

野生与栽培羌活药材挥发油含量及组分的比较分析

李春丽^{1,2} 周玉碧¹ 周国英^{*1,3} 孙菁^{1,3} 杨路存^{1,2} 徐文华^{1,3}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049;
3. 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810001)

摘要:分析野生和栽培羌活药材挥发油含量及其组分的变化,为羌活药材的引种栽培及进一步的开发利用提供了依据。采用水蒸气蒸馏法提取羌活药材中的挥发油,通过GC-MS对挥发油成分进行分析鉴定;利用聚类分析对测定结果进行分类;通过相关分析研究海拔对羌活药材挥发油含量的影响。6份药材样品挥发油含量范围为1.60~7.98 mL/100g,6份羌活药材挥发油成分经GC-MS分析,共鉴定出57个化合物,共有成分12个;基于挥发油成分种类及相对含量的聚类分析显示了羌活药材挥发性成分种类及含量的种间差异;相关分析结果表明,海拔高度与挥发油含量存在显著正相关。野生和栽培羌活药材挥发油含量存在差异,总体上野生羌活药材的挥发油含量高于栽培种;羌活药材挥发油含量随海拔升高而增加。

关键词:野生;栽培;羌活;挥发油;组分分析

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1000-0720(2012)01-029-06

羌活药材为伞形科羌活属植物羌活(*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang)和宽叶羌活(*N. forbesii* H. Boiss.)的根及根茎^[1],是我国传统中药,其味辛、苦,性温,有解表散寒和止痛等功效^[2,3]。羌活药材主要含有挥发油、香豆素、有机酸和甾醇等成分^[4-7],其中挥发油和香豆素的含量较高,并且具有确切的药理活性作用。药典上一般将挥发油及香豆素类物质羌活醇和异欧前胡素的定性定量分析作为评价该药材品质的根据。

近年来由于药用量的需求增大,加之长期以来盲目采挖,造成野生羌活资源量的锐减,对羌活进行人工栽培以扩大其资源量已成为一个亟待解决的问题。栽培羌活药材中挥发油等活性成分含量是评判栽培是否可行和有效的重要指标之一。目前对于野生和栽培羌活药材挥发油的含量组分比较尚未见报道。本文采用水蒸气蒸馏法提取野生

和栽培羌活的挥发油,并用GC-MS对挥发油化学成分进行分析鉴定,通过定量定性分析挥发油的含量及组分变化,比较分析野生和栽培羌活药材挥发油含量及组分的差异,为合理开发利用羌活药材资源,确保其品质以及引种栽培措施的可行性提供依据。

1 实验部分

1.1 植物材料

供试植物材料均采于青海省,其中野生种1、栽培1、栽培2、栽培3均采于青海省湟中县群加乡,野生种2、野生种3分别采自青海省互助县北山林场和班玛县玛可河林场野生植物样品为多性,栽培样品均为两性,样品于2010年8月、9月采集。样品采回后取其根及根茎依次用自来水、蒸馏水清洗干净,阴干备用。实验中采自湟中群加的4个植物样地理位置相近,其中野生宽叶羌活为当地野生种,栽培样品1种源为青海互助,

收稿日期:2011-07-11; 修订日期:2011-08-30

基金项目:中国科学院“西部之光”人才培养计划项目(2007年)和科技部科技人员服务企业行动项目(2009GJG20016)资助

作者简介:李春丽(1986-),女,硕士研究生; E-mail: lclmiss@163.com

栽培样品 2 种源为甘肃甘南栽培样品 3 种源为青海班玛 3 个栽培样品于 2008 年种于同一块试验田。详情见表 1,实验材料由中国科学院西北高原生物研究所陈桂琛研究员鉴定。

1.2 实验方法

1.2.1 挥发油的提取 按文献 [8]。取供试品 30g(过 0.38 mm 筛)至烧瓶中,加 10 倍水量,与玻璃珠数粒振摇混合后,连接挥发油测定器与回流冷凝管。每个样品平行测定 3 份。结果见表 1。

