

感冒药 YL2000 水煎与醇提物中 挥发性成分 GC-MS 的分析比较*

——从提取工艺对现代中药的思考

□马 超 王 伟 李伯男 花 雷 邢东明 王玉刚 杜力军**

(清华大学生物科学与技术系药物药理研究室 北京 100084)

摘 要:目的:研究感冒药 YL2000 现代制剂中的挥发性成分,考查比较水煎与醇提工艺对复方挥发性成分的影响。方法:水蒸气蒸馏法提取挥发性成分,GC-MS 法进行分析鉴定,峰面积归一法测定各成分的相对含量,并与水煎剂的挥发性成分进行对比。结果:从 YL2000 醇提制剂中初步分离鉴定了 68 个成分;同水煎剂相比,醇提制剂提高了挥发油的得率,去除了大量脂肪酸类成分,但保留了水煎剂中的 88% 的萜类成分,并将其含量提高了约 6 倍;同单味药材相比,醇提制剂和水煎剂均富集了萜类成分而大大降低了蒽烯和薹烯类成分的含量。结论:YL2000 醇提制剂保留了水煎降低蒽烯和薹烯含量的特点,而且进一步富集了水煎剂中的萜类有效成分,降低了脂肪酸类成分。

关键词:YL2000 挥发油 醇提物 水煎剂 气相色谱 质谱

水煎剂是临床常用的剂型,它也是一种经典的制备工艺。千百年来这种水煎服药方式的临床使用的历史表明了其制备工艺的可行性。现代中药的工业化生产是建立在对所制备中药的药物化学研究的基础上,即根据其主要化学成分的化学属性不同而用不同的溶媒进行制备,以将其化学成分尽可能的提取完全。在这一过程中还要考虑到其生产过程的可控性、规模性和生产成本的低耗性。从所提取的成分来说,两种工艺应该是不完全一样的,所产生的药效是有所侧重的。工业化提取的成分有没有必要一

定要完全提取?水煎液的制备工艺为什么临床有效?两者有没有可能吻合?对这些问题进行思考,对传统水煎工艺与化学制备工艺进行比较分析,将有助于我们更深刻的理解水煎工艺,同时也将有助于我们更全面的认识和完善现代中药制药工艺。

感冒药 YL2000 为我室自主研制的中药五类新药,由独活、羌活、黄芩和黄连等组成,具有解表散寒清热的功效,用于治疗感冒表寒里热证。该药来源于临床经验方,临床用药采用水煎剂,具有起效快服用药剂少的特点。从组方来看,其中的独活、羌活为君药,均含有挥发性成分,而挥发性成分又是治疗感冒的主要成分,在水煎液中其挥发性成分应该是不完

收稿日期:2007-12-20

修回日期:2008-01-25

* 清华大学科技攻关项目(Fd038):抗感染有效中药及其活性成分的研究,负责人:杜力军;国家十一五科技支撑计划(2006BAI08B03-09):中药复方质量控制与评价方法研究,负责人:张启伟。

** 联系人:杜力军,本刊编委,教授,主要研究方向:药理学研究,Tel:010-62773630, E-mail:lijundu@mail.tsinghua.edu.cn。

78 (World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica)

全提取,但仍然表现出明显的临床疗效,这提示我们:①水煎液中的挥发性成分已能够保证其疗效;②处方中的非挥发性成分起到了重要的作用。又,根据YL2000组成药的化学成分组成,我们采用醇提水沉工艺,对其进行了现代中药的研究。如此该方最大程度的富集了挥发性成分,并且在动物和临床实验时均表现出了该药的有效性。面对两种不同制备工艺且均有效的制剂,它们的挥发性成分有无差异?有何特点?对此进行研究,对于深入理解两种不同的制备工艺,均有重要的理论和现实意义。为此,我们首先对这种制备工艺的差异而最易受影响的挥发性成分进行了LC/MS的对比分析。

