

不同产地北沙参药材的挥发油成分比较分析^Δ

王辉明^{1*}, 吕志强¹, 张颢儿², 潘冬琦¹, 王鹏瑞², 刘红兵^{2,3#}(1. 青岛大学附属医院药品采购办公室, 山东青岛 266000; 2. 中国海洋大学医药学院, 山东青岛 266003; 3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋药物与生物功能实验室, 山东青岛 266237)

中图分类号 R932;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)22-3109-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.22.17

摘要 目的:比较山东莱阳、河北安国、内蒙古赤峰3个产地北沙参挥发油成分的差异。方法:采用水蒸气蒸馏法提取不同产地北沙参挥发油并计算提取率。利用气质联用(GC-MS)技术分析挥发油成分,采用Xcalibur工作站对数据进行校正,采用NIST 11.0质谱数据库进行化合物检索(匹配度>800),以峰面积归一化法求得各化学成分的相对质量分数。结果:莱阳北沙参的挥发油提取率为0.013%,远低于安国北沙参(0.099%)和赤峰北沙参(0.105%)。分别从3个产地北沙参挥发油中鉴定出了15、18、27个化合物,相对质量分数分别为89.29%、96.76%、94.53%;镰叶芹醇是不同产地北沙参挥发油中相对质量分数最高的共有化合物,相对质量分数分别为69.79%、90.89%、71.04%;莱阳产北沙参富含脂肪酸类成分,安国和赤峰产北沙参富含C₁₅H₂₄型倍半萜类成分。结论:不同产地北沙参的挥发油成分有较大差异,提示应将其作为区分不同产地北沙参的化学标志物。

关键词 北沙参;产地;挥发油;成分;气相色谱-质谱联用;镰叶芹醇;化学标志物

Comparative Analysis of Volatile Oil Constituents of *Glehnia littoralis* from Different Producing Areas

WANG Huiming¹, LYU Zhiqiang¹, ZHANG Hao'er², PAN Dongqi¹, WANG Pengrui², LIU Hongbing^{2,3}(1. Drug Purchase Office, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Shandong Qingdao 266000, China; 2. School of Pharmacy, Ocean University of China, Shandong Qingdao 266003, China; 3. Qingdao National Pilot Laboratory of Marine Science and Technology, Functional Laboratory of Marine Drugs and Biological Products, Shandong Qingdao 266237, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the difference in volatile oil constituents of *Glehnia littoralis* from 3 producing areas as Shandong Laiyang, Hebei Anguo, Inner Mongolian Chifeng. METHODS: The method of steam distillation was used to extract the volatile oil of *G. littoralis* from different areas and calculate the extraction rate. The constituents of volatile oil were analyzed by using GC-MS. The data was corrected by Xcalibur chemical workstation. The constituents were searched by NIST 11.0 mass spectrometry database (matching degree >800), and the relative mass fraction of each chemical constituent was obtained by peak area normalization. RESULTS: The extraction rate of volatile oil in *G. littoralis* from Laiyang was 0.013%, which was far lower than *G. littoralis* from Anguo (0.099%) and *G. littoralis* from Chifeng (0.105%). There were 15, 18 and 27 constituents identified in volatile oil of *G. littoralis* from 3 producing areas; the relative mass fractions were 89.29%, 96.76%, 94.53%. Falcarinol was a common compound with the highest relative mass fraction of the volatile oil of *G. littoralis* from different producing areas; the relative mass fractions were 69.79%, 90.89% and 71.04%, respectively. Fatty acids were rich in the sample from Laiyang, while C₁₅H₂₄ sesquiterpenoids were rich in the other samples from Anguo and Chifeng. CONCLUSIONS: Volatile oil of *G. littoralis* could be used as potential chemical markers to distinguish different producing areas due to their significant differences in chemical components.

