

GC-MS 法研究东北刺人参挥发油抗真菌活性成分

孟晓伟¹, 付爱华², 刘兵³, 余辉攀¹, 刘博譞¹, 张宏桂^{1*}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 吉林大学第一医院, 长春 130021;
3. 吉林省人民医院, 长春 130021)

[摘要] 目的: 研究东北刺人参挥发油中抗真菌活性成分。方法: 按新版中国药典中水蒸气蒸馏法提取东北刺人参挥发油, 采用试管内药基法研究其抗真菌活性, 利用 GC-MS 分析其抗真菌活性成分。结果: 东北刺人参挥发油抗真菌活性 MIC 为 0.034% ~ 0.063%, MFC 为 0.070% ~ 0.126%, 挥发油中水溶性成分共 18 个, 已鉴定其中 12 个化合物, 占挥发油总量的 90.71%, 其中萜烯醇类化合物占 89.83%, 橙花叔醇占 38.40%, 毕橙茄醇占 28.44%。结论: 东北刺人参挥发油中水溶性成分抗真菌活性更显著, 主要化学成分为橙花叔醇和毕橙茄醇。

[关键词] 东北刺人参; 挥发油; GC-MS; 红色毛癣菌

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0136-03

Study on the Antifungal Active Constituent of Essential Oil from *Oplopanax elatus* by GC-MS

MENG Xiao-wei¹, FU Ai-hua², LIU Bing³, YU Hui-pang¹, LIU Bo-xuan¹, ZHANG Hong-gui^{1*}

(1. College of Chinese Pharmacology, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;
2. First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China;
3. People's Hospital of Jilin Province, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antifungal active constituent of essential oil from *Oplopanax elatus*.

Method: The essential oil of *Oplopanax elatus* was steam-distilled according to the China Pharmacopoeia to extract. Antifungal activity studies were carried out in vitro and antifungal active constituent were analyzed by GC-MS.

Result: Antifungal active MIC of essential oil from *Oplopanax elatus* ranged from 0.034% -0.063% and MFC 0.070% -0.126%. 18 components were obtained from water-soluble essential oil and 12 components were identified. 89.83% of them were terpenol compounds, nerolidol (38.40%) and T-cadinol (28.44%)

[收稿日期] 20120505(008)

[基金项目] 吉林省中医药管理局(吉中医 0251)

[通讯作者] * 张宏桂, 教授, 博士生导师, E-mail: bzy714@163.com

[11] 吴瑾瑾, 朱雨晴, 葛卫红, 等. 猕猴桃根多糖脂质体包封率测定方法研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 20.

[12] 代文婷, 张典瑞, 郭晨煜, 等. HPLC 法测定冬凌草甲素纳米脂质载体药物的含量及包封率[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(4): 587.

[13] 盛欢欢, 杨涛, 李岩, 等. HPLC 法测定穿心莲内酯固体脂质纳米粒载药量和包封率[J]. 中成药, 2012, 33(3): 458.

[14] 白兰, 赵明琴, 尹蓉莉, 等. 龙胆苦苷脂质体含量测定

及包封率考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 18(7): 48.

[15] 贾乐娇, 张典瑞, 孙言才. 水飞蓟宾纳米结构脂质中主药含量及包封率测定[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(18): 1400.

[16] 李鑫, 程岚, 李学涛. 异长春花碱脂质体中主药含量以及包封率的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11): 50.

[责任编辑 顾雪竹]

Conclusion: Antifungal activity of water-soluble essential oil from *Oplopanax elatus* was strong. The main components were nerolidol and T-cadinol.

[Key words] *Oplopanax elatus*; essential oil; GC-MS; *Trichophyton rubrum*

东北刺人参 *Oplopanax elatus* Nakai 系五加科人参属植物,主产于中国长白山和朝鲜及俄罗斯远东山区^[1],多生长在林丛中的潮湿环境,现有人工栽培^[2]。宓鹤鸣等^[3]报道刺人参挥发油具有抗真菌的作用,但未见文献报道其抗真菌作用的活性成分。本实验通过筛选刺人参挥发油抗致病真菌作用的活性组分,再采用 GC-MS 方法研究其活性成分。

