R-31,32-二升藿烷	57.269	0.195
12	苯并(α)蒽	41.329	7.809	27	αβ-22S-31,32,33- 三升藿烷	59.191	0.162
13	1,2-苯并菲	41.545	6.508	28	αβ-22R-31,32,33- 三升藿烷	59.866	0.130
14	苯并(e)荧蒽	47.353	5.532	29	αβ-22S-31,32,33,34- 四升藿烷	62.150	0.098
15	苯并(k)荧蒽	47.896	0.911	30	αβ-22R-31,32,33,34- 四升藿烷	63.125	0.065

列占大多数为特征。从表 1 可知,该部分含有的正构烷烃除正十八烷烃外,从正十七烷烃到正三十烷烃没有间断。

4.2 弱极性流份

从当佐脂溶性提取物的弱极性流份中分离出 30 个色谱峰,均得到鉴定。从表 2 可知,弱极性流份主要检出为芳香烃类化合物、藿烷、莫烷及蜡烷等。其中荧蒽所占比例最高,达 28.9%。最新毒理学研究表明^[6],荧蒽类化合物可通过肺部、胃肠道及皮肤吸收,不同程度抑制超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶及过氧化氢酶等酶的活性,引起机体脂质过氧化水平升高,对探讨当佐的毒理效应及临床安全用药具有指导意义。

4.3 极性流份

在当佐脂溶性提取物的极性流份中分离出 46 个色谱峰,所有化合物均得到鉴定。极性流份主要为脂肪酸类、生物碱类、三环二萜类、芳香羧酸及甾萜类等。其中甲氧基不饱和脂肪酸类化合物的质量分数为 43.31%,现代药理研究表明不饱和脂肪酸

能够抑制心脑血管疾病的发生,具有降低血液中三酰甘油、胆固醇等作用,而且还发现不饱和脂肪酸具有增强机体免疫力、抑制癌细胞等生理作用^[7]。在该流份中,胡椒碱的质量分数为 2.4%,药理实验表明胡椒碱具有抗胃溃疡、调血脂、抗氧化、催眠、抗惊厥及抑制胆结石形成等作用^[8-9]。当佐脂溶性成分的极性流份分析对揭示当佐药理作用的物质基础具有重要参考价值。

4.4 柱色谱的选择

考虑到当佐为复方制剂,石油醚提取出的脂溶性成分比较复杂,如果直接进行 GC-MS 分析,各成分之间相互干扰较大,结果可靠性低。因此,采用柱色谱(硅胶-氧化铝柱)分别用正己烷、二氯甲烷和甲醇洗脱,将其分离为 3 种流份:非极性、弱极性和极性流份,然后分别进行 GC-MS 分析。结果表明 3 个流份中的各成分分离度良好,且背景干扰极小。