KEYWORDS *Glehnia littoralis*; Producing area; Volatile oil; Constituents; GC-MS; Falcarinol; Chemical marker

北沙参为伞形科珊瑚菜属植物珊瑚菜(*Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.)的干燥根,具有养阴清肺、益胃生津之功效,常用于治疗肺热燥咳、劳嗽痰血、胃阴不足、热病津伤、咽干口渴等^[1]。山东莱阳是北沙参的传统

道地产区,所产北沙参以“莱阳沙参”“莱胡参”著称,但其种植面积与产量却逐年萎缩;另一方面,河北与内蒙古的北沙参引种区域在不断扩大,加之价格便宜,已成为该品种的主流产区^[2-3]。关于上述3个主产地所产北沙参的质量是否存在差异,尚无相关研究。化学成分是中药发挥药效的物质基础,不同产地北沙参药材的化学成分是否存在差异、可用于区分不同产地以及可用于控制质量的标志性成分是什么,都是值得深入研究的课题。2015年版《中国药典》(一部)中收录的北沙参项仅

^Δ 基金项目:山东省重大科技创新工程专项——“蓝色药库”技术创新工程项目(No.2018SDKJ0405)

* 副主任药师。研究方向:中药质量控制。电话:0532-82911558。E-mail:whm83671033@163.com

通信作者:教授,博士。研究方向:海洋中药学。电话:0532-82031823。E-mail:liuhongb@ouc.edu.cn

有性状和显微鉴别项,而未见化学成分相关检查项。鉴于北沙参的化学及生物活性研究较少、化学标志物不明确^[4],笔者对3种主要产地的北沙参药材的化学成分进行了比较研究,以期为该药材的采收加工、质量评价、药效物质等研究提供基础数据。现将不同产地北沙参挥发油成分及相对含量分析结果报道如下。

1 材料

1.1 仪器

Trace1300型气质联用(GC-MS)仪,含ISQ型单四极杆质谱仪、Xcalibur化学工作站、NIST MS Search 2.0数据库(美国Thermo Fisher Scientific公司);AL204-IC型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];DK-98-II A型电热恒温水浴锅、101-2AB型电热鼓风干燥箱、98-I-B型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司);HGC-24A型氮吹仪(天津市恒奥科技发展有限公司)。

1.2 药材与试剂

北沙参药材均购自青岛善大天源饮片有限公司,分别产自山东莱阳大乔镇(批号:20180306;产地加工方式:沸水烫后除去外皮)、河北安国常庄乡(批号:2018030;产地加工方式:沸水烫后除去外皮)和内蒙古赤峰营子乡(批号:20180308;产地加工方式:直接晒干)等3个产区,分别简称为“莱阳北沙参”“安国北沙参”“赤峰北沙参”。药材均于2018年3月在相应产地采购,并经中国海洋大学医药学院生药学教研室刘红兵教授鉴定为伞形科珊瑚菜属植物珊瑚菜(*G. littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.)的干燥根。标本保存于中国海洋大学医药学院海洋中药样品库。

无水硫酸钠、无水乙醚、正己烷等均为分析纯;水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 北沙参挥发油的提取

参考文献[5-6]采用水蒸气蒸馏法进行挥发油提取。取不同产地北沙参药材粉碎,过二号筛后,精密称取上述粉末100 g,置于1 000 mL圆底烧瓶中,加水450 mL;连接挥发油测定器与回流冷凝管,自冷凝管上端加水至充满挥发油测定器的刻度部分并溢流入烧瓶时为止;将烧瓶置于电热套中,缓缓加热至沸,回流提取5 h。取含油的水层,以等体积无水乙醚萃取3次,合并乙醚层,以无水硫酸钠脱水,氮气吹干,得淡黄色油状物,称定质量并计算提取率。结果显示,莱阳、安国和赤峰所产北沙参的挥发油提取率分别为0.013%、0.099%和0.105%(以挥发油质量占药材干质量的比例进行计算)。

2.2 供试品溶液的制备

取“2.1”项下所得3个产地北沙参挥发油各30 μL,均以正己烷1 mL溶解制成供试品溶液,用于GC-MS分析。

2.3 GC-MS检测条件

2.3.1 色谱条件 色谱柱:DB-5MS柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);升温程序:初始温度为50 ℃,以5 ℃/min升至240 ℃,保持25 min;进样口温度:280 ℃;载气:氮气;流速:2.0 mL/min;进样量:1 μL;分流进样,分流比:1:1。

