

## 与熏硫加工相关的白芷化学成分研究

蒋运斌<sup>1</sup>, 卢晓琳<sup>2</sup>, 杨枝中<sup>1</sup>, 马羚<sup>1</sup>, 马逾英<sup>1\*</sup>

(1. 成都中医药大学药学院, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137; 2. 四川农业大学农学院, 成都 611130)

**[摘要]** 目的: 寻找与熏硫加工相关的白芷特征性化学成分。方法: 利用正反相色谱、质谱、核磁共振, 分离并鉴定化合物结构。采用高效液相色谱法分析。结果: 分离鉴定了13个化合物, 氧化前胡素(1), 珊瑚菜内酯(2), 花椒毒素(3), 水合氧化前胡内酯(4), 栓翅芹烯醇(5), 异紫花前胡内酯(6), 白当归素(7), 佛手内酯(8), 异虎耳草素(9), 欧前胡素(10), 异欧前胡素(11), 白当归脑(12)和新白当归脑(13)。发现氧化前胡素、水合氧化前胡内酯、佛手内酯、白当归脑4个化合物在白芷熏硫前后指纹图谱中变化较为明显。结论: 为白芷质量控制指标成分的选择提供新的依据。

**[关键词]** 白芷; 氧化前胡素; 指纹图谱; 药材质量

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0074-05

**[doi]** 10.11653/syjf2013220074

## Studies on the Chemical Constituents of *Angelica dahurica* Related to Sulfur Fumigated

JIANG Yun-bin<sup>1</sup>, LU Xiao-lin<sup>2</sup>, YANG Zhi-zhong<sup>1</sup>, MA Ling<sup>1</sup>, MA Yu-ying<sup>1\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Chengdu 611137, China;  
2. Agronomy College, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

**[Abstract]** **Objective:** To find the correlative characteristic components of *Angelicae Dahuricae Radix* which is related to sulfur fumigated. **Method:** Normal or reversed phase partition chromatography, mass spectrum and nuclear magnetic resonance spectroscopy were used for isolation and identification of compounds. Using high-performance liquid chromatography (HPLC) analysed. **Result:** Thirteen compounds were obtained and identified as oxypeucedanin (1), phellopterin (2), xanthotoxin (3), oxypeucedanin hydrate (4), pabulenol (5), marmesin (6), byakangelicin (7), bergapten (8), isopimpinellin (9), imperatorin (10), isoimperatorin (11), byakangelicol (12) and neobyakangelicol (13). Oxypeucedanin, oxypeucedanin hydrate, bergapten and byakangelicol were obviously changed in HPLC fingerprints after fumigated with sulfur. **Conclusion:** The quality control of *Angelicae Dahuricae Radix* provide new evidence for the selection of indicators.

**[Key words]** *Angelicae Dahuricae Radix*; oxypeucedanin; fingerprint; quality of medicinal materials

白芷为常用中药,始载于《神农本草经》,列为中品,具有祛风止痛、消肿排脓之功效。目前,白芷药材多采用熏硫的产地加工方法。虽然熏硫有干燥、防虫、防烂作用,但熏硫后川白芷的主要成分损失较大,药材质量明显下降,且未显示出镇痛效果。有关熏硫对川白芷药材的生药性状、品质、主要化学成分的影响已有文献报道<sup>[1-3]</sup>。如何有效控制白芷药材质量及判断含白芷复方制剂中使用的白芷药材

**[收稿日期]** 20130626(017)

**[基金项目]** 国家“十一五”科技支撑计划项目 (2007BA140B02)

**[第一作者]** 蒋运斌,博士,从事中药品种、质量及资源开发, Tel:13808208391, E-mail: edtemjiang@163.com

**[通讯作者]** \*马逾英,学士,教授,博士生导师,从事中药品种、质量及资源开发, Tel: 13678189939, E-mail: ma-yuying@126.com

是否熏硫,虽然对二氧化硫残留量检测方法已有深入研究,但是没有与化学成分相结合的量化标准。本文根据川白芷熏硫与未熏硫药材指纹图谱的差异,利用正反相色谱、质谱、核磁共振,分离、鉴定出与熏硫加工相关的化学成分,为选择白芷质量控制指标成分提供新的依据。

## 1 材料

**1.1 样品来源** 白芷药材(晒干)2009年9月购于四川遂宁川白芷GAP基地,经成都中医药大学马逾英教授鉴定为伞形科植物杭白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana* (Boiss) Shan et Yuan 的干燥根。

