

GC-MS 法分析藏药坐珠达西中的化学成分

徐 燕¹, 董红娇¹, 况 刚², 侯 凯³, 曾 锐^{1*}

(1. 西南民族大学化学与环境工程学院, 四川 成都 610041; 2. 重庆第二师范学院生物与化学工程系, 重庆 400067; 3. 四川农业大学农学院, 四川 成都 611130)

摘要: 目的 GC-MS 法分析藏药坐珠达西(肉豆蔻、木香、藏红花等)中的化学成分。方法 甲醇超声提取该药物后, GC-MS 法分析其中成分, 面积归一化法计算其相对含有量, 对结果进行直观分析、主成分分析、聚类分析。结果 9 批坐珠达西样品可分为 4 类, 有 19 种成分, 含有量差异明显。其中, 油酸、肉豆蔻酸、榄香素、大匙叶桉油烯醇、巴西菊内酯、桉叶油二烯-5, 11 (13)-8, 12-内酯、去氢风毛菊内酯为特征性成分。结论 4 个厂家坐珠达西样品间差异较大, 故应进一步完善该药物及其原药材的质量标准。

关键词: 坐珠达西; 化学成分; 直观分析; 主成分分析; 聚类分析; GC-MS

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2016)04-0826-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.04.022

Analysis on chemical constituents in Tibetan medicine Zuozhudaxi by GC-MS

XU Yan¹, DONG Hong-jiao¹, KUANG Gang², HOU Kai³, ZENG Rui^{1*}

(1. College of Chemistry & Environment Protection Engineering, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China; 2. Department of Biological and Chemical Engineer, Chongqing University of Education, Chongqing 400067, China; 3. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

ABSTRACT: AIM To analyze the chemical constituents in Tibetan medicine Zuozhudaxi (*Myristica fragrans*, *Aucklandia lappa*, *Crocus sativus*, etc.) by GC-MS. **METHODS** After this drug was ultrasonic extracted with methanol, the chemical constituents were analyzed by GC-MS, whose relative contents were calculated by area normalization method. Then the results were analyzed by intuitive analysis, principal component analysis and cluster analysis. **RESULTS** Nine batches of Zuozhudaxi samples could be divided into four groups. There were nineteen constituents having obvious content difference in this drug. Among them, oleic acid, myristic acid, elemicin, entspathulenol, eremanthin, eudesma-5, 11 (13)-dien-8, 12-olide and dehydrosaussurea lactone were characteristic constituents. **CONCLUSION** There is a big difference among Zuozhudaxi samples from four manufacturers, so the quality standards for this drug and its raw medicinal materials should be further improved.

KEY WORDS: Zuozhudaxi; chemical constituents; intuitive analysis; principal component analysis; cluster analysis; GC-MS

坐珠达西由寒水石、石灰华、天竺黄、船形乌头、西红花、肉豆蔻、草果、熊胆、牛黄、麝香等 35 味药物组成, 为丸剂制剂, 功效为疏肝、健胃、清热、消肿、愈溃疡, 用于“木布”病迁延不愈、胃脘嘈杂灼痛、肝热痛、消化不良、吐泻胆汁、水

肿等, 为治疗慢性胃炎的常用藏药, 收载于《卫生部药品标准中药成方制剂(藏药)》第一册^[1]。最近, 马肖等^[2]对坐珠达西中的船形乌头碱进行 HPLC 含有量测定, 且增等^[3]对其进行了重金属分析和毒性评价, 本课题组^[4-5]前期建立了 UPLC 及

收稿日期: 2015-07-21

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划(2012BAI27B07); “优秀学生培养工程项目”资助(2016ZYXS04)

作者简介: 徐 燕(1994—), 女, 硕士生, 从事药物制剂及民族药研究。Tel: 13398184832, E-mail: 408615228@qq.com

*通信作者: 曾 锐(1976—), 男, 副教授, 硕士生导师, 从事药物制剂及民族药研究。Tel: 13981910281, E-mail: Mackzeng@gmail.com

