

文章编号:1673-0062(2011)02-0084-05

GC-MS 联用技术分析徐长卿挥发性化学成分

徐小娜¹, 蒋军辉²

(1. 南华大学 公共卫生学院, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学 化学化工学院, 湖南 衡阳 421001)

摘 要:采用 GC-MS 联用技术结合程序升温保留指数首次对山东平邑产徐长卿的不同药用部位的挥发油成分进行定性定量分析. 共定性出 29 种挥发性化学成分, 地下部分(根及根茎)15 种, 地上部分(茎和叶)22 种, 分别占二者挥发油总含量的 99.64% 和 96.51%, 共有组分 8 种. 徐长卿地下和地上部分的挥发油主要成分为丹皮酚和邻羟基苯乙酮, 其中邻羟基苯乙酮为新发现的主要化合物. 二者中丹皮酚的含量分别为 88.45% 和 66.30%, 邻羟基苯乙酮的含量分别为 8.89% 和 16.99%. 徐长卿地下部分的挥发油含量比地上部分多, 二者存在显著性差异.

关键词:气相色谱—质谱联用; 挥发油; 程序升温保留指数

中图分类号:R284.2 **文献标识码:**A

Analysis of the Essential Oil From Different Parts of *Cynanchum paniculatum* by GC/MS

XU Xiao-na¹, JIANG Jun-hui²

(1. School of Public Health, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: The essential oils from different parts of *Cynanchum paniculatum* (Bge.) Kitag were analyzed by GC/MS in combination with temperature-programmed retention indices (PTRIs) for the first time. In all, 29 compounds were identified. Among them, 15 components from the volatile oil of the below-ground part of *Cynanchum paniculatum* (CP), and 22 ones from that of the over-ground part of CP. The common constituents between the test samples were eight. The major constituents in the below-ground and over-ground parts of CP were Paeonol and o-Hydroxyacetophenone, in which the contents of Paeonol were respectively 88.45% and 66.30%, and those of o-Hydroxyacetophenone were respectively 8.89% and 16.99%. By comparison of oil contents of the two, the oil content of the below-ground part was larger than that of the over-ground one, which had significant disparity.

收稿日期: 2011-04-22

基金项目: 南华大学教育改革与研究课题基金资助项目(07L16)

作者简介: 徐小娜(1974-), 女, 湖南永州人, 南华大学公共卫生学院讲师, 博士. 主要研究方向: 中药质量控制, 代谢组学.

key words: cynanchum paniculatum; essential oil; GC-MS

徐长卿 (*Cynanchum paniculatum* (Bge.) Kitag) 为常用中药, 具有祛风化湿, 止痛止痒作用, 用于风湿痹痛, 胃痛胀满, 牙痛, 腰痛, 跌打损伤, 荨麻疹, 湿疹等. 历版中国药典收载的徐长卿基原均为萝藦科植物徐长卿的干燥根及根茎^[1-2]. 据文献^[3-5]记载, 徐长卿主产于江苏、浙江、安徽、山东、湖北、湖南、河南等省, 各地多自产自销. 吉林、甘肃、山东、福建、浙江、江西、广西等地用根及根茎, 其他各地大多用带根全草. 近年来已有关于徐长卿挥发油化学成分研究的报道^[6-8], 但多是采用标准质谱库定性, 未结合程序升温保留指数辅助定性^[9-10]. 本文采用 GC-MS 联用技术结合程序升温保留指数分析不同药用部位的徐长卿的挥发油成分, 以期为该药材资源的使用、临床用药及药理药效研究提供基础数据.

1 程序升温保留指数

色谱法最基本的定性指标是组分在色谱柱内滞留的时间即保留时间, 但是保留时间易受实验条件的影响, 而在使用相对保留值时, 其数值亦随标准物的不同而不同, 因此单纯依靠保留时间和保留值进行定性分析是比较困难的. 恒温保留指数是气相色谱定性分析中一个相对稳定的参数, 由 Kovàts^[9] 于 1958 年提出, 其计算方法见公式(1).

$$I = 100 \times \frac{\log X_i - \log X_z}{\log X_{z+1} - \log X_z} + Z \quad (1)$$

其中, I 为 Kovàts 保留指数, X_z 、 X_{z+1} 和 X_i 分别为 z 、 $z+1$ 的正构烷烃标样及目标成分的气相相对保留时间.

