

· 论 著 ·

气相色谱-质谱联用法测定蓍草中的脂溶性成分

梁睿姝,熊礼燕,李玲,张川(第二军医大学药学院,上海 200433)

[摘要] 目的 采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对蓍草脂溶性成分进行结构分析和鉴定。方法 分两步提取蓍草,先用 95%乙醇超声提取,再用石油醚萃取,得到其脂溶性成分后进行气相色谱检测。采用 GC-MS 法,通过 NIST10 谱库检索,同时结合人工解析,鉴定蓍草脂溶性成分的化学结构,并按峰面积归一化法计算各化合物在脂溶性成分中的相对百分含量。结果 从蓍草中共分离鉴定出脂溶性成分 29 种,占石油醚萃取总量的 82.74%。主要成分及其含量分别为表木栓醇(33.16%)、乙酸羽扇醇酯(10.99%)、棕榈酸(7.98%)、豆甾醇(3.68%)、硬脂酸(3.55%)、木栓酮(3.51%)等。结论 该方法简便、准确,可用于蓍草中脂溶性成分的测定,并为进一步探讨蓍草药理作用及合理利用该植物资源提供了依据。

[关键词] 蓍草;脂溶性成分;气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)06-0526-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.06.011

Analysis of liposoluble chemicals from *Achillea Alpina* L. by GC-MS

LIANG Ruishu, XIONG Liyan, LI Ling, ZHANG Chuan (School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To identify the chemical structures for the components in the liposoluble portion of *Achillea alpina* L. by gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS). **Methods** *Achillea alpina* L. was extracted with 95% alcohol and petroleum ether. The chemical compositions in the extract were analyzed with GC-MS. The structures were identified by comparing to the authentic samples and searching NIST 10 database. The relative content of each compound in the extract was calculated by area normalization method. **Results** Twenty-nine compounds were separated and identified, which accounted for 82.74% of petroleum ether extract. The major constituents were octamethylpicen-3-ol (33.16%), Lup20(29)-en-3-ol, acetate (3b) (10.99%), n-Hexadecanoic acid (7.98%), Stigmasterol (3.68%), Octadecanoic acid (3.55%), Friedelan-3-one (3.51%). **Conclusion** This simple and accurate method can be used for the assay of liposoluble chemicals from *Achillea alpina* L. The results provide a foundation for pharmacological research and better use the resource of *Achillea alpina* L.

[Key words] *Achillea alpina* L.; liposoluble chemicals; GC-MS

蓍草(*Achillea alpina* L.)为菊科植物的地上部分,原产于西伯利亚、日本及中国云南、四川、贵州、湖南、湖北等地,俗名一支蒿、蜈蚣草、锯草。蓍草辛苦、微温,始载于《神农本草经》,名为蓍实,列为上品。后世的《唐本草》、《图经本草》、《本草纲目》均有记载^[1]。《本草纲目》称“蓍草主治痞疾”,《分类草药性》称“治一切热毒,涂疮生肌”;《纲目拾遗》称“活血解毒,去一切积滞,沉瘤阴寒等疾,驱风理祛”,民间用于治疗风湿疼痛、牙痛、胃痛,外用治毒蛇咬伤、外伤止血等。近年来,国内外对蓍草的研究较多,主要集中在蓍草药理作用的研究。据报道,欧蓍草(*Achillea millefolium* L.)的水醇提取物有显著的抗

氧化、抗病毒、解痉挛及治疗胃溃疡作用^[2-7]。此外, Hassani 等^[8]还采用蓍草水醇提取物治疗肾病小鼠模型。而在国内的报道中,刘美兰等^[9]研究证明从蓍草分离出的蓍草总酸有明显的抑菌、抗炎、解热作用和一定的镇静止痛作用。白音夫等^[10]研究证明蓍草挥发油具有镇痛、消炎、镇静和催眠作用。

前期研究表明^[9,11,12],蓍草的抗炎活性主要与其脂溶性成分(如甾醇类、倍半萜内酯、三萜类等)有关。本课题组拟对蓍草按有效部位开发具抗炎作用的中药新药,故本实验先对其脂溶性成分进行全面的成分分析。本实验采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术针对蓍草脂溶性成分进行分离鉴定,为蓍草的进一步开发和利用提供研究基础。

[作者简介] 梁睿姝,硕士研究生.E-mail:ruishuliangedu@sina.com

[通讯作者] 张川,教授,博士生导师.研究方向:中药学研究.