**1.2 仪器** Finnigan mat AS3000 型高效液相色谱仪, Finnigan LCQ<sup>EDCA</sup> 型质谱仪, Advance Bruker 型 600 MHz 核磁共振仪(TMS 为内标), OHAUS GA110 型分析天平, BUCHI R-114 型旋转蒸发仪。

**1.3 试药** 欧前胡素对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号 110826-200511)。甲醇、乙醇、乙酸乙酯、石油醚、丙酮、氯仿(分析纯,成都科龙化工试剂厂),四氢呋喃、甲醇(色谱纯, Fisher Scientific),柱色谱(100~160, 200~300目)硅胶(青岛海洋化工集团有限公司); Sephadex LH-20 (Pharmacia); 反相硅胶 ODS (Cosmosil75C<sub>18</sub>-OPN, Nacalai Tesque 公司); 薄层色谱硅胶 G, GF<sub>254</sub> (青岛海洋化工集团有限公司),水为重蒸馏水。

## 2 方法与结果

**2.1 提取与分离** 第一次分离:干燥川白芷根粉碎样品 5.75 kg,以 70% 乙醇浸泡 24 h,以 15 mL·min<sup>-1</sup> 渗漉提取,收集 6 倍量渗滤液,减压浓缩得总浸膏。总浸膏用水分散后,用乙酸乙酯分别萃取 3 次,减压浓缩得乙酸乙酯萃取物 72.08 g。乙酸乙酯萃取物进行硅胶(160~200目)柱色谱,用不同比例石油醚-丙酮混合溶剂(20:1~10:1~7:1~5:1~3:1~2:1~1:1)依次洗脱,收集并合并得到 12 个流分。各流分用 HPLC 指纹图谱检测与熏硫、未熏硫白芷进行对照,选取含目标化合物的流分进行下一步分离。选取的流分经过反复硅胶(200~300目)柱色谱和 Sephadex LH-20 柱色谱分离得到化合物 1~11。

第二次分离:干燥川白芷根粉碎样品 1 kg,以 70% 乙醇浸泡 24 h,以 3 mL·min<sup>-1</sup> 渗漉提取,收集 6 倍量渗滤液,减压浓缩得总浸膏 24 g。总浸膏进行 C-18 反相柱色谱,用不同比例的甲醇-水混合溶剂(30%~40%~50%~60%~70%~80%~100%)

依次洗脱,收集并合并得到 7 个流分。各流分用 HPLC 指纹图谱检测,与熏硫、未熏硫白芷药材进行对照,选取含目标化合物的流分进行下一步分离。流分 D 用制备薄层色谱法(石油醚-丙酮-氯仿 3:1.5:1.5)分离得到目标化合物 12,13。

## 2.2 结构鉴定

化合物 1 在氯仿中结晶为无色块状晶体,紫外灯下呈黄绿色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 287 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.32 (3H, s, -CH<sub>3</sub>) 和 1.40 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3.22 (1H, dd,  $J$  = 4.2, 6.6 Hz, 2"), 4.42 (1H, dd,  $J$  = 6.5, 10.8 Hz, 1"), 4.58 (1H, dd,  $J$  = 4.3, 10.8 Hz, 1"), 6.31 (1H, d,  $J$  = 9.8 Hz, H-3), 6.95 (1H, s, H-3'), 7.19 (1H, s, H-8), 7.61 (1H, d,  $J$  = 1.9 Hz, H-2'), 8.19 (1H, d,  $J$  = 9.8 Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 19.0 (-CH<sub>3</sub>, C-5"), 24.5 (-CH<sub>3</sub>, C-4"), 58.3 (O-C-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, C-3"), 72.3 (C-1"), 77.0 (C-2") 94.9 (C-8), 104.4 (C-3'), 107.5 (C-10), 113.2 (C-3), 114.2 (C-6), 138.9 (C-4), 145.3 (C-2'), 148.3 (C-5), 152.6 (C-9), 158.0 (C-7), 161.0 (C-2)。以上数据与文献报道的氧化前胡素 (oxypeucedanin, C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>)<sup>[4-5]</sup> 一致。