Kovàts 指数是在色谱柱柱温恒定的条件下提出的保留指数计算公式, 但天然植物是内含化学成分十分复杂的体系, 需要在程序升温的条件下进行色谱分析. 显然, 恒温保留指数并不适于程序升温的分析条件. 因此, 为克服恒温保留指数的不足和满足程序升温条件下的定性要求, 1963 年 Van den Dool 和 Kratz^[10] 提出了用来计算线性程序升温保留指数 (Temperature-programmed retention indices, PTRIs) 的方程, 其计算方法见公式(2).

$$I_x = 100n + 100 \left(\frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) \quad (2)$$

其中, I_x 表示待分析化合物的程序升温保留指数, n 和 $n+1$ 表示碳原子数, t_n 、 t_{n+1} 分别表示具有 n 和 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃的保留时间, t_x 表示待分

析化合物的保留时间, 且 t_x 在 t_n 、 t_{n+1} 二者之间.

在 GC/MS 分析中 Richmond 认为^[11-13], 对于某一特定的毛细管柱来说, 只要其固定相固定不变, I_x 的重现性是很高的. 而只要色谱工作变量, 如载体、流速、薄膜厚度、线性温度程序速率是标准的, 该毛细管柱的固定相就确定了. 对于那些质谱十分相似的化合物来说, 直接在质谱库中进行质谱搜索和比对, 是难以进行定性分析的, 但由于它们具有不同的保留时间, 具有不同的保留指数, 据此可确认并得出其定性结果. 在环境样品、生物样品, 特别是复杂的中药样本的定性分析中, 有许多同分异构体存在, 其质谱十分相似, 因此, 在确定它们的结构时, 可将其气相色谱保留指数和质谱相结合, 提高定性分析的准确性.

2 实 验

2.1 仪器、试剂与材料

Shimadzu2010A 型气相色谱-QP2010 型质谱联用仪 (GC-MS)、岛津质谱工作站, NIST107 质谱库 (均为日本岛津公司产品); 挥发油提取器; 自动双重纯水蒸馏器, 型号: D1810C, 上海申生科技有限公司合作出品; 正构烷烃标准溶液 (C8-C20, No.04070; C21-C40, No.04071) 购于 Fluka Chemika 公司; 正己烷; 无水硫酸钠; 二次蒸馏水; 徐长卿干燥全草采自山东平邑, 经中南大学刘向前教授鉴定.

2.2 挥发油提取

将徐长卿全草药材事先置于 40℃ 烘箱中烘 4 h, 然后切成地下和地上两部分, 粉碎. 称取地上和地下部分药材各 50 g, 分别置于 1 000 mL 圆底烧瓶中, 再加入 500 mL 蒸馏水, 浸泡 2 h, 按中华人民共和国药典 (2000 年版) 挥发油测定法提取 5 h^[14]. 正己烷作为溶解溶剂, 收集挥发油. 样品用无水硫酸钠干燥后移取到样品瓶中, 密封, 保存于 4℃ 冰箱, 备用.

2.3 挥发油的测定条件

色谱条件: 色谱柱为 DB-1 熔融石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm id, film thickness 0.25 μm; Agilent J&W scientific, Folsom, CA, USA); 载气 He; 流速为 1.0 mL/min, 柱流量 1.0 mL/min; 进样口温度 250℃; 进样量为 1 μL, 分流比为 1:10; 采用程序升温, 初始温度为 50℃, 保留 2 min, 然后以

4℃/min的速率升至 250℃,保留 3 min.

质谱条件:电子轰击(EI)离子源,电子能量 70 eV;离子源温度为 200℃;检测电压为 0.8 kV;全扫描模式,扫描范围为 35~500 amu;扫描速率为 0.2 scans/s;溶剂切除时间为 2.5 min.

2.4 数据分析

数据分析在 ThinkPad R400 电脑上进行,所分辨的质谱在 NIST05 标准质谱库中检索.根据公式(2)计算程序升温保留指数,以辅助定性分析.

3 结果与讨论

3.1 挥发油成分的定性分析

中药挥发油所含成分复杂.不同药用部位的徐长卿挥发油成分亦是如此.本文采用标准 NIST05 质谱库对各组分进行质谱定性检索(质谱相似度大于 90%),然后根据公式(2)计算各色谱峰的程序升温保留指数,再与文献数据^[15]比较(实验值与文献值的差在 40 以内,视为可靠),进行定性分析,得到组分定性结果.