总之,通过 GC-MS 分析,从当佐脂溶性成分的 3 个流份中,共分离出 103 个色谱峰,并全部得到鉴定。其中非极性成分以正构烷烃为主;弱

表 3 当佐极性流份化合物鉴定结果

Table 3 Identification of chemical components from polar fraction of Dangzuo

峰号	化合物名称	保留时间/min	质量分数/%
1	9-癸基壬酸 (甲酯)	16.121	0.174
2	辛二酸 (二甲酯)	16.446	0.387
3	邻苯二甲酸 (二甲酯)	16.740	0.502
4	正十二烷酸 (甲酯)	18.724	3.369
5	壬二酸 (二甲酯)	19.406	1.948
6	正十三烷酸 (甲酯)	21.592	0.044
7	癸二酸 (二甲酯)	22.275	0.199
8	正十四烷酸 (甲酯)	24.337	2.540
9	正十五烷酸 (甲酯)	26.971	0.294
10	降姥鲛-2-酮	27.476	0.557
11	正十六烷酸 (甲酯)	29.534	26.581
12	正十七烷酸 (甲酯)	31.889	0.255
13	反-油酸 (甲酯)	33.733	0.583
14	正十八烷酸 (甲酯)	34.216	7.985
15	反式-10-羟基-6-甲氧基-十八烯 (10) 酸 (甲酯)	35.606	4.545
16	反式-11-羟基-5-甲氧基-十八烯 (11) 酸 (甲酯)	35.690	4.676
17	顺式-10-羟基-6-甲氧基-十八烯 (10) 酸 (甲酯)	35.873	2.393
18	顺式-11-羟基-5-甲氧基-十八烯 (11) 酸(甲酯)	35.935	2.399
19	8,10-二甲氧基-十八烷酸 (甲酯)	37.165	22.258
20	12-甲氧基-十八烷酸 (甲酯)	37.218	1.258
21	13-甲氧基-十八烷酸 (甲酯)	37.271	1.001
22	14-甲氧基-十八烷酸 (甲酯)	37.377	0.687
23	15-甲氧基-十八烷酸(甲酯)	37.545	0.502
24	16-甲氧基-十八烷酸 (甲酯)	37.881	0.352
25	17-甲氧基-十八烷酸 (甲酯)	38.106	0.263
26	正二十烷酸 (甲酯)	38.543	1.865
27	反-9,14-二甲氧基-二十烯 (12) 酸 (甲酯)	39.653	0.555
28	反-10,15-二甲氧基-二十烯 (13) 酸 (甲酯)	39.730	0.719
29	顺-9,14-二甲氧基-二十烯 (12) 酸 (甲酯)	39.804	0.836
30	顺-10,15-二甲氧基-二十烯 (13) 酸 (甲酯)	39.909	0.842
31	正二十一烷酸 (甲酯)	40.548	1.062
32	四氢松香酸	40.985	0.285
33	二甲氧基-二十烷酸 (甲酯)	41.202	0.809
34	正二十二烷酸 (甲酯)	42.542	0.917
35	正二十三烷酸 (甲酯)	44.441	0.312
36	正二十四烷酸 (甲酯)	46.263	0.649
37	异胡椒碱	46.781	0.538
38	正二十五烷酸 (甲酯)	48.014	0.493
39	胡椒碱	49.386	2.426
40	正二十六烷酸 (甲酯)	49.729	0.324
41	正二十七烷酸 (甲酯)	51.383	0.067
42	A:D-新奥利-12, 14-二烯	51.881	0.262
43	二辛苯基胺	52.784	0.641
44	正二十八烷酸 (甲酯)	53.034	0.304
45	正三十烷酸 (甲酯)	56.992	0.212
46	正三十二烷酸 (甲酯)	62.742	0.129

极性成分以芳香类衍生物为主,其中蒽蒽类化合物所占比例最高;极性成分中发现了多种甲氧基不饱和脂肪酸,还发现了胡椒碱及异胡椒碱等生物活性成分。

本研究采用 GC-MS 法,对藏药当佐中脂溶性成分进行了全面分析,并发现了许多已知生物活性的物质,为探讨当佐药效作用和毒理效应的物质基础提供了科学依据。

参考文献

- [1] 赵云荣,王文领,王 勇,等. 石榴籽中脂肪酸成分分析 [J]. 化学研究, 2005, 16(2): 72-74.
- [2] 李文敏,敖明章,王俊汉,等. 石榴籽油对实验性高脂血症大鼠血脂及脂质过氧化的影响 [J]. 食品科学, 2007, 28(2): 309-312.
- [3] 安福丽,张 仲,相聪坤,等. 肉桂挥发油成分分析及

其血小板聚集抑制作用研究 [J]. 中国药业, 2009, 18(22): 25-27.

- [4] 苏德民,姚发业,石 竹. 气相色谱-质谱联用及气相色谱-红外分析法测定白豆蔻挥发油成分 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 1408-1409.
- [5] 吴知行,杨尚军,巴图伦,等. 荜茇挥发油的成分分析 [J]. 中草药, 1994, 25(9): 500.
- [6] 任加云,潘鲁青,苗晶晶. 苯并芘(a)和苯并芘(k)蒽蒽混合物对栉孔扇贝毒理学指标的影响 [J]. 环境科学学报, 2006, 26(6): 1180-1186.
- [7] 韩宏毅,王 剑. 多不饱和脂肪酸及其生理功能 [J]. 中国临床研究, 2010, 23(6): 523-525.
- [8] 崔广智,裴印权. 胡椒碱抗实验性癫痫作用及其作用机制分析 [J]. 中国药理学通报, 2002, 18(6): 675-680.
- [9] 包兰兰,金 桩,博·格日勒图. 胡椒碱降血脂作用的实验研究 [J]. 中国民族医药杂志, 2004, 10(1): 22-23.

《中草药》杂志最新佳绩

《中国科技期刊引证报告》2010年11月26日发布:《中草药》杂志2009年总被引频次5 631,名列我国科技期刊第16名,中医中药类期刊第1名;影响因子0.627,基金论文比0.620,他引率0.890,权威因子2 202.980;连续6年(2005—2010年)荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

《中草药》杂志2009年12月荣获“新中国60年有影响力的期刊”,执行主编陈常青研究员荣获“新中国60年有影响力的期刊人”。

《中草药》杂志荣获第二届中国出版政府奖(中国出版政府奖是中国出版界的最高奖,此次评选是在全国约5 000种科技期刊中评选出前10名为中国出版政府奖,11~30名为中国出版政府奖提名奖),2011年3月18日于北京举行盛大的颁奖典礼。