

不同采收期北柴胡超临界提取物的 GC-MS 分析

雷雪,王启帅,杨云*,李晓坤
(河南中医学院药学院,郑州 450008)

[摘要] 目的:以河南嵩县地区北柴胡为对象,研究北柴胡超临界提取物的化学成分及动态积累规律。方法:用超临界流体萃取法(SFE)萃取得到北柴胡超临界提取物,并运用气相-质谱联用技术(GC-MS)分析北柴胡超临界提取物中化学成分的组成。结果:从北柴胡超临界提取物中分离得到了 59 个峰,并鉴定了 36 个相对含量较高的成分,其占提取物总量的 74.32%~90.45%。提取物中脂肪酸类化合物相对含量在 45.10%~80.95%;醛类在 1.61%~5.65%;酮类在 0.65%~1.28%;酯类在 4.80%~8.12%。结论:北柴胡中脂肪酸类、醛类、酮类及酯类成分的相对比重均随着采收期的不同而呈现明显差异,脂肪酸类在 12 月份相对含量达到最高,其他 3 种在 5 月份所占比重最大。此分析为北柴胡药材的种植及采收提供了一定的科学依据。

[关键词] 北柴胡;超临界提取物;气象色谱质谱;化学成分;不同采收期

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)02-0069-03

Analysis of Bupleurum Chinese Obtained from Different Harvest Period
in Supercritical Fluid Extraction by GC-MS Spectrometry

LEI Xue, WANG Qi-shuai, YANG Yun*, LI Xiao-kun
(College of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** Choose *Bupleurum chinense* collected from songxian, henan province as the object, to study the chemical compositions and the dynamic change law of *B. chinense* extracts. **Method:** The extracts were extracted by supercritical fluid extraction (SFE), and the composition of chemical constituents of SFE was determined by chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Result:** Fifty-nine peaks have been separated and 36 peaks of them have been identified, which accounting for 74.32%-90.45% of total extracts. The relative content of the fatty acids which extracted by SFE-CO₂ was 45.10%-80.95%, the aldehydes was 1.61%-5.65%, the ketones was 0.65%-1.28%. **Conclusion:** The fatty acids, the ketones and the esters in *B. chinense* are obviously different in different harvest period. The fatty acids reached the highest relative content on December, the others reached the highest content on May. This analysis can provide a certain scientific basis for the growth and collection of *B. chinense*.

[Key words] *Bupleurum chinense*; supercritical fluid extraction; GC-MS; chemical constituents; different harvest period

[收稿日期] 20110916(004)
[基金项目] “十一五”科技支撑计划项目(2006BAI06A10);
河南省科技成果转化项目(092201310001)
[第一作者] 雷雪,硕士研究生,从事中药及制剂中活性成分研究及新药开发, E-mail: leixue15003880050@163.com
[通讯作者] * 杨云,本科,教授,从事中药及制剂中活性成分研究及新药开发, Tel: 0371-65680605, E-mail: Yyun@china.com.cn

柴胡为伞形科柴胡属植物北柴胡和狭叶柴胡的干燥根^[1],性味苦辛,微寒,归肝胆肺经,具有和解表里、保肝利胆、升阳的功效^[2]。其主产于辽宁、河北、山西、河南、陕西及甘肃等地,为一种多年生草本植物,且随着生长环境、生长年限及采收加工方法的不同,不同产地及不同生长周期的柴胡药材中所含的化学成分之间存在差异。已有研究结果表明,随着采收期的不同,柴胡中的皂苷类成分、挥发油以及醇溶性浸出物均存在明显的差异性^[3],提示采收时

间对柴胡药材的质量会产生一定程度影响。北柴胡的化学成分主要分为挥发油、皂苷、有机酸、甾醇类、黄酮类等^[4]。柴胡的超临界提取物可提高电刺激大鼠皮层惊厥阈值^[5],对最大电休克电惊厥大鼠模型有明显的拮抗作用^[6]。为了更好地挖掘柴胡的资源及进一步完善柴胡药材的质量评价体系,本试验以河南嵩县地区人工栽培的北柴胡为研究对象,采用超临界流体萃取法提取北柴胡中的化学成分,以气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析方法对提取物进行分析。深入探讨生长周期对北柴胡化学成分的影响规律,以期为北柴胡的规范化种植及产业化开发提供参考。

1 仪器与试剂

Thermo Trace DSQ II 型气相色谱-质谱联用分析仪(美国热电公司),色谱库为 NIST98 和 Wiley138。HA221-50-06 型超临界流体(CO₂)萃取仪(江苏南通)。

北柴胡药材采自河南省嵩县规范化种植基地,从 2009 年 5 月至 12 月按期采集,结果见表 1。经河南中医学院生药教研室董诚明教授鉴定,为伞形科植物北柴胡 *Bupleurum chinense* DC.,药材除去茎、叶及泥沙,40℃干燥 24 h 后,密闭低温保存,样本测定前粉碎,过 10 目筛,备用。

