

五味子花中脂溶性成分的 GC/MS 分析研究

高 洁 赖普辉

(陕西国际商贸学院医药学院, 咸阳, 712046)

摘要 目的:对五味子花中的脂溶性成分进行分析。方法:采用索氏提取法对脂溶性成分进行了提取,结合 GC/MS 法对五味子花中脂溶性成分进行分析。结果:共鉴定出 11 种成分,五味子花中的活性成分维生素 E 含量为 1.066%。结论:从五味子花中得出的角鲨烯为首次从五味子花中获取的活性成分,经分析五味子的花和果实含有相似的脂溶性成分。

关键词 五味子花;索氏提取;气相色谱-质谱连用;脂溶性成分

GC/MS Analysis of Fat-soluble Components in Schisandra Sphenanthera Flower

Gao Jie, Lai Puhui

(College of Medical, Shaanxi Institute of International Trade & Commerce, XianYang 712046, China)

Abstract Objective: To study the fat-soluble components of the Schisandra sphenanthera flower. **Methods:** Fat-soluble components of the Schisandra sphenanthera flower were extracted by Soxhlet extraction and were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. **Results:** The eleven compounds were identified and the determination the content of vitamin E with the yields was 1.066%. **Conclusion:** The squalene was reported for the first time, and there are same fat-soluble components in fructus schisandrae flower and fruit.

Key Words Schisandra sphenanthera flower; Soxhlet extraction; GC/MS; Fat-soluble components

中图分类号:R284.1;R284.2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.11.056

五味子作为中药在临床上有很大的治疗效果,秦岭山区各县均有出产,资源丰富。主要用于肺肾两虚所致的虚咳、气喘,经常与补肾药合用,还可用于阴液不足所致的口干渴,盗汗以及一切气血耗散之休克、虚脱等症,与其他中药配伍用于治疗肝炎、肝肾功能不足、月经失调、神经衰弱等^[1-7]。五味子中所含的化学成分主要有木脂素类和挥发油类和多糖类,本研究运用 GC-MS 分析技术对五味子花中的脂溶性成分进行了分析研究,并将其与五味子果实中的脂溶性成分进行了比较分析^[8-9]。

1 材料与方法

1.1 试药 五味子花(采自陕西秦岭南侧留坝县),五味子果实(采自陕西秦岭南侧留坝县),经陕西中医药大学大学生药教研室雷国莲教授鉴定为木兰科植物五味子的花和果实。

1.2 试剂 石油醚;正己烷(色谱标准);维生素 E 标准品(中国生物制品鉴定所);其他试药均为分析纯。

1.3 仪器与设备 气相色谱-质谱联用仪

(Hp5989B 型);高效气相色谱仪(日本岛津 GC-14A),KQ2200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);高速万能粉碎机(天津鑫博得仪器有限公司);旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司);索氏提取装置。

1.4 测试样品的制备 五味子花干燥粉碎,五味子果实粉碎后置于索氏提取器中用石油醚提取,挥去溶剂后,残余物用浓乙醇溶解,溶液置于冰箱中冷冻,然后过滤分去沉淀,减压蒸去乙醇得黄褐色油状物。

1.5 色谱条件 1) 气相色谱-质谱连用:色谱柱 HP-5,毛细管柱 30 m×0.25 mm,气化室温度 260℃,柱温 50~250℃(4℃/min),载气氮气,柱前压 1.5 kg/cm²,电离方式 EI,电子能量 70 eV,离子源温度 260℃,收集电流 300 MA,扫描速度 0.41 次/秒。2) 高效气相色谱:玻璃柱 2 m×3 mm,填充剂:1.890 silicon ov,温度 265℃,检测器及进样品温度 300℃,氢火焰离子化检测器

基金项目:陕西省教育厅科学研究项目(编号:12JK1044)——板栗壳棕色素清除“脑部缺血后再灌流氧自由基”效果评价模式的建立;陕西省咸阳市科学技术研究计划项目(编号:2015k04-20)——板栗壳棕色素清除“肝脏缺血后再灌流氧自由基”效果评价模式的建立

通信作者:高洁(1984.11—),女,硕士,讲师,研究方向:生物制药及药物活性成分分析及应用,E-mail:251536749@qq.com

(FID), 气体流速: 氮气 0.8 m/min, 氢气 0.5 kg/cm², 空气 1 kg/cm, 量程 10³, 流速 1 mm/min, 进样量 2 μL。

1.6 保留时间, 色谱柱塔板数的测定 维生素 E 的理论塔板数为 2 432, 保留时间为 21.7 min, 内标峰为 13.417 min。

1.7 定量校正因子的测定 1) 内标溶液的配制: 精密称取 0.046 6 g, 正三十二烷置于 50 mL 容量瓶中, 加正己烷使溶解并稀释至刻度, 摇匀。2) 标准溶液的配制: 精密称取维生素 E 标准品 0.045 2 g, 置于 20 mL 容量瓶中, 用内标液稀释, 定容。3) 校正因子的测定: 分别注入标准溶液 3 μL 进行测定 3 次, 取平均值为 1.066。