HPLC 测定其中多个成分的定性分析和 TLC 鉴别方法。坐珠达西中的配药，如石榴子^[6]、肉豆蔻^[7]、木香^[8]、藏红花^[9]等含有大量的挥发性成分，但尚无对该类成分的报道。由于气相色谱-质谱联用(GC-MS)法检测灵敏度高，分离效果好，分离和鉴定可同时进行，广泛应用于挥发油等有效成分^[10-11]的测定，本实验采用该方法分析坐珠达西的化学成分，为该药物的质量评价和临床疗效的保障提供科学依据。

1 仪器与试药

Agilent 6890N/5973 气相色谱-质谱联用仪，包括 NIST2.0 质谱库(美国 Agilent 公司)；AE240 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)；KQ-250B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。所用试剂均为分析纯。坐珠达西样品(规格 1 g/丸)，信息见表 1。

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

样品编号	批号	厂家
1	20130926	四川阿坝州藏医院藏医药研究所
2	20130823	四川阿坝州藏医院藏医药研究所
3	20130703	四川阿坝州藏医院藏医药研究所
4	20120618	四川阿坝州藏医院藏医药研究所
5	20120717	西藏自治区藏药厂
6	20120713	西藏自治区藏药厂
7	20131018	金诃藏药股份有限公司
8	20120612	金诃藏药股份有限公司
9	20142017	四川省甘孜州藏医院

2 方法与结果

2.1 GC-MS 检测条件

表 2 坐珠达西样品中的主要成分

Tab. 2 Main constituents in Zuozhudaxi samples

编号	化合物	相对含有量/%								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	safranal 藏红花醛	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.73	0.53	0.27	0.39
2	eugenol 丁香酚	1.54	1.45	0.05	2.49	4.18	3.63	3.89	7.53	8.80
3	β -caryophyllen β -丁香烯	1.82	0.57	0.00	1.79	2.33	3.69	0.91	1.39	1.13
4	α -caryophyllen α -丁香烯	2.58	3.61	1.76	7.17	8.78	3.12	0.55	2.14	0.57
5	sulfur 硫磺	1.37	2.24	1.71	3.11	2.98	2.59	0.50	1.65	0.83
6	elemicin 檀香素	0.52	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.55
7	spathulenol 魁叶桉油烯醇	1.56	1.19	2.11	1.33	0.97	1.03	0.00	0.00	0.69
8	β -eudesmol β -桉叶醇	1.45	1.82	3.13	4.95	2.15	2.28	1.02	1.23	1.17
9	tetradecanoic acid 肉豆蔻酸	5.71	8.33	9.79	3.45	4.98	6.33	14.99	11.69	10.68
10	dehydrosaussurea lactone 去氢风毛菊内酯	0.00	0.00	0.00	3.59	0.61	0.74	0.00	0.00	0.68
11	α -copaen-11-ol α -可巴烯-11-醇	0.00	1.98	2.96	4.87	3.49	3.82	1.22	1.31	1.82
12	ent-spathulenol 大魁叶桉油烯醇	0.67	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.90
13	eudesma-5,11(13)-dien-8,12-olide 桉叶油二烯-5,11(13)-8,12-内酯	4.05	6.31	7.94	0.00	6.84	8.09	6.64	6.22	4.68
14	n-hexadecanoic acid 棕榈酸	20.52	21.14	24.89	11.59	15.66	16.91	19.23	17.98	14.36
15	eremanthin 巴西菊内酯	0.70	3.88	2.85	3.56	5.82	6.59	3.70	3.64	7.73
16	cyclic octaatomic sulfur 环状八元硫	5.84	7.47	13.50	6.70	11.31	13.72	7.59	7.84	3.06
17	[Z,Z]-9,12-octadecadienoic acid [Z,Z]-9,12-油酸	6.34	4.90	3.67	0.00	1.90	2.08	6.86	0.00	6.91
18	oleic acid 油酸	19.75	20.37	12.20	12.33	8.54	8.23	25.23	21.07	23.09
19	octadecadienoic acid 亚油酸	7.39	5.20	4.23	0.83	0.00	0.00	2.43	3.04	3.08

