

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取西藏红花杜鹃叶 中化学成分及其 GC-MS 初步分析研究

拉巴次旦<sup>1</sup>, 四郎玉珍<sup>1</sup>, 班旦<sup>1</sup>, 格桑卓嘎<sup>1</sup>, 郝宝成<sup>2</sup>, 吴金措姆<sup>1\*</sup>

(1. 西藏自治区农牧科学院畜牧兽医研究所, 西藏 拉萨 850009; 2. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 甘肃 兰州 730050)

**摘要:** 确定超临界 CO<sub>2</sub> 萃取西藏红花杜鹃叶的最优提取工艺, 并初步鉴定分析其提取物的主要化学成分组成。以提取率为评价指标, 利用正交优化法对开花期西藏红花杜鹃叶进行超临界 CO<sub>2</sub> 萃取, 采用气相色谱-质谱联用技术 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 对提取物进行化学成分分析。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取西藏红花杜鹃叶的最优工艺条件为将红花杜鹃叶粉碎为 200 目、萃取压力 20 MPa、萃取温度为 40 ℃、反应时间 2.5 h, GC-MS 检测分离出了 23 种含量较高的化合物。经与质谱谱图数据库比对, 西藏红花杜鹃叶超临界 CO<sub>2</sub> 萃取提取物主要为烷烃 (39.54 %)、酯 (26.94 %)、烯 (24.48 %)、酰胺类 (8.78 %) 等化合物。

**关键词:** 红花杜鹃; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法; 化学成分; GC-MS

中图分类号: S685.14

文献标识码: A

## Supercritical Carbon Dioxide Extraction for Leaves of *Rhododendron spanotrichum* Balf. f. et W. W. Smith and Preliminary Analysis of Chemical Composition by Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

Labacidan<sup>1</sup>, Silangyuzhen<sup>1</sup>, Bandan<sup>1</sup>, Gesangzhuoga<sup>1</sup>, HAO Bao-cheng<sup>2</sup>, Wujincuomu<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Animal Science and Veterinary, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850000, China; 2. Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of Chinese Academy of Agriculture Sciences, Gansu Lanzhou 730050, China)

**Abstract:** To determine the optimal extraction process of the leaves of *Rhododendron spanotrichum* Balf. f. et W. W. Smith were extracted with supercritical carbon dioxide and preliminarily identify and analyze the main chemical components of the extract. Taking the extraction rate as the evaluation index, the leaves of *Rhododendron spanotrichum* Balf. f. et W. W. Smith were extracted with supercritical carbon dioxide by orthogonal optimization method. The chemical components of the extract were analyzed by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). The optimum conditions for supercritical carbon dioxide extraction of the leaves of *Rhododendron spanotrichum* Balf. f. et W. W. Smith were as follows: Crushing into 200 mesh, extraction pressure 20 MPa, extraction temperature 40 ℃, reaction time 2.5 hours. 23 compounds with high content were detected and separated by GC-MS. Compared with the mass spectrum database, supercritical carbon dioxide extraction for the leaves of *Rhododendron spanotrichum* Balf. f. et W. W. Smith was mainly composed of alkanes (39.54 %), esters (26.94 %), alkenes (24.48 %) and amides (8.78 %), etc..

**Key words:** *Rhododendron spanotrichum* Balf. f. et W. W. Smith; Supercritical carbon dioxide extraction; Chemical composition; Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)

杜鹃又称映山红、闹羊花, 是一种落叶灌木, 春天开花<sup>[1]</sup>。杜鹃花科植物分布广, 品种多, 活性成分种类多, 活性高, 用途广<sup>[2]</sup>。中国医学上很早就

证实了其药用价值, 主要被用于治疗关节炎等病症, 东汉成书的《神农本草经》中就有收录<sup>[3]</sup>。西藏红花杜鹃名称出自于《西藏常用中草药》。藏药书《度母本草》上记载杜鹃花为干脓药<sup>[4]</sup>。研究表明杜鹃属植物主要化学成分为土荆芥油素、异土荆芥油素、槲皮素、山奈素、金丝桃甙、红色素、谷甾醇等。杜鹃花科植物活性成分有良好的抗菌消炎作用, 如秀丽杜鹃、汶川杜鹃的抗菌作用就强于或相当于黄连。