1 材料与仪器

刺人参 *Oplopanax elatus* Nakai 采自吉林长白山县,经长春中医药大学高士贤教授鉴定为东北刺人参,红色毛癣菌取自北京医科大学附属第一医院皮肤科。GCMS-QP5050A 型气相色谱质谱联用仪(日本岛津公司),FLBP-250 型万能高速粉碎机(上海菲力博食品机械有限公司),乙酸乙酯、无水硫酸钠等均为分析纯化学试剂(北京化学试剂厂)。

2 方法

2.1 试药制备 取干燥的刺人参 4.0 kg,按中药材饮片加工方法粉碎,按《中国药典》2010 年版规定的水蒸气蒸馏法提取挥发油^[4]。所得挥发油提取液静置分层,分别放出水层和油层,分别转移至分液漏斗和锥形瓶中。油层加入适量乙醚稀释,再加入无水硫酸钠适量,干燥 12 h,过滤,回收乙醚,得干燥挥发油(A)2.9 g。水层用乙酸乙酯萃取其中溶解的挥发油。萃取液用无水硫酸钠干燥 12 h,过滤,回收乙酸乙酯,得干燥挥发油(B)1.37 g。

2.2 抗真菌实验^[5-7] 采用试管内药基法,无菌操作下,将高压灭菌后的沙堡琼脂基趁液态和微量吐温 40 与挥发油 A,B 溶剂分别充分混匀,倍比稀释成 8%,4%,2%,1%,0.5%,0.125%,0.062 5% 系列浓度。用接种针挑取米粒大小的红色毛癣菌菌落,分别接种于挥发油 A,B 不同浓度的药基斜面上,每个浓度接种 2 管,每管接种 2 点,同时接种 2 管不含药物的含等量吐温 40 沙堡琼脂基做对照。置于 25 °C 恒温箱中培养 14 d,每日观察其生长情况,并做好记录。最大稀释度无生长为 MIC,取出未生长菌落转种于沙堡琼脂基上,25 °C 再培养 14 d,仍未生长的最低浓度为 MFC,重复试验一次。

2.3 色谱条件 GC:HP-5MS 毛细管色谱柱(0.25 μm × 0.25 mm × 30 m),进样口温度 280 °C,接口温 230 °C,载气为氦气,流速 1 mL·min⁻¹,分流比 10:

1,进样量 1.0 μL,升温程序(柱始温 100 °C,保持 4 min,再以 5 °C·min⁻¹速率升到 170 °C,保持 10 min,再以 5 °C·min⁻¹速率升到 280 °C,保持 5 min),EI-MS 70 eV,质量扫描范围 m/z 33 ~ 500,扫描速率 1 000 amu·s⁻¹,电离电压 1.00 kV。采用 GC-MS 法分析抗真菌活性较强的挥发油化学成分。

3 结果与讨论

3.1 刺人参挥发油抗真菌活性试验结果 对照组显示真菌菌落生长良好,而刺人参挥发油对红色毛癣菌有明显的抑杀作用,其 MIC, MFC 值如下表 1。从表 1 可以看出,挥发油 B 抗红色毛癣菌活性约是挥发油 A 抗红色毛癣菌活性的 2 倍。

表 1 刺人参挥发油 A、B 抗红色毛癣菌活性比较 %

试药	MIC	MFC
挥发油 A	0.063	0.126
挥发油 B	0.034	0.070

3.2 刺人参挥发油 B 的 GC-MS 分析^[8-11] 按设定的色谱条件对刺人参挥发油 B 进行分析,得到刺人参挥发油 B 的 GC-MS 总离子流图,共 18 个峰。经谱库检索,根据质谱数据、人工图谱解析与相关参考文献资料,鉴定出刺人参挥发油 B 中的 12 个化合物,占挥发油总量的 90.71%,其中萜烯醇类占 89.83%,橙花叔醇占 38.40%,毕橙茄醇占 28.44%。刺人参挥发油 B 的 GC-MS 总离子流图见图 1,2,已鉴定出刺人参挥发油 B 中化学成分见表 2。