在徐长卿地上部分的挥发油总离子流图中(见图 1),保留时间为 6.078 min 的色谱峰,在 NIST05 质谱库中检索为 n-Hexyl formate,质谱相似度为 94%,程序升温保留指数的实验值和文献值分别为 850 和 927,二者相差 77,而本文中保留指数的阈值设定为 40,因此视为定性为 n-Hexyl formate 是不

准确的,舍弃;保留时间为 33.837 min 的色谱峰,在 NIST05 质谱库中检索时,相似度为 94% 的化合物有三个,它们分别为 Tetradecanal 十四醛、Pentadecanal 十五醛和 Tridecyl aldehyde 十三烷基醛,文献报导它们的程序升温保留指数分别为 1592、1717 和 1503,而实验计算出来的 1693,显然与实验值接近且可靠的文献值为 1717,因此将该色谱峰定性为十五醛 Pentadecanal.

本文中色谱峰的定性都与类似上述色谱峰的定性分析类似,所得结果如表 1.徐长卿地下和地上部分的挥发油成分中分别分离出 21 和 29 个色谱峰,分别定性出 15 和 22 种化合物,共有化合物 9 种.与文献^[3-5]比较,正己醛,2-正戊基呋喃,反-2-(2-戊烯基)呋喃,芳樟醇,邻羟基苯乙酮,1-甲氧基-4-丙烯基-苯,丁香酚,大马士酮,α-愈创木烯,β-紫罗酮,α-布藜烯等均为首次从徐长卿挥发油成分中鉴定出来的化合物,这可能与样品的生长环境、采收季节、炮制工艺等因素有关.

3.2 挥发油成分的定量分析

通过 GC/MS 化学工作站数据处理系统,按峰面积归一化法确定各组分在挥发性物质中的相对含量,结果见表 1(所有物质按照保留指数增大的顺序,即色谱峰流出顺序列入该表).徐长卿地下和地上部分挥发油的定性组分含量分别占总含量的 99.64% 和 96.51%.

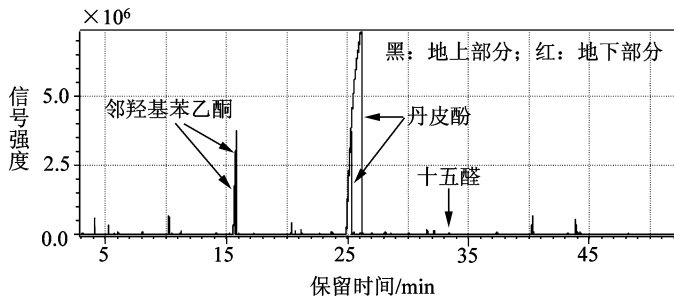


图 1 不同部位的徐长卿挥发油的 GC/MS 总离子流图

Fig. 1 TICs of volatile oils from different parts of *Cynanchum paniculatum*

3.3 挥发油成分的比较分析

1) 共有组分分析

由表 1 可见,徐长卿地下和地上部位的挥发油成分复杂,不同组分含量不同.二者主要的挥发油成分是丹皮酚和邻羟基苯乙酮,其中,丹皮酚的含量分别为 88.45% 和 66.30%,邻羟基苯乙酮的含量分别为 8.89% 和 16.99%.此外,共有成分还有正己醛、2-正戊基呋喃、1-甲氧基-4-丙烯基-苯、

乙酸冰片酯、α-布藜烯和 L-抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯等 6 种化合物.

2) 特有组分分析

徐长卿地下和地上部位的挥发油成分中除二者共有组分外,还有各自的组分.4-甲基-3-戊烯-1-醇,(S)-3-Ethyl-4-methylpentanol,左旋樟脑,反式-2-壬醛,2-丁基-2-辛烯醛,亚油酸甲酯,亚油酸和油酸等 8 种化合物只存在于地下部位的挥发油

成分中;2-Hexenal,反-2-(2-戊烯基)呋喃,芳樟醇,丁香酚,大马士酮,石竹烯,(Z)-香叶基丙酮, α -愈创木, β -紫罗酮烯, 3-(1,5-二甲基-4-己烯基)-6-异氰酸苯酯-1-环己烯,石竹素,十五醛,6,10,14-三甲基-2-十五烷酮和植醇等 14 种化合物只存在于地上部位的挥发油成分中.