表 1 样本采收期及编号

No.	生长方式	采收时间
C1	栽培品	2009-5-29
C2	栽培品	2009-6-30
C3	栽培品	2009-7-28
C4	栽培品	2009-8-28
C5	栽培品	2009-9-28
C6	栽培品	2009-10-29
C7	栽培品	2009-11-30
C8	栽培品	2008-12-28

2 方法

2.1 超临界流体(CO₂)萃取 取北柴胡药材粗粉 160 g,置 1 L 超临界萃取釜中,按如下条件萃取 2 h,萃取釜、分离釜 I、分离釜 II 的温度分别为 55,65,40℃,压力分别为 25,12,6 MPa。

2.2 GC-MS 分析

2.2.1 供试液的制备 取超临界提取物适量,正己烷溶解,0.45 μm 滤膜滤过,即得。

2.2.2 气相分析条件 Agilent DB-5MS 色谱柱(0.25 μm×0.25 mm,30 m),进样口温度 280℃,升

温程序初始温度 100℃,保持 1 min,20℃·min⁻¹升至 250℃,保持 20 min,载气氦气,载气流量 1 mL·min⁻¹,分流比 50:1,传输线温度 250℃。

2.2.3 质谱条件 EI 离子源电子能量 70 eV,离子源温度 250℃,检测电压 1.3 kV,扫描质量范围 *m/z* 33~450,归一化法计算相对含量。

2.3 样品测定 分别取不同采收期的北柴胡超临界提取物供试液,按上述色谱分析条件进样分析,进样量 1.0 μL。

3 结果与讨论

将供试品溶液进行 GC-MS 分析,总离子流图见图 1(以五月份样品为例),通过 NIST98 和 Wiley138 图谱库进行检索,确定各化合物,按峰面积归一化法计算各化合物在提取物中的相对含量,结果见表 2。

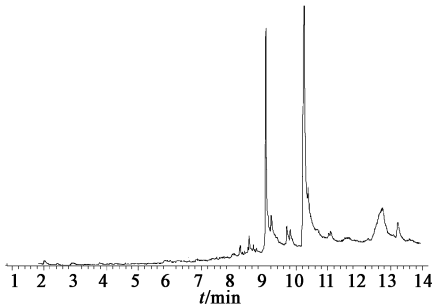


图 1 北柴胡超临界提取物 GC-MS 总离子流图

经分析,从北柴胡超临界提取物中分离得到了 59 个峰,鉴定出了 36 个相对含量较高的成分,已鉴定的成分占总提取物的 74.32%~90.45%。

总离子流图中保留时间 1.81 min 以前的色谱峰为溶剂峰,在分析时选取 1.99 min 作为挥发油分析的起始时间,提取物中主要含脂肪酸类化合物。

通过比对不同采收期的北柴胡超临界提取物的分析结果(表 2),可看出,提取物中主要含脂肪酸类化合物,并且为逐月增加的趋势,其相对含量在 12 月份时达到最高值,但从 6 月份起脂肪酸类成分的增加趋势不甚明显,脂肪酸中又以十六碳酸和亚油酸的相对含量最高,亚油酸 12 月份时 50.12%,十六碳酸 6 月份 27.20%。有学者研究^[7]指出 α-亚麻酸与亚油酸按 1:4 的配比混合后的混合物可有效抑制惊厥反应的发生。提取物中醛类、酮类和酯类成分所占比重呈现逐月递减趋势,其中 3 者在提取物中所占比重最大的时间为 5 月份。通过以上分析,进一步说明了柴胡药材中化学成分在不断发生变化。以上结果说明种植及加工方法的不同能在很大程度上对柴胡药材的质量产生影响,为北柴胡药材的种植及采收提供了一定的科学依据。