表 1 野生和栽培羌活药材挥发油的含量测定
Tab. 1 The Volatile oil contents of wild and cultivated *Rhizoma et Radix Notopterygii* extracted by steam distillation

样品编号	原植物	纬度	经度	海拔 <i>h</i> /m	含量/(mL/100g)
野生 1	<i>N. forbesii</i> Boiss.	36°15.826′	101°33.167′	2839	4.83
野生 2	<i>N. forbesii</i> Boiss.	36°55.614′	102°22.505′	2608	1.60
野生 3	<i>Notopterygium incisum</i>	32°44.374′	100°46.057′	3600	7.98
栽培 1	<i>N. forbesii</i> Boiss.	36°15.826′	101°33.167′	2839	3.37
栽培 2	<i>N. forbesii</i> Boiss.	36°15.826′	101°33.167′	2839	3.20
栽培 3	<i>Notopterygium incisum</i>	36°15.826′	101°33.167′	2839	2.63

1.2.2 仪器与实验条件 磨口挥发油提取器;调温电热套(北京科伟仪器公司);6890N-5973N 气相色谱/质谱联用仪(美国安捷伦科技公司)。

测试条件:GC 气化室温度 250℃,美国 J&WHP-5(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)弹性石英毛细管柱,以 4℃/min 的升温速率由 80℃ 程序升温至 290℃,恒温 30 分钟,载气为 99.999% 高纯氦。MSD 离子源为 EI 源,离子源温度 230℃,电子能量 70eV;使用美国 NIST02 谱库。

1.2.3 数据分析 采用 NTSYS 软件,使用欧氏距离和非加权组平均法(UPGMA)进行样品组分含量的聚类分析^[9]。SPSS16.0 用于本文相关性分析。

2 结果与讨论

2.1 羌活药材挥发油含量测定

由表 1 可见,不同来源的植物样品挥发油含量变化较大,含量范围为 1.60 ~ 7.98 mL/100g,相差 5 倍。其中以多年生的野生 3(班玛)羌活样品中挥发油含量最高,野生 2(互助)的宽叶羌活样品中挥发油含量最低,6 个样品挥发油含量高低依次为野生 3 > 野生 1 > 栽培 1 > 栽培 2 > 栽培 3 > 野生 2。按文献规定,羌活药材挥发油的含量应高于 1.4%(mL/g)^[1]。由表 1 可知,本实验中所有样品挥发油含量都达到了药典规定,均可入药。研究表明,植物化学成分与海拔高度间有显著相关性^[10,11],认为不同海拔高度的光照、温度和湿度等

环境因素不尽相同,会造成有效成分之间的差异。本实验中,由表 2 可看到羌活药材挥发油含量随海拔高度的变化也有明显的变化,运用 SPSS16.0 软件对挥发油含量与海拔高度进行相关性分析,得到其相关系数 $r = 0.942$ ($P = 0.005$),挥发油含量与海拔高度间呈极显著的正相关,即羌活药材挥发油含量随海拔高度的增加而增加。

2.2 羌活药材挥发油组分及其相对含量的比较分析

将 6 个不同来源羌活药材挥发油组分经 GC-MS 分析,共鉴定出 57 个化合物,主要为萜类、倍半萜类化合物。野生 1、野生 2、野生 3、栽培 1、栽培 2、栽培 3 的药材样品中分别鉴定出 34、26、35、35、29、26 种成分,分别占各自挥发油总量的 99.613%、99.124%、99.641%、99.625%、99.967%、100%,各成分的相对百分含量按峰面积归一法计算得到,结果见表 2。

由表 2 可知,6 个药材样品的挥发油中,共有 12 种共有成分,分别为 α -蒎烯、 β -蒎烯、 γ -蒎烯、D-柠檬烯、苜烯、 α -蒎品烯、 β -香叶烯、 α -非兰烯、 β -非兰烯、4-异丙基-甲苯、罗勒烯、乙酸龙脑酯;不同成分在不同的药材样品中含量有差异,其中 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -非兰烯、D-柠檬烯和 γ -蒎品烯 5 种共有成分的相对含量较高,在 6 份药材样品中的含量均大于 1%。

