

巴豆油化学成分的 GC-MS 分析

兰梅¹ 王平¹ 王志英¹ 黄晓兰²

(1. 绍兴文理学院附属医院消化内科 浙江 绍兴 312000; 2. 中国广州分析测试中心 广东 广州 510070)

摘要 目的: 测定巴豆油的化学成分及含量。方法: 巴豆种仁的石油醚提取物经甲酯化或乙醚稀释后, 利用气相色谱-质谱法分离巴豆油的化学成分, 用面积归一化法处理所得各组分的百分含量。结果: 鉴定出 17 种脂肪酸成分, 在酯化后样品中亚油酸、油酸和二十碳一烯酸共占 77.33%, 为主要组成成分。此外, 在乙醚稀释后样品中鉴定出异龙脑、葑醇等 5 种芳香类化合物。但具致癌及抗艾滋病等作用的佛波醇双酯化合物并未分离获得。结论: 中国产巴豆油富含亚油酸、油酸和二十碳一烯酸, 但具致癌及抗艾滋病等作用的药效成分含量甚少, 采用普通分离提取方法难以获得。

关键词 巴豆油; 化学成分; 分析; GC-MS

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2012)07-1105-04

GC-MS Analysis of Chemical Components in Seeds Oil from *Croton tiglium*

LAN Mei¹, WAN Ping¹, WANG Zhi-ying¹, HUANG Xiao-lan²

(1. Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Shaoxing University, Shaoxing 312000, China; 2. China National Analytical Center, Guangzhou 510070, China)

Abstract Objective: To identify the chemical components and their relative content in seeds oil from *Croton tiglium*. Methods: The oil obtained by extracting of the seeds of *Croton tiglium* with petroleum ether was subjected to methyl-esterification or dilution with ethylether. GC-MS were used to identify the components in croton oil, peak area normalization method was used to determine the relative content of these substances in the sample. Results: Seventeen fat acid components were identified from croton oil. The main components were linoleic acid, oleic acid and eicosenoic acid in methyl-esterified sample, whose quantities accounted for 77.33%. In addition, five aromatic compounds were also found in the sample diluted with ethylether, such as isoborneol, fenchyl alcohol, etc. Phorbol esters, having carcinogenesis and anti-HIV-1 effects, were not been identified. Conclusion: There are abundant of linoleic acid, oleic acid and eicosenoic acid in the seeds oil extracted from Chinese *Croton tiglium*. In contrast, the active component with carcinogenesis and anti-HIV-1 might be very rare in the samples and difficult to be obtained by ordinary separating and extracting methods.

Key words Croton oil; Chemical component; Analysis; GC-MS

巴豆为传统中药, 属大戟科植物巴豆 *Croton tiglium* L. 的干燥成熟果实, 具有峻下积寒、逐痰利水、祛痰利咽、排脓消肿的作用, 近代研究显示其还有降血压、降血糖及抗艾滋等多种药理作用^[1,2]。种仁为巴豆的主要药用部位^[3], 但有关巴豆油化学组分的研究并不是很多, 为此, 本研究初步探讨了巴豆油的化学成分及含量, 以期确定其主要组分或药效组分的含量, 为进一步分离提纯其有效成分、拓展其临床应用奠定一定的理论基础。

1 材料与仪器

1.1 材料 巴豆购自陕西省药材公司, 第四军医大学药物研究所鉴定为大戟科植物巴豆 *Croton tiglium* L. 的干燥成熟果实。所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器 美国惠普公司的 HP6890GC/5973 iMS 型气相色谱-质谱联用仪。

2 方法

2.1 巴豆油的制备^[4] 剥取巴豆种仁碾成粗颗粒, 单层滤纸包裹, 置于索氏回流器中, 以石油醚 (60~90℃) 为溶剂提取 5 h, 温度 80~90℃, 提取液回收溶剂后即得巴豆油, 于 4℃ 保存备用。

2.2 巴豆油的甲酯化 称取 0.4 g 油样加入 0.5 mol/L KOH-CH₃OH 溶液 4 mL, 60℃ 水浴皂化 40 min (油珠完全消失)。冷却后加 30 mL 水摇匀, 移至分液漏斗, 以每次 20 mL 乙醚萃取 3 次, 合并萃取液, 加无水硫酸钠干燥, 回收干净乙醚得样品, 取样品 0.4 μL 进行 GC-MS 分析。

2.3 GC-MS 分析条件

2.3.1 色谱条件: 色谱柱为 DB-FFAP (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 毛细管柱, 柱温 100℃, 以 10℃/min 程序升温至 220℃, 保持 18 min。进样口温度 250℃, 载气 He, 柱前压 75 kPa, 分流比 10:1, 进样量 0.5 μL。

收稿日期: 2012-01-30

基金项目: 浙江省自然科学基金 (Y207007)