收稿日期: 2020-05-15

基金项目: 西藏自治区财政涉农推广类项目“藏兽药研发与示范”

作者简介: 拉巴次旦 (1970-), 男, 副研究员, 主要从事藏兽药的研发, E-mail: 54256938@qq.com; \* 为通讯作者, 吴金措姆 (1980-), 女, 副研究员, 主要从事传统藏兽药的研究, E-mail: 54256938@qq.com。

近年来,其作为神经药理学基质而更受重视<sup>[5]</sup>。杜鹃花属中很多种类的活性成分已被研究,如黄毛杜鹃、日本杜鹃等。目前已从黄杜鹃中分离并鉴定出结构的活性成分有 8 种:分别是闹羊花素-Ⅱ、Ⅲ、Ⅴ, Rhodomollein-Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ, Kalmanol 和 Grayanotoxin-Ⅲ。此外,还含有浸木毒素、石楠素、杜鹃花毒素、司帕拉沙酚、马醉木毒素等<sup>[6]</sup>。James A. Klock 等从黄杜鹃提取到的化学成分作为心血管药的治疗;Yoshiki 等从兴安杜鹃中提取出 2 种新的色原烷衍生物 1 和色原烷衍生物 2,另一种化合物色原烯 3 具有潜在的抗艾滋病病毒活性;钟国华等以黄杜鹃作为麻醉剂,治疗温症,有显著的减慢心率和降低血压作用<sup>[7]</sup>。从华丽杜鹃叶分离的杜鹃素和 Matleucinal 能影响视觉。映山红的嫩叶是“红桃合剂”的主要成分,对慢性支气管炎有良好疗效,满山红、紫花杜鹃都有止咳化痰的功效。从大红花杜鹃叶中分离得到的木藜芦毒素 I 在低剂量(1~100 μg/kg)时有明显降压作用,还能诱发动物的传入神经、迷走神经、肌神经、颈神经、颈动脉神经和皮质神经产生强烈的突发效应,证明是一种高强度的肌兴奋剂<sup>[8]</sup>。另外,杜鹃花科植物中的黄杜鹃药液喷雾防治桑蛭、灌施防治地下害虫、浸渍处理蚜虫效果良好,熏蒸家蝇,致死时间与除虫菊粉相同,苏醒时间比除虫菊粉长,苏醒百分率比除虫菊粉低。据不完全统计,黄杜鹃对豆平蛭、甘蔗绵蚜、苎麻黄蛱蝶、菜粉蝶、稻瘿蚊、稻蝗、稻苞虫、负泥虫、叶蝉、甘薯金花虫、红蜘蛛等 10 科 50 余种重要经济害虫毒杀效果良好,因此,

曾作为土农药在黄杜鹃产区广泛应用<sup>[9]</sup>。杜鹃花科植物中还有很多植物亟待研究开发,其活性成分更是天然药用学科的热点研究课题。

本研究拟通过对西藏红花杜鹃叶子化学成分提取分离检测,初步明确其化学成分组成,为开展其药用价值利用和开发奠定理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂材料

气相质谱仪(Agilent 6890-5973 GC/MS,安捷伦科技(中国)有限公司);CO<sub>2</sub> 萃取仪(HAS-10-50, Applied Separation Inc.);红花杜鹃叶采摘县自西藏那曲嘉黎;氯仿等化学试剂均为色谱纯(西安三浦化学试剂有限公司)。

1.2 红花杜鹃叶预处理

将采摘的红花杜鹃叶自然条件下户外晾干,粉碎后过 200 目筛,备用。

1.3 三因素三水平 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验设计

以提取率为评价指标,选取萃取压力、萃取温度和萃取时间为因素,设计正交试验(表 1)。

表 1 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验影响因素水平

Table 1 Orthogonal factor level table of L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)

水平	A 萃取压力(Mpa)	B 萃取温度(℃)	C 萃取时间(h)
1	10	45	2.5
2	15	40	2
3	20	35	1.5

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验结果  
Table 2 Orthogonal test results of L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)