化合物 2 甲醇中结晶为淡绿色方晶,紫外灯下呈土黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 323 [M + Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.70 (3H, s, -CH<sub>3</sub>) 和 1.73 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 4.17 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.84 (2H, d,  $J$  = 7.2 Hz, O-CH<sub>2</sub>-), 5.60 (1H, t,  $J$  = 7.2 Hz, -CH=), 6.27 (1H, d,  $J$  = 9.72 Hz, H-3), 6.98 (1H, d,  $J$  = 2.34 Hz, H-3'), 7.61 (1H, d,  $J$  = 2.34 Hz, H-2'), 8.11 (1H, d,  $J$  = 9.66 Hz, H-4)。以上数据与文献报道的珊瑚菜内酯 (phellopterin, C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>) 一致<sup>[6]</sup>。

化合物 3 甲醇中结晶为羽毛状针晶,紫外灯下呈土黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 217 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.29 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.37 (1H, d,  $J$  = 9.6 Hz, H-3), 6.81 (1H, d,  $J$  = 9.2 Hz, H-3'), 7.34 (1H, s, H-5), 7.68 (1H, d,  $J$  = 2.1 Hz, H-2'), 7.75 (1H, d,  $J$  = 9.6 Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 61.1 (-OCH<sub>3</sub>), 106.7 (C-3'), 112.8 (C-5), 114.7 (C-3), 116.5 (C-10), 126.1 (C-6), 132.8 (C-8), 143.0 (C-9), 144.2 (C-4), 146.6 (C-2'), 147.7 (C-7), 160.4 (C-2) 以上数据与文献报道的花椒毒素 (xanthotoxin, C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>)<sup>[4]</sup> 一致。

化合物 4 白色无定形粉末,紫外灯下呈黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 305 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, Acetone)  $\delta$ : 1.63 (3H, s, -CH<sub>3</sub>) 和 1.68 (3H, s, -

CH<sub>3</sub>), 4.10 (1H, dd,  $J = 2.16, 7.62$  Hz, H-2''), 4.51 (1H, dd,  $J = 7.80, 9.96$  Hz, H-1''), 4.92 (1H, dd,  $J = 2.34, 9.78$  Hz, H-1''), 6.25 (1H, d,  $J = 9.48$  Hz, H-3), 7.19 (1H, s, H-8), 7.26 (1H, dd,  $J = 0.96, 2.34$  Hz, H-3'), 7.87 (1H, d,  $J = 2.34$  Hz, H-2'), 8.37 (1H, d,  $J = 9.78$  Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (600 MHz, Acetone): 27.3 (-CH<sub>3</sub>), 27.4 (-CH<sub>3</sub>), 71.25 (C-1''), 76.84 (C-3''), 74.8 (C-2''), 93.7 (C-8), 105.1 (C-3'), 107.1 (C-10), 112.5 (C-3), 114.0 (C-6), 139.5 (C-4), 145.6 (C-2'), 149.2 (C-5), 152.7 (C-9), 158.1 (C-7), 160.1 (C-2)。以上数据与文献报道的水合氧化前胡内酯 (oxypeucedanin hydrate, C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>)<sup>[6]</sup>一致。

化合物 5 白色无定形粉末, 紫外灯下呈黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 287 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (Acetone)  $\delta$ : 1.80 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 4.48 (1H, m, H-1''), 4.57 (1H, m, H-1''), 4.95 (1H, s, H-4''), 5.15 (1H, s, H-4''), 6.24 (1H, d,  $J = 9.78$  Hz, H-3), 7.17 (1H, s, H-8), 7.25 (1H, d,  $J = 2.16$  Hz, H-3') 7.85 (1H, d,  $J = 2.34$  Hz, H-2'), 8.34 (1H, d,  $J = 9.78$  Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (Acetone)  $\delta$ : 17.8 (-CH<sub>3</sub>), 75.8 (C-1''), 73.4 (C-2''), 93.4 (C-8), 105.2 (C-3'), 107.1 (C-10), 111.8 (C-4''), 112.3 (C-3), 113.8 (C-6), 139.6 (C-4), 144.8 (C-3''), 145.6 (C-2'), 149.3 (C-5), 152.7 (C-9), 158.1 (C-7) 160.1 (C-2)。以上数据与文献报道的栓翅芹烯醇 (pabulenol, C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>)<sup>[5]</sup>一致。