表 2 野生和栽培羌活药材挥发油各组分的相对含量
Tab. 2 The compounds and their relative amounts in volatile oil of wild and cultivated
Rhizoma et Radix Notopterygii extracted by steam distillation

编号	分子式	成分	相对含量 <i>w</i> /%					
			野生 1	野生 2	野生 3	栽培 1	栽培 2	栽培 3
1	C ₇ H ₁₄ O	庚醛	0.023	/	0.141	0.037	/	0.031
2	C ₁₀ H ₁₆	香桉烯	0.146	0.090	0.491	0.183	/	0.199
3	C ₁₀ H ₁₆	α-蒎烯	20.901	12.952	30.185	19.205	40.264	34.875
4	C ₁₀ H ₁₆	蒎烯	0.354	0.279	1.308	0.391	0.040	1.216
5	C ₁₀ H ₁₆	β-非兰烯	4.853	1.996	4.213	5.827	4.526	11.767
6	C ₁₀ H ₁₆	β-蒎烯	19.586	13.988	31.461	19.389	21.016	26.913
7	C ₁₀ H ₁₆	β-香叶烯	0.951	0.462	1.448	1.017	0.131	1.504
8	C ₁₀ H ₁₆	α-非兰烯	0.118	0.205	0.494	0.200	0.018	0.418
9	C ₁₀ H ₁₆	萜烯-3	0.024	0.125	0.719	0.032	/	0.518
10	C ₁₀ H ₁₆	α-蒎品烯	0.391	0.456	1.469	0.427	0.017	0.222
11	C ₁₀ H ₁₄	4-异丙基-甲苯	6.794	7.794	0.825	6.162	0.755	0.225
12	C ₁₀ H ₁₆	D-柠檬烯	4.183	8.396	12.672	12.902	7.836	7.873
13	C ₁₀ H ₁₆	罗勒烯(Z)	6.206	2.138	0.215	2.551	0.556	0.131
14	C ₁₀ H ₁₆	γ-蒎品烯	25.371	29.716	4.323	23.821	23.986	1.128
15	C ₁₀ H ₁₆	孟二烯	0.168	/	0.845	0.364	0.018	0.229
16	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	异戊酸异戊酯	0.186	/	/	0.358	0.030	/
17	C ₁₀ H ₁₈ O	异-松油醇	0.307	/	3.010	0.162	/	0.371
18	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	异戊烯酸异戊酯	0.843	/	/	0.227	0.036	/
19	C ₁₁ H ₁₆ O	3-甲氧基-4-异丙基-甲苯	0.819	2.984	/	0.736	0.028	/
20	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	乙酸龙脑酯	1.104	0.844	3.190	1.458	0.155	1.719
21	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	乙酸癸烯酯	2.019	3.665	/	0.748	0.086	/
22	C ₁₅ H ₂₄	雪松烯	0.186	0.378	/	0.110	0.007	/
23	C ₁₅ H ₂₄	罗汉柏烯	0.058	/	0.020	0.068	0.003	/
24	C ₁₅ H ₂₄	法呢烯	0.245	0.218	/	0.117	0.013	/
25	C ₁₅ H ₂₄	桉叶油二烯	0.052	0.462	/	0.038	0.005	/
26	C ₁₅ H ₂₄	γ-雪松烯	0.081	/	/	0.066	0.022	/
27	C ₁₅ H ₂₄	α-红没药烯	0.326	0.590	0.030	0.219	0.029	/
28	C ₁₅ H ₂₄	α-人参烯	0.093	/	/	0.146	0.010	/
29	C ₁₅ H ₂₄	α-柏木烯	0.076	/	/	0.050	0.004	/
30	C ₁₅ H ₂₆ O	榄香醇	0.095	/	/	0.045	/	0.362
31	C ₁₅ H ₂₆ O	异-愈创醇	0.803	0.299	0.102	0.103	/	/
32	C ₁₂ H ₂₄ O ₄	芹菜脑	/	2.702	/	0.485	0.062	1.238
33	C ₁₅ H ₂₆ O	愈创醇	0.069	6.154	0.033	1.370	0.162	/
34	C ₁₅ H ₂₆ O	α-红没药醇	1.054	1.852	/	0.561	0.138	/
35	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	p-大茴香酸异戊酯	0.032	/	/	0.051	/	/
36	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	异戊烯酸环己烷酯	/	/	/	/	0.017	/
37	C ₉ H ₁₀ O ₂	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚	/	/	/	/	/	0.106
38	C ₁₅ H ₂₄	α-石竹烯	/	/	0.060	/	/	0.297
39	C ₁₅ H ₂₄	β-葑澄茄烯	/	/	/	/	/	0.251
40	C ₁₅ H ₂₄ O	异-榄香酮	/	/	/	/	/	1.589
41	C ₁₅ H ₂₄ O	榄香酮	/	/	/	/	/	4.401
42	C ₁₅ H ₂₄ O	异-长叶松烯	/	/	/	/	/	2.263