试验号	A	B	C	提取率 (%)
第 1 组	1	1	1	0.130
第 2 组	2	2	2	0.197
第 3 组	3	3	3	0.193
第 4 组	1	2	3	0.160
第 5 组	2	3	1	0.170
第 6 组	3	1	2	0.113
第 7 组	1	3	2	0.118
第 8 组	2	1	3	0.132
第 9 组	3	2	1	0.199
K <sub>1</sub>	0.136	0.125	0.166	
K <sub>2</sub>	0.166	0.185	0.143	
K <sub>3</sub>	0.168	0.160	0.162	
R	0.032	0.060	0.023	

面积百分比报告

数据路径 : C:\msdchem\1\data\赵晓博\  
数据文件 : 8-2.D  
采集 : 18 Aug 2016 9:28  
操作者 :  
样品 :  
其他 :  
ALS 样品瓶: 1 样品乘积因子: 1

积分参数 : rteint.p  
积分器 : RTE  
平滑 : 开启  
进样 : 1  
开始阈值 : 0.02  
停止阈值 : 0

过滤: 5  
最小面积: 6 % 最大峰  
最大峰: 100  
峰位置: TOP

如果前沿或后沿 < 100 首选 < 切线否则基线垂线 >  
峰距: 5

方法 : C:\msdchem\1\methods\checkout\benz\_pci.m  
标题 : System Performance Check - CH4/PCI - BZP

