秦艽地上部分极性成分的 SFE-GC-MS 分析

王燕萍¹, 马潇² (1.兰州大学第一医院药剂科, 兰州 730000; 2.甘肃省药品检验所, 兰州 730000)

摘要: 目的 对秦艽地上部分超临界萃取提取物中极性成分进行分析。方法 采用超临界二氧化碳流体萃取法(SFE-CO₂)对秦艽的花及茎叶进行提取, 利用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对提取物中的极性成分进行分离分析, 并计算各成分的相对百分含量。色谱柱: AT-SE54 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 进样口温度: 260 °C; 程序升温: 初始 80 °C, 以 4 °C·min⁻¹ 升至 290 °C, 保持 30 min; 载气为高纯氦气, 流速 1.2 mL·min⁻¹; 离子源温度: 230 °C; 离子源电离能: 70 eV。**结果** 从秦艽花中共分离出 72 个化合物, 鉴定出其中 70 个, 占提取物的 84.1%; 从秦艽茎叶中共分离出 67 个化合物, 鉴定出其中 66 个, 占提取物的 93.1%。**结论** 该实验结果为了解秦艽地上部分的化学成分及进一步开发利用提供了依据。**关键词:** 秦艽; 地上部分; 超临界二氧化碳流体萃取法; 气相色谱-质谱联用法
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2011)03-0216-03

Chemical Constituents Analysis in Ground Part of *Gentiana Macrophylla* Pall. by SFE-GC-MS

WANG Yanping¹, MA Xiao² (1. Department of Pharmacy, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Institute for Drug Control, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To identify compounds in supercritical fluids extraction of ground part of *Gentiana macrophylla* Pall.. **METHODS** GC-MS was used to analyse the constituents and the sample was extracted by supercritical fluids. The AT-SE54 capillary column(30 m×0.25 mm×0.25 μm)was used and inlet temperature was maintained at 260 °C. The column oven was begun at 80 °C, then programmed from 80 °C to 290 °C at 4 °C·min⁻¹, and hold for 30 min. Helium at a constant flow rate of 1.2 mL·min⁻¹ was used as carrier gas. Ion source temperature was 230 °C and ionization energy was 70 eV. **RESULTS** A total of 72 components were separated and 70 components were identified from flowers of *Gentiana macrophylla* Pall., accounting for 84.1% of total extractant. A total of 67 components were separated and 66 components were identified from stems and leaves of *Gentiana macrophylla* Pall., accounting for 93.1% of total extractant. **CONCLUSION** The results will provide important foundation for understanding the constituents and further exploitation for ground part of *Gentiana macrophylla* Pall..

KEY WORDS: *Gentiana macrophylla* Pall.; ground part; SFE-CO₂; GC-MS

秦艽为常用中药, 具祛风湿、清湿热、止痹痛、退虚热之功效。甘肃作为秦艽的道地产区, 野生资源丰富, 同时, 具备了野生变家种的气候环境条件, 已在甘南、平凉、定西、兰州等地区进行了栽培, 并有商品进入市场。通过采集野生样品, 调查栽培基地, 发现秦艽类植物的地上部分花及茎叶生长茂盛。而且秦艽花为我国藏族地区常用民族药, 功能清热解毒, 主治胃肠炎、肝炎、胆囊炎等症。已有研究人员对秦艽类药材的地上部分中龙胆苦苷含量进行了测定, 其含量高于或接近中国药典 2005 年版一部秦艽中龙胆苦苷的标准要求^[1]。为进一步阐明其化学成分, 本试验采用超

临界二氧化碳流体萃取法(SFE-CO₂)对秦艽花及茎叶进行提取, 利用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对提取物中的脂肪酸等极性成分进行分离分析, 为充分利用非药用部分, 扩大秦艽资源提供科学数据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 6890N 气相色谱仪, 5973N 四级杆质谱仪, 配有 Chemstation 色谱工作站和 NIST02L 谱库(美国安捷伦科技有限公司); HA121-50-01 型超临界流体萃取仪(江苏南通华安超临界有限公司)。

基金项目: 甘肃省中医药科研项目(05-GZK-16)

作者简介: 王燕萍, 女, 硕士, 副主任药师 Tel: 13088715500

E-mail: Wangyp317@sina.com

1.2 试剂

秦艽药材采自甘肃省甘南藏族自治州临潭县冶力关镇,为栽培品,经甘肃省药品检验所朱俊儒主任药师鉴定为龙胆科植物秦艽(*Gentiana macrophylla* Pall.)的花及茎叶。CO₂为医用级,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 超临界 CO₂ 萃取条件

