

3 讨论

3.1 九牛造根中总鞣质含量测定时,样品制备以超声提取方法优于加热回流方法,原因可能是其所含的鞣质在加热情况下发生水解或其它变化所致,加热会损失部分鞣质。不同溶剂提取方法中以 70%乙醇超声提取较好,鞣质提取率高,其次为水和丙酮,这些结果将为九牛造中鞣质的提取提供参考依据和方法。

3.2 对九牛造根不同部位总鞣质含量分析结果显示,皮部含量明显高于木质部含量,提示九牛造在以鞣质作为主要成分应用时,应分取皮部作为药材入药部位更为合理。

3.3 HPLC法测定九牛造中没食子酸含量方法重现性好,样品干扰小,可作为九牛造药材含量测定用方法。

参 考 文 献

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册. 上海:上海科学技术出版社, 1986: 41.
 [2] 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志. 北京:科学出版社, 1976: 160.
 [3] 郭增军,李延,倪磊,等. 九牛造根抗肿瘤作用的初步实验研究. 中草药, 2001, 32(S0): 146-147.

[4] 郭增军,吕居娴,李映丽,等. Brineshrimp致死率生测法筛选九牛造抗癌活性部位. 西北药学杂志, 1996, 11(2): 70-71.
 [5] 原春兰,郭进宝. 九牛造杀虫活性成分研究. 植物资源与环境学报, 2005, 14(3): 59-60.
 [6] 原春兰,李宗孝. 九牛造活性成分的提取分离及活性检测. 西北农业学报, 2005, 14(3): 127-129.
 [7] 郭增军,朱蓉,吕居娴,等. 九牛造化学成分的研究. 中国中药杂志, 1995, 20(12): 744-745.
 [8] 阮汉利,张悦,张勇慧,等. 湖北大戟化学成分研究. 中国中药杂志, 2006, 31(9): 742-744.
 [9] 徐勤. 鞣质的研究进展. 华夏医学, 2004, 17(1): 113-115.
 [10] 李肖玲,崔岚,祝德秋. 没食子酸生物学作用的研究进展. 中国药师, 2004, 7(10): 767-769.
 [11] 罗文毓. 中药中鞣质含量测定方法的比较研究. 药物分析杂志, 1990, 10(4): 249-251.
 [12] 王坤,鲁静. 中药材中鞣质含量测定方法的研究. 中国药事, 2004, 18(6): 361-364.
 [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部. 北京:化学工业出版社, 2005:附录 XB57.
 [14] 叶蕪芝,叶蕪菡,林薇,等. 三白草没食子酸含量的测定. 福建中医学院学报, 2004, 14(1): 15-16.

(2007 - 04 - 23收稿)

藏药材石榴籽超临界 CO₂ 萃取成分的 GC-MS分析

魏立新,杜玉枝

(中国科学院西北高原生物研究所藏药现代化研究中心,青海西宁 810008)

摘要 目的:用新方法提取藏药材石榴籽油,并对其进行化学成分分析,为石榴籽的药理研究和应用提供实验依据。方法:采用超临界 CO₂ 萃取方法提取石榴籽的可溶性成分,并用气相色谱-质谱联用法对提取部位进行化学成分分析,峰面积归一化法计算各组分的相对含量。结果:共分离鉴定了 10 种化合物,主要成分含量为亚油酸 40.0%、油酸 22.7%、棕榈酸 17.5%、硬脂酸 9.0%及共轭亚油酸 5.7%。结论:藏药材石榴籽的主要化学成分为亚油酸和油酸,两者含量共占全部提取物的 62.7%。

关键词 藏药材;石榴籽;超临界 CO₂ 萃取;GC-MS

中图分类号: R284.1/R284.2 **文献标识码**: A **文章编号**: 1001-4454(2007)11-1401-03

石榴籽为安石榴科植物安石榴 *Punica granatum* L. 的干燥种子,作为常用的藏药材被收载于《中华人民共和国卫生部药品标准·藏药》(第一册),主治培根寒症,胃寒症及一切胃病^[1]。藏药名称为“赛珠”,在著名的经典藏医学著作《四部医典》和经典藏药学著作《晶珠本草》中均有详尽记载,是藏医

(中医用石榴皮)最常用的驱寒、提升胃火的药材。“石榴籽是消除一切寒病之君王,多数寒证是因胃火衰弱而引起。提升胃火石榴籽的效果最佳,其他药无法与其相比,故称为君王方^[2]。在这些君王方中,以“石榴”命名的有 30 种以上。上述部颁标准收载的 200 种常用藏药制剂中,含石榴籽的有 45

作者简介:魏立新(1967-),男,理学博士,从事藏药成分分析及药理作用研究;电话 0971-6143668, E-mail: lxwei@nwipb.ac.cn。