作者简介: 兰梅 (1964-) 女, 主任医师, 教授, 主要从事促胃肠动力中药的研究; Tel: 0575-88619871, E-mail: meilsx@163.com。

2.3.2 质谱条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 扫描范围 m/z 29 ~ 450 amu, 四极杆温度 150 ℃, 离子源温度 230 ℃, 电子倍增器电压 1 500 V, GC-MS 接口温度 280 ℃, 标准质谱图库 Wiley 275. L。

2.4 分离与测定 巴豆油甲酯化或用乙醚稀释后经气相色谱石英毛细管柱分离, 质谱仪记录质谱图, 得到 GC-MS 总离子流图。各色谱峰相应的质谱图经计算机谱库检索及人工解析确定其化学结构, 并用峰面积归一化法测定其相对含量。

3 结果

将巴豆油甲酯化后, 采用 GC-MS 进行分析, 其总离子流色谱图如图 1 所示。由图可知, 巴豆油中有 16 种组分, 根据质谱图由计算机图谱检索确定了这些组分的名称和相对含量, 结果如表 1 所示, 所鉴定出的 16 种脂肪酸成分中亚油酸最高, 相对含量占 44.36%。其次是油酸 (18.48%)、二十碳一烯酸 (14.49%), 这 3 种不饱和脂肪酸占了总量的 77.33%。

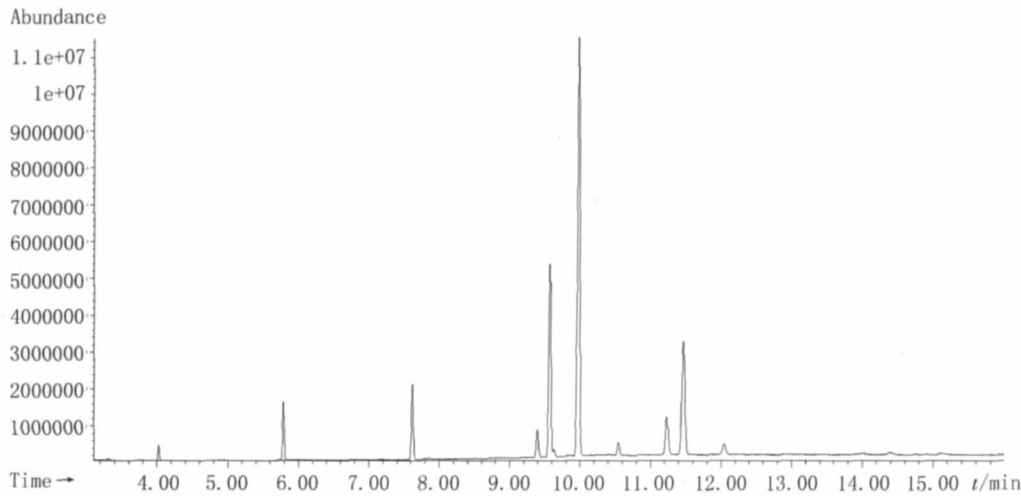


图 1 巴豆油的总离子流图(样品甲酯化后)

表 1

巴豆油的化学成分与相对含量(样品甲酯化后)

序号	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对百分含量 / %
1	十二酸(月桂酸) Dodecanoic acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	0.97
2	十四酸(肉豆蔻酸) Myristic acid	$C_{14}H_{28}O_2$	228	4.40
3	十五酸 Pentadecanoic acid	$C_{15}H_{30}O_2$	242	0.02
4	十六酸(棕榈酸) Hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	256	6.17
5	十六碳一烯酸 Hexadecenoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.16
6	十七酸 Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.08
7	十八酸(硬脂酸) Octadecanoic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	284	2.59
8	油酸 Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	282	18.48
9	亚油酸 Linoleic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	280	44.36
10	十九酸 Nonadecanoic acid	$C_{19}H_{38}O_2$	298	0.05
11	亚麻酸 Linoleic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	278	1.23
12	二十酸(花生酸) Eicosanoic acid	$C_{20}H_{40}O_2$	312	4.61
13	二十碳一烯酸 Eicosenoic acid	$C_{20}H_{38}O_2$	310	14.49
14	二十碳二烯酸 Eicosadienoic Acid	$C_{20}H_{36}O_2$	308	1.56
15	二十二酸(山嵛酸) Docosanoic acid	$C_{22}H_{44}O_2$	340	0.31
16	二十二碳一烯酸 Docosenoic acid	$C_{22}H_{42}O_2$	338	0.52