一、实验材料

所用药材均购自北京松兰饮片厂,经我室向兰博士鉴定,羌活为伞形科植物(*Notopterygium incisum* Ting ex H.T.Chang)的干燥根茎(批号 030611),独活为伞形科植物重齿毛当归(*Angelica pubescens* Maxim. f.biserrate Shan et Yuan)的干燥根(批号 030621),黄芩为唇形科植物黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的干燥根(批号 030414),黄连为毛茛科多年生草本植物黄连(*Coptis chinensis* Franch)的干燥根(批号 030502)。双蒸乙醚、无水硫酸钠等均为国产分析纯。

二、实验方法

1. 样品制备

羌活、独活、黄芩、黄连等用含水乙醇回流提取,浓缩得到流浸膏,然后加水溶解,抽滤,取沉淀部分,真空干燥,粉碎得YL2000原料药。取原料药粉末200g,加水1000 mL,浸泡30分钟,然后采用《中国药典》(2005年版)方法水蒸气蒸馏提取,得到挥发油0.3 mL,得率为0.15%。提取的挥发油加无水硫酸钠干燥后,取0.1 mL用双蒸乙醚定容于5 mL容量瓶中,供GC-MS分析。水煎液制备方法,组方同醇提取物,按照临床常用方法进行,将各药置砂锅内,水浸泡30分钟,开始煎煮。待水沸后文火维持5分钟,纱布滤过。取滤液,采用《中国药典》(2005年版)方法水蒸气蒸馏提取^[1]。

2. 挥发油的GC-MS联用分析

(1)GC-MS仪器与条件。

美国Finnigan公司TRACE GC-MS气相色谱-质谱联用仪。CP-SIL 8CB-MS (0.25 mm' 30 m, 0.25 μm)石英毛细管色谱柱。柱温:程序升温60~100℃(6℃/分钟),100℃~240℃(4℃/分钟,进样温度270℃。载气为高纯氮气;载气流量1.0 mL/分钟。进样量0.8 μl;分流比40:1。质谱条件:离子源EI;离子源温度200℃;电子能量70 eV;加速电压240 eV;扫描质量35~625 amu。

(2)挥发油化学成分分析。

总离子流图中各峰经质谱扫描后得到质谱图,结果通过Xcalibur工作站检索NIST标准质谱图库进行检索,确认所检测出的化合物的结构;通过Xcalibur工作站数据处理系统,按峰面积归一法计算各化学成分在总检出物中的相对百分含量。

三、结果和讨论

1. 醇提取物中挥发性成分检测与分析

从醇提取物的挥发油中检出246个色谱峰,鉴定了其中68个化合物的结构含量占挥发油总量的63.05%,其中含量大于0.1%的成分有51个(表1)。挥发油类主要包括各种醇类、脂肪酸类、烃类、香豆素类、酯类以及少量的酚类和醛酮类化合物。醇类化合物共25种,含量占总检出物的近70%,以β-桉叶油醇(34.10%)、α-甜没药萜醇(7.83%)、γ-桉叶油醇(6.4%)、斯巴醇(3.97%)和愈创醇(2.90%)为其中的主要成分;脂肪酸类成分有10种,但含量仅占检出物含量的10.1%,以辛酸(3.19%)、癸酸(1.13%)、2-癸烯酸(1.37%)、9-十四碳烯酸(2.2%)和Z-11-十六碳烯酸(1.1%)为主;香豆素类成分主要为蛇床子素,含量占检出物的2.25%。

2. 水煎剂与醇提工艺中挥发性成分的分析比较

我们曾就YL2000水煎剂中的挥发性成分进行了系统研究并进行报道^[1]比较传统水煎剂和醇提制剂可以发现,水煎剂中挥发性成分的含量为0.0625%,而醇提制剂中挥发性成分的含量为0.15%,大约是水煎剂中含量的2倍(0.15/0.0625)。