种,且其中有31种主治胃病。

在石榴产地,把石榴籽作为农副产品进行开发利用的同时,石榴籽化学成分和药理作用的研究也越来越受到重视^[3]。在石榴籽作为农副产品时的化学成分研究中,其脂溶性部位的主要获得方式有有机溶剂(如石油醚、苯、丙酮、正己烷、乙醇、甲醇等)提取^[4-6]、微波提取^[7]和水蒸汽蒸馏提取^[8]等方法,但是作为常用藏药的石榴籽,其化学成分的研究却几乎是空白。我们在研究藏医药丸剂、散剂和汤剂三大剂型时发现,石榴籽在汤剂和丸剂中很少被使用,但却作为驱寒散剂的“君王方”被大量使用。因此考虑,石榴籽的有效化学成分很有可能存在于脂溶性部位,故利用较为先进的超临界CO₂萃取方法进行提取,并对提取物成分进行GC-MS分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料 石榴籽药材由东格尔药业有限公司提供,并经中国科学院西北高原生物研究所杜玉枝执业药师鉴定为安石榴 *P. granatum* L. 的干燥成熟种子。CO₂ 气体为食品级。所用试剂均为分析纯。

1.2 试验仪器 SFE-CO₂ 装置,Agilent 6890N 型色谱和 5973 型质谱联用仪(GC-MS),谱库为 NIST02L。

1.3 SFE-CO₂ 萃取方法 根据多次试验经验,萃取工艺统一设定为 CO₂ 流量为 52 kg/h,分离釜温度为 52 ,压力 10 MPa,分离釜 温度为 37 ,压力 5.8 MPa。萃取釜每次装 8 kg 左右原料药粉,先对萃取釜、分离釜进行预热,贮罐进行冷却,达到预定温度时,打开 CO₂ 气瓶送气,并打开高压泵生压,达到预定压力时,开始循环萃取,调节 CO₂ 流量,恒温恒压萃取预定时间后从分离釜收集萃取液,备用。

1.4 GC-MS分离鉴定 色谱条件:美国 J&W .HP5 弹性石墨毛细管柱;载气为 99.999%高纯氮;GC 汽化室温度 250 ;分流进样,分流比为 1:1,进样量为 1 μl;柱升温程序以 4 /min 的速度由 80 程序升温至 290 ,恒温 30 min。用面积归一法定量。质谱条件:MSD 离子源为 EI 源,离子源温度 230 ,电力能量 70 eV;质量扫描范围 40~400 amu。

2 结果

对按上述 SFE-CO₂ 条件萃取的石榴籽提取物,按上述 GC-MS 条件进行分析。对每个色谱峰的化合物给出特定的 MS 峰,经计算机贮存信号检索及对色谱图进行解析确定化合物。共鉴定出 10 种结

构明确的成分,同时用峰面积归一化法测定各成分的相对百分含量(见表 1)。结果显示,石榴籽 SFE-CO₂ 提取物的主要成分依次为亚油酸 40.0%、油酸 22.7%、棕榈酸 17.5%、硬脂酸 9.0%和共轭亚油酸 4.8%。其中,饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的比例为 0.42。

表 1 石榴籽 SFE-CO₂ 萃取物的化学成分

序号	保留时间 (min)	化合物名称	分子式	分子量	相对含量 (%)
1	27.969	棕榈酸 (十六碳酸) Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	17.5
2	30.355	十七碳酸 Heptadecanoic acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.5
3	31.949	亚油酸 9,12-Octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	40.0
4	32.093	油酸 9-Octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	22.7
5	32.189	十八碳烯-11 酸 11-Octadecanoic acid	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	282	1.3
6	32.670	硬脂酸 (十八碳酸) Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	9.0
7	34.048	共轭亚油酸 9,11-Octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	4.8
8	36.450	二十碳烯-11 酸 11-Eicosenoic acid	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	1.9
9	37.011	二十碳酸 (花生酸) Eicosenoic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	1.8
10	41.031	二十二碳酸 Docosanoic acid	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	0.7

3 讨论

上述实验结果表明,石榴籽 SFE-CO₂ 萃取成分主要是亚油酸和油酸,两者共占提取物的 62.7%;从总体比例来看,不饱和脂肪酸占总提取物的 70%。本实验从超临界 CO₂ 萃取的方法角度,为石榴籽的化学成分研究提供了新的实验数据。

实验方法与实验材料是影响实验结果的两大重要因素,实验数据的比较及采用都应该充分考虑这两个前提条件。我们对此前的关于石榴籽研究的论文进行了总结,发现各自的化学成分差别很大。如李志西等^[9-12]和陈业高等^[4]的文章中,石榴籽油的脂肪酸成分主要是石榴酸(十八碳三烯酸),并且其相对含量在 81.62%~86.01% 之间。而赵云荣等^[9]的实验结果中,两种提取方法石榴酸的相对含量是 1.56%和 4.91%。王如峰等^[8]与本文的实验结果中均未见石榴酸的存在。李志西等的文章中,主要的提取方法是先用石油醚粗提粉碎的石榴籽样品,得石榴种子油,再用苯/石油醚(1:1)萃取,甲酯化后取上清液进行色谱分析。陈业高等采用的方法与李志西等的类似,也是用石油醚冷浸三次,得石榴种子粗油,再用乙醚/正己烷(2:1)萃取,甲酯化后取上清液进行 GC-MS 分析,因此他们所得到的实验