将巴豆油用乙醚稀释后,GC-MS 面积归一化法进样分析,结果见图 2、表 2。由表 2 可知,其中有 8 种化合物与酯化后产物相同,另外 6 种化合物不同,

其中一种为饱和脂肪酸癸酸,另外 5 种属芳香类化合物,分别为: 蒎烯、葑醇、樟脑、异龙脑、龙脑。

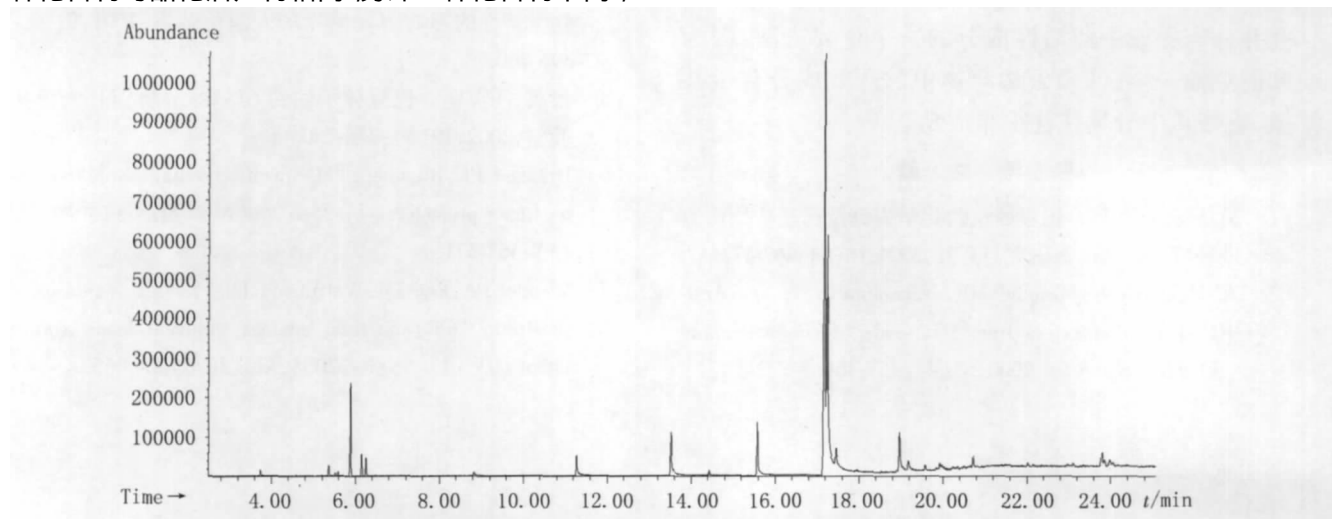


图 2 巴豆油的总离子流图(样品乙醚稀释后)

表 2

巴豆油的化学成分与相对含量(样品乙醚稀释后)

序号	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对百分含量/%
1	蒎烯 Camphene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.97
2	葑醇 Fenchyl alcohol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	4.40
3	樟脑 Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.02
4	异龙脑 DL-Isoborneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	6.17
5	龙脑 Borneol	C ₁₀ H ₁₇ OH	154	0.16
6	癸酸 Capric acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.08
7	十二酸(月桂酸) Dodecanoic acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	2.59
8	十四酸(肉豆蔻酸) Myristic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	18.48
9	十六酸(棕榈酸) Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	44.36
10	亚油酸 Linoleic acid;	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	0.05
11	油酸 Oleic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	1.23
12	十八酸(硬脂酸) Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	4.61
13	二十碳一烯酸 Eicosenoic acid	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	14.49
14	二十酸(花生酸) Eicosanoic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	1.56

4 讨论

通过采用 GC-MS 法,笔者从巴豆油中分离鉴定出 17 种脂肪酸成分,其中从甲酯化处理样品中获知 16 种成分,从乙醚稀释后样品中获知 1 种成分,提示衍生化处理降低天然产物中甘油酯形式存在的脂肪酸成分的沸点后,能分离鉴定其中绝大多数而非全部的脂肪酸成分。

在酯化后产物中我们分离确定了 16 种脂肪酸成分,其中不饱和脂肪酸亚油酸、油酸及二十碳一烯酸含量占总量的 77.33%,与前期研究相仿^[5],提示三者是中国产巴豆油的主要组成成分,巴豆油富含有益于人体健康的不饱和脂肪酸。

除脂肪酸成分外,巴豆油中还有多种其他成分,梁英等将巴豆油用乙醇稀释后进行 GC-MS 测定,结果获得古巴烯、二烯醛、环己烷的衍生物等可能极为有毒的物质^[5],笔者将样品采用乙醚稀释后进行 GC-MS 分析,与酯化产物相比,发现除癸酸外的蒎烯、葑醇、樟脑、异龙脑、龙脑 5 种不同化合物,提示其可能为巴豆油中的芳香类成分,但采用乙醇、乙醚两种极性不同的溶剂及甲酯化处理后样品中均并未分离出佛波醇及其酯类,提示巴豆油中具有致癌和抗艾滋病等作用的药效组分^[2,6]——佛波醇酯化化合物的含量甚少,难采用普通的分离提取方法直接从天然产物获得。

