

壁逼尿肌 M 受体过度兴奋的后果^[1]。膀胱过度活动症以尿急为特点,伴或不伴急性尿失禁、日夜排尿次数增多。膀胱过度活动症多由逼尿肌活动过度所致,以膀胱充盈期逼尿肌不自主收缩为特征,常见于 BPH 引起的膀胱出口梗阻。BPH 伴有 LUTS 即膀胱储尿期和排尿期症状,储尿期症状对生活质量影响更大,特别是夜尿次数增多为患者最突出的主诉,严重影响着该类病人,特别是老年患者的生活质量^[2,3]。

经研究证明尿道壁张力和 BPH 患者的尿道压力是由 α 受体介导机制调控的^[4]。膀胱体、膀胱颈、三角区及近端尿道有丰富的 α_1 受体分布, α_1 受体有 α_{1A} 、 α_{1B} 、 α_{1D} 3 个亚型。膀胱逼尿肌中 α_{1D} 占 66%, α_{1A} 占 34%。坦索罗辛能选择性地阻断 α_{1A} 、 α_{1D} 受体^[5]。因此, α 受体阻滞剂,能有效地降低尿道和前列腺平滑肌张力,增加尿流率,从而缓解排尿期症状。储尿期症状由不能控制的逼尿肌收缩引起。人类膀胱的收缩功能主要由 M 受体介导,M 受体拮抗剂治疗膀胱过度活动症已被广泛应用。索利那新是选择性毒蕈碱 M₃ 受体拮抗剂,能竞争性抑制乙酰胆碱并与之结合,从而抑制膀胱不自主收缩,达到治疗目的^[6]。新近证明,该药不会增加膀胱过度活动症男性患者尿潴留的发生率^[7]。本组 51 例前列腺增生致顽固性 LUTS 患者经坦索罗辛单一治疗后 IPSS 和 QOL 评分较治疗前降低、Qmax 值增高,但无统计学意义。对于 BPH 的 LUTS 较轻者,单用高选择性 α 受体阻滞剂治疗有较好效果。因坦索罗辛能改善因

膀胱顺应性下降所致的储尿困难、尿频、尿急等相关症状。本配伍组 53 前列腺增生症致顽固性 LUTS 症状患者,经坦索罗辛同索利那新配伍,用药 4 周 IPSS、QOL 评分较治疗前降低、Qmax 增高,差异有显著意义。两组病例在治疗过程中未出现严重不良反应,而且两药物不良反应无显著性差异。坦索罗辛同索利那新配伍较坦索罗辛单药更能全面地缓解具有 LUTS 患者的症状,尤其适合在单独使用坦索罗辛疗效欠佳的病例从而能有效地提高此类病人的生活质量。

参考文献

- 仇永亮,程文,高建平,等.托特罗定缓释片治疗膀胱过度活动症临床研究[J].东南国防医药杂志,2010,12(6):487-489
- Wein AJ, Rovner ES. The overactive bladder on overview for primary care health providers[J]. Lnty Fertil Women Med, 1999,44(2):56-66
- 段继宏,杨勇,吴士良,等.北京地区尿失禁发病率的调查[J].北京医科大学学报,2000,32(1):74-75
- 高建平.前列腺疾病与下尿路症状[J].医学研究生学报,2006,19(2):97-99
- Greco KA, Mevary KT. The role of combination medical therapy in benign prostatic hyperplasia[J]. Int J impot Res,2008,20(s3):s33-s43
- 吴士良,肖云翔,段继宏,等.索利那新治疗尿急及急迫性尿失禁的有效性和安全性分析[J].中华泌尿外科杂志,2009,30(9):630-634
- Herschorn S, Stothers L, Carlson K, et al. Tolerability of 5mg solifenacin once daily versus 5 mg Oxybutynin immediate release 3 times daily: results of the vector trial[J]. J Urol,2010,183(5):1892-1898

(收稿:2012-04-06)

(修回:2012-04-20)

土圞儿石油醚萃取物的 GC-MS 分析

胡轶娟 程 林 浦锦宝 梁卫青 郑军猷 魏克民

摘 要 目的 采用 GC-MS 定性分析土圞儿石油醚萃取物中的化学成分组成和相对含量。**方法** 石油醚萃取物样品经 BSTFA:TMCS(99:1)衍生化后,采用 GC-MS 法测定,通过 NIST 数据谱库检索,结合人工解析,鉴定多种化学成分。在此基础上,测定了各组分的相对含量。**结果** 从石油醚萃取物中检出 16 个色谱峰,鉴定出 11 个化合物,占石油醚萃取物总量的 68.75%。**结论** 土圞儿石油醚萃取物中主要含脂肪酸类成分,共有 6 个(54.54%),其他有氨基酸 1 个(9.09%), α -D-葡萄糖苷 1 个(9.09%),肌醇的 3 种同分异构体(27.27%)。