化合物 6 白色无定形粉末, 紫外灯下呈蓝紫色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 247 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.22 (3H, s, -CH<sub>3</sub>) 和 1.35 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 1.82 (1H, s, -OH), 3.19 (2H, m, H-3'), 4.72 (1H, t,  $J = 8.88$  Hz, H-2'), 6.18 (1H, d,  $J = 9.48$  Hz, H-3), 6.71 (1H, s, H-8), 7.19 (1H, s, H-5), 7.56 (1H, d,  $J = 9.42$  Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 24.3 (-CH<sub>3</sub>), 26.0 (-CH<sub>3</sub>), 29.5 (C-3'), 71.6 (C-4'), 91.1 (C-2'), 97.9 (C-8), 112.3 (C-3), 112.8 (C-10), 123.4 (C-5), 125.0 (C-6), 143.6 (C-4), 155.7 (C-9), 161.4 (C-2), 163.2 (C-7)。以上数据与文献报道的异紫花前胡内酯 (marmesin, C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>)<sup>[7-8]</sup>一致。

化合物 7 白色无定形粉末, 紫外灯下呈黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 357 [M + Na]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 1.28 (3H, s, -CH<sub>3</sub>) 和 1.31 (3H, s, -CH<sub>3</sub>), 2.62 (1H, s, -OH), 3.49 (1H, s, -OH), 3.84

(1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-2''), 4.18 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.26 (1H, t, H-1''), 4.60 (1H, dd,  $J = 2.16, 10.2$  Hz, H-1''), 6.28 (1H, d,  $J = 9.78$  Hz, H-3), 7.01 (1H, d,  $J = 1.98$  Hz, H-3'), 7.63 (1H, d,  $J = 1.98$  Hz, H-2'), 8.12 (1H, d,  $J = 9.78$  Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 25.0 (-CH<sub>3</sub>), 26.6 (-CH<sub>3</sub>), 60.7 (-OCH<sub>3</sub>), 71.5 (C-1''), 76.0 (C-2''), 76.1 (C-3''), 105.3 (C-3'), 107.5 (C-10), 112.8 (C-3), 114.5 (C-6), 126.8 (C-8), 139.4 (C-4), 143.9 (C-9), 144.8 (C-5), 145.2 (C-2'), 150.1 (C-7), 160.1 (C-2)。以上数据与文献报道的白当归素 (byakangelicin, C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>)<sup>[6,8]</sup>一致。

化合物 8 白色无定形粉末, 紫外灯下呈黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 217 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.26 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.27 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-3), 7.01 (1H, d,  $J = 2.16$  Hz, H-2'), 7.13 (1H, s, H-8), 7.59 (1H, d,  $J = 2.16$  Hz, H-3'), 8.15 (1H, d,  $J = 9.66$  Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 60.1 (-OCH<sub>3</sub>), 93.8 (C-8), 105.0 (C-3'), 106.4 (C-10), 112.6 (C-3), 112.7 (C-6), 139.2 (C-4), 144.7 (C-2'), 149.6 (C-5), 152.7 (C-9), 158.4 (C-7), 161.2 (C-2)。以上数据与文献报道的佛手内酯 (bergapten, C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>)<sup>[9-10]</sup>一致。

化合物 9 白色无定形粉末, 紫外灯下呈黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 247 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 4.16 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.28 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 6.99 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'), 7.62 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-3'), 8.11 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 60.8 (-OCH<sub>3</sub>), 61.7 (-OCH<sub>3</sub>), 105.0 (C-3'), 107.7 (C-10), 112.9 (C-3), 114.8 (C-6), 128.3 (C-8), 139.3 (C-4), 143.7 (C-9), 144.3 (C-5), 145.1 (C-2'), 150.0 (C-7), 160.4 (C-2)。以上数据与文献报道的异虎耳草素 (isopimpinellin, C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sup>[9,11]</sup>一致。

化合物 10 无色针晶, 紫外光下呈黄色荧光。ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献报道的欧前胡素一致<sup>[12-15]</sup>。TLC 的 R<sub>f</sub> 值与欧前胡素对照品一致, 故鉴定化合物 10 为欧前胡素 (imperatorin, C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>)

化合物 11 无色羽毛状针晶, 无色针晶, 紫外光下呈黄色荧光。ESI-MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献<sup>[12-15]</sup>报道的异欧前胡素一致。TLC 的 R<sub>f</sub> 值与异欧前胡素对照品一致, 故鉴定化合物 11 为异欧前胡素 (isoimperatorin, C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>)