Tel:(021)81871358;E-mail:zhangchuan@smmu.edu.cn

1 仪器和试剂

旋转蒸发器(R-201型,瑞士BUCHI公司),恒

温水浴锅(DK-8D型,上海森信实验仪器有限公司),Trace Ultra/DSQ II GC-MS型气质联用仪(美国Thermo公司)。蓍草由安徽亳州华荣堂药业有限公司提供并鉴定,批号:120825。石油醚、无水硫酸钠、正己烷、无水乙醇均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

2 方法

2.1 样品的制备 取自然干燥的蓍草药材1 kg,粉碎,过20目筛,用95%乙醇室温浸泡2 d,超声提取3次,每次2 h,过滤,合并2次滤液,减压浓缩至无醇味,得粗提物。将粗提物分散于水中形成混悬液,用石油醚(60~90℃)萃取数次至石油醚层接近无色,于45℃旋蒸挥去石油醚,得黄色半固体油状物2.1 g。称取黄色半固体油状物20.59 mg,用正己烷定容至5 ml,过0.45 μm滤膜,取续滤液作为供试品溶液。

2.2 GC-MS分析条件

2.2.1 气相色谱条件 石英毛细管柱DB-5MS(30 m×0.25 mm,0.25 μm);进样口温度:250℃,升温程序:起始温度为60℃,以8℃/min的速率升至300℃,保持20 min;载气为高纯氮气,流量为1.0 ml/min。进样量1 μl,分流比为10:1。

2.2.2 质谱条件 电离方式EI,离子源电离电压70 eV,离子源温度250℃,扫描质量范围m/z 50~500。

3 实验结果

各色谱峰对应的化合物质谱图经联用仪的计算机谱库(NIST10谱库)检索进行定性,结合人工谱图解析,按各峰的质谱碎片与文献核对,查阅相关的质谱资料,通过对基峰、质荷比和相对丰度等方面进行比较,分别对各色谱峰加以鉴定,确认29种化合物,见表1和图1。各组分的相对含量根据总离子流图由计算机采用峰面积归一化法计算得出。

表1 蓍草脂溶性成分GC-MS组分分析

编号	保留时间 (<i>t_R</i> /min)	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对含量 (%)
1	7.71	bicyclo[2.2.1]heptan-2-one,1,7,7-trimethyl-, (1S) 左旋樟脑	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	0.59
2	8.14	(+)-borneol (+)-冰片	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.35
3	8.55	cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid 花生五烯酸	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302.45	0.42
4	11.92	1,4-methano-1H-indene, octahydro-4-methyl-8-methylene-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1 <i>a</i> ,3 <i>a</i> <i>a</i> ,4 <i>a</i> ,7 <i>a</i> ,7 <i>a</i> <i>a</i>)] (+)-苜蓿烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.62
5	13.31	tetradecane, 2,6,10-trimethyl 2,6,10-三甲基正十四烷	C ₁₇ H ₃₆	240.46	0.56
6	13.61	phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) 2,4-(1,1-二甲基)苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32	1.05
7	14.89	caryophyllene oxide 氧化石竹烯	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	0.29
8	15.31	cedrane, 8-propoxy 8-丙氧基柏木烷	C ₁₈ H ₃₂ O	264.45	0.18
9	16.37	heptadecane, 9-hexyl 9-己基十七烷	C ₂₃ H ₄₈	324.64	0.21
10	16.50	ethanol, 2-(octadecyloxy) 2-(十八氧基)乙醇	C ₂₀ H ₄₂ O ₂	314.55	0.46
11	18.36	2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl 6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	C ₁₈ H ₃₆ O	268.48	0.86
12	18.42	tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester 三甲酯肉豆蔻酸	C ₁₇ H ₃₆ O ₂ Si	332.54	0.50
13	19.18	7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione 7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸烯二酮	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	244.38	0.52
14	19.87	n-hexadecanoic acid 棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.43	7.98
15	20.88	hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester 十六烷酸三甲基硅酯	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si	360.61	1.00
16	21.66	phytol 植醇	C ₂₀ H ₄₀ O	296.53	1.07
17	21.92	13-heptadecyn-1-ol 13-十七碳-1-醇	C ₁₇ H ₃₂ O	236.43	1.41
18	21.98	octadecanoic acid 硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.48	3.55
	22.28	L-ascorbic acid, 6-octadecanoate L-抗坏血酸 6-硬脂酸酯	C ₂₄ H ₄₂ O ₇	442.59	1.13
19	22.82	9,12,15-octadecatrienoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyloxy)propyl] ester, (Z,Z,Z) 9,12,15-十八碳三烯酸 2,3-二[(三甲基硅基)氧基]丙基酯	C ₂₇ H ₅₂ O ₄ Si ₂	502.88	0.71
20	31.44	octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl) 3-乙基-5-(2-乙基丁基)-十八烷	C ₂₆ H ₅₄	366.71	1.61
21	33.30	1-monolinoleoylglycerol trimethylsilyl ether 1-甘油单酯三甲基硅醚	C ₂₇ H ₅₄ O ₄ Si	510.72	1.22
22	34.11	Stigmasterol 豆甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412.69	3.68
23	34.54	Rhodopin 视紫红质	C ₄₀ H ₅₈ O	554.89	2.01
24	34.84	olean-12-ene-3,28-diol, (3 <i>a</i>) 高根二醇	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	442.72	1.28
25	35.59	Betulin 白桦脂醇	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	442.72	0.80
26	37.09	lup-20(29)-en-3-ol, acetate, (3 <i>b</i>) 乙酸羽扇醇酯	C ₃₂ H ₅₂ O ₂	468.75	10.99
27	37.42	1-heptatriacotanol 正三十七醇	C ₃₇ H ₇₆ O	537.01	1.02
28	37.73	friedelan-3 <i>beta</i> -ol 表木栓醇	C ₃₀ H ₅₂ O	428.73	33.16
29	38.09	friedelan-3-one 木栓酮	C ₃₀ H ₅₀ O	426.72	3.51