萃取釜压力: 30 MPa, 温度: 40 °C; 分离釜

I、II压力: 6 MPa, 温度: 45 °C; 流体: CO₂。

2.2 色谱条件

色谱柱: AT-SE54 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 进样口温度: 260 °C; 程序升温: 初始 80 °C, 以 4 °C·min⁻¹ 升至 290 °C, 保持 30 min; 载气: 高纯氦气(纯度≥99.999%), 流量: 1.2 mL·min⁻¹; 进样量: 1 μL。

2.3 质谱条件

EI 离子源; 离子源温度: 230 °C; 四级杆温度: 150 °C; 接口温度: 280 °C; 离子源电离能: 70 eV。

2.4 供试品溶液的制备

将秦艽花及茎叶粉碎,过三号筛,称取适量,分别置萃取釜中,以 CO₂ 为流体,对萃取釜、分离釜 I 和分离釜 II 分别加热、升压,当萃取釜温度达 40 °C,分离釜 I、II 温度达 45 °C,萃取釜压力达 30 MPa,分离釜 I、II 压力达 6 MPa 时,开始进行循环萃取,保持恒温恒压萃取 2 h,得到黄棕色油状膏体。取膏体适量,加无水乙醇使溶解,加 5%氢氧化钠与 10%甲醇等容混合溶液 10 mL,置 60 °C 水浴皂化 30 min,放冷,加稀盐酸调节 pH 至 1,加乙醚萃取 2 次,每次 10 mL,合并乙醚液,室温挥干,加三氟化硼-甲醇(1:4)混合溶液 20 mL,置 60 °C 水浴甲酯化 24 h,放冷,以乙醚-水(1:5)混合溶液 50 mL 萃取,分取乙醚液,室温挥干,加二氯甲烷 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.5 结果

精密吸取供试品溶液 1 μL,注入气相色谱仪-质谱仪进行分析,经 NIST 谱图库进行检索解析,得到相应的化学成分,结果见表 1。

从秦艽花超临界 CO₂ 萃取物中共分离出 72 个化合物,鉴定出其中 70 个,所鉴定成分占提取物总流出峰面积的 84.1%。在鉴定组分中相对含量在

表 1 花及茎叶中化合物组分及相对含量

Tab 1 The constituents and contents in flowers, stems and leaves of *Gentiana macrophylla* Pall.

峰号	分子式	分子量	化合物名称	花中相对含量/%	茎叶中相对含量/%
1	C ₈ H ₈ O ₂	136	苯甲酸(甲酯)	0.109	0.030
3	C ₉ H ₂₀ O	124	壬醛	0.028	0.037
4	C ₁₁ H ₂₀ O	168	甲基-异-龙脑	0.020	0.010
5	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	辛酸(甲酯)	0.032	0.024
6	C ₁₀ H ₈	128	萘	0.029	0.016
8	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	壬酸(甲酯)	0.085	0.093
9	C ₁₁ H ₁₀	142	β-甲基萘	0.032	0.015
11	C ₁₁ H ₁₀	142	α-甲基萘	0.012	0.009
12	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	癸酸(甲酯)	0.014	0.015
13	C ₉ H ₁₆ O ₃	172	8-羧基-辛酸(甲酯)	0.022	0.009
14	C ₉ H ₁₆ O ₄	188	庚二酸(二甲酯)	-	0.025
15	C ₈ H ₉ O ₂ N	151	2-胺基-苯甲酸(甲酯)	0.023	-
17	C ₁₂ H ₁₀	154	联苯	0.036	0.026
18	C ₁₃ H ₂₆ O	198	6,10-二甲基-十一酮-2	0.047	0.018
19	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	186	9-羧基-壬酸(甲酯)	0.143	0.081
20	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	202	辛二酸(二甲酯)	0.064	0.079
21	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194	邻苯二甲酸(二甲酯)	0.241	0.580
22	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	正十二烷酸(甲酯)	0.026	0.024
23	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	216	壬二酸(二甲酯)	0.390	0.673
24	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	230	癸二酸(二甲酯)	0.055	0.082
25	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	正十四烷酸(甲酯)	0.619	0.832
26	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	244	十一烷二酸(二甲酯)	0.104	0.082
27	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	2,6,10-三甲基-十三烷酸(甲酯)	0.122	0.230
28	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	异构-十五烷酸(甲酯)	0.028	0.037
29	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	反异构-十五烷酸(甲酯)	0.046	0.023
30	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	十五烯(7)酸(甲酯)	0.106	0.104
31	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	正十五烷酸(甲酯)	0.289	0.363
32	C ₁₈ H ₃₆ O	268	降-姥蛟-2-酮	0.074	0.058
33	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	异构-十六烷酸(甲酯)	0.081	0.050
34	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	反式-十六烯(9)酸(甲酯)	0.162	0.209
35	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	顺式-十六烯(9)酸(甲酯)	0.219	0.327
36	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	棕榈酸(甲酯)	25.454	43.695
37	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	异构-十七烷酸(甲酯)	0.133	0.089
38	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	反异构-十七烷酸(甲酯)	0.179	0.231
39	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	正十七烷酸(甲酯)	0.182	0.228
40	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	294	亚油酸(甲酯)	16.249	11.434
41	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	反式-油酸(甲酯)	7.250	9.665
42	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	顺式-油酸(甲酯)	0.269	0.234
43	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	硬脂酸(甲酯)	1.394	2.941
45	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	正十九烷酸(甲酯)	0.085	0.040
47	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	正二十烷酸(甲酯)	1.111	1.962
50	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	正二十一烷酸(甲酯)	0.180	0.184
52	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354	正二十二烷酸(甲酯)	1.005	1.758
54	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368	正二十三烷酸(甲酯)	0.339	0.307
56	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382	正二十四烷酸(甲酯)	1.346	1.568
58	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	396	正二十五烷酸(甲酯)	0.456	0.303
61	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	410	正二十六烷酸(甲酯)	2.582	1.717
62	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	424	正二十七烷酸(甲酯)	0.208	0.143
64	C ₂₉ H ₅₈	396	豆甾二烯-3,5	0.218	0.116
65	C ₂₉ H ₅₈ O ₂	438	正二十八烷酸(甲酯)	1.118	0.931
66	C ₃₁ H ₅₀ O ₂	454	3-甲氧基-升-27-降-γ-蜡烯(13)-21-酮	2.280	1.021
67	-	-	未知	13.370	6.893
68	C ₂₈ H ₄₈ O	400	菜油甾醇	0.743	-
69	C ₃₁ H ₆₂ O ₂	466	正三十烷酸(甲酯)	0.290	0.459
70	C ₂₉ H ₅₀ O	414	甾醇	1.518	-
71	C ₃₀ H ₅₀ O	426	α-香树素	1.553	-
72	C ₃₀ H ₅₀ O	426	β-香树素	3.016	-
73	-	-	未知	2.569	-