2.3.2 质谱条件 离子源:电子轰击离子源;离子源温度:230 ℃;四极杆温度:150 ℃;电离能:70 eV;质量扫描范围(*m/z*):29~600;溶剂延迟时间:4.9 min。

2.4 数据处理及成分分析

将“2.2”项下制备的供试品溶液按“2.3”项下条件进样测定,得总离子流图(图1)。采用Xcalibur工作站对所得GC-MS原始数据进行校正,并采用IXCR软件对色谱峰进行对齐和解卷积处理。采用NIST 11.0质谱数据库进行化合物检索(设置匹配度>800),采用峰面积归一化法求得各化学成分的相对质量分数,结果见表1。

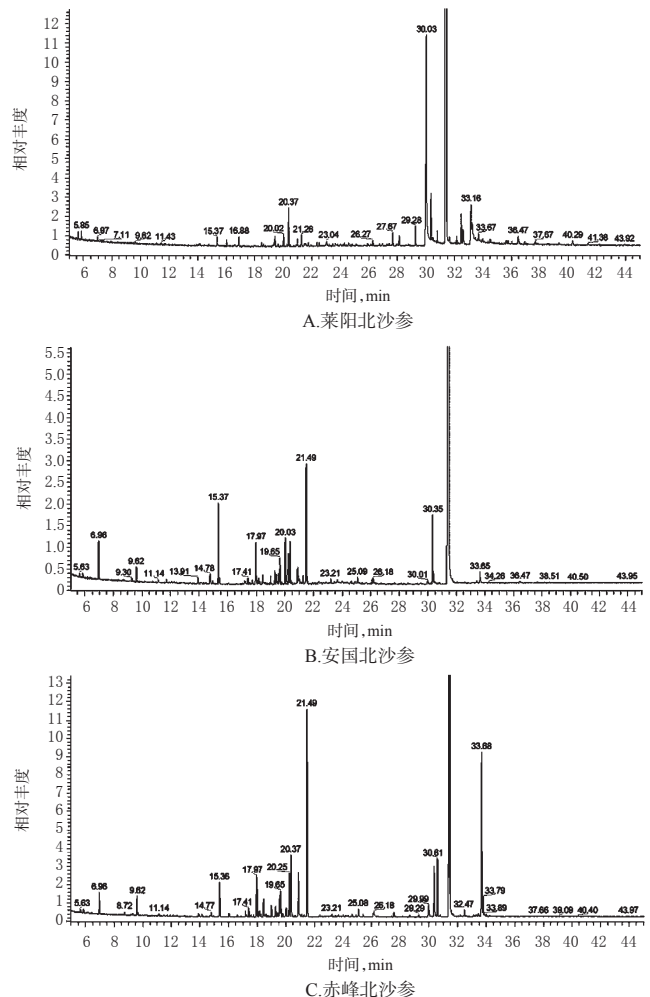


图1 不同产地北沙参挥发油的总离子流图

Fig 1 TIC chromatograms of volatile oil in *G. littoralis* from different producing areas

由表1可见,从莱阳、安国、赤峰三地产北沙参挥发油中分别鉴定出了15、18、27种化合物,相对质量分数分别为89.29%、96.76%、94.53%。其中,镰叶芹醇(又称法卡林醇, Falcarinol)是不同产地北沙参挥发油相对含量最高的共有化合物(相对质量分数分别为69.79%、

表1 不同产地北沙参的挥发油成分比较

Tab 1 Comparison of constituents of volatile oil in *G. littoralis* from different producing areas