化合物 12 白色无定形粉末, 紫外光灯下呈黄

色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 339  $[M + Na]^+$ 。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.32, (3H, s,  $-CH_3$ ), 1.46, (3H, s,  $CH_3$ ), 3.36 (1H, t,  $J = 5.70$ ,  $-CH-$ ), 4.50 (2H, d,  $J = 5.64$ ,  $-OCH_2-$ ), 6.35 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 7.07 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2'), 7.69 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-3'), 8.19 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4)。 $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 18.8 (C-5''), 24.4 (C-4''), 58.1 (C-3''), 60.7 ( $-OCH_3$ ), 61.4 (C-2''), 72.7 (C-1''), 105.2 (C-3'), 107.5 (C-10), 112.9 (C-3), 114.5 (C-6), 126.7 (C-8), 139.4 (C-4), 144.2 (C-9), 144.8 (C-5), 145.2 (C-2'), 150.5 (C-7), 160.3 (C-2)。以上数据与文献报道的白当归脑 (byakangelicol,  $C_{17}H_{16}O_6$ )<sup>[16]</sup>一致。

化合物 13 黄色油状物,紫外光灯下呈黄色荧光。ESI-MS  $m/z$ : 339  $[M + Na]^+$ 。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.81 (3H, s,  $-CH_3$ ), 4.16 (1H, dd,  $J = 2.7, 9.96$  Hz, H-1'), 4.18 (3H, s,  $-OCH_3$ ), 4.47 (1H, dd,  $J = 2.7, 9.96$  Hz, H-1'), 4.50 (1H, d,  $J = 8.46$  Hz, H-3'), 4.98 (1H, s, H-4''), 5.15 (1H, s, H-4''), 6.28 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 7.01 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2'), 7.63 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-3'), 8.11 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-4)。 $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 18.9 (C-5''), 60.7 ( $-OCH_3$ ), 73.9 (C-2''), 77.7 (C-1''), 105.3 (C-3'), 107.5 (C-10), 112.7 (C-4''), 112.9 (C-3), 114.5 (C-6), 126.8 (C-8), 139.4 (C-4), 142.7 (C-9), 144.1 (C-3''), 144.9 (C-5), 145.2 (C-2'), 150.3 (C-7), 160.1 (C-2)。以上数据与文献报道的新白当归脑 (neobyakangelicol,  $C_{17}H_{16}O_6$ )<sup>[17]</sup>一致。

2.3 指纹图谱中峰的标定 将分离得到的化合物与熏硫、未熏硫白芷药材,进行 HPLC 图谱对比。

2.3.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以四氢呋喃-甲醇-水为流动相如下,梯度洗脱(表 1),检测波长 320 nm,流速  $1.0 mL \cdot min^{-1}$ ,柱温  $35^\circ C$ 。

表 1 流动相梯度洗脱程序

洗脱时间/min	水/%	四氢呋喃/%	甲醇/%
0	60	8	32
5	60	8	32
55	20	16	64
60	20	16	64

2.3.2 参照物溶液的制备 取分离得到的化合物适量,置 100 mL 量瓶中,加甲醇适量使溶解,稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取白芷药材样品 0.4 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 45 mL 甲醇超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz) 60 min,滤过,加甲醇稀释至 100 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.3.4 测定法 精密吸取供试品溶液和参照物溶液各 10  $\mu L$ ,注入液相色谱仪,记录 60 min 色谱。

2.3.5 实验结果 将分离得到的化合物,与白芷指纹图谱对应,标记出相应的峰,识别出熏硫白芷在指纹图谱上明显缺失的峰为:氧化前胡素、水合氧化前胡内酯、佛手内酯、白当归脑。结果见表 2,图 1。

表 2 化合物对应的保留时间

No.	化合物	保留时间/min
1	氧化前胡素	20.8
2	珊瑚菜内酯	31.2
3	花椒毒素	11.27
4	水合氧化前胡内酯	8.75
5	栓翅芹烯醇	21.83
6	异紫花前胡内酯	30.9
7	白当归素	8.33
8	佛手内酯	16.62
9	异虎耳草素	14.12
10	欧前胡素	28.82
11	异欧前胡素	36.35
12	白当归脑	18.83