1%以上的有 13 种, 分别是棕榈酸(25.454%)、亚油酸(16.249%)、反式-油酸(7.250%)、 β -香树素(3.016%)、正二十六烷酸(2.582%)、3-甲氧基-升-27-降- γ -蜡烯(13)-21-酮(2.280%)、 α -香树素(1.553%)、豆甾醇(1.518%)、硬脂酸(1.394%)、正二十四烷酸(1.346%)、正二十八烷酸(1.118%)、正二十烷酸(1.111%)和正二十二烷酸(1.005%)。

从秦艽茎叶超临界 CO₂ 萃取物中共分离出 67 个化合物, 鉴定出其中 66 个, 所鉴定成分占提取物总流出峰面积的 93.1%。在鉴定组分中相对含量在 1% 以上的有 9 种, 分别是棕榈酸(43.695%)、亚油酸(11.434%)、反式-油酸(9.665%)、硬脂酸(2.941%)、正二十烷酸(1.962%)、正二十二烷酸(1.758%)、正二十六烷酸(1.717%)、正二十四烷酸(1.568%)和 3-甲氧基-升-27-降- γ -蜡烯(13)-21-酮(1.021%)。

3 讨论

脂肪酸类成分是细胞的重要组成部分, 有研究表明, α -亚麻酸等脂肪酸具有降血压、降血脂、抗

血栓、软化血管、抗癌等生理活性^[2], 而本实验表明秦艽花及茎叶超临界 CO₂ 萃取物中棕榈酸、亚油酸、反式-油酸等饱和及不饱和脂肪酸类成分含量具相当明显的优势, 为开发秦艽地上部分提供了数据支持, 为充分利用非药用部分提供科学依据。

实验表明秦艽花及茎叶中分离得到的成分基本一致, 建议继续深入开展地上部分药理药效研究, 进一步扩大藏药秦艽花的部位来源。

致谢:

感谢中国科学院兰州地质研究所孟仟祥老师进行样品的气相色谱-质谱分析。

REFERENCES

- [1] MA X, ZHU J R, HE L R, et al. Determination of gentiopicoside in different position of *Gentiana macrophyllae* in Gansu by HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2009, 15(8): 10-11.
- [2] LI Y X, WU J B, ZHONG F X. Progress in research of α -Linolenic acid [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2001, 32(7): 667-669.