

• 药剂 •

超临界 CO₂ 萃取知母总皂苷的气相-质谱分析

王志安¹, 梁卫文¹, 吴惠勤²

(1 深圳太太药业股份有限公司, 深圳 518057; 2 中国广州分析测试中心, 广州 510070)

摘要: 采用色谱-质谱联用技术测定超临界 CO₂ 萃取的知母总皂苷中化学成分。气相的条件为: 毛细管柱, 进样口温度: 285 °C, 柱温初始温度为 200 °C, 然后以 10 °C/min 的升温速率升至 285 °C, 柱前压 50kPa; 质谱用 EI 离子源。结果发现超临界 CO₂ 萃取的知母总皂苷中含有 7 个组分, 并对其进行了结构鉴定。以胆甾醇为内标物, 用内标法准确测定了知母总皂苷中各组分含量。

关键词: 超临界 CO₂ 萃取; 知母总皂苷; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)06-0001-02

The GC-MS Analysis of Sapogenins Extracted from *Anemarrhena asphodeloides* by Supercritical Fluid Extracting Technique

WANG Zhi-an¹, LIANG Wei-wen¹, WU Hui-qin²

(1. Shenzhen Taitai Pharmaceutical Industry Co. Ltd., Shenzhen 518057;

2. Guangzhou Analysis and Testing Center, Guangzhou 510070)

Abstract: The analytical method of the sapogenins, extracted from *Anemarrhena asphodeloides* by Supercritical CO₂ fluid extracting technique, was established by GC-MS method for the first time. Experimental conditions: Column: capillary, Inlet pressure: 50kPa, Injector temperature: 285 °C, Initial temperature: 200 °C, Rate: 10 °C/min, Final temperature: 285 °C and MS detected with EI. Seven components in the sapogenins were separated and characterized by GC-MS. The contents of each component in the total sapogenins extract were determined by using cholesterol as internal-reference substance.

Key words: SFE-CO₂; sapogenins in *Anemarrhena asphodeloides* Bge.; GC-MS;

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎, 知母总皂苷是知母药材经水提取的总皂苷精制而成, 具有清热泻火, 生津润燥, 止渴除烦作用^[1,2], 知母总皂苷能明显降低衰老小鼠脑 β 受体-cAMP 系统的反应性, 重现知母的下调作用^[3], 并且能提高衰老小鼠脑内受体密度^[4], 知母总皂苷是中药二类新药, 主治现代医学中早、中期老年性痴呆症及脑功能减退(学习、记忆减退, 或某些性格改变)等见有以上症侯者。知母总皂苷传统的提取法为: 先用酸水解, 再用汽油提取, 用这种方法提取的知母总皂苷成分分析已有报道。

超临界 CO₂ 流体萃取法是近年来发展的一项化工分离技术, 与传统提取法相比, 具有操作温度低、分离效率高、无溶剂残留等优点, 由于 CO₂ 无毒, 用超临界 CO₂ 流体萃取的产物无溶剂残留, 因此, 超临

界 CO₂ 流体萃取法特别适用于天然产物的分离精制。近年来中草药的超临界 CO₂ 流体萃取已引起人们的广泛重视, 我们开展了知母总皂苷的超临界 CO₂ 流体萃取研究工作, 利用气相毛细管柱高效的分离能力, 能很好的将各种成分分开的特性, 采用气相色谱-质谱分析超临界 CO₂ 流体萃取的知母总皂苷的组成。由于其组分中皂苷分子量均较大(416), 沸点高, 给气谱分离带来一定困难。经过摸索, 用耐高温非极性毛细管色谱柱, 选择较佳分离条件, 成功将其中异构体分开, 共鉴定了 7 个组分, 并以内标法测定了其含量。

1 实验部分

1.1 仪器 HP6890 GC/5973 MS 联用仪 5 升超临界萃取装置: 江苏华安超临界萃取公司生产

1.2 实验条件 色谱柱: HP-1 15m × 0.25mm × 0.25μm; 柱头压为 50kPa; 分流比为 20: 1; 柱温初始温度为 200 °C, 然后以 10 °C/min 的升温速率升至

