

文章编号 :1009-038X(2003)05-0069-03

当归中藁本内酯的提取、分离与结构鉴定

胡长鹰¹, 丁霄霖²

(1. 江南大学 机械工程学院, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要:运用超临界流体萃取法、水蒸气蒸馏法和有机溶剂提取法提取当归挥发油,运用硅胶柱分离纯化其主要成分藁本内酯并通过核磁共振进行结构鉴定。结果表明,超临界萃取法可以更好地提取当归挥发油,通过硅胶柱分离最终可得到纯度大于 97% 的藁本内酯,且为 Z-ligustilide。

关键词:当归挥发油;藁本内酯;提取;分离;结构鉴定

中图分类号:R 284.1

文献标识码:A

Extraction, Isolation and Structure Identification of Ligustilide from *Angelica sinensis*

HU Chang-ying¹, DING Xiao-lin²

(1. School of Mechanical Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Essential oil of *Angelica sinensis* was extracted by the methods of supercritical-CO₂ fluid (SC-CO₂), steam distillation and solvent extraction. The main constituent-ligustilide was isolated from the oil by Silica-gel column chromatography and identified by NMR. The results showed that SC-CO₂ extraction method was the best, and the purity of ligustilide could be more than 97%. NMR showed the structure of this compound was Z-ligustilide.

Key words: essential oil of *Angelica sinensis*; ligustilide; extraction; isolation; structure identifying

当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 是伞形科当归属一种多年生草本植物,是我国常用中药材之一,有补血、和血、调经止血、润肠等多种功效^[1]。当归挥发油为当归主要药效的重要来源,而藁本内酯 (ligustilide) 是挥发油的有效成分。作者采用传统的挥发油提取方法^[2]、水蒸气蒸馏法 (Steam Distillation, 简称 SD) 和有机溶剂提取法 (Solvent Extraction, 简称 SE) 以及超临界流体萃取技术 (Supercritical Fluid Extraction, 简称 SFE) 提取当归挥发油,用硅胶柱分离纯化得到藁本内酯,通过核磁共振技术 (NMR) 鉴定其为 Z-ligustilide,经气相色谱-质谱法 (GC-MS) 测定,藁本内酯纯度大于 97%。

1 材料与方法

1.1 试验材料

当归饮片:原产地为甘肃岷县,购于江苏无锡山禾药业股份有限公司,粉碎成 20~40 目,冷藏备用。原料含水率为 8.7%,粗脂肪质量分数 1.87%。

试剂:石油醚 (30~60 °C)、丙酮、正己烷均为 AR 级,上海化学试剂公司产品;柱层层析硅胶 (100~200 目),青岛海洋化工厂产品。

1.2 试验方法

1.2.1 提取方法 水蒸气蒸馏法 (SD):取当归粉

收稿日期 2003-03-11; 修回日期 2003-06-15。

作者简介:胡长鹰 (1968-) 女,江苏无锡人,副教授,食品科学与工程博士研究生。

万方数据

末 300 g, 加入 10 倍质量的水, 用水蒸气蒸馏装置进行蒸馏, 得挥发油, 总提取时间为 12 h, 重复 3 次^[3]. 当归饮片挥发油得率计算: 挥发油得率 = (挥发油质量/当归饮片原质量) × 100%

有机溶剂提取法 (SE): 取当归粉末 300 g, 加入石油醚 1 500 mL 浸提 48 h, 重复 3 次, 合并, 回收溶剂.

超临界流体萃取法 (SFE): 采用 HA141-50-01 型超临界萃取装置 (江苏南通华安超临界萃取有限公司产品), 取当归饮片粉 300 g, 投入萃取釜, 用超临界 CO₂ (SC-CO₂) 萃取. 萃取釜压力为 10 ~ 20 MPa, 温度 40 °C; 分离釜 I 压力 8 MPa, 温度 45 °C; 分离釜 II 压力 6 MPa, 温度 30 °C; CO₂ 流量为 15 kg/h, 萃取时间为 2 h.

1.2.2 藁本内酯的分离与鉴定 将不同方法提取的挥发油合并, 用无水硫酸钠干燥, 然后将挥发油上硅胶柱分离, 用正己烷与丙酮的混合溶剂梯度洗脱, 梯度比例分别为 V(正己烷): V(丙酮) = 100:10, 100:20, 100:30, 100:40, 100:50; 每 100 mL 收集一次, 将收集物分段后进行 GC-MS 检测, 把含藁本内酯 (相对分子质量为 190, 即 $M = 190$) 的组分合并后挥去溶剂, 再上硅胶柱分离, 仍用正己烷 + 丙酮梯度洗脱 (比例同上), 每 50 mL 收集一次. 将收集物分段后再进行 GC-MS 检测, 仍将含 $M = 190$ 的组分合并, 挥去溶剂后反复上硅胶柱分离, 直至得到纯的 $M = 190$ 的化合物. 将该化合物用氘代氯仿溶解后作 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 Dept 谱 (中国科学院上海有机化学研究所, Buker-500).