表 2 不同采收期北柴胡超临界提取物中主要化学成分及其相对含量

<i>t</i> /min	化合物	主要成分相对含量/%							
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
1.99	己醛	0.64	0.37	0.41	0.41	0.56	0.28	0.33	0.22
2.39	庚醛	0.31	0.25	0.21	0.20	0.19	0.19	0.19	0.13
2.86	己酸	0.44	0.74	1.05	0.87	0.77	0.62	0.82	0.28
3.37	2-辛烯醛	0.17	0.22	0.14	0.13	0.15	0.13	0.14	0.11
3.58	4-壬烯醛	0.45	0.22	0.38	0.31	0.41	0.27	0.31	0.20
3.74	2-乙基己酸	0.26	0.29	0.16	0.11	0.15	0.12	0.11	0.00
4.08	2-壬烯醛	0.18	0.26	0.19	0.15	0.15	0.14	0.14	0.12
4.91	十三烷	0.22	0.11	0.19	0.17	0.18	0.16	0.16	0.18
5.06	2,4-十二醛二烯	0.15	0.47	0.13	0.12	0.12	0.12	0.13	0.11
5.80	5-乙基-2-噻吩甲酸	0.48	0.20	0.42	0.35	0.39	0.16	0.17	0.29
5.97	石竹烯	0.25	0.13	0.26	0.19	0.19	0.16	0.25	0.15
6.06	1a,2,3,5,6,7,7a,7b-八氢-1,17,7a-四甲基-1H-环丙(a)-萜	0.14	0.18	0.20	0.12	0.11	0.22	0.17	0.16
6.18	1,2-二氢-2,2,4-三甲基唑啉	0.18	0.24	0.17	0.18	0.16	0.16	0.17	0.21
6.24	十五烷	0.26	0.23	0.28	0.26	0.29	0.26	0.34	0.32
6.58	对(1,2,2-三甲基环戊烷基)-甲苯	0.18	0.23	0.32	0.25	0.34	0.25	0.28	0.26
6.80	1-(4-异丙氧基-3-甲氧基)-丙酮	0.49	0.46	0.40	0.46	0.57	0.31	0.45	0.25
7.03	石竹烯氧化物	0.25	0.32	0.24	0.28	0.27	0.20	0.22	0.21
7.44	十七烷	0.29	0.72	0.27	0.63	0.25	0.61	0.19	0.28
7.62	十八烯醛	0.26	0.40	0.25	0.62	0.22	0.87	0.18	0.14
7.93	十四碳酸	0.57	1.19	0.47	0.42	1.08	0.37	0.44	1.34
8.20	3,7,11,15-四甲基-2-十六烯-1-醇	0.91	0.62	0.53	0.51	0.58	0.55	0.47	0.45
8.27	6,10,14-三甲基-2-十五酮	0.19	0.25	0.20	0.24	0.17	0.25	0.17	0.19
8.48	邻苯二甲酸二异丁酯	1.67	2.45	1.96	2.40	1.82	1.70	2.01	1.86
8.61	2-十七酮	0.60	0.32	0.22	0.28	0.36	0.29	0.24	0.21
8.71	十六碳酸甲酯	0.45	0.34	0.24	0.29	0.31	0.26	0.30	0.33
9.01	十六碳酸	15.08	27.20	24.69	26.78	25.91	25.91	26.09	26.06
9.07	十六碳酸乙酯	0.12	0.48	0.30	0.20	0.39	0.18	0.18	0.13
9.17	9,17-十八碳二烯醛	1.74	0.31	0.37	0.31	0.50	0.11	0.11	0.11
9.67	十九碳二烯醛	1.90	0.72	0.39	0.48	0.57	0.56	0.43	0.58
9.78	十八碳二烯酸甲酯	1.76	1.04	0.74	0.76	0.64	0.80	1.17	0.94
10.22	亚油酸	27.11	39.58	41.50	40.32	44.98	45.85	46.35	50.12
10.35	十八碳酸	1.16	2.94	2.77	2.99	3.04	2.40	2.57	2.86
10.99	亚油酸异丙酯	0.57	0.67	0.73	0.75	0.75	0.83	0.94	0.67
11.06	十六碳酸单甘油酯	1.04	0.59	0.67	0.53	0.45	0.54	0.60	0.29
12.67	豆甾醇	11.34	0.23	0.11	0.16	0.12	0.11	0.23	0.11
13.19	亚油酸甘油酯	2.51	1.68	1.86	0.95	1.07	1.19	1.33	0.58
	已鉴定成分占总数比例	74.32	86.65	83.42	84.18	88.21	87.13	88.38	90.45

注:样品编号见表 1。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2005;198.

[2] 郭雪清,王英锋,刘海平,等. 紫荆注射液柴胡气相色谱指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(2): 15.

[3] 王启帅,李晓坤,杨云,等. 不同采收期北柴胡指标性成分的动态积累研究[J]. 中药材,2010,33(8): 1204.

[4] 史青,聂淑琴,黄璐琦. 柴胡属植物化学成分及药理研究新进展 [J]. 中国实验方剂学杂志,2002,8(5):53.

[5] 黄庆晖,廖卫平,葛发欢. 超临界 CO₂ 萃取物柴胡挥发油的抗惊厥作用[J]. 中药材,2002,25(8):576.

[6] 刘燕,吴惠勤,葛发欢. 柴胡三种萃取物抗惊厥作用有效成分探讨[J]. 中药材,2002,25(9):635.

[7] Sh Yehude, R Carasso, D Mostofsky. Essential fatty acid preparation (SR-3) raises the seizure threshold in rats [J]. Eur J Pharmacol, 1994, 254:193.

[责任编辑 蔡仲德]