表 1 不同药用部位的徐长卿的挥发油成分

Table 1 Results of qualitative and quantitative of the essential oils from different parts of <i>Cynanchum paniculatum</i>						
序号	化学名称	分子式	相对百分含量/%		保留指数	
			地上部分	地下部分	实验值	文献值
1	正己醛 Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	0.75	0.27	—	800
2	2-己烯醛 2-Hexenal	C ₆ H ₁₀ O	1.0	—	822	848
3	4-甲基-3-戊烯-1-醇 4-methyl-3-Penten-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	—	0.02	839	868; —
4	2-正戊基呋喃 2-pentyl-Furan	C ₉ H ₁₄ O	0.48	0.42	977	996
5	反-2-(2-戊烯基)呋喃 trans-2-(2-Pentenyl) furan	C ₉ H ₁₂ O	0.26	—	985	1 004
6	芳樟醇. beta. -Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	0.16	—	1 083	1 086
7	左旋樟脑 (+)-2-Bornanone	C ₁₀ H ₁₆ O	—	0.04	1 113	1 143
8	邻羟基苯乙酮 o-Hydroxyacetophenone	C ₈ H ₈ O ₂	16.99	8.89	1 129	1 165
9	反式-2-壬醛 trans-2-Nonenal	C ₉ H ₁₆ O	—	0.03	1 134	1 136
10	1-甲氧基-4-丙烯基-苯 1-methoxy-4-(1-propenyl) - Benzene	C ₁₀ H ₁₂ O	1.74	0.19	1 257	1 279
11	乙酸冰片酯 Bornyl acetate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.15	0.09	1 265	1 283
12	丁香酚 Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.36	—	1 325	1 330
13	2-丁基-2-辛烯醛 2-Butyl-2-octenal	C ₁₂ H ₂₂ O	—	0.07	1 355	1 369
14	大马士酮. beta. -Damascenone	C ₁₃ H ₁₈ O	0.23	—	1 358	1 384
15	丹皮酚 Paeonal	C ₉ H ₁₀ O ₃	66.30	88.45	1 424	1 438
16	石竹烯 Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	0.29	—	1 411	1 428
17	(Z)-香叶基丙酮 Geranyl acetone	C ₁₃ H ₂₂ O	0.26	—	1 428	1 455
18	α -愈创木烯. alpha. -Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	0.26	—	1 431	1 443
19	β -紫罗酮. beta. -Ionone	C ₁₃ H ₂₀ O	0.28	—	1 459	1 469
20	α -布藜烯. alpha. -Bulnesene	C ₁₅ H ₂₄	0.21	0.06	1 494	1 505
21	3-(1,5-二甲基-4-己烯基)-6-异氰酸苯酯-1-环己烯 3-(1,5-Dimethyl-4-hexenyl) -6-methylene-1-cyclohexene	C ₁₅ H ₂₄	0.25	—	1 510	1 510
22	石竹素 Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0.23	—	1 560	1 537
23	十五醛 Pentadecanal	C ₁₅ H ₃₀ O	0.14	—	1 693	1 717
24	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 6,10,14-trimethyl-2-Pentadecanone	C ₁₈ H ₃₆ O	0.34	—	1 828	1 845
25	L-抗坏血酸-2,6-二棕榈酸酯 1-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	2.95	0.95	1 945	—
26	亚油酸甲酯 Linoleic acid, methyl ester	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	—	0.04	2 115	2 092
27	植醇 trans-Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	2.88	—	2 144	2 138
28	亚油酸 Linoleic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	—	0.07	2 151	2 126
29	油酸 Oleic Acid	C ₁₆ H ₃₀ O	—	0.05	2 160	2 141
合计			96.51	99.64		

- :表示未检测到该化合物.

3)生物活性成分分析
徐长卿挥发油成分中含有不少具有药理活性的物质. 例如,丹皮酚具有安神、止痛、解热、抗菌、抗高血压、抗肿瘤等显著的药理作用^[16-20];樟脑有中枢兴奋作用和轻度祛疾作用,可增进局部血液循环^[21];丁香酚具有抑菌、麻醉、解热、抗氧化、抗肿瘤、促进透皮吸收、祛蚊等多种药理活性^[22];

石竹烯有平喘、镇咳、祛痰、杀菌、消毒作用^[23];亚油酸可使胆固醇脂化,抑制动脉血栓的形成,并对维持机体细胞膜功能起重要作用^[24].

3.4 关于徐长卿的药用部位

历代药典规定^[1-2],徐长卿的药用部位为根及根茎,但许多地方多以全草入药. 因丹皮酚具有安神、止痛、解热、抗菌、抗高血压、抗肿瘤等显著的药

理作用^[16-20],故它在很大程度上代表着徐长卿的临床疗效,被认为是该药材最主要的药效成分,并被作为药材质量控制指标. 本研究结果显示,丹皮酚在徐长卿地下部位挥发油中的含量显著高于其在地上部位挥发油中的含量,这与前人报道的结果相一致^[25]. 因此,建议采用徐长卿药材的地下部分(根与根茎)入药,地上部分(茎和叶)虽然含有丹皮酚,但含量低,可作为丹皮酚的提取原料.