1.8 样品的制备与测定 五味子果实干燥粉碎, 精密称取 0.999 2 g, 根据实验选择用 25 mL 正己烷, 在室温下, 用超声提取 20 min, 过滤, 滤渣再用超声提取 20 min, 合并提取液, 挥去溶剂, 将黄色油状物用内标溶液使溶解稀释, 定容至 2 mL, 分别取 2 μL 测定 2 次, 取其平均值用校正因子计算其含量, 结果为 1.500 9‰。

1.9 对比试验 精密称取五味子果实样品 0.9994 g, 加 25 mL 正己烷加热回流提取 3 h, 过滤, 滤渣用 25 mL 正己烷再加热回流提取 1 h, 用上述方法测定, 含量为 0.487‰。

2 结果

2.1 五味子花中脂溶性成分的 GC/MS 分析结果 结果如表 1 所示, 通过 GC-MS 联用仪标准质谱数据库 NIST2.0 进行检索, 确认各化合物; 通过 GC-MS 联用仪工作站数据处理系统, 按峰面积归一化法计算各化合物相对的量, 共检出 20 个色谱峰, 鉴定出了 11 个化合物, 其中脂肪酸有 3 种: 棕榈酸, 亚油酸, 硬脂酸, 其中角鲨烯为首次从五味子花中获取的活性成分。

2.2 五味子花中维生素 E 的含量测定结果 可获得正三十二烷、维生素 E 的保留时间, 正三十二烷的保留时间为 13.417 min, 维生素 E 的保留时间为 21.7 min。用内标法计算五味子花中维生素 E 的含量, 3 次测定的结果分别为: 1.066%, 1.068%, 1.065%, 平均值为 1.066%, RSD 为 1.48%。

2.3 五味子果实中脂溶性成分的 GC/MS 分析结果 结果如表 2 所示, 通过 GC-MS 联用仪标准质谱数据库 NIST2.0 进行检索, 确认各化合物, 共检出 29 个色谱峰, 鉴定出了 14 个化合物, 占样品总量的 83.445%, 检出组分中脂肪酸含量较高, 占总成分的

81.56%, 其中亚油酸含量最高, 达总量的 58.11%, 饱和脂肪酸含量占 23.45%, 不饱和脂肪酸占 71.57%。

表 1 花中脂溶性成分 GC/MS 分析结果

峰号	扫描号	保留时间 (min)	化合物	分子式	相对分子质量
1	381	19.032	γ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204.36
2	403	19.957	α-可巴烯	C ₁₅ H ₂₄	204.36
3	440	21.513	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204.36
4	536	25.549	γ-依兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	204.36
5	872	39.675	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42
6	946	42.786	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.44
7	988	44.582	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.48
8	1168	52.120	十八烷	C ₁₈ H ₃₈	254.50
9	1212	53.970	去氢二聚松柏醇	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182.22
10	1240	55.147	角鲨烯	C ₃₀ H ₅₀	410.7
11	1504	66.247	维生素 E	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430.71

表 2 果实中脂溶性成分 GC/MS 分析结果

峰号	保留时间 (min)	化合物	分子式	相对分子量	相对含量 (%)
1	8.327	可巴烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.11
2	8.940	丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.24
3	9.371	α-丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.08
4	10.026	罗汉柏烯	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.27
5	12.302	肉豆蔻酸甲酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	238.45	0.52
6	13.365	油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296.49	13.46
7	15.138	棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.45	7.22
8	17.071	十七烷酸甲酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.47724	0.04
9	18.789	亚油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.47	58.11
10	19.519	硬脂酸甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298.5038	2.21
11	21.926	乙酸十八酯	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312.53	0.47
12	29.232	乙酸 13-十四碳烯酸-1-醇酯	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	239.42	0.09
13	40.216	二十四烷	C ₂₄ H ₅₀	338.66	0.42
14	41.027	二十九烷	C ₂₉ H ₆₀	408.79	0.20

2.4 五味子花和果实脂溶性成分的比较 根据所得实验结果, 对五味子花和果实中的脂溶性成分进行比对, 结果如表 3 所示。根据实验对比, 得出表 3, 可知五味子果实中的脂溶性成分较五味子花中的脂溶性成分都含有萜类化合物, 但它们的具体结构与分子式不相同, 且五味子果实中的脂溶性成分种类明显多于花中。在五味子花中首次检测出鲨烯, 在果实中未检出该化学组分。

3 结论

从五味子花的气相色谱图中, 共测定出 20 个色谱峰, 鉴定出 11 种化合物, 其中脂肪酸有 3 种: 棕榈酸, 亚油酸, 硬脂酸, 其中角鲨烯为首次从五味子花中获取的活性成分。

