

· 实验研究 ·

黄水枝不同部位挥发性成分的 GC-MS 研究

刘向前^{1*}, 张晓丹¹, 郑礼胜¹, 周新奇², 吴世旭³

(1. 中南大学 制药工程系, 湖南 长沙 410083; 2. 聚光科技有限公司, 浙江 杭州 325011;

3. 首尔大学校医科大学, 韩国 首尔 122704)

摘要:目的 在使用 GC-MS 技术的基础上采用直观推导式演进特征投影法(HELP)研究云南产黄水枝根、茎、叶 3 个不同部位的挥发油成分。方法 以黄水枝根部位为例详细介绍了 HELP 的解析过程, 应用总体积分法测定各成分的质量分数。结果 3 个不同部位(根、茎、叶)提取的挥发油中分别鉴定出 58、37、38 个化合物, 分别占挥发油总量的 92.48%、99.16%、93.51%。结论 黄水枝不同部位的挥发油化学成分有明显差异; 利用 GC-MS 分析法结合化学计量学分辨率方法鉴定挥发油化学成分, 比单独使用 GC-MS 法结果更准确、可靠。

关键词:黄水枝; 挥发油; GC-MS; 直观推导式演进特征投影法(HELP)

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)01-0031-05

Study on volatile chemical components from three different parts
of *Tiarella polyphylla* by GC-MS

LIU Xiang-qian¹, ZHANG Xiao-dan¹, ZHENG Li-sheng¹, ZHOU Xin-qi², OH Seh-wook³

(1. Department of Pharmaceutical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China; 2. Focused Photonics Inc., Hangzhou 325011, China; 3. College of Medicine, Seoul National University, Seoul 122-704, Korea)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of volatile oil from three different parts of *Tiarella polyphylla* D. Don. **Methods** The chemical constituents were studied with the help of heuristic evolving latent projection (HELP) resolutions based on GC-MS. The process of HELP was described in detail, while the volatile chemical constituents from roots of *T. polyphylla* D. Don. were analyzed. Relative contents of oil constituents were computed from the total volume integration. **Results** There were 58, 37, 38 compounds identified respectively from the volatile oil of root, stem, and leaf of *T. polyphylla* D. Don., which accounted for 92.48%, 99.16%, and 93.51% respectively of the total amount of volatile oil. **Conclusion** There are significant differences in chemical constituents from different parts of *T. polyphylla* D. Don. It is more reliable and accurate to identify the chemical constituents of volatile oil by GC-MS combined with chemo-metric resolution method than by GC-MS only.

Key words: *Tiarella polyphylla* D. Don.; volatile oil; GC-MS; heuristic evolving latent projection (HELP)

黄水枝为虎耳草科植物黄水枝 *Tiarella polyphylla* D. Don. 的带根全草, 主要分布于我国中部至西南部, 性寒、味苦、无毒, 具清热解毒、活血祛瘀、消肿止痛等功效^[1], 为民间常用草药。韩国 Si

等^[2]报道了从黄水枝甲醇提取液中分离得到了 7 种齐墩果酸皂苷, 并具有良好的抗补体作用。笔者系统研究了它的各部位成分, 已报道了从全草中分离得到的 9 个黄酮类化合物^[3], 其挥发性成分研究未见报

作者简介 张晓丹(1983—), 女, 硕士研究生, 主要从事天然产物的活性成分研究, E-mail: zxd_211@yahoo.com.cn

* 通讯作者 刘向前, E-mail: lxq0001cn@163.com

道。本实验在采用 GC-MS 技术的基础上运用直观指导式演进特征投影法(HELP)研究了其化学成分,以期获得更广泛的药用价值和资源的充分利用。

1 仪器与材料

1.1 GC-MS 仪器及分析条件

1.1.1 仪器

美国安捷伦 HP 6890/5973 N 型气相色谱-质谱联用仪;GI701DA 质谱工作站;NIST107 版质谱库。

1.1.2 色谱条件

选用 DB-5 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);程序升温条件:初始温度 50℃,保持 5 min,然后以 10℃/min 的速度升至 150℃,以 2℃/min 的速度升至 230℃,以 10℃/min 的速度升至 300℃,保持 5 min。气化室温度为 280℃;载气为氦气(99.99%),体积流量 1.0 mL/min;柱前压为 53.5 kPa;进样量为 1.0 μL;分流比为 20:1。