关键词 土圞儿 石油醚萃取物 GC-MS

基金项目:浙江省科技厅基金资助项目(2010F10033)

作者单位:310007 杭州,浙江省中医药研究院

通讯作者:程林,电子信箱:lemon2193@163.com

Analysis of the Petroleum Ether Extract From *Apios Fortunei* Maxim. by GC - MS. Hu Yijuan, Cheng Lin, Pu Jinbao, Liang Weiqing, Zheng Junxian, Wei Kemin. Zhejiang Traditional Chinese Medicine Academy, Zhejiang 310007, China

Abstract Objective To analyze the chemical compositions and their contents in the petroleum ether extract from *Apios fortunei* Maxim. **Methods** The chemical compositions from *Apios fortunei* Maxim. were analyzed by gas chromatography/mass spectrometry after trimethylchlorosilane derivatization. **Results** The chemical compositions were identified by comparison of the authentic sample and NIST database. 16 chromatographic peaks were detected and among them 11 compounds were identified, which were 68.75% of the petroleum ether extract. **Conclusion** The main constituents of the petroleum ether extract were fatty acids, which were 54.54% of the total compositions. Among identified compounds, tryptophan, α -D-glucoside and three isomers of inositol were isolated.

Key words *Apios fortunei* maxim; Petroleum ether extract; GC - MS

土圪儿为豆科植物土圪儿 *Apios fortunei* Maxim. 的干燥块根,浙江省民间用药。其性凉,味甘、微苦,性平,无毒,具有清热解毒、活血止痛、祛风化痰、消肿等功效。土圪儿中的化学成分有生物碱、淀粉等,其中生物碱是一类重要的生理活性物质。《贵州民间草药》:“散积,理气,解毒,补脾”。《全国中草药汇编》:“清热解毒,化痰止咳”。《贵州药植调查》:“治蛇咬伤,并治疗瘡,去毒”^[1]。可用于感冒咳嗽,百日咳,咽喉肿痛,疝气,痢肿,瘰癧。由于其为地方药材,到目前为止,对它进行的研究并不多。在已见的报道中,主要对土圪儿的原植物形态、药材性状、显微特征等进行了初步研究。本研究采用系统溶剂萃取法,从土圪儿植物块根中得到石油醚萃取物,并用气相色谱-质谱联用仪对土圪儿块根石油醚萃取物化学组分进行定性研究。分析鉴定了 11 个化学成分,为其药效评价和应用提供科学依据。

材料与方法

1. 仪器和试剂:美国 Varian 公司 450GC - 240MS 气相色谱-质谱联用仪,Varian CP Sil 24CB 气相色谱柱(30m × 0.25mm, 0.25 μ m),土圪儿采自浙江磐安,经鉴定为豆科植物土圪儿 *Apios fortunei* Maxim. 的干燥块根。石油醚(60 ~ 90℃)为国产分析纯试剂,BSTFA: TMCS(99:1)购于美国 REGIS 公司(批号:CFCQ - 270121)。

2. 方法^[2~11]: (1) 石油醚萃取物的制备:取土圪儿药材 6kg,粉碎成粗粉,加 8 倍量 95% 乙醇加热回流提取 3 次,每次 2h,提取液减压回收乙醇至无醇味,加热水至 2L 成混悬液,用石油醚(60 ~ 90℃)萃取 3 次,每次 2L,回收石油醚,得石油醚萃取物 86.86g。收率为 1.45%。(2) 供试品溶液的制备:取石油醚萃取物适量,加环己烷溶解成 6mg/ml 溶液,取 5ml 置具塞试管中,氮吹至干,加入 BSTFA: TMCS(99:1)试剂 0.5ml,加盖密封后,振摇 30s,于 80℃ 烘箱反应 1h,取出,放冷,即得。(3) GC - MS 条件:毛细管色谱柱(30m × 0.25mm, 0.25 μ m)。汽化温度 250℃;程序升温,初始温度 50℃,保持 2min,以 4℃/min 的速度升温至 200℃,保持 10min,再以 5℃/min 的速度升温至 250℃,保持 20min;载气为高纯氮气,流量