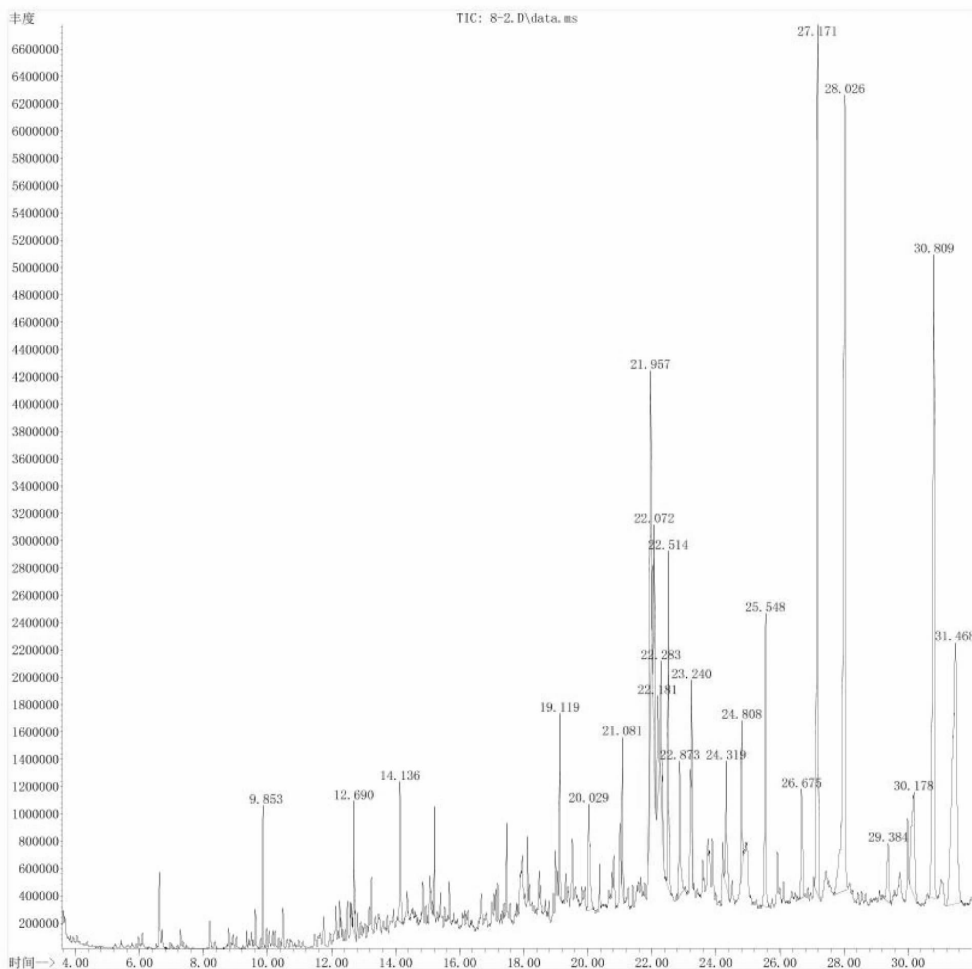


图 1 红花杜鹃的叶 GC-MS 检测

Fig. 1 Detection of *Rhododendron tinctorius* leaves by GC-MS

1.4 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取

精密称取 5 g 粉碎后的红花杜鹃叶于萃取釜中,以 CO<sub>2</sub> 流体为萃取剂进行提取,提取物用氯仿溶解,4 ℃ 保存,备用。

1.5 GC-MS 检测条件

进样口温度:270 ℃,升温程序:60 ℃,以 10 ℃/min 速率升至 280 ℃,保持 5 min,以 5 ℃/min 速率升至 290 ℃,保持 3 min,分流进样,分流比:20:1,载气:高纯氦气,纯度≥99.999 %,流速 1.0 mL/min。进样量:1 μl。

2 结果与分析

2.1 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验的提取条件优化

选用对总提取率有主要影响的 3 个因素(A:萃取压力 Mpa、B:萃取温度℃、C:萃取时间 h)设置 3 个水平,以 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交表进行试验影响因素优化,优化结果见表 2~3。

在提取条件范围内,最佳提取方案是 A3B2C1,即开花期红花杜鹃叶粉碎为 200 目、萃取压力 20 MPa、萃取温度为 40 ℃、反应时间 2.5 h 为最佳提取

表 3 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验方差分析

Table 3 Variance analysis of orthogonal test of L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P
A	0.002	2	0.667	5.140	>0.5
B	0.006	2	2.000	5.140	>0.05
C	0.001	2	0.333	5.140	>0.05

条件。

2.2 GC/MS 检测结果分析

应用 2.1 最优提取条件(即红花杜鹃叶粉碎 200 目、萃取压力 20 MPa、萃取温度 40 ℃、反应时间 2.5 h),将红花杜鹃叶提取物采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)进行化学成分测定,具体参见图 1,共检测分离出 23 种含量较高的化合物;经与质谱图数据库比对,西藏红花杜鹃超临界 CO<sub>2</sub> 萃取提取物主要为烷烃(39.54 %)、酯(26.94 %)、烯(24.48 %)、酰胺类(8.78 %)等化合物。

3 讨 论

藏医药著作《四部医典》所记载的藏药塔玛梅朵玛布正是红花杜鹃,其具有止血,干脓的作用。到目前为止尚未见采用超临界 CO<sub>2</sub> 提取西藏红花杜鹃叶化学成分和 GC-MS 分析的报道。药用植物的花、叶入药是合理的可持续的利用药材资源的有效途径,不仅维护了生态平衡,而且提供了人类所需,可以使人与自然和谐发展。在大力提倡保护生态环境的大背景下,花和叶是药用植物最具有研究意义的部位。

利用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法对西藏红花杜鹃叶化学成分进行了初步的提取分离鉴定,初步明确了其化学成分组成,为下一步研究利用奠定了研究基础。

参考文献:

[1] 蒲燕,高卓林,漆磊,等. 中药材满山红两种提取物抗炎与镇痛作用[J]. 中医药临床杂志,2017(6):853-856.

[2] 高艳,郝宝成,宋向东,等. 白花杜鹃水提液对多房棘球蚴的体外杀灭和体内感染疗效的研究[J]. 中国兽医科学,2019,49(10):1331-1339.

[3] 罗桂环. 杜鹃的前世今生[J]. 北京林业大学学报,2020(1):45-51.

[4] 希瓦措著,毛继祖. 度母本草[M]. 第 1 版. 宁夏:青海人民出版社,2016.

[5] 李少泓,孙欣. 杜鹃属植物的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊,2010,28(1):2435-2437.

[6] 陈刚,金慧子. 杜鹃花属植物的化学成分及药理研究进展[J]. 药学实践杂志,2008,26(4):255-257.

[7] 周三云,李蓉涛. 杜鹃花属植物化学成分及生物活性研究进展[J]. 云南中医中药杂志,2008(5):51-53.

[8] 张梅,潘大仁. 杜鹃属植物黄酮类化合物的研究进展[J]. 海峡科学,2012(5):3-4,14.

[9] 白霄霞,李志斌. 高山杜鹃病虫害防治[J]. 中国花卉园艺,2014(16):40-42.