1.1.3 质谱条件

离子源为 EI,电子能量 70 eV;离子源温度 200℃,接口温度 250℃;倍增器电压 0.9 kV;溶剂延时扫描范围 50~500 m/z。

1.2 样品来源及处理

实验所用药材黄水枝采集于云南,经韩国生命工学院 Lee Hyungkui 博士鉴定为黄水枝 *Tiarella polyphylla* D. Don. 的全草;分别筛选原药材根、茎、叶 3 个不同部位样品各 100 g,置于 2 000 mL 圆底蒸馏烧瓶中,加入 1 000 mL 蒸馏水,浸泡过夜。然后用常规水蒸气蒸馏法提取 4 h,油水再经正己烷萃取,无水硫酸钠处理后,得到淡黄色、具有特殊香气的挥发油,根、茎、叶出油率分别为 0.1%、0.15%、0.2%。

2 方法与结果

2.1 黄水枝挥发性成分定性、定量分析

按照上述的分析条件,得到了黄水枝根、茎、叶 3 种部位挥发油的总离子流图。用 Agilent 仪器工作站的质谱图库进行检索,只有符合度达到 85% 以上的检索数据才基本正确。不能直接定性的则参看其色谱图结合 HELP 方法进行解析^[4-6]。以根部为例,图 1 为其总离子流图。用 HELP 对整个二维数据进行逐段解析可知,总离子图中的许多色谱峰是重叠峰,甚至一些看似单一化合物的色谱峰也是混合组分重叠峰,说明挥发油是一个十分复杂的体系。直接从色谱库中进行检索,峰簇 A 左部为 Z,

Z-11,13-hexadecadien-1-ol acetate,相似度为 91%,但该峰簇右半部分检索结果均不相同,这说明峰簇 A 是一个重叠峰,下面以该峰簇 4 219~4 416 色谱峰段(39.05~40.50 min)保留段的色谱峰为例具体介绍 HELP 的详细解析过程。

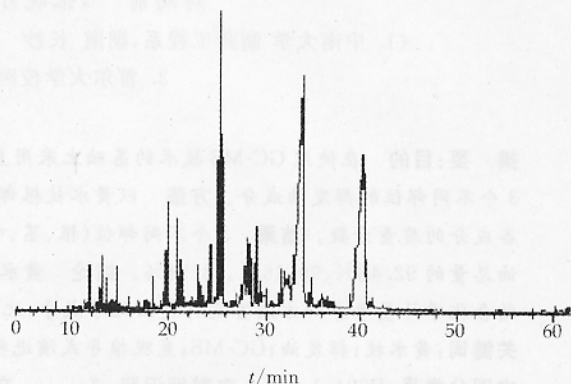


图1 黄水枝根部挥发油总离子流图

背景扣除:由于实验过程中的随机噪声和其他原因背景的存在会影响在质谱库中检索定性的准确性,首先要对二维数据图谱^[7]进行背景扣除,其方法文献^[8]中有详尽报道,扣除后能得到分子离子的信息。

确定组分和选择性区域:在此主要是利用特征跟踪示意图提供的信息来确定组分数。并估计各组分的流入点和流出点,如图 2,FSMWEFA 图显示峰中至少含有 4 个组分,按照色谱出峰的先进先出原则判定选择性区域和零浓度区,依次逐一解析后得到的纯色谱见图 3。

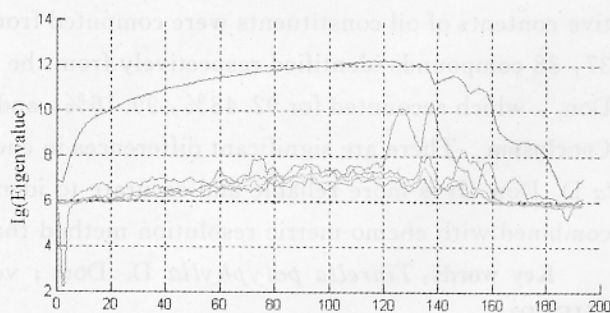


图2 黄水枝根部挥发油在 39.05~40.50 min

保留段的特征跟踪示意图

将解析得到的纯质谱图在 NIST107 版质谱库找出对应的标准质谱,得到的标准质谱和组分质谱见图 4。确定这 4 个组分是:化合物 1 NIST 编号为 74657,名称:Z,Z-11,13-hexadecadien-1-ol acetate;化合物 2 NIST 编号为 69321,名称:Z,Z,Z-9,12,15-octadecatrienoic acid, methylester;化合物 3