续表 2(Continued Tab. 2)

编号	分子式	成分	相对含量 $w/\%$					
			野生 1	野生 2	野生 3	栽培 1	栽培 2	栽培 3
43	$C_{15}H_{26}O$	依兰油醇	/	/	/	/	/	0.158
44	$C_{10}H_{18}O$	α -松油醇	/	0.223	0.589	/	/	/
45	$C_{13}H_{22}S$	3-甲基-2,5-二特丁基-噻吩	/	0.156		/	/	/
46	$C_{10}H_{18}O$	1-甲基-4-异丙基-环己烯醇	/	/	0.110	/	/	/
47	$C_{10}H_{16}O$	松香芹醇	/	/	0.156	/	/	/
48	$C_9H_{10}O$	对-乙烯基-茴香醚	/	/	0.093	/	/	/
49	$C_{15}H_{24}$	α -蒾澄茄烯	/	/	0.041	/	/	/
50	$C_{15}H_{24}$	异-榄香烯	/	/	0.036	/	/	/
51	$C_{15}H_{24}$	β -石竹烯	/	/	0.031	/	/	/
52	$C_{15}H_{24}$	α -香柠檬烯	/	/	0.036	/	/	/
53	$C_{15}H_{24}$	杜松二烯	/	/	0.632	/	/	/
54	$C_{15}H_{24}$	r-榄香烯	/	/	0.167	/	/	/
55	$C_{15}H_{24}$	愈创二烯	/	/	0.141	/	/	/
56	$C_{15}H_{24}O$	斯巴醇	/	/	0.085	/	/	/
57	$C_{15}H_{26}O$	α -杜松醇	/	/	0.272	/	/	/

“/”表示未检测到。

各种易挥发成分具有各自不同的气味,构成了羌活药材独特的香味和特定的药理药效。羌活药材的这些主要成分都具有确切的药理作用。如 α -蒾烯具有抗真菌、杀菌的作用^[12]; β -蒾烯具有抑菌、解痉挛等作用^[13,14]。柠檬烯在癌症防治和治疗中有作用并且可有效溶解术后结石遗留病人的胆固醇结石^[15]。 γ -蒾品烯具有抗氧化、抗炎、抗菌活性^[16]。这与羌活药材具有抗炎、解热镇痛、抗病毒、抑菌等活性相一致。

共有组分蒾烯、 β -香叶烯在野生种 3 和栽培种 3 的挥发油中含量较高; 4-异丙基-甲苯和罗勒烯两种共有成分在野生种 1、野生种 2 和栽培种 1 的挥发油含量较高; 乙酸龙脑酯除在栽培种 2 中含量较低外,在其他 5 个样品中的含量较高; α -蒾品烯和 α -非兰烯在 6 份药材样品中的含量较低。

成分 p-大茴香酸异戊酯为野生种 1 和栽培种 1 的特有成分; α -石竹烯为野生种 3 和栽培种 3 的特有成分; α -松油醇为野生种 2 和野生种 3 的特有成分。