1ml/min;进样量 1 μ l;分流比 1:20。EI 电离源,70eV;离子源温度 220℃;扫描质量范围(m/z) 50 ~ 1000。(4) 石油醚萃取物的化学成分分析:对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到质谱图,通过工作站 NIST 标准质谱图库进行检索,并结合有关文献进行人工检索和解析,确认各化合物。通过工作站数据处理系统,按峰面积归一化法计算各化合物在挥发油中的相对百分含量。

结 果

本实验对未衍生化前的石油醚萃取物进行 GC 分析,结果检测到的色谱峰较少,且强度低,表明石油醚萃取物中的各化学成分主要为非挥发性成分,运用 BSTFA: TMCS(99:1)衍生化后,挥发性增强,检测到较多的色谱峰,且强度增大,见图 1。

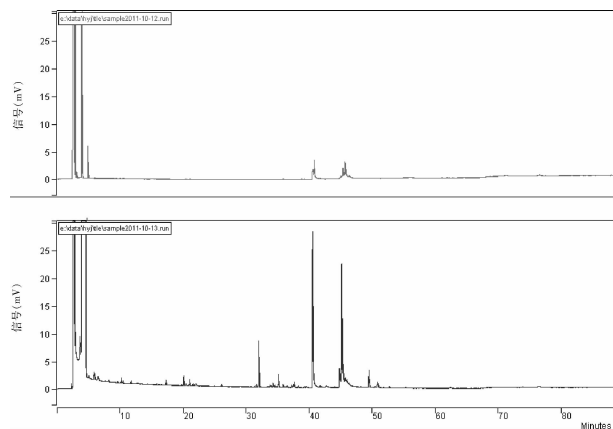


图 1 衍生化前(上图)后(下图)土圪儿石油醚萃取物的 GC 色谱图

比较了 Varian CP Sil 5CB(30m × 0.25mm, 0.25 μ m)、8CB(30m × 0.25mm, 0.25 μ m)、24CB(30m × 0.25mm, 0.25 μ m)和 HP-INnowax Polyethylene Glycol 色谱柱(30m × 0.32mm, 0.25 μ m)4 种色谱柱,结果 Varian CP Sil 24CB 的分离效果最佳。对气相色谱程序升温条件进行了考察,最终确定上述程序升温条件下分离度较好,峰数较多。通过 GC - MS 联用技术分析了土圪儿石油醚萃取物中的成分,通过计算机质谱

库检索,共鉴定出 11 个化合物,采用峰面积归一定量法,求得各化合物的相对百分含量。土圉儿石油醚萃取物中主要成分及相对含量见表 1,总离子图见图 2。

表 1 土圉儿石油醚提取物中的化学成分及相对含量					
编号	保留时间 (min)	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对含量 (%)
1	10.029	丙酸	C ₃ H ₆ O ₃	90	0.19
2	10.994	色氨酸	C ₃ H ₇ NO ₂	89	0.29
3	20.257	2-吡啶甲酸	C ₆ H ₁₁ NO ₂	129	0.27
4	32.857	scyllo-肌醇	C ₆ H ₁₂ O ₆	180	1.26
5	33.683	Myo-肌醇	C ₆ H ₁₂ O ₆	180	3.57
6	36.188	allo-肌醇	C ₆ H ₁₂ O ₆	180	1.84
7	39.06	十六酸(棕榈酸)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	9.72
8	45.362	9,12-十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	14.81
9	46.452	α-亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	4.63
10	54.35	α-D-葡萄糖苷	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342	57.18
11	56.895	2-羟基-4-羰基-十九酸	C ₁₉ H ₃₆ O ₄	328	2.83