在薯草脂溶性成分中已鉴定出来的化合物成分占总量的 82.74%，主要成分依次为表木栓醇(33.16%)、乙酸羽扇醇酯(10.99%)、棕榈酸(7.98%)、豆甾醇(3.68%)、硬脂酸(3.55%)、木栓酮(3.51%)等。经检索 NIST10 谱库,结合人工谱图解析,我们从薯草脂溶性成分中匹配出表木栓醇、乙酸羽扇醇酯、棕榈酸、豆甾醇、硬脂酸及木栓酮 6 个含量较高的成分,如图 2~7 所示;通过各峰的质谱碎片与文献核对基本可以确定该化合物的结构。从已鉴定的化合物可知,三萜类化合物(4 种)占被测总量的 48.46%,酸类化合物(5 种)占被测总量的 13.16%,醇类化合物(6 种)占被测总量的 6.57%,还有一些杂环化合物、醛、烯和烷烃等。

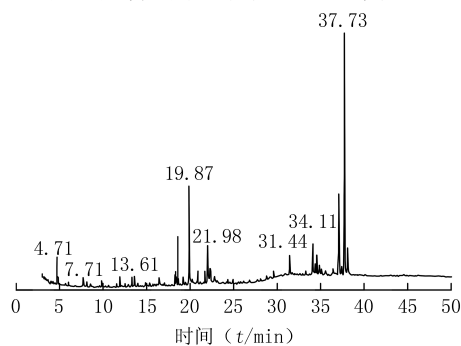


图 1 薯草脂溶性成分的总离子流图

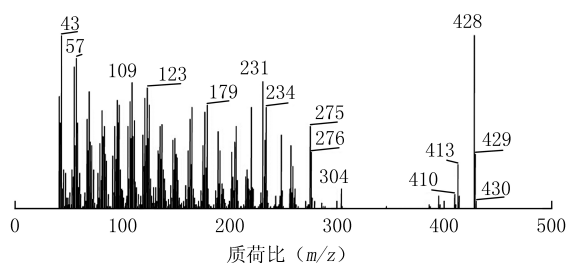


图 2 表木栓醇质谱图(匹配度:809)

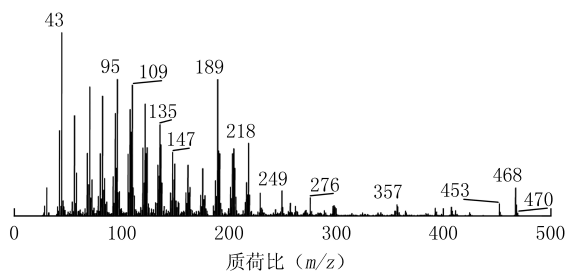


图 3 乙酸羽扇醇酯质谱图(匹配度:719)