异戊烯酸环己烷酯为栽培种 2 的特征成分; 3-甲基-2,5-二特丁基-噻吩为野生种 2 的特征成分; 1-甲基-4-异丙基-环己烯醇、松香芹

醇、对-乙烯基-茴香醚、 α -蒾澄茄烯、异-榄香烯、 β -石竹烯、 α -香柠檬烯、杜松二烯、r-榄香烯、愈创二烯、斯巴醇、 α -杜松醇 12 种成分为野生种 3 的特征成分; 2-甲氧基-4-乙烯基苯酚、 β -蒾澄茄烯、异-榄香酮、榄香酮、异-长叶松烯、依兰油醇 6 种成分为栽培种 3 的特征成分。

曾有学者采用相同方法对羌活药材的挥发油成分进行了分析,鉴定出其成分与本实验较一致,为 α -蒾烯、 β -蒾烯、D-柠檬烯、松油醇、 α -红没药醇、3-萜烯以及 2-甲基-苯并呋喃等组分^[17-19]。但除了主要组分,其他组分与本实验结果存在差异,这可能与实验材料的产地不同、采收时间及存放时间有关。

2.3 野生与栽培羌活药材的聚类分析结果

以 6 个羌活样品检测分析到的 57 种挥发油成分为变量,进行了聚类分析。

聚类结果表明,宽叶羌活和羌活首先可以区分开来,说明宽叶羌活和羌活挥发性成分种类及其含量存在明显差异;而宽叶羌活的栽培和野生种不能通过聚类区别开来,说明其挥发性成分整体差异不明;4 份宽叶羌活药材中,栽培种 2(原产地为甘肃省)与其他药材样品(产地均为青海省)的关系较远。

相同产地引种栽培后,其挥发油化学成分及相对含量和原产地相比,有所变化(野生种 2 和栽培种 1、野生种 3 和栽培种 3),说明生长环境的改变对药用植物有效成分的积累有影响;不同种(羌活和宽叶羌活)的药材挥发油组分也有明显区别,这可能与遗传因素有关。

药用植物有效成分多为植物的次生代谢物,其在植物体内的积累很大程度上受生长环境各因素的直接或间接影响^[20]。一般认为道地药材的质量比非道地药材质量要好,但这种影响来自哪种因素不是很明确,目前的研究多习惯于比较道地产区和非道地产区的环境因子差异来阐明药材的道地性。因此,对于药用植物(不论野生品种还是栽培品种)而言,有效成分与生境之间的关联关系值得研究,这对于提高栽培品的质量具有重要实际意义。

3 结论

(1) 对采自野生与栽培的羌活药材中的挥发油含量进行分析,按 2010 年版中国药典规定,6 个药材样品的挥发油含量达到并超过药典规定,均可以入药。本实验中,采于班玛县玛可河林场的羌活种群挥发油含量远远高于其他种群,除采于互助北山的野生宽叶羌活种群挥发油含量较低外,野生种群的挥发油含量基本上高于栽培种群。

(2) 野生与栽培羌活药材挥发油共鉴定出 57 种成分,其主要化学成分基本相同,均为 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -非兰烯、D-柠檬烯和 γ -蒎烯。这 5 种成分在 6 份羌活药材样品挥发油中的含量分别达到 74.894%、67.048%、82.854%、81.144%、97.628%、82.556%。