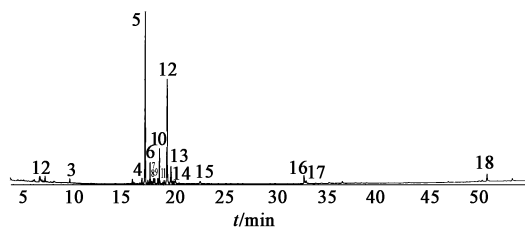


图 1 挥发油 B 的总离子流色谱

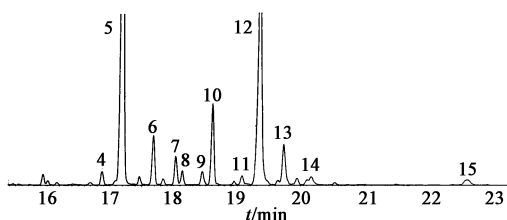


图 2 挥发油 B 的总离子流局部放大色谱

表 2 挥发油 B 的化学成分及相对百分含量

峰号	保留时间/min	化合物名称	化学式	相对分子量	相对百分含量/%
2	7.173	α -terpineol α -松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.43
3	9.677	acetic acid 乙酸异龙脑酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.88
4	16.876	a-elemol a-榄香醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1.15
5	17.214	nerolidol 橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	38.40
6	17.686	(-)-spathulenol 匙叶桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	220	4.03
7	18.031	trans-a-elemol 反式-a-榄香醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	2.37
8	18.134	(-)-guaial 愈创木醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1.08
9	18.444	rosifoliol 八氢四甲基萘甲醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1.19
10	18.612	cubanol 葎澄茄油烯醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	6.62
12	19.366	t-cadinol T-葎澄茄醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	28.44
13	19.732	α -cadinol α -葎澄茄醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	4.09
15	22.596	7-acetyl-2-hydroxy-2-methyl-5-isopropylbicycl[4,3,0]nonane 7-乙酰基-2-羟基-2-甲基-5-异丙基-双环[4,3,0]壬烷	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	238	1.03

3.3 讨论 按《中国药典》方法提取挥发油,其水层溶有部分挥发油。从所鉴定的结果可见,溶于水层中的挥发油部位基本上是含氧化合物,其中多为萜烯醇类化合物。说明这部分化合物水溶性强于其他不含氧挥发油成分。

由表 1 可见,刺人参与含氧挥发油成分或水溶性相对强的挥发油部位的抗真菌活性明显强于其水溶性差的挥发油部位。

皮肤癣菌病在我国较常见,北方约占皮肤科门诊量 10%,南方更多,药物治疗后经常复发,有必要研究新的抗真菌药物。本文报道的研究结果为该类新药发现提供了参考。

[参考文献]

[1] 吉林省中医中药研究所. 长白山植物药志[M]. 长春:吉林人民出版社,1982:785.
[2] 王章淮. 东北刺人参与的引种繁殖[J]. 自然资源研究, 1980,2(2):61.
[3] 宓鹤鸣,李承祜,苏中武,等. 刺人参与挥发油成分及其

抗真菌活性研究[J]. 药学报,1987,22(7):549.
[4] 中国药典. 一部[S]. 2010:附录 XD.
[5] 付爱华,尹建元,孙莹,等. 黄精和生姜抗皮肤癣菌活性研究[J]. 白求恩医科大学学报,2001,27(4):384.
[6] 张长生,曾志良,李骊. 复方虎杖液对四种致病性真菌的抑菌试验报告[J]. 湖北中医学院学报,2000,2(2):50.
[7] 李忠琴,郭浩,陈杰波,等. 竹醋液抗致病性真菌的活性研究[J]. 中药与天然药物,2003,15(6):49.
[8] Vichkanova S A, Aelgina V V, Izosimova S B. Fitontsidy, Mater. Soveshch, 1972,(6):123.
[9] 张宏桂,刘松艳,付爱华,等. 野生东北刺人参与挥发油成分及其抗皮肤癣菌作用[J]. 中国药学杂志, 1999,34(6):369.
[10] 张宏,张宏桂,吴广宣,等. 野生东北刺人参与挥发油化学成分研究[J]. 分析化学,1993,21(6):679.
[11] 张宏桂,刘金平,吴广宣,等. 东北刺人参与根、茎化学成分对比研究[J]. 中国药学杂志,1993,28(5):277.

[责任编辑 顾雪竹]