编号	保留时间, min	化合物名称	分子式	相对质量分数, %		
				莱阳北沙参	安国北沙参	赤峰北沙参
1	6.96	正辛醛	C ₈ H ₁₆ O		0.34	0.42
2	8.72	戊基环丙烷	C ₈ H ₁₆			0.06
3	9.62	壬醛	C ₉ H ₁₈ O		0.15	0.43
4	15.37	2,4-癸二烯醛	C ₁₀ H ₁₈ O	0.25	0.94	0.94
5	16.88	2-丁基-2-辛烯醛	C ₁₀ H ₂₀ O	0.23		
6	17.41	β -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄			0.23
7	17.73	β -姜黄烯	C ₁₅ H ₂₄		0.04	0.06
8	17.97	雪松烯	C ₁₅ H ₂₄		0.58	1.31
9	18.16	γ -摩勒烯	C ₁₅ H ₂₄		0.09	0.21
10	18.46	β -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄		0.13	0.49
11	18.99	(E)- β -金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄		0.09	0.32
12	19.30	菖蒲二烯	C ₁₅ H ₂₄		0.17	0.30
13	19.41	蛇麻烯	C ₁₅ H ₂₄			0.10
14	19.50	4,5-二表-马兜铃烯	C ₁₅ H ₂₄			0.03
15	19.58	α -香柑油烯	C ₁₅ H ₂₄		0.13	0.57
16	19.65	α -姜黄烯	C ₁₅ H ₂₂		0.32	0.70
17	19.79	(-)- α -雪松烯	C ₁₅ H ₂₄			0.08
18	20.26	(+)-花侧柏烯	C ₁₅ H ₂₂	0.03	0.43	1.37
19	20.37	2,6-二叔丁基对甲酚	C ₁₆ H ₂₀ O	1.11	0.53	1.64
20	20.89	(+)- α -长叶蒾烯	C ₁₆ H ₂₄		0.24	1.36
21	21.12	(+)- γ -古芸烯	C ₁₆ H ₂₄		0.02	0.07
22	21.49	γ -榄香烯	C ₁₆ H ₂₄		1.62	5.85
23	23.04	二苯甲酮	C ₁₈ H ₁₆ O	0.18		
24	25.08	桉油烯醇	C ₁₈ H ₃₀ O			0.19
25	26.27	9-亚甲基-9H-茚	C ₁₈ H ₁₆	0.16		
26	27.67	植酮	C ₁₈ H ₃₀ O	0.40		
27	28.14	邻苯二甲酸正丁异辛酯	C ₁₈ H ₃₀ O ₄	0.31		
28	29.29	棕榈酸甲酯	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.59		0.06
29	30.01	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₈ H ₃₀ O ₄		0.04	
30	30.03	棕榈酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	11.32		
31	30.61	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂			1.63
32	31.47	镰叶芹醇	C ₁₇ H ₃₀ O	69.79	90.89	71.04
33	32.47	反亚油酸甲酯	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.96		0.16
34	32.61	Z-11-十六碳烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.74		
35	33.16	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1.78		
36	33.25	17-十八炔酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1.44		
37	33.68	亚油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂			4.91

90.89%、71.04%)。除镰叶芹醇外,莱阳北沙参挥发油中相对质量分数超过1%的其他成分有4个,主要为脂肪酸类,分别为2,6-二叔丁基对甲酚、棕榈酸、亚油酸、17-十八炔酸,其中只有棕榈酸的相对质量分数超过5%;安国北沙参挥发油中相对质量分数超过1%的其他成分只有1个,即 γ -榄香烯(1.62%),属于倍半萜类;赤峰北沙参挥发油中相对质量分数超过1%的其他成分有7个,主要为倍半萜类,分别为雪松烯、(+)-花侧柏烯、2,6-二叔丁基对甲酚、(+)- α -长叶蒾烯、 γ -榄香烯、棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯,其中只有 γ -榄香烯相对质量分数超过5%。

3个产地北沙参的共有挥发性成分中,除镰叶芹醇外,还有2,4-癸二烯醛、(+)-花侧柏烯和2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚,均为萜类化合物。安国北沙参和赤峰北沙参

的挥发油成分较为相似,除了上述4个共有成分以外,另外还有13个共有成分,分别为正辛醛、壬醛、 β -姜黄烯、雪松烯、 γ -摩勒烯、 β -石竹烯、(E)- β -金合欢烯、菖蒲二烯、 α -香柑油烯、 α -姜黄烯、(+)- α -长叶蒾烯、(+)- γ -古芸烯和 γ -榄香烯。