结果相似。王如峰等采用的是水蒸汽蒸馏法,挥发油得率仅为 0.026%,且没有检测到石榴酸的存在。本实验所采用的超临界 CO₂ 萃取方法是公认的油脂类物质提取较为完全的方法,出油率为 9.26%,也未检测到石榴酸的存在。赵云荣等^[6]使用的方法虽然与陈业高等采用的方法相同,但石榴酸相对含量分别为 1.56%和 81.62%,差别之大出乎意料。实验材料的品种、产地、成熟度、贮存时间等的不同很可能是造成这种差别的主要原因。国外 Melgarejo^[13]和 Fadavi^[14]对石榴种子油的研究文章以及 Ephraim等^[15]对石榴应用的综述性文章也表明,石榴籽的化学成分随不同的品种、产地等有较大的变化。因此,在石榴籽作为药材使用时,应该充分考虑其质量控制的条件和标准。

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药典标准 藏药. 第一册. 北京: 卫生部药典委员会, 1995: 26-26.
 [2] 土旦次仁. 中国医学百科全书·藏医学. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 239-240.
 [3] 王秋霞, 贾美艳, 唐荣平, 等. 石榴籽化学成分及应用研究进展. 特产研究, 2006, 28(1): 53-56.
 [4] 陈业高, 卢艳, 刘莹, 等. 石榴籽油脂脂肪酸成分的分析. 食品科学, 2003, 24(11): 111-112.
 [5] 王秋霞, 许琳, 杨永红. 石榴籽丙酮提取物抗氧化活性研究. 食品研究与开发, 2006, 27(8): 173-177.

[6] 赵云荣, 王文领, 王勇, 等. 石榴籽中脂肪酸成分分析. 化学研究, 2005, 16(2): 72-74.
 [7] 李文敏, 敷明章, 余龙江, 等. 石榴籽油的微波提取和体外抗氧化作用研究. 天然产物研究与开发, 2006, 18(3): 378-380.
 [8] 王如峰, 刑东明, 王伟, 等. 石榴籽中挥发油成分的气-质联用分析. 中国中药杂志, 2005, 30(5): 399-400.
 [9] 李志西, 李彦萍, 韩毅. 石榴籽化学成份研究. 中国野生植物资源, 1994, (3): 11-14.
 [10] 李志西, 王惠, 史清华. 石榴种子油的理化性质分析. 西北林学院学报, 1993, 8(1): 81-86.
 [11] 王惠, 李志西, 李彦萍. 石榴籽油脂肪酸组成及应用研究. 中国油脂, 1998, 23(2): 54-55.
 [12] 李志西, 王惠. 石榴籽油脂脂肪酸组成分析. 陕西林业科技, 1992, (4): 48-50.
 [13] Melgarejo P, Artes F. Total lipid content and fatty acid composition of oilseed from lesser known sweet pomegranate clones. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80(10): 1452-1454.
 [14] Fadavi A, Barzegar M, Hossein Azizi. Determination of fatty acids and total lipid content in oilseed of 25 pomegranates varieties grown in Iran. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(6-7): 676-680.
 [15] Ephraim P. L., Robert A. N. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology, 2007, 109(2): 177-206.

(2007 - 05 - 22 收稿)

· 药理 ·

漏芦对大鼠肝细胞 CYP3A1 酶活性及其 mRNA 表达的影响

吴 宁¹, 雷霆雯¹, 李红梅¹, 吴青青¹, 唐良华²

(1. 贵阳医学院生物化学与分子生物学教研室, 贵州贵阳 550004; 2. 贵阳中医学院, 贵州贵阳 550002)

摘要 目的: 研究漏芦对大鼠肝细胞细胞色素 P4503A1 (CYP3A1) 酶活性及其 mRNA 表达水平的影响。方法: 以大鼠原代肝细胞为研究对象, 漏芦实验组分别加入不同浓度 (15.6, 31.2, 62.4 mg/ml) 药物处理 48 h, 用红霉素 N 脱甲基酶 (erythromycin N-demethylase, ERD) 活性反映 CYP3A1 酶活性; 采用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 测定药物作用前后酶基因 mRNA 表达的相对水平变化。结果: 漏芦作用后, CYP3A1 酶活性及相应 mRNA 的表达呈浓度依赖性抑制。药物在 15.6, 31.2, 62.4 mg/ml 浓度下对 CYP3A1 酶活性的抑制率分别为 26.4%, 44.2%, 65.4%; 对 CYP3A1 mRNA 表达水平的抑制率分别为 29.4%, 49.8%, 56.0%。结论: 漏芦浓度依赖性抑制 CYP3A1 酶活性, 在转录水平下调大鼠肝细胞 CYP3A1 的表达。

关键词 细胞色素 P4503A1; 酶活性; RT-PCR; 漏芦

中图分类号: R285.5 **文献标识码**: A **文章编号**: 1001-4454(2007)11-1403-04

基金项目: 贵州省科委基金 (E2001-4)

作者简介: 吴宁 (1974-), 女, 硕士, 研究方向: 中草药对细胞色素 P450 的影响; Tel: 0851-6908068, E-mail: wuninggy@126.com.