表 3 五味子花和果实中主要脂溶性成分的比较

花中脂溶性成分	分子式	相对分子质量	果实脂溶性成分	分子式	相对分子质量
α-可巴烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 36	可巴烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 35
γ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 36	丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 35
石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 36	-丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 35
γ-依兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 36	罗汉柏烯	C ₁₅ H ₂₄	204. 35
亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280. 44	亚油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294. 47
棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256. 42	棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270. 45
硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284. 48	硬脂酸甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298. 5038
十八烷	C ₁₈ H ₃₈	254. 50	油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296. 49
去氢二聚松柏醇	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182. 22	十七烷酸甲酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284. 47724
角鲨烯	C ₃₀ H ₅₀	410. 7	肉豆蔻酸甲酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	238. 45
维生素 E	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430. 71	二十九烷	C ₂₉ H ₆₀	408. 79
			乙酸 13-十四碳烯酸-1-醇酯	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	239. 42
			二十四烷	C ₂₄ H ₅₀	338. 66
			乙酸十八酯	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312. 53

从五味子果实中的色谱图中,共测定 29 个色谱图,鉴定出 14 种化合物,检出组分中脂肪酸含量较高,占总成分的 81. 56%,其中亚油酸含量最高,达总量的 58. 11%,饱和脂肪酸含量占 23. 45%,不饱和脂肪酸占 71. 57%。

通过试验对比得知五味子花中维生素 E 相对比果实中多,并含有一定量的脂肪酸和挥发油类。含挥发油的中草药或提取出的挥发油大多具有发汗、理气、止痛、抑菌、矫味等作用。五味子花中的 α-可巴烯是一种三环倍半萜类的化合物,它是蒿草里芳香油中的成分之一,具有抗真菌,利尿,镇静等作用;石竹烯可用作药草调配香精^[10-11];亚油酸能降低血液胆固醇,预防动脉粥样硬化;鲨烯可用作杀菌剂、口服营养药、皮肤柔软滑润剂及制备药物、橡胶、香料、有机色料和表面活性剂的原料^[12-15]。五味子花中的其他脂溶性成分也具有一定的药理活性,有待于进一步研究。

参考文献

[1]王佳丽,杨洪涛. 五味子主要化学成分的药理研究[J]. 河南中医,2014,34(2):357-359.

[2]高晓旭,孟宪军,李继海. 北五味子活性多糖降脂减肥作用的研究[J]. 食品工业科技,2008,29(11):248-250.

[3]高雁,李廷利. 五味子有效成分的药理作用研究进展[J]. 中医药学报,2011,39(6):104-106.

[4]张秋池,顾锡镇,常诚. 五味子改善认知功能的实验研究进展[J]. 西部中医药,2014,27(2):139-141,142.

[5]许月木. 五味子的药理作用和临床应用研究进展[J]. 中医药导报,2015,21(9):104-105.

[6]吴金滢,赵允龙,李贺,等. 北五味子多糖对高脂血症大鼠肝损伤的影响[J]. 中国老年学杂志,2014,34(2):958-960.

[7]安丽萍,王英平,王春梅,等. 五味子油对 2 型糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡的影响[J]. 吉林大学学报:医学版,2012,38(1):84-88.

[8]孙媛媛,孙玉良,肖清贵,等. 五味子药用组分在纯水中溶出行为研究[J]. 时珍国医国药,2015,26(9):2052-2055.

[9]姚慧娟,姚慧敏,王帅,等. 长白山区野生北五味子藤皮挥发油成分分析[J]. 中国医药导报,2014,11(10):79-82.

[10]杨艳辉,王喆之. 南五味子脂溶性成分的 GC-MS 分析[J]. 现代生物医学进展,2007,7(3):367-369.

[11]Zhou L, Wang XK, Sha ZL, et al. Kinetics and model building on ultrasonic extraction of schisandrin from fruit of Schisandra Chinensis [J]. Journal of Food Process Engineering,2013,36(3):257-266.

[12]周玲,王学魁,沙作良,等. 五味子木脂素超声循环浸取工艺条件的优化[J]. 天津科技大学学报,2012,27(1):14.

[13]程敏,王露,宋小妹. HPLC 法测定五味子品种中木脂素含量[J]. 西北大学学报:自然科学版,2011,41(3):459-462.

[14]高春花,钟海雁,孙昌波,等. 五味子木脂素提取分离纯化和含量测定的研究进展[J]. 食品与机械,2007,23(1):151-155.

[15]王金杰,杜波,郭晓铭. 高效液相色谱法测定复方北五味子片中五味子醇甲的含量[J]. 中国伤残医学,2010,19(1):1-2.

(2015 - 11 - 23 收稿 责任编辑:张文婷)