2.1.1 气相色谱条件 Agilent HP-5MS 色谱柱($0.25\text{ mm} \times 30\text{ m} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$)；载气为 He；进样口温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；体积流量 1 mL/min ；分流比 $1:15$ ；柱初始温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，保持 3 min ， $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 速率升至 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，保持 10 min ，再以 $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 速率升至 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，保持 10 min 。

2.1.2 质谱条件 EI 电离，电离能 70 eV ；离子源温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；四级杆温度 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；扫描质量范围 $m/z 30 \sim 500$ ；溶剂滞留时间 4 min 。

2.2 供试品溶液的制备 精密称取坐珠达西粉末 3 份，每份 0.5 g ，置于 3 个具塞锥形瓶中，分别加入 15 mL 甲醇、乙酸乙酯、正己烷，称定质量，超声(功率 300 W 、频率 40 kHz) 30 min ，放冷，相应溶剂补足减失质量， $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后进行检测。结果，甲醇、正己烷提取效果最好，但后者毒性较大，而且易腐蚀进样垫，引入杂质，故最终选择甲醇作为坐珠达西的提取溶剂。

再精密称取 9 批坐珠达西粉末，每份 0.5 g ，置于具塞锥形瓶中，加甲醇 15 mL ，称定质量，超声 30 min ，放冷，甲醇补足减失质量， $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤，即得 GC-MS 供试品溶液。

2.3 GC-MS 测定结果 取“2.2”项下供试品溶液 $10\text{ }\mu\text{L}$ ，在“2.1”项条件下检测，经气相色谱数据处理系统，面积归一化法计算各成分相对含有量，样品总离子流图通过 NIST2.0 数据库，并结合文献检索鉴定其中的成分，结果见表 2，总离子图见图 1。

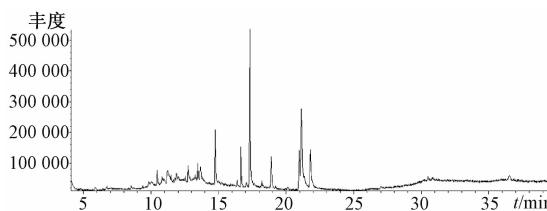


图1 坐珠达西样品总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of Zuozhudaxi samples

GC-MC 测定结果表明，坐珠达西醇提物中的挥发性成分主要为脂肪酸类化合物，即肉豆蔻酸、棕榈酸、 $[Z, Z]-9, 12$ -油酸、油酸、亚油酸。在9批样品中，所占比例最高者达68.74%，平均为57.52%。

2.4 直观分析 根据测定结果，将19种成分制作成含有量分布曲线，结果见图2。由图可知，9批样品虽然生产厂家不同，但均有相似的峰型。其中，2(丁香酚)、4(α -丁香烯)、9(肉豆蔻酸)、11(α -可巴烯-11-醇)、14(棕榈酸)、16(环状八元硫)、18(油酸)这7种成分的含有量最高，而1(藏红花醛)、6(榄香素)、12(大匙叶桉油烯醇)最低。

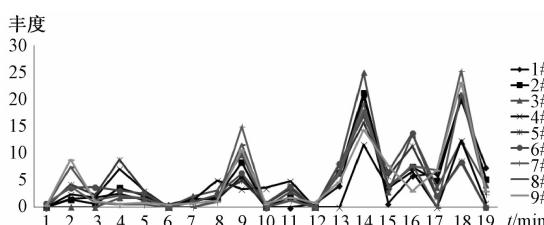


图2 坐珠达西样品直观分析

Fig. 2 Intuitive analysis of Zuozhudaxi samples

2.5 主成分分析 通过SPSS 19.0软件，对4个厂家9批样品中19种成分的含有量数据进行了主成分分析，计算其特征值和累计贡献率，结果见表3，旋转矩阵因子负荷量见表4。

表3 主成分的初始特征值和贡献率

Tab. 3 Initial characteristic values and contribution rates of main constituents

成分	初始特征值		
	合计	方差/%	累积/%
1	7.626	40.136	40.136
2	3.893	20.489	60.625
3	3.477	18.301	78.927
4	1.687	8.879	87.805