4 讨论

笔者采用 GC-MS 法对薯草的脂溶性成分进行研究,利用计算机检索 NIST10 谱库,对检测到的 40 个化合物进行分析,结合人工谱图解析,对 29 个

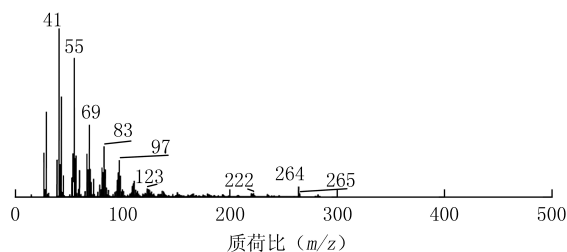


图 4 棕榈酸质谱图(匹配度:888)

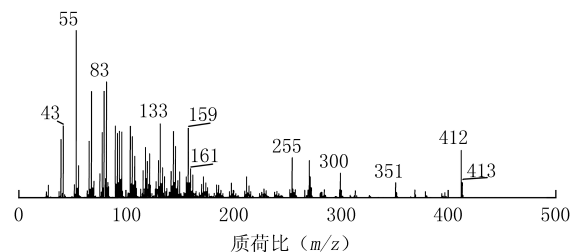


图 5 豆甾醇质谱图(匹配度:781)

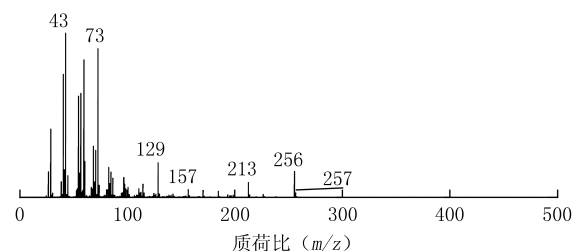


图 6 硬脂酸质谱图(匹配度:889)

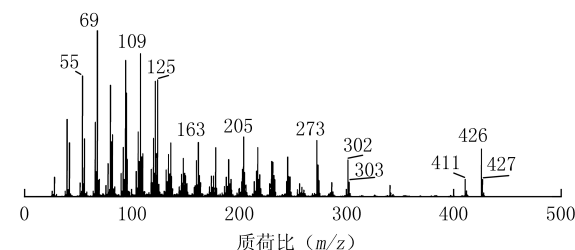


图 7 木栓酮质谱图(匹配度:757)

化合物进行定性及定量分析。实验结果表明,薯草脂溶性提取物中包含萜类(54.67%)、酸类(13.16%)、醇类(6.57%)、酯类(3.35%)、烃类(2.56%)、醛酮类(1.38%)及酚类(1.05%)。在薯草脂溶性成分中,萜类有 11 个化合物,含量较多的是表木栓醇(33.16%)、乙酸羽扇醇酯(10.99%)、木栓酮(3.51%)、视紫红质(2.01%)、高根二醇(1.28%)、植醇(1.07%);酸类有 5 个化合物,含量较多的是棕榈酸(7.98%)、硬脂酸(3.55%);醇类有 3 个化合物,含量较多的是豆甾醇(3.68%);酯类有 3 个化合物,含量较多的是 1-甘油单酯三甲基硅醚

(1.22%); 烃类有4个化合物,含量较多的是3-乙基-5-(2-乙基丁基)-十八烷(1.61%); 醛酮类有2个化合物,含量较多的是6,10,14-三甲基-2-十五烷酮(0.86%); 酚类中含有2,4-(1,1-二甲基)苯酚(1.05%)。

薯蓣脂溶性成分中含量最高的表木栓醇为一种三萜类化合物,现已从薯蓣乙醇提取物的氯仿部分中分离得到^[11]。最新研究^[12-14]发现,表木栓醇具有抗肿瘤、抗乙肝病毒、抗炎等活性,此外,表木栓醇还有可能是祛痰、镇咳的有效成分之一^[13],能有效抑制氨水所致的小鼠咳嗽。因此,表木栓醇等三萜类化合物可能在薯蓣的抗炎、抗病毒机制中发挥重要作用^[14]。