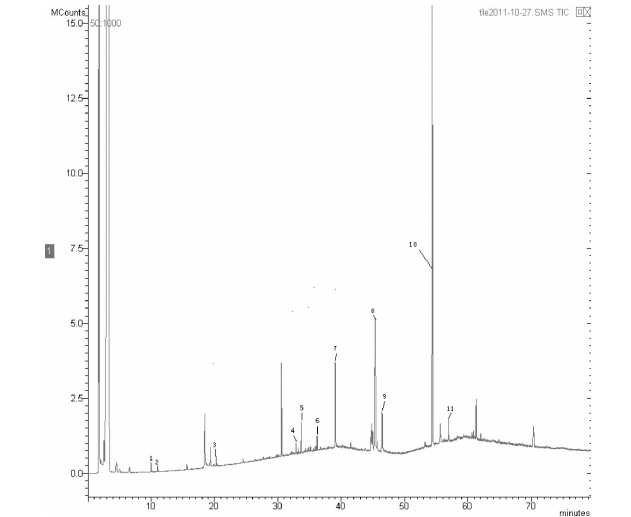


图 2 土圉儿石油醚萃取物的总离子图

讨 论

从石油醚萃取物中检出 16 个色谱峰,鉴定出 11 个化合物,占石油醚萃取物总量的 68.75%。其中,有机酸类成分 6 个(54.54%),肌醇的 3 种同分异构体(27.27%),另外还有 α-D-葡萄糖苷(9.09%)、色氨酸(0.29%)。在鉴定的成分中,α-D-葡萄糖苷的相对含量最高,占 57.18%。可能是土圉儿中淀粉和多糖类成分含量较高,萃取过程中有部分淀粉和多糖带入萃取物中。在鉴定出的 11 个成分中,6 个为有机酸类成分,其中 2 个为不饱和脂肪酸,9,12-十八碳二烯酸的相对含量较高,为 14.81%。从石油醚萃取物中检测出肌醇的 3 种同分异构体,广泛分布在动物和植物体内。肌醇(MYO)是环己六醇中 9 种

立体异构体的一种,属于维生素 B 族。MYO 在细胞形态发生和生成、脂质合成、细胞膜的结构以及细胞生长方面起着极其重要的作用^[12]。从石油醚萃取物中检出 16 个色谱峰,鉴定出 11 个化合物,另外 5 个色谱峰在 10~40min 之间,在 NIST 标准质谱图库未能找到相应的化合物,有待于进一步的研究。通过与空白图谱对照,表明在 50~70min 之间未鉴别的色谱峰为 BSTFA:TMCS(99:1)衍生剂的络合物。本实验对土圉儿石油醚萃取物进行了体外抗肿瘤实验,发现浓度为 50μg/ml、100μg/ml 时对 HepG₂ 细胞株的抑制率分别为 31.8%、52.4%,有一定的抑制作用。其他的生物活性还有待于进一步研究。

参考文献

- 1 宋立人,洪猷,丁绪亮,等. 现代中药学大辞典(上册)[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:110-111
- 2 Ana I S T, Deisy V, Alex E, et al. Chemical composition of leaf essential oils of *Calyptanthus microphylla* B Holts & M L, *Myrcia affosteri* Croat and *Eugenia octopleura* Krug & Urb from Panama[J]. Journal of Essential Oil Research, London, England, 2011,23(5):29-33
- 3 Yamilet IGG, Migdalia MM, Adonis BA, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activity of a methanolic extract of *Phyllanthus orbicularis* and its derived flavonols[J]. Journal of Essential Oil Research, 2011,23(5):29-33
- 4 Jorge AP, Jorge G, Marco AM. A Comparison between the oil, solvent extract and supercritical carbon dioxide extract of *Ocimum gratissimum* L[J]. Essential Oil Research, 1998,10(5):575-577
- 5 Mourad B, Mohamed B, Alain M, et al. Antimicrobial activity and chemical composition of *Saccocalyx satuireioides* Coss. et Dur. essential oil and extract obtained by microwave extraction. Comparison with hydrodistillation[J]. Essential Oil Research, 2008,20(2):174-178
- 6 林文津,徐榕青,张亚敏. 超临界 CO₂ 萃取与水蒸气蒸馏法提取太子参挥发油化学成分气质联用研究[J]. 药物分析杂志,2011,31(7):1300-1303
- 7 Jazia S, Wissem AW, Thierry T, et al. Chemical composition and antioxidant activities of Tunisian and Canadian Coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruit[J]. Essential Oil Research,2011,23(4):7-15
- 8 曹桂云,蒋海强,范辉,等. 顶空固相萃取与气质联用分析白车轴草中挥发性成分[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(4):219-220
- 9 Payman H, Mir MA, Hatam H, et al. Headspace solvent microextraction of volatile components of *Thymus daenensis*[J]. Essential Oil Research,2010,22(4):365-368
- 10 吴怀恩,梁臣艳,李耀华,等. 不同方法提取大头陈挥发油的气质联用成分分析[J]. 药物分析杂志,2010,30(10):1941-1946
- 11 陈皓,李攻科. 微波萃取气质联用测定苍耳子水提取液的研究[J]. 中山大学研究生学刊:自然科学、医学版,2004,25(2):43-48
- 12 赵宁宁,吴效科,侯丽辉. 肌醇在女性生殖中的作用[J]. 世界中西医结合杂志,2011,6(1):81-83

(收稿:2012-03-29)
(修回:2012-04-23)