表 1 YL2000 醇提物中的主要挥发油成分

序号	保留时间 (分钟)	化合物	分子式	分子量	相对 含量(%)	水煎剂中 相对含量(%)
1	3.51	2-甲基-2-烯丁酸	$C_5H_8O_2$	100	0.19	—
2	5.01	己酸(hexanoic acid)	$C_6H_{14}O_2$	116	0.17	0.09
3	5.25	辛醛(octanal)	$C_8H_{16}O$	128	0.21	—
4	6.69	苯乙酮(acetophenone)	C_8H_8O	120	2.32	0.16
5	7.43	3,7-二甲基-1,5,7-三烯-3-辛醇	$C_{10}H_{12}O$	152	2.68	0.08
6	7.80	苯乙醇(phenylethyl alcohol)	$C_8H_{10}O$	122	0.11	—
7	8.55	氧化橙花醇(nerol oxide)	$C_{10}H_{18}O_2$	170	0.22	—
8	8.76	2-壬烯醛(2-nonenal)	$C_9H_{16}O$	140	0.13	—
9	9.26	龙脑(borneol)	$C_{10}H_{18}O$	154	0.84	—
10	9.41	4-松油醇	$C_{10}H_{18}O$	154	2.13	—
11	9.64	辛酸(octanoic acid)	$C_8H_{16}O_2$	144	3.19	1.05
12	9.82	2-壬烯醛(2-nonenal)	$C_{10}H_{18}O$	154	0.25	—
13	9.88	桃金娘烯醇(myrtenol)	$C_{10}H_{16}O$	152	0.21	—
14	11.52	2-癸烯醛	$C_{10}H_{18}O$	154	0.51	—
15	12.12	4-羟基-3-甲基苯乙酮	$C_9H_{10}O_2$	150	2.54	0.16
16	12.21	壬酸(nonanoic acid)	$C_9H_{18}O_2$	158	0.70	0.18
17	12.35	紫苏醇(perillyl alcohol)	$C_{10}H_{16}O$	152	0.71	—
18	12.93	异百里酚	$C_{10}H_{14}O$	150	0.29	—
19	15.08	癸酸(n-decanoic acid)	$C_{10}H_{20}O_2$	172	1.13	0.10
20	15.19	1-乙炔基-环辛醇	$C_{10}H_{16}O$	152	0.67	—
21	16.36	2-癸烯酸(2-decenoic acid)	$C_{10}H_{18}O_2$	170	1.37	0.21
22	17.77	十二醇(1-dodecanol)	$C_{12}H_{26}O$	186	0.35	—
23	17.86	α -姜黄烯(α -curcumene)	$C_{15}H_{22}$	202	0.32	—
24	18.4	α cadinene	$C_{15}H_{24}$	204	0.46	—
25	18.77	肉桂酸异丙酯	$C_{12}H_{14}O_2$	190	1.11	—
26	18.84	g-bulgarene	$C_{15}H_{24}$	204	0.54	—
27	18.98	b-cadinene	$C_{15}H_{24}$	204	1.19	—
28	19.98	榄香醇(b-elemol)	$C_{15}H_{26}O$	222	3.30	—
29	20.22	nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.21	—
30	20.84	斯巴醇(spathulenol)	$C_{15}H_{24}O$	220	3.97	0.80
31	21.05	蓝桉醇(globulol)	$C_{15}H_{26}O$	222	0.81	—
32	21.34	愈创醇(guaiol)	$C_{15}H_{26}O$	222	2.90	0.26
33	21.97	芹菜脑(apiol)	$C_{12}H_{14}O_4$	222	0.84	—
34	22.38	g-桉叶油醇	$C_{15}H_{26}O$	222	6.40	5.04
35	23.12	b-桉叶油醇(b-eudesmol)	$C_{15}H_{26}O$	222	34.10	7.56
36	23.9	α -甜没药萜醇 α -bisabolol	$C_{15}H_{26}O$	222	7.83	1.09
37	24.95	9-十四碳烯酸	$C_{14}H_{26}O_2$	226	2.21	—
38	26.08	苯甲酸苄酯(benzyl benzoate)	$C_{14}H_{12}O_2$	212	0.33	—
39	27.94	Z-11-十六碳烯酸	$C_{16}H_{30}O_2$	254	1.11	0.33