4 结 论

采用 GC-MS 联用技术结合程序升温保留指数对不同部位的徐长卿挥发油成分进行分析,发现二者的挥发性成分主要是丹皮酚和邻羟基苯乙酮,且此两种化合物在不同部位的徐长卿挥发油中的含量相差较大. 与文献^[3-5]比较,邻羟基苯乙酮、丁香酚、大马士酮、 α -愈创木烯等多种物质均为首次从该药材的挥发油成分中鉴定出来的新化合物. 本研究可为徐长卿植物药资源的利用,临床应用以及活性成分的研究提供参考.

参考文献:

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2000:235.
- [2] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:200-201.
- [3] 中国医学科学院药物研究所. 中药志:第一册[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:177-181.
- [4] 南京药学院《中草药学》编写组. 中草药学:中册[M]. 南京:江苏人民出版社,1976:878-879.
- [5] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第六册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:345-349.
- [6] 张永清,李萍,王建成,等. 鲜品与干品徐长卿挥发油成分分析[J]. 2006,31(14):1205-1206.
- [7] 黄月纯. 徐长卿不同药用部位的丹皮酚含量测定及挥发油成分分析[J]. 2002,12(1):19-20.
- [8] 赵超,杨再波,张前军,等. 固相微萃取/气相色谱/质谱法分析徐长卿挥发性化学成分[J]. 2007,24(4):407-409.
- [9] Kováts E S. Gas chromatographic characterization of organic compounds retention indexes of aliphatic halide, alcohols, aldehydes and ketones[J]. Helvetica Chimica Acta,1958,41:1915-1932.
- [10] Dool Den van H, Kratz P Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography[J]. J Chro-

matogr.,1963,11:463-471.

- [11] Richmond R. Calibrated salvage of gas chromatography capillary column retention indices[J]. Journal of Chromatography A,1996,742(1/2):131-134.
- [12] Richmond R, Pombo-Villar E. Use of persistent trace gas chromatography artifacts for the calculation of Pseudo-Sadtler retention index[J]. Journal of Chromatography A,1998,811(1/2):241-245.
- [13] Richmond R. Simple calibrated merging of gas chromatography capillary column temperature-programmed retention-index compilations[J]. Journal of Chromatography A,1996,724(1/2):229-234.
- [14] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [15] US National Institute for Science and Technology (NIST) MS data Central. NIST standard reference database 69[DB/OL]. Gaithersburg, MD,2005. www. web-book. nist. gov.
- [16] Chou T C. Anti-inflammatory and analgesic effects of paeonol in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia[J]. Br. J. Pharmacol.,2003,139(6):1146-1152.
- [17] Wu X A, Chen H L, Chen X G, et al. Determination of paeonol in rat plasma by high-performance liquid chromatography and its application to pharmacokinetic studies following oral administration of Moutan cortex decoction[J]. Biomed. Chromatogr.,2003,17(8):504-508.
- [18] Kim S H, Kim S A, Park M K, et al. Paeonol inhibits anaphylactic reaction by regulating histamine and TNF- α [J]. Int. Immunopharmacol.,2004,4(2):279-287.
- [19] Mi X J, Chen S W, Wang W J, et al. Anxiolytic-like effect of paeonol in mice[J]. Pharmacology, Biochemistry and Behavior,2005,81(3):683-687.
- [20] Sun G P, Wang H, Xu S P, et al. Anti-tumor effects of paeonol in a HepA-hepatoma bearing mouse model via induction of tumor cell apoptosis and stimulation of IL-2 and TNF- α production[J]. European Journal of Pharmacology 2008,584(2/3):246-252.
- [21] 方永奇. 祛痰药对中枢神经系统和心血管系统药理作用概述[J]. 中医研究,2000,13(5):47-49.
- [22] 彭宅彪,张琼光,代虹健,等. 丁香酚现代药理研究进展[J]. 时珍国医国药,2006,17(10):2079-2081.
- [23] 滑艳,汪汗卿. 甘肃产香青挥发油成分分析[J]. 中草药,2003,34(1):19-21.
- [24] 阮征,吴谋成. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 中国油脂,2003,28(2):55-59.
- [25] 申庆亮,苗元峰,王永武. 徐长卿不同药用部位中丹皮酚含量的测定[J]. 中国中药杂志,1999,24(2):76.