(3) GC-MS 和聚类分析结果均表明,不同产地来源的羌活药材挥发油成分有明显的差别,可以根据这种差别进行羌活药材产地的归属判别。

虽然栽培品种从挥发油含量方面而言可以入药,但是如何保持栽培品种与野生品种在品质方面的稳定性、延续性、一致性以及有效控制药用植物资源中有效活性成分的含量是人工引种栽培实验成功与否的关键^[21]。药用植物有效成分的含量不仅与植物的基因型有关,与生态环境也有着密不可分的联系^[22]。因此,对于药用植物(不论野生品种还是栽培品种)而言,有效活性成分与生态环境以及周围生物因子之间的内在关联值得进一步的探讨。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典: 1 部. 北京: 化学工业出版社, 2010: 170
- [2] 徐惠泼, 孙晓波. 中草药, 1991, 22(1): 28
- [3] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海植物志: 2 卷. 西宁: 西宁人民出版社, 1999: 418
- [4] 杨秀伟, 严仲恺, 顾哲明, 等. 中草药, 1993, 24(10): 507
- [5] 肖永庆, 孙友富, 刘晓宏. 中国中药杂志, 1994, 19(7): 421
- [6] 肖永庆, 谷口雅颜, 刘晓宏, 等. 药学学报, 1995, 30(4): 274
- [7] 吉力, 徐植灵, 潘炯光, 等. 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 4
- [8] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典: 1 部. 北京: 化学工业出版社, 2010: 附录 63
- [9] Rohlf F J. ntsys-pc (Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1. 8). Applied Biostatistics Inc, New York, 1992: 1
- [10] 刘雷, 吴卫, 郑有良, 等. 生态学报, 2007, 27(6): 2239
- [11] 李磊, 孙平, 冯成强. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2251
- [12] 夏忠弟, 余俊龙. 中国现代医学杂志, 2000, 10(1): 44
- [13] Perry N S, Houghton P J, Ampson J, et al. J Pharmcol 2001, 53: 1347
- [14] Sadraei H, Asghari G R, Hajhashemi V, et al. Phytomedicine 2001, 73: 370
- [15] 王璐, 梁悦, 汪子明, 等. 分析化学研究简报, 2007, 4(37): 597
- [16] Grassmann J. Vitam Horm 2005, 72: 505
- [17] 胡敏敏, 蔡宝昌, 张志杰, 等. 中医药学刊, 2006, 24(10): 1931
- [18] 蒋海强, 张莹, 容蓉. 药物分析杂志, 2011, 31(4): 735
- [19] 吉力, 徐植灵, 潘炯光, 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 4
- [20] 董娟娥, 梁宗锁, 尉芹, 等. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1613
- [21] Canter Peter H, Thomas Howard, Ernst Edzard. Trends Biotechnol 2005, 23(4): 180
- [22] 陶曙红, 吴凤镔. 天然产物研究与开发, 2003, 15(2): 174

Comparison analysis of contents and constituents of volatile oils extracted from wild and cultivated rhizoma et radix notopterygii

LI Chun-ti^{1,2}, ZHOU Yu-bi¹, ZHOU Guo-ying^{*1,3}, SUN Jing^{1,3}, YANG Lu-cun^{1,2} and XU Wen-hua^{1,3}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; 3. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001), Fenxi Shiyanshi 2012 31(01): 29 ~ 34

Abstract: To determine the contents and constituents of volatile oils extracted from wild and cultivated Rhizoma et Radix Notopterygii, which can provide experimental foundation for reasonable utilization of Rhizoma et Radix Notopterygii. Volatile oils were extracted by steam distillation. The chemical constituents were separated and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The relative content of each component was determined by area normalization. The classification was carried out by using the Hierarchical clustering analysis. The correlation analysis was used to study the effect of altitude on the contents of volatile oil. The contents of volatile oil in wild and cultivated Rhizoma et Radix Notopterygii ranged from 1.60% to 7.98%. The content was highest in the wild perennial samples collected from county town of Ban Ma. Fifty seven constituents were identified by GC-MS analysis, and there were twelve same compounds in the six samples. According to the result of classification, all samples collected were divided into two grades. The result of correlation analysis showed that the altitude had positive significant influence on the contents of volatile oil in Rhizoma et Radix Notopterygii. The contents of volatile oil in the wild samples were basically higher than those in the cultivated samples. After cultivated, the constituents and their relative contents in the volatile oil had some changes. But the main compounds of the volatile oil were the same between the wild and cultivated samples. The proportion of the mutual components was high. With the increase of altitude, the contents of volatile oil showed the tendency of increase.

Keywords: Wild; Cultivate; Rhizoma et Radix Notopterygii; Volatile oil; Constituent analysis