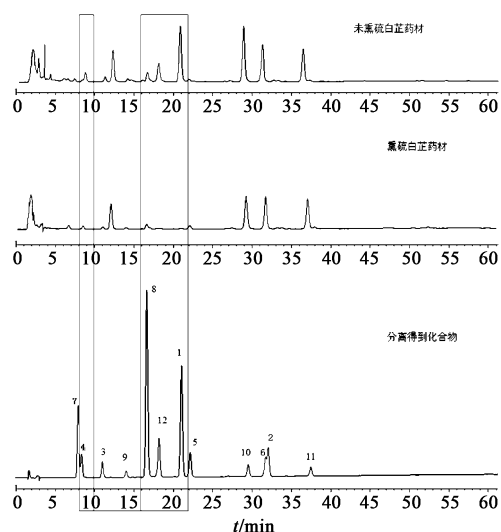


图 1 未熏硫、熏硫白芷与分离化合物对应的高效液相指纹图谱

### 3 讨论

根据川白芷熏硫前后在高效液相指纹图谱上的差异,通过色谱分离技术,利用正反相色谱,进行追踪分离,共分离得到 13 个化合物,均为呋喃香豆素。

其中氧化前胡素、水合氧化前胡内酯、佛手内酯、白当归脑 4 个化合物为白芷熏硫前后变化较为明显的成分。

现行版《中国药典》采用 HPLC 测定欧前胡素含量,规定不得少于 0.080%。但研究发现白芷熏硫前后变化最为明显的化学成分是氧化前胡素,建议以欧前胡素、氧化前胡素为指标控制白芷的内在质量。

### [参考文献]

[1] 王梦月,贾敏如,马逾英,等.不同入药部分及不同加工方法对白芷香豆素类成分含量的影响[J].中药材,2004,27(11):826.

[2] 马逾英,高颖,邹文莉,等.熏硫川白芷药材对小鼠镇痛作用的影响[J].华西药学杂志,2006,21(6):616.

[3] 钟世红,马逾英,贾敏如,等.川白芷 HPLC 指纹图谱研究[J].世界科学技术——中医药现代化,2005,7(6):67.

[4] 龚运准,丁立生.天然产物核磁共振碳谱分析[M].云南:云南科技出版社,2006.

[5] Yutaka Arimoto, Fumio Sugawara, Shigeo Yoshida, et al. Oxypeucedanin is a chemical facilitator for the enhanced development of the infection process in the epicarp of citrus limon by *Penicillium digitatum* [J]. Agric Food Chem. 1995, 43:2283.

[6] 梁波,徐丽珍,邹忠梅,等.川白芷的化学成分研究[J].中草药,2005,36(8):1132.

[7] 孙视,刘佳,孔令义.骨缘当归的化学成分研究[J].中国药学杂志,2006,19(4):1454.

[8] 肖瑛,李建北,丁怡.毛大丁草根和根茎化学成分的

研究[J].中国中药杂志,2002,27(8):594.

[9] 于磊,张东明.铁篱巴果化学成分的研究[J].中国中药杂志,2006,31(26):2049.

[10] Fujioka T, Furumi K, Fujii H, et al. Antiproliferative constituents from umbelliferae plants. V. A New furanocoumarin and falcariindiol furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica* [J]. Chem Pharm Bull, 1999, 47(1):96.

[11] Yong Yook Less, Sanghuyun Lee, Jing Ling Jin. Platelet Anti-Aggregatory effects of coumarins from the roots of *Angelica genaflexa* and *A. gigas* [J]. Arch Pharm Res, 2003, 26(9):723.

[12] 杨涓,邓赞,周在德,等.中药川白芷化学成分的研究[J].化学研究与应用,2002,14(2):227.

[13] 于德泉,杨峻山.分析化学手册第七分册:核磁共振波谱分析[M].北京:化学工业出版社,1999:449.

[14] 周继铭,余朝菁,杭宜卿.白芷的研究 V. 化学成分的研究[J].中草药,1987(18):242.

[15] Elgamel MHA, Elewa NH, Elkhrisy EAM, et al. <sup>13</sup>C NMR chemical shifts and carbon-proton coupling constants of some furocoumarins and furochromones[J]. Phytochemistry, 1979, 18:139.

[16] Ola Beregnndorff, Kim Dekermendjian, Mogens Nielsen, et al. Furanocoumarins with affinity to brain benzodiazepine receptors *In vitro* [J]. Phytochemistry, 1997, 44(6):1121.

[17] Yasuhisa Saiki, Kunio Morinaga, et al. On the coumarins of the roots of *Angelica dahurica* [J]. Yakuqaku Zasshi, 1971, 91(12):1313.

[责任编辑 顾雪竹]