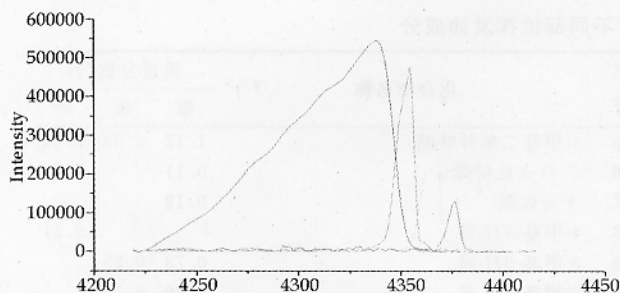
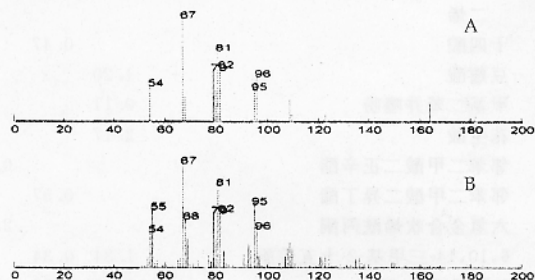
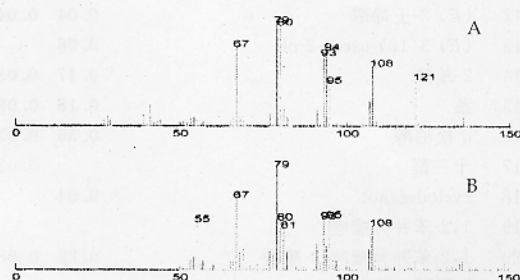


图3 解析根部挥发油在39.05~40.50 min
保留段后的纯色谱图

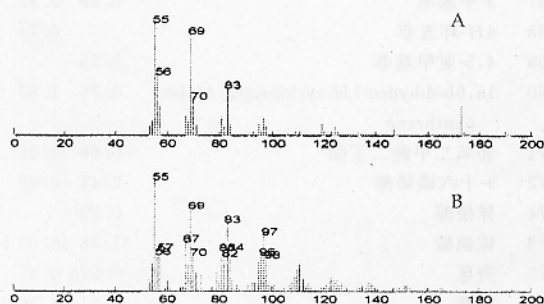
NIST 编号为 70461, 名称: 10-[2-hexylcyclopropyl]
decanic acid; 化合物 4 NIST 编号为 45995, 名称:



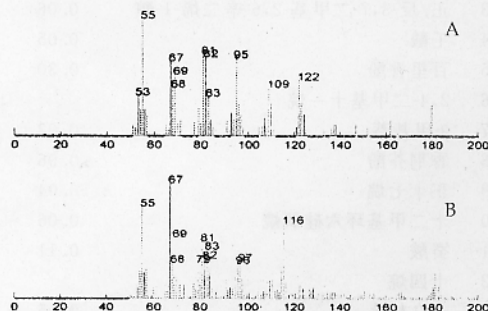
化合物 1



化合物 2



化合物 3



化合物 4

m/z

图4 化合物 1~4 的标准质谱(A)图与解析质谱(B)图

2.2 各部位挥发油成分的比较

分别从黄水枝根、茎、叶的挥发油中检测到 85、48、50 个峰, 鉴定出 58、37、38 个化合物, 分别占挥发油总量的 92.48%、99.16%、93.51%。其中主要成分以脂肪族化合物、芳香族化合物、萜类化合物为主, 3 个部位的共有成分为棕榈酸、芳樟醇、 α -松油醇、月桂酸、柏木脑、3-甲基萜等, 且以棕榈酸的量为最高。