表4 旋转矩阵中前4个主成分的因子负荷量

Tab. 4 Factor loadings of the former four main constituents in rotation matrix

	成分			
	1	2	3	4
18	-0.900	0.381	-0.116	-0.087
9	-0.896	-0.055	0.096	0.362
5	0.782	-0.466	0.026	-0.278
7	0.710	0.161	-0.594	0.105
4	0.660	-0.360	0.007	-0.425
11	0.627	-0.560	0.241	-0.305
8	0.592	-0.418	-0.266	-0.506
6	-0.058	0.982	0.025	-0.116
12	-0.089	0.966	0.098	-0.134
17	-0.376	0.681	-0.141	0.321
15	0.107	0.008	0.853	0.019
1	-0.257	-0.012	0.766	0.320
2	-0.435	0.209	0.749	-0.224
19	-0.293	0.559	-0.711	0.182
3	0.555	0.004	0.646	-0.013
13	-0.083	-0.192	0.179	0.942
10	0.399	-0.216	0.108	-0.828
14	-0.174	-0.010	-0.621	0.759
16	0.502	-0.588	0.016	0.608

以特征值 >1 为提取标准，得到前4个主成分的累计贡献率为87.8% ($>85\%$)，即可解释原始数据变量87.8%的信息，代表性良好，故选取四者进行分析。

其中，因子负荷量较大的是成分18(油酸)和9(肉豆蔻酸)，均在0.8以上，而且为负相荷载，综合反映了在样品中的存在情况，因此认为两者为第1主成分的代表。同理，第2主成分中，因子负荷量较大的是成分6(榄香素)和12(大匙叶桉油烯醇)；第3主成分中，因子负荷量较大的是成分15(巴西菊内酯)；第4主成分中，因子负荷量较大的是成分13[桉叶油二烯-5, 11(13)-8, 12-内酯]和10(去氢风毛菊内酯)。综上所述，前4个主成分中因子负荷量较大者有7个，即18(油酸)、9(肉豆蔻酸)、6(榄香素)、12(大匙叶桉油烯醇)、15(巴西菊内酯)、13[桉叶油二烯-5, 11(13)-8, 12-内酯]、10(去氢风毛菊内酯)，均为坐珠达西GC-MS分析的主成分。

2.6 聚类分析 通过SPSS 19.0软件，以批次为变量，对4个厂家9批样品中19种成分的含有量数据进行聚类分析，结果见图3。

由图可知，坐珠达西样品可以分为4大类。第I类包括1~3号批次的样品，第II类包括7~9号批次的样品，第III类包括5、6号批次的样品，第

IV类为4号批次的样品。

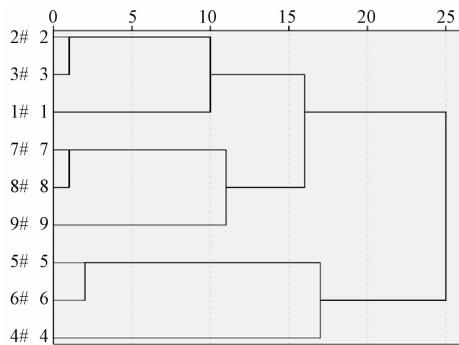


图3 19种成分的聚类树状图

Fig. 3 Dendrogram of nineteen constituents

3 讨论

本实验利用GC-MS联用技术,对坐珠达西醇提后的样品进行分析,结果鉴定出19种挥发性成分,主要为脂肪酸^[12]类化合物。现代药理研究表明^[7],该类化合物能显著抑制多种致炎因子引起的大鼠毛细血管通透性的增强、炎症渗出等,具有显著的抗炎作用,与宋春红等^[13]报道相吻合。此外,丁香酚^[14]也具有抗炎、抑菌、镇痛等药理作用;棕榈酸^[15]是机体新陈代谢必不可少的饱和脂肪酸,其衍生物Sn-2棕榈酸可促进机体对钙、镁等矿物质的吸收。