续表 1

序号	保留时间 (分钟)	化合物	分子式	分子量	相对 含量(%)	水煎剂中 相对含量(%)
40	28.75	水杨酸苄酯(benzyl salicylate)	$C_{14}H_{12}O_3$	228	1.00	—
41	28.86	十六烷醇(1-hexadecanol)	$C_{16}H_{34}O$	242	0.54	—
42	29.07	ethyl pentadecanoate	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.11	—
43	29.87	棕榈酸甲酯(methyl palmitate)	$C_{17}H_{34}O_2$	270	0.41	—
44	30.04	棕榈酸内酯(hexadecanolide)	$C_{16}H_{30}O_2$	254	0.76	—
45	30.37	linolenic alcohol	$C_{18}H_{32}O$	264	0.37	—
46	31.53	棕榈酸乙酯(ethyl palmitate)	$C_{18}H_{36}O_2$	284	1.89	—
47	33.88	亚油酸甲酯(methyl linoleate)	$C_{19}H_{34}O_2$	294	0.63	—
48	33.98	二十一烷(heneicosane)	$C_{21}H_{44}$	296	0.51	—
49	34.96	蛇床子素(osthole)	$C_{15}H_{16}O_3$	244	2.25	2.20
50	35.43	亚油酸乙酯(ethyl linoleate)	$C_{20}H_{36}O_2$	308	1.86	—
51	35.57	油酸乙酯(ethyl oleate)	$C_{20}H_{38}O_2$	310	0.67	—

注：“—”表示未检出。

表 2 YL2000 水煎和醇提取物中挥发性成分类别比较

制剂	百分含量(%)					
	醇类	酸类	酯类	香豆素	烃类	其它
水煎物	19.56	68.1	0	2.57	3.68	7.13
醇提取物	69.19	10.10	8.80	2.25	3.08	6.58

其它：指醛酮酚等不易归类的成分。

由此可见，采用醇提工艺有效的提高了制剂中的挥发油含量。

表 2 对 YL2000 水煎剂和醇提制剂中挥发性成分的种类进行了比较，从中我们可以发现，水煎剂中的挥发性成分主要以脂肪酸类成分为主，醇类相对较少；而醇提制剂则恰恰相反，主要以醇类成分为主，脂肪酸含量较少。水煎剂中大量存在的棕榈酸(24.09%)和油酸(8.61%)^[1]在醇提制剂中未被检出；代之以棕榈酸的酯类成分，如棕榈酸甲酯、棕榈酸乙酯、棕榈酸内酯、油酸乙酯等，在水煎剂中均未被检出。这说明，在水煎过程中，酯类可能被水解；而在醇提过程中，脂肪酸可能与醇类结合成酯或醇本身可能会抑制了酯类的水解，最终使得水煎剂和醇提制剂中酯类、醇类以及酸类化合物的相对含量不同。这种差异对于两种不同的制备过程以及其相关药效有何影响，值得进一步研究。

文献报道^[2-3]独活和羌活的主要有效挥发油成分为单萜、倍半萜及其含氧化合物，而水煎剂中除去脂肪酸类物质外，剩余物质中 60% 为萜类化合物，且这些萜类化合物中有 88% 共存于醇提制剂中，占其挥发油含量的 57.46%。这说明采用醇提水沉工艺不但保留了 YL2000 水煎剂中的萜类挥发性有效成分，而且使其含量提高了约 6 倍。从香豆素类成分看，两种制剂的含量相差不大(2.57%:2.25%)，从两种制剂的临床均有效的结果提示，除香豆素类外，还应该有其重要的挥发性成分在起作用。

值得注意的是，在水煎剂中存在的溶解度的变化同样存在于醇提制剂中，即一些在单味药材中含量较大的挥发油成分在醇提制剂和水煎剂中却未被检测到，另一些在单味药材中含量较低的成分则得到了富集。例如，独活中挥发油中含有约 9% 的蒎烯^[2]，羌活挥发油中含有 50% 以上的蒎烯^[3]，在 YL2000 水煎剂和醇提制剂中均未被检出；而在羌活和独活挥发油中含量较低的 γ -桉叶油醇(γ -eudesmol)和 b-桉叶油醇(b-eudesmol)在水煎剂和醇提制剂中含量均显著提高。这提示，复方配伍后不同药物之间的相互作用影响了化合物的溶解度，使得有些成分溶出量增大，有些成分的溶出度降低，而且这种相互作用受提取