3 结论

3.1 化学计量学分辨方法

近年来对各种单味药化学成分的 GC-MS 研究较为常见, 但多数只是用仪器自带的工作站进行质谱定性, 这对于复杂的色谱峰通常得不到准确的结果, 也

Z-9-pentadecenol, 相似度均在 90% 以上。

按照上述过程, 可对各个总离子流图中其他保留时间段的组分逐一进行解析。根据解析出的纯组分色谱曲线和质谱图, 再利用质谱库对分辨所得纯组分进行相似检索。

常规的 GC-MS 检测一般是用峰面积归一化来定量, 而且对重叠峰只能做近似处理。本实验中各组分的相对量是利用分辨得到的各组分纯色谱曲线和质谱, 采用总体积分法^[9]做的定量分析。对黄水枝 3 个不同部位的挥发油样品进行了 GC-MS 定性鉴别, 化合物名称及质量分数见表 1。

容易发生漏检。利用 GC-MS 分析法结合化学计量学分辨方法(尤其是 HELP)鉴定挥发油化学成分, 比单独使用 GC-MS 法结果更准确、可靠。

3.2 黄水枝不同部位的挥发油

黄水枝各部位挥发油成分丰富, 其主要成分涵盖了烷、烯、芳香环、酮、醚、酚、醇、醛和酯类等。根、茎、叶 3 个部位的挥发油中, 从根中鉴定出的成分最多(58 种), 茎和叶的成分种类相当(37 和 38 种)。3 种挥发油中共有成分较多且均以棕榈酸为主, 在根、茎、叶中的质量分数分别为 31.48%、48.06% 和 50.63%, 提示可以全草入药。本研究数据为进一步研究黄水枝化学成分奠定了基础。

表 1 黄水枝根、茎、叶 3 个不同部位挥发油成分

序 号	化合物名称	质量分数/%			序 号	化合物名称	质量分数/%		
		根	茎	叶			根	茎	叶
1	叔丁基环己烷	0.05			45	4-甲基二苯并呋喃	1.12	0.38	0.52
2	安息香醛	0.06	0.03		46	(-)- δ -杜松烯	0.11		
3	2-戊基呋喃	0.05			47	十三烷酸	0.12		
4	苯乙醛	0.02			48	4-甲基-9H-芴			0.41
5	d-柠檬烯			0.28	49	3-甲基-9H-芴	0.73	0.25	
6	异丁酸异戊酯			0.14	50	2-甲基-9H-芴	0.29	0.10	
7	5,7-二甲基-十一烷			0.10	51	十七烷			0.92
8	5-乙基-2-甲基-辛烷	0.03			52	1,2-二甲基-萘并[2,1-b]吡喃	0.24		
9	α -methyl- α -(4-methyl-3-pentenyl) oriranemethanol	0.15	0.06	0.50	53	二苯并噻吩			0.51
10	芳樟醇	0.36	0.26	0.98	54	反-9-十六烯醇	0.12		
11	杜烯			0.16	55	蒎	11.52	5.06	7.45
12	(E)-2-壬烯醛	0.04	0.04		56	二苯[a,e]7,8-二氮杂[2.2.2]八-2,5- 二烯	3.98	2.51	
13	(E)-3(10)-carene-2-ol	0.06			57	十四酸			0.47
14	2-萘醇	0.17	0.03		58	豆蔻酸	1.20		
15	萘	0.18	0.09		59	甲基二苯并噻吩	0.11		
16	α -松油醇	0.36	0.07	0.67	60	花生酸	2.17		
17	十三醛			0.02	61	邻苯二甲酸二正辛酯			0.97
18	cyclodecanol	0.04			62	邻苯二甲酸二异丁酯		0.57	
19	1,2-苯并异噻唑			0.22	63	六氢金合欢烯酰丙酮			2.07
20	1,2-苯并异噻唑-3-羧酸	0.22	0.08		64	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	1.34	0.34	
21	3-甲基-丁酸			0.14	65	2-羟基-环十五酮	1.96	1.53	
22	新二氢香芹醇	0.05			66	十五碳烯酸		0.58	0.29
23	正/反-3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇	0.06			67	3-甲基菲	0.98	0.41	0.35
24	壬酸	0.05		0.14	68	4H-环五菲			0.11
25	百里香酚	0.30			69	4,5-亚甲基菲	0.75		
26	2,4-二甲基十一烷			0.10	70	1a,9b-dihydro-1H-cyclopropa[1]phe- nanthrene	0.76	1.83	0.43
27	β -甲基萘	0.03			71	邻苯二甲酸二丁酯	0.66	0.38	0.69
28	香荆芥酚	0.06			72	9-十六碳烯酸	2.41	0.99	
29	正十七烷	0.04		0.25	74	异植醇	0.29		0.52
30	十二甲基环六硅氧烷	0.06		0.50	75	棕榈酸	31.48	48.06	50.63
31	癸酸	0.11			76	蒎烯	0.973	0.35	
32	十四烷			0.14	77	植醇	0.31	0.36	5.60
33	α -柏木烯	0.05	0.07		78	亚油酸			8.22
34	十一烷酸	0.09			79	反- δ -9-十八碳烯酸			1.45
35	反- β -紫罗兰酮	0.06			80	Z,Z-11,13-hexadecadien-1-ol acetate	17.54	23.07	
36	2,4-二叔丁基苯酚			0.52	81	Z,Z,Z-9,12,15-octadecatrienoic acid,methylester	2.76	6.11	3.66
37	二苯并呋喃-2-磺酸			0.17	82	Z-13-octadecenal			2.00
38	二苯并呋喃	0.36			83	R-(-)-14-甲基-8-十六-1-醇			1.17
39	十五烷			0.21	84	10-(2-己基环丙基)-1-萘癸酸	1.93		
40	二十一烷			0.37	85	Z-9-十五烯醇	0.11		
41	3-(2-甲基-丙烯基)-1H-茛	0.06			86	单硬脂酸二甘醇		0.39	0.83
42	月桂酸	0.70	0.22	0.70					
43	芴	1.42	0.54	0.56					
44	柏木脑	1.16	0.46	1.31					