1.2.3 挥发油化学成分的测定 用 Trace GC-MS 气质联用仪 (美国 Finning Gan 公司制造) 对上述不同方法制得的当归挥发油化学成分进行测定.

气质联用分析处理软件: FINNGAN Xcalibur Iversion 软件.

气相色谱条件: 色谱柱: 30 m × 0.2 mm × 0.25 μm OV101 柱, 载气: 氦气, 柱温: 程序升温, 40 °C → 250 °C, 升温速率 8 °C/min, 恒温 25 min; 汽化温度 280 °C, 尾吹速率 32 mL/min, 检测器 FID.

质谱条件: 进口温度 250 °C, 电离方式 EI, 发射电流 150 μA, 检测器电压 350 V, 离子源温度 200 °C, 电子能量 70 eV, 扫描范围 33 ~ 550 u (相对原子质量单位).

定性方法: 色谱分离后, 质谱裂解得到每个色谱峰的质谱图, 检索质谱图数据库, 选匹配度高者为其化学组成.

定量方法: 色谱峰面积归一化法.

2 结果与讨论

2.1 不同提取法的当归挥发油得率和藁本内酯质量分数比较

当归挥发油得率和挥发油中藁本内酯质量分数见表 1, 不同提取法 GC 图谱见图 1~3.

可见, 综合考虑当归挥发油得率和挥发油中藁本内酯质量分数, 超临界流体萃取法具有较明显的优势 (石油醚提取用色谱峰面积归一法定量时, 时间为 15 ~ 42 min, 即基本剔除溶剂峰影响). 超临界流体萃取法提取当归挥发油的得率和挥发油中藁本内酯质量分数, 可随参数和工艺的改变得到更优化的结果.

表 1 不同提取方法比较

提取方法	挥发油得率/%	藁本内酯质量分数/%
SFE	1.28~2.3223	36.67~46.88
SD	0.31~0.45	41.03~46.75
SE	1.47~3.11	33.89~40.46

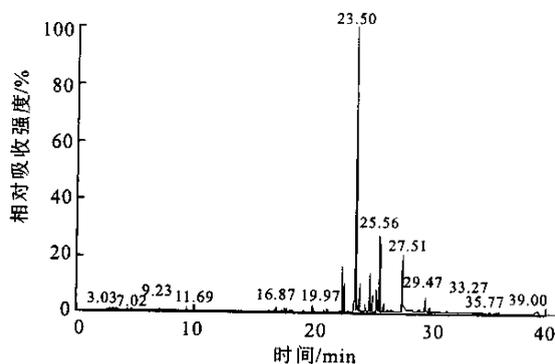


图 1 超临界萃取法提取当归挥发油 GC 图谱

Fig.1 GC diagram of essential oil of *Angelica sinensis* by supercritical CO₂ fluid extraction

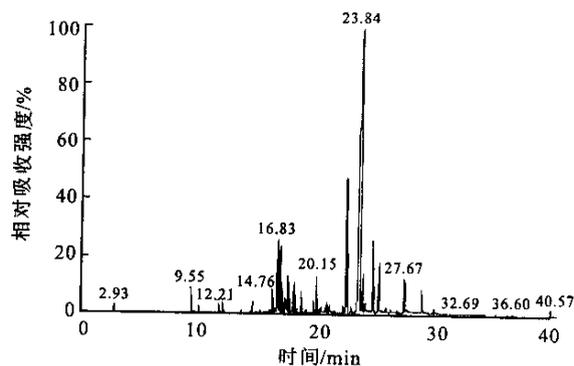


图 2 水蒸气蒸馏法提取当归挥发油 GC 图谱

Fig.2 GC diagram of essential oil of *Angelica sinensis* by steam distillation

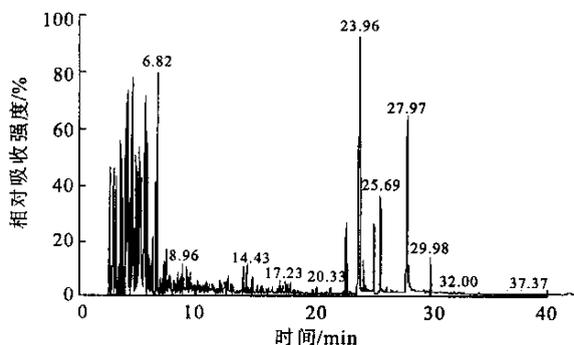


图 3 石油醚提取当归挥发油 GC 图谱

Fig.3 GC diagram of essential oil of *Angelica sinensis* by petroleum ether extraction

2.2 硅胶柱分离藁本内酯

藁本内酯极性较小,在硅胶柱上以合适比例的正己烷与丙酮溶剂反复梯度洗脱,可得到纯度大于 97%的藁本内酯.其 GC 图谱见图 4(2.74 min 附近为溶剂峰).