285℃; 进样口温度为 285℃; GC-MS 接口温度为 280℃; EI 离子源, 离子源温度为 230℃, 电子能量为 70eV; 电子倍增器电压为 1900V; 质谱扫描范围为 29~450u。

1.3 试剂及供试品 溶剂: 苯, 分析纯; 内标物: 胆甾醇; 菝葜皂苷对照品(含量测定用): 由中国生物制品检定所提供; 知母总皂苷: 深圳太太药业股份有限公司制备: 将知母药材经酸水解后用华安超临界萃取公司生产的 5 升超临界萃取装置萃取。

1.4 溶液配制 标准溶液配制: 精密称取 15mg 胆甾醇和 25mg 菝葜皂苷对照品, 用苯定容至 1.0ml。

供试品液配制: 精密称取 15mg 胆甾醇和 25mg 供试品, 用苯定容至 1.0ml。

2 结果与讨论

2.1 知母总皂苷的气相色谱-质谱总离子流图见图 1。针对每一个峰相应的质谱图, 利用计算机检索, 确定其化学结构, 见表 1。

表 1 知母总皂苷成分及含量表

| 标号 | 组分名称 | 分子式 | 分子量 | 含量(%) |
|----|----------------------|--|-----|-------|
| 1 | 二十五烷(Pentacosane) | C ₂₅ H ₅₂ | 352 | 0.19 |
| 2 | 二十七烷(Heptacosane) | C ₂₇ H ₅₆ | 380 | 1.03 |
| 3 | 二十九烷(Nonacosane) | C ₂₉ H ₆₀ | 408 | 0.80 |
| 4 | 异菝葜皂苷(Smilagenin) | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | 416 | 9.64 |
| 5 | 菝葜皂苷(Sarsasapogenin) | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | 416 | 76.87 |
| 6 | 新替告皂苷(Neotigogenin) | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | 416 | 2.20 |
| 7 | 替告皂苷(Tigogenin) | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | 416 | 0.96 |
| IS | 胆甾醇(Cholesterol) | C ₂₇ H ₄₆ O ₃ | 386 | 内标物 |

2.2 用内标法测定含量, 以胆甾醇为内标物, 准确测定菝葜皂苷的含量, 其他几种同分异构体因无对照品, 故以菝葜皂苷为参照, 测定含量, 结果见表 1。

2.3 本法分离效率高, 测定结果准确可靠。测定了知母总皂苷约 90% 成分, 其余 10% 或者未气化, 或者含量太低, 未能检出。

2.4 薄层色谱分离能力较差, 而且鉴定成分需要对对照品, 作为测定单一成分如菝葜皂苷还可用^[5,6], 分离多成分分离能力就较差; 液相色谱-质谱分离能力虽然强, 但是暂时还没有建立标准图谱库, 没有对照品, 解谱困难; 气相色谱-质谱有标准图谱库, 计算机检索方便准确, 完成本工作是最好的方法。

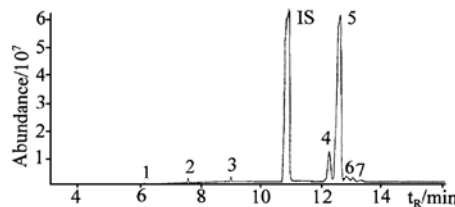


图 1 知母总皂苷总离子流色谱图

参考文献:

- [1] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册[M]. 北京: 中国医药出版社, 1994. 1240.
- [2] 国家中医药管理局编. 中华本草[M]. 上海: 上海科技出版社, 1998. 2023.
- [3] 易宁育, 夏宗勤, 胡雅儿. 知母及其皂甙元对β肾上腺素受体的调节作用[J]. 中药药理与临床, 1992, 8(5): 40-44.
- [4] 胡雅儿, 易宁育, 何路明. 知母对老年动物脑M受体数调整作用的机理[J]. 中药药理与临床, 1994, 10(2): 10-13.
- [5] 王天勇, 杨文远. 反相高效液相色谱法分离和测定知母中菝葜皂甙元[J]. 中药材, 1996, 19(9): 460-462.
- [6] 王天勇, 杨文远. 中药知母质量标准的研究[J]. 中草药, 1996, 27(增): 83-85.