溶剂的影响不大。从 YL2000 的水煎剂和醇提制剂均具有明显的解表散寒药效角度看, 单味药材中的萜烯和蒽烯是否是其活性成分, 以及 γ -桉叶油醇和 b-桉叶油醇类物质在 YL2000 中的重要性则值得进一步研究。

综上, YL2000 水煎和醇提制剂有些成分均未检出, 而有些成分均进一步富集, 表明两种制备工艺有一定的相关性, 提示了醇提制备工艺在保留水煎制备上的可行性。其总挥发油成分在醇提工艺中的明显提高, 也体现了现代工艺制剂的服用量小的特点。其中脂肪酸类和酯类成分的差异, 以及香豆素类的未见差异, 均给我们在分析水煎和醇提工艺上提出了新的启示, 值得进一步研究。

水煎剂突出了个性化治疗, 但不适合规模化工业生产。现代工艺制备中药是工业化的必然趋势,

但是如何在保留传统水煎剂的合理元素基础上做好工业化生产, 则是现代中药研究的重要内容。将现代制备工艺与传统水煎剂从化学和药效上进行比较, 将有助于理解和完善现代中药的制备工艺, 此也是保留中药特色的有效方法之一, 也是中药现代化未来一个值得关注的内容之一。本文讨论的目的即在于此。

参考文献

- 1 张晓娜, 陈龙, 邢东明, 等. 感冒药 YL2000 水煎剂中挥发油性成分的 GC-MS 分析. 中国中药杂志, 2006, 31(4): 298~300.
- 2 杨秀伟, 刘玉峰, 陶海燕, 等. 独活挥发油成分的 GC-MS 分析. 中国中药杂志, 2006, 31(8): 663~666.
- 3 吉力, 徐植灵, 潘炯光, 等. 羌活挥发油成分分析. 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 4~8.

A GC-MS based Comparative Study of YL2000 Ethanol Decoction Oils

Ma Chao, Wang Wei, Li Bonan, Hua Lei, Xing Dongming, Wang Yugang, Du Lijun

(Laboratory of Pharmaceutical Sciences, Department of Biological Sciences and Biotechnology,

Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Authors analyzed the essential oils derived from YL2000 ethanol decoction, and investigated the differences between the essential oils derived from water decoctions and from the four herbs. The essential oils of YL2000 ethanol decoction were extracted by water-steam distillation, and separated/identified by GC-MS. The components were calculated using the normalization approach, and compared against the reference. 68 compounds have been identified. Comparing with the water decoction, fatty acids were reduced, while terpenes increased. Meanwhile, both carene and pinene that are abundant in a single herb were not detected. Authors believe that the ethanol decoction retains the property of the water decoction on the one hand, and reduces both carene and pinene on the other. It enriches terpenes, and reduces fatty acids in the water decoction.

Keywords: YL2000; essential oils; ethanol extract; water decoction; GC-MS

(责任编辑: 王 瑀, 责任译审: 邹春申)

鲜药抗肿瘤受关注

以“为人类健康服务”为企业宗旨的北京建生药业有限公司成立十周年庆典暨现代鲜药科研成果汇报会上, “现代鲜药抗肿瘤”引起了与会专家学者的关注。

提起抗肿瘤, 大多数人一般想到西医手术、化疗、放疗以及中医药疗法等。而用鲜药抗肿瘤, 是一种全新的思路。北京建生药业有限

公司在十年的历程中, 依托北京鲜药研制中心、中国癌症基金会鲜药学术委员会, 以中医药理论为指导, 采用现代高科技手段, 将鲜活动物、植物、菌类中药材运用低温冷冻现代生化分离提取工艺, 遵循规范标准研发出现代中药鲜药。“鲜药”诞生后, 使抗肿瘤又多了一种新方法。 (文 摘)