美国斯坦福大学的科学家以巴豆油为原料,通过化学合成的方法获得可辅助治疗艾滋病的 Prostratin 和 DPP 两种化合物^[7],提示这也许是今后研究并分离提取中药活性成分的一个重要方法,因为和巴豆油一样,许多天然产物中的药效成分含量甚微,直接从中分离往往很难成功。

参 考 文 献

- [1] 吴新安,赵毅民. 巴豆属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(5): 467-472.
- [2] El-Mekkawy S, Meselhy MR, Nakamura N, et al. Anti-HIV-1 phorbol esters from the seeds of *Croton tiglium* [J]. *Phytochemistry* 2000, 53(4): 457-464.
- [3] 蔡翠芳,裴慧荣,堰榜琴. 关于巴豆药用部位的商榷[J]. 中草药, 2007, 38(7): 1107-1109.
- [4] 兰梅,王新,吴汉平,等. 巴豆提取物对人肠上皮细胞生物学特性的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2001, 9(4): 396-400.
- [5] 梁英,潘英明. 巴豆种子油的 GC-MS 分析[J]. 光谱实验室, 2002, 19(6): 748-750.
- [6] Driedger PE, Blumberg PM. Specific binding of phorbol ester tumor promoters [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77(1): 567-571.
- [7] Wender PA, Kee JM, Warrington JM. Practical synthesis of prostratin, DPP, and their analogs, adjuvant leads against latent HIV [J]. *Science* 2008, 320(5876): 649-652.

• 药理 •

映山红总黄酮对脑缺血大鼠 ERK 通路的影响

郭 岩, 陈志武*

(安徽医科大学药理学教研室, 安徽 合肥 230032)

摘要 目的: 观察映山红总黄酮(TFR)对大鼠全脑缺血-再灌注损伤是否具有保护作用,以及保护作用是否与 ERK 信号转导通路有关。方法: 采用四血管结扎法建立大鼠全脑缺血-再灌注损伤模型。记录脑缺血前、缺血 10 min 和再灌注后 5、10、15、30、45、60 min 的脑电图改变; 采用蛋白免疫印迹方法,测定大鼠脑皮质和海马组织中 ERK_{1/2} 和 p-ERK_{1/2} 在脑缺血-再灌注后表达的变化,以及 TFR 对此变化的影响。结果: 脑缺血时大鼠的脑电图幅度迅速下降,再灌注后脑电图幅度逐渐恢复。再灌注 45 min 和 60 min 时,映山红总黄酮各剂量组脑电图幅度与模型组比较差异显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。蛋白印迹结果显示,与模型组比较,映山红总黄酮各剂量组 p-ERK_{1/2} 的表达显著性升高($P < 0.05$)。结论: TFR 对大鼠全脑缺血-再灌注损伤有保护作用,其机制可能与增加大鼠脑组织中 ERK_{1/2} 的激活有关。

关键词 映山红总黄酮; 脑缺血-再灌注; 脑电图; 胞外信号调节激酶

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2012)07-1108-04

Effect of Total Flavones of *Rhododendron simsii* on the Activation of ERK Induced by Cerebral Ischemia-reperfusion in Rats

GUO Yan, CHEN Zhi-wu

(Department of Pharmacology, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

Abstract Objective: To study the effect of total flavones of *Rhododendron simsii* (TFR) on the activation of ERK induced by cerebral ischemia-reperfusion in rats and its possible mechanism. Methods: Cerebral ischemia-reperfusion were induced by 4-vessel occlusion in rats. Changes in electroencephalogram were recorded before and 10min after ischemia and 5, 10, 15, 30, 45 and 60 min after reperfusion. The activation of ERK_{1/2} and p-ERK_{1/2} of cerebral cortex and hippocampus was investigated by western blot. Results: Compared with sham-operate group, EEG amplitude decreased significantly after ischemia and recovered after reperfusion in NS control and at 45 min and 60 min, EEG amplitude of TFR (15, 30, 60 mg/kg) groups was significantly higher than that of NS control ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). TFR (30, 60 mg/kg) could increase the activation of ERK_{1/2} after cerebral ischemia-reperfusion. Conclusion: TFR (15, 30, 60 mg/kg) could significantly promote the recovery of EEG and the mechanism might be associated with the increase of the activation of ERK_{1/2} after cerebral ischemia-reperfusion.

Key words TFR; Cerebral ischemia reperfusion; Electroencephalogram; ERK_{1/2}

收稿日期: 2011-12-03

基金项目: 安徽医科大学博士科研资助项目(XJ200814)

* 通讯作者: 陈志武, Tel: 0551-5161133, E-mail: wzcxiong@mail.hf.ah.cn.