3 讨论

3.1 不同产地北沙参挥发油的提取率

关于北沙参挥发油的提取率,大多研究并未给出具体数据^[6-9],这可能是由于北沙参含油量较低,采用挥发油测定器提取时很难读取所获挥发油体积的缘故。本研究采用称重法进行计算,结果3个产地北沙参挥发油的提取率为0.013%~0.105%,与廖华军等^[6]报道的提取率0.063%基本一致。其中,莱阳北沙参挥发油提取率(0.013%)远低于安国北沙参(0.099%)和赤峰北沙参(0.105%),推测这一差异可能与不同产地加工方法(如去皮、沸水烫、直接晒干等)或加工中温度、时长等参数的不同有关,导致挥发性成分可能出现不同程度的损失。

3.2 不同产地北沙参的挥发油组成比较

本研究通过对比3个产地北沙参挥发油成分种类及其相对含量发现,安国、赤峰产北沙参的挥发油成分较为相似,莱阳产北沙参挥发油与前两者差异较大。安国、赤峰产北沙参富含C₁₅H₂₄型倍半萜,而这类成分在莱阳产北沙参中未检出。此外,莱阳北沙参富含脂肪酸类成分,而安国和赤峰产北沙参中该类成分含量不高。3个产地北沙参挥发油成分存在较大的差异,除了与产地加工方法有关以外,还可能与当地气候条件、生态环境和栽培方式等因素有关。

本研究发现,不同产地北沙参中挥发油成分有较大差异,且与文献数据^[3-7]也并不一致,提示日后可以收集不同产地、采收时期、加工方法的多个批次代表性药材样品,运用GC-MS法和多元统计学分析手段,建立北沙参药材的挥发油成分轮廓谱,找到可以作为潜在化学标志物的特征挥发油成分,制定可用于区分北沙参产地的质控方法。

值得关注的是,本研究显示,镰叶芹醇是上述3个产地北沙参药材挥发油共有的、相对含量最高的化合物。近年众多研究表明,镰叶芹醇具有抗癌、抗炎、抗菌等作用,是对人类健康有益的成分^[10-13]。镰叶芹醇属于C₁₇-聚乙炔氧化脂类化合物,主要存在于伞形科、五加科和菊科植物中,如人参、常春藤、欧洲防风草、胡萝卜、芹菜、茴香等药用植物和蔬菜中^[14]。在北沙参挥发油成分中,镰叶芹醇具有很高药用价值,而采用沸水烫后去除外皮的炮制方法由于温度、时长等条件的差异,可能会造成该成分含量的降低,因此需对北沙参产地加工方法的选择及条件优化进行进一步研究。

综上,不同产地北沙参的挥发油成分有较大差异,提示应将其作为区分不同产地的化学标志物;镰叶芹醇

HLA-DP 基因多态性与 HCV 患者抗病毒治疗免疫应答的相关性分析^Δ

石 菡*,李艳芳,袁 媛,贾志华,纪风兵(成都医学院第一附属医院传染科,成都 610500)

中图分类号 R511 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)22-3112-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.22.18

摘要 目的:研究 HLA-DP 基因多态性与丙型肝炎病毒(HCV)患者抗病毒治疗免疫应答的相关性。方法:选取 2013 年 5 月—2017 年 8 月于我院就诊的 HCV 汉族患者 106 例,所有患者均接受为期 48 周的聚乙二醇化干扰素 α (PEG IFN α)+利巴韦林(RBV)联合治疗,并于停药后接受为期 24 周的随访。记录其年龄、体质量、HCV-RNA 基线水平等一般资料,并采用 Taqman-MGB 荧光探针实时定量聚合酶链反应法检测其 HLA-DP 基因 rs3077、rs2395309 位点的分型。根据治疗结局将患者分为持续病毒学应答组(SVR)和未持续病毒学应答组(N-SVR),采用 Logistic 回归模型对影响 HCV 患者抗病毒治疗免疫应答的相关因素(性别、年龄、体质量指数、HCV-RNA 基线水平以及基因多态性)进行单因素和多因素分析。结果:106 例患者中,rs3077 位点 CC、CT、TT 型频率分别为 40.6%、35.8%、23.6%,rs2395309 位点 GG、GA、AA 型频率分别为 50.0%、39.6%、10.4%,均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡($P>0.05$)。SVR 组患者 80 例,N-SVR 组患者 26 例;SVR 组患者的年龄、rs3077 位点 CT、TT 型以及 rs2395309 位点 GA、AA 型比例均显著低于 N-SVR 组,rs3077 位点 CC 型以及 rs2395309 位点 GG 型比例均显著高于 N-SVR 组($P<0.05$);而两组患者的性别、体质量指数、HCV-RNA 基线水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。单因素、多因素分析结果显示,患者性别、体质量指数、HCV-RNA 基线水平,rs3077 位点 CC 型、rs2395309 位点 GG 型与其抗病毒治疗免疫应答不显著相关($P>0.05$),而年龄、rs3077 位点 CT 和 TT 型、rs2395309 位点 GA 和 AA 型与其抗病毒治疗免疫应答显著相关[比值比(OR)分别为 1.135、1.766、1.283、1.218、1.103,95% 置信区间(CI)分别为(1.017,1.267)、(1.007,3.100)、(1.038,1.585)、(1.011,1.467)、(1.038,1.172), $P<0.05$]。结论:年龄以及 HLA-DP 基因 rs3077、rs2395309 位点多态性与 HCV 汉族患者 PEG IFN α +RBV 抗病毒治疗免疫应答相关,其中低龄患者可能获得较高的抗病毒免疫应答率,而 T、A 突变等位基因携带者则可能获得更低的抗病毒免疫应答率。