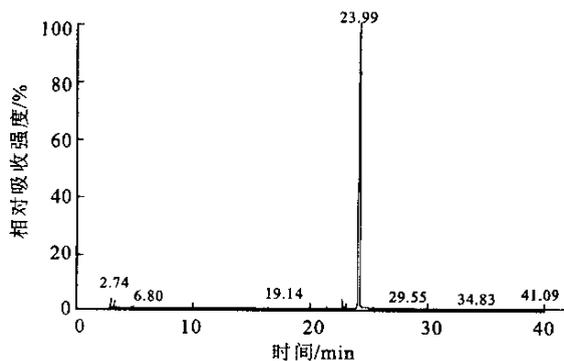


图 4 硅胶柱分离后当归挥发油 GC 图谱

Fig.4 GC diagram of essential oil of *Angelica sinensis* by isolation with silica-gel column chromatography

2.3 结构鉴定

样品的 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 Dept 图谱数据见表 2.

表 2 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 和 Dept 谱

Tab.2 Diagrams of $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ and Dept

$^1\text{H-NMR}$ (d-CHCl_3 , δ)	$^{13}\text{C-NMR}$ (d-CHCl_3 , δ)	Dept
6.19(1H, d, $J=9.1$, H-3)	167.5(s, C-1)	C-1 为季碳原子
5.93(1H, dt, $J=4.0, 3.0$, H-4)	148.5(s, C-8)	C-8 为季碳原子
5.15(1H, t, $J=7.9$, H-9)	147.0(s, C-7)	C-7 为季碳原子
2.52(2H, t, $J=9.8$, H-6)	129.6(d, C-4)	C-4 为 $-\text{CH}-$
2.39(2H, dt, $J=8.3$, H-10)	122.9(s, C-2)	C-2 为季碳原子
2.29(2H, d, d, $J=7.4, 7.4$, H-5)	116.9(s, C-3)	C-3 为 $-\text{CH}-$
1.18(2H, H-11)	112.8(s, C-9)	C-9 为 $-\text{CH}-$
0.80(3H, t, $J=6.4$, H-12)	28.0(s, C-10)	C-10 为 $-\text{CH}_2-$
	22.3(s, C-5)	C-5 为 $-\text{CH}_2-$
	22.3(s, C-6)	C-6 为 $-\text{CH}_2-$
	18.4(s, C-11)	C-11 为 $-\text{CH}_2-$
	13.7(s, C-12)	C-12 为 $-\text{CH}_3-$

从 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中, δ 值为 167.5 的位移值表明有羰基存在, δ 值为 148.5, 147.0, 129.6, 122.9 等位移值表明有共轭系统存在. 从 $^1\text{H-NMR}$ 谱中可见, δ 值 6.19, 5.93, 5.15 为双键上的氢原子. 从峰型裂分情况判断, 该化合物应为内酯类化合物; 参照文献 [4, 5] 该化合物应为藁本内酯. 由于 H-9 的 δ 值为 5.15, 判定该物为 Z-型, 即 Z-ligustilide^[4, 6], 结果见图 5.

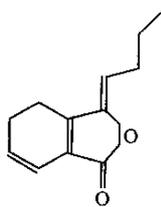


图 5 Z-藁本内酯的结构

Fig.5 Structure of Z-ligustilide

参考文献:

[1] 梅其炳. 中国当归药理研究进展[J]. 中草药, 1983, 14(8): 43-46.
 [2] 梁忠明. 试述中药提取工艺和新进展[J]. 时珍国药研究, 1993, 4(4): 36-38.
 [3] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 1995.
 [4] M Kaouadji, Francine De Prehtere, Coinne Pouget. Three additional phthalide derivatives, an epoxy monomer and two dimers, from ligustilicum wallachii rhizomes[J]. J Natural Products, 1986, 49(5): 872-877.
 [5] Long Zelin, Xian Guo He, Li Zhi Lian. Liquid chromatographic-electrospray mass spectrometric study of the phthalides of *Angelica Sinensis* and chemical changes of Z-ligustilide[J]. J Chromatography A, 1998, 8(10): 71-79.
 [6] Masaru Kobayashi, Miyuki Fujita, Hiroshi Mitsuhashi. Studies on the constituents of umbelliferae plants[J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35: 1427-1433.