直观分析可知,9批样品虽然厂家不同,但均有相似的峰型,其中丁香酚、 α -丁香烯、肉豆蔻酸、 α -可巴烯-11-醇、棕榈酸、环状八元硫、油酸7种成分的含有量最高,可为质量控制和临床使用提供一定参考。另外,丁香酚、 α -丁香烯大多存在于丁香中,而肉豆蔻酸大多存在于肉豆蔻中,但处方用量均不大,可能与这些成分在其他药材中也广泛分布或在甲醇中的溶解性有关。

然后,运用SPSS 19.0软件进行主成分分析,发现油酸、肉豆蔻酸、榄香素、大匙叶桉油烯醇、巴西菊内酯、桉叶油二烯-5,11(13)-8,12-内酯、去氢风毛菊内酯7种成分为特征性成分,可作为坐珠达西质量优劣的判断指标,为控制该药物质量标准以及稳定临床疗效提供一定的科学依据。聚类分析表明,1~3号批次为四川阿坝州藏医院样品,5~6号批次为西藏藏药厂样品,7~8号批次为金诃藏药所生产的样品,各聚为一类,表明不同厂家样品质量有所差异,同一厂家在生产工艺及投料等环节具有特征

性。而且,9号批次为四川省甘孜州藏医院样品,其与金诃藏药生产的样品聚为一类,表明两厂家可能在生产工艺或投料上存在一定的相似性。

综上所述,不同厂家坐珠达西之间存在较大的差异,可能是在生产过程中原药材的质量不一,故应进一步完善该药物及其原药材的质量标准。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部标准(藏药): 第1册[S]. 1995.
- [2] 马肖, 王兰霞, 赵建邦, 等. 提高坐珠达西质量标准的研究[J]. 中国现代药学, 2012, 29(2): 250-253.
- [3] 旦增, 许晔, 胡忻, 等. 名贵藏药“坐珠达西”重金属含量分析及毒性评价[J]. 西藏大学学报: 自然科学版, 2013, 28(1): 32-36.
- [4] 任桂友, 徐燕, 李春雪, 等. Box-Behnken设计优选藏药坐珠达西供试品溶液制备条件[J]. 中成药, 2015, 37(3): 674-677.
- [5] 瞿燕, 李金花, 张晨, 等. UPLC测定藏药坐珠达西中12种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1825-1830.
- [6] 魏立新, 杜玉枝. 藏药帕朱胶囊超临界CO₂萃取成分的GC-MS分析[J]. 中成药, 2008, 30(2): 236-238.
- [7] 耿暖暖, 胡昌江, 潘新, 等. GC-MS分析炮制对二神丸中挥发性成分的影响[J]. 中成药, 2014, 36(10): 2148-2151.
- [8] 陈飞龙, 谭晓梅, 汤庆发, 等. 几种“木香”挥发油成分的GC-MS比较研究[J]. 中药材, 2011, 34(3): 2148-2151.
- [9] 刘绍华, 黄世杰, 胡忠忠, 等. 藏红花挥发油的GC-MS分析及其在卷烟中的应用[J]. 中草药, 2010, 41(11): 1790-1792.
- [10] 欧小群, 王瑾, 李鹏, 等. 广陈皮及其近缘品种挥发油成分的比较[J]. 中成药, 2015, 37(2): 364-370.
- [11] Daferera D J, Ziosoglou B N, Polissiou M G. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum* [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(6): 2576-2581.
- [12] 胡锐, 李宝莉. 传统药物中脂肪酸的药理活性和现代研究[J]. 中外医疗, 2008, 27(27): 135-136.
- [13] 宋春红, 王海萍, 宫明华, 等. 坐珠达西对MNNG致大鼠慢性萎缩性胃炎的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 142-144.
- [14] 孙晓军, 刘希望, 李剑勇, 等. 丁香酚的药理学作用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(3): 508-511.
- [15] 刘洪波, 赵晓芳, 石贵英, 等. 棕榈酸在三酰甘油中的位置分别对大鼠营养吸收的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 354-375.