关键词 丙型肝炎病毒;汉族;HLA-DP 基因;基因多态性;rs3077;rs2395309;抗病毒治疗免疫应答;相关性

等是具有很高药用价值的挥发性成分,种植者应采用适当的北沙参产地加工方法,以避免该类成分的流失。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015 年版.北京:中国医药科技出版社,2015:100.
[2] 李宝国,石俊英.近十年来北沙参的研究概况[J].时珍国医国药,2002,13(5):309-312.
[3] 石俊英,李宝国,牟彩萍.山东地产药材北沙参多糖含量测定[J].山东中医药大学学报,2002,26(2):139-141.
[4] 辛华,丁雨龙.北沙参的生物学与化学成分的研究进展[J].中草药,2008,39(8):1275-1277.
[5] 廖华军,彭国平.北沙参挥发油化学成分 GC-MS 分析[J].辽宁中医药大学学报,2010,12(7):104-105.
[6] 张永清,崔海燕,胡晶红.去皮晒干对北沙参挥发油成分的影响[J].中成药,2013,35(5):1030-1034.
[7] 张艺馨,卢小玲,刘小宇.北沙参中挥发油成分的鉴定[J].第二军医大学学报,2013,34(11):1271-1275.
[8] 吴玉梅,冯蕾.不同方法提取北沙参挥发油的 GC-MS 分析[J].内蒙古中医药,2015,34(7):118.
[9] 王红娟,王亮,苏本正,等.北沙参挥发性成分的 GC-MS

分析[J].齐鲁药事,2010,29(2):80-81.
[10] DAWID C, DUNEMANN F, SCHWAB W, et al. Bioactive C-HELIFI polyacetylenes in carrots (*Daucus carota* L.): current knowledge and future perspectives[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(42):9211-9222.
[11] KOBAEK-LARSEN M, NIELSEN DS, KOT W, et al. Effect of the dietary polyacetylenes falcarinol and falcarindiol on the gut microbiota composition in a rat model of colorectal cancer[J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1):411-416.
[12] STEFANSON AL, BAKOVIC M. Falcarinol is a potent inducer of heme oxygenase-1 and was more effective than sulforaphane in attenuating intestinal inflammation at diet-achievable doses[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018. DOI:10.1155/2018/3153527.
[13] CHEUNG SSC, HASMAN D, KHELIFI D, et al. Devil's club falcarinol-type polyacetylenes inhibit pancreatic cancer cell proliferation[J]. *Nutr Cancer*, 2019, 71(2):301-311.
[14] 苗延红,马开庆,秦雪梅.1,3-二炔类天然产物的合成及生物活性研究进展[J].天然产物研究与开发,2017,29(9):1608-1616.

^Δ 基金项目:四川省卫生厅科学研究项目(No.130382)

* 主治医师。研究方向:传染病。电话:028-83016600。E-mail:tanbi15912130@sina.com

(收稿日期:2019-05-31 修回日期:2019-09-27)

(编辑:段思怡)