5 结语

薯蓣(*Achillea alpina* L.)为《中华人民共和国药典(一部)》2015年版收录的品种^[15],夏、秋两季花开时采割,除去杂质,阴干。薯蓣的干燥地上部分作为药材入药,在我国应用已有几千年的历史,主要用于乳蛾咽痛,泄泻痢疾,肠痈腹痛,热淋涩痛,湿热带下,蛇虫咬伤等。临床上使用的薯蓣总酸胶囊主要用于治疗颌面部牙源性炎症、咽喉部炎症及尿路感染^[1]。根据现有文献报道^[2-7],欧薯蓣的水醇提取物有明显的抗氧化、抗病毒、解痉挛及治疗胃溃疡等作用,且脂溶性成分在其中可能发挥主要作用。因此,本实验采用GC-MS法对薯蓣中脂溶性成分进行研究,结果表明薯蓣的脂溶性成分中萜类含量最高,其可能在薯蓣的抗炎、抗病毒机制中发挥重要作用^[14],具体的作用机制还有待进一步研究。基于本研究结果萜类含量较高(54.17%),且萜类成分中含有表木栓醇、木栓酮、植醇等生物活性物质^[16-19],故可考虑将其开发成中药新药,为进一步合理利用该植物资源提供了依据。

【参考文献】

[1] 汪长生. 薯蓣的研究进展[J]. 德兴医药通讯, 2002, (67): 43-46.
[2] Zolghadri Y, Fazeli M, Kooshki M, et al. *Achillea Millefolium* L. hydro-alcoholic extract protects pancreatic cells by down regulating IL-1 β and iNOS gene expression in diabetic rats[J]. Int J Mol Cell Med, 2014, 3(4): 255-262.
[3] Moradi MT, Rafieian-Koupaei M, Imani-Rastabi R, et al. Antispasmodic effects of yarrow (*Achillea millefolium* L.)

extract in the isolated ileum of rat[J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2013, 10(6): 499-503.
[4] Potrich FB, Allemann A, DaSilva LM, et al. Antitumor activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: involvement of the antioxidant system[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 130(1): 85-92.
[5] Babaei M, Abarghoei ME, Akhavan MM, et al. Antitumor effect of hydroalcoholic extract of yarrow (*Achillea millefolium*) on the guinea-pig ileum[J]. Pak J Biol Sci., 2007, 10(20): 3673-3677.
[6] Ardestani A, Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts[J]. Food Chem, 2007, 104(1): 21-29.
[7] Peng HY, Lin CC, Wang HY, et al. The melanogenesis alteration effects of *Achillea millefolium* L. essential oil and linalyl acetate: involvement of oxidative stress and the JNK and ERK signaling pathways in melanoma cells[J]. Plos One, 2014, 9(4): e95186.
[8] Bafrani HH, Parsa Y, Yadollah-Damavandi S, et al. Biochemical and pathological study of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L. on ethylene glycol-induced nephrolithiasis in laboratory rats[J]. North Am J Med Sci, 2014, 6(12): 638-642.
[9] 刘美兰. 薯蓣抗菌消炎有效成分的研究[J]. 中医杂志, 1983, 3: 213-216.
[10] 白音夫, 齐明玉, 李德良等. 薯蓣不同部位镇痛、抗炎、镇静、催眠作用研究[J]. 中国药理通讯, 2008, 25(3): 51.
[11] 张锐泽. 两种药用植物地苣蓉和薯蓣化学成分研究[D]. 上海: 复旦大学, 2013.
[12] Chou ST, Peng HY, Hsu JC, et al. *Achillea millefolium* L. essential oil inhibits LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production in RAW 264.7 Macrophages[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(7): 12978-12993.
[13] 张锐泽, 徐燕杰, 熊娟, 等. 薯蓣的化学成分研究[J]. 中草药, 2013, 44(20): 2812-2815.
[14] 蒙丽丽, 黄初升, 刘红星. 具有生物活性的天然三萜化合物的研究进展[J]. 广西植物, 2008, 28(6): 856-860.
[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 350.
[16] 刘可越, 张铁军, 高文远, 等. 紫菀中三萜及甾体化合物的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 4-6.
[17] 刘可越, 刘海军, 吴家忠, 等. 粟米草中抗肿瘤的活性成分研究[J]. 中成药, 2010, 32(9): 1628-1631.
[18] 李庆勇, 姜春菲, 张黎, 等. β -谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1173-1175.
[19] 周文兵. 中药紫菀化学成分研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2010.

【收稿日期】 2016-03-31 【修回日期】 2016-07-20
【本文编辑】 顾文华