参考文献

[1] 四川省中药研究所主编. 中药志 14 册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 15-20.

[2] Si H P, Sei R O, Keun Y J, *et al.* Anticomplement activity of oleanolic acid monodesmosides and bisdesmosides isolated from *Tiarella polyphylla* [J]. Arch Pharm Res, 1999, 22 (4): 428-431.

[3] 张晓丹, 刘向前, 李丽丽, 等. 黄水枝化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1886-1888.

[4] Kvalheim O M, Liang Y Z. Heuristic evolving latent projections-resolving 2-way multicomponent data. 1. Selectivity, latent-projective graph, datascope, local rank and unique resolution [J]. Anal Chem, 1992, 64(8): 936-946.

[5] Liang Y Z, Kvalheim O M, Keller H R, *et al.* Heuristic evolving latent projections-resolving 2-way multicomponent data. 2. Detection and resolution of minor constituents [J]. Anal Chem, 1992, 64(8): 946-953.

[6] Liang Y Z, Kvalheim O M, Rahmani A, *et al.* Resolution of

- strongly overlapping two-way multi-component data by means of heuristic evolving latent projections [J]. *J Chemom*, 1993, 18(7):15-43.
- [7] Wu J F, Lu X, Tang W Y, *et al.* Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry in the analysis of volatile oil of traditional Chinese medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 10(4): 199-204.
- [8] Liang Y Z, Kvalheim O M, Rahmani A, *et al.* A two-way procedure for background correction of chromatographic/spectroscopic data by congruence analysis and least-squares fit of the zero-component regions: comparison with double-centering [J]. *Chemometr Intell Lab Syst*, 1993, 18: 265-279.
- [9] 龚 范, 彭源贵, 崔 卉, 等. HELP 法在中草药分析中的应用研究 [J]. *高等学校化学学报*, 1999, 20(2): 199-203.
- (收稿日期 2009-10-19)

清醒比格犬心肌梗死超急性期缺血模型研究

王维亭, 徐向伟, 赵专友*, 何小云, 汤立达*

(天津药物研究院 天津药代与药效动力学国家重点实验室, 天津 300193)

摘要:目的 建立心肌梗死超急性期心肌缺血模型。方法 用清醒比格犬与遥控实时检测技术, 测定冠脉前降支气囊压迫狭窄后心肌缺血的电生理特征与血压变化。结果 随冠脉流量的下降, ST 段电压先出现压低(压低相), 再呈现电压幅度升高(缓抬相、急抬相), 并伴随 T 波、R 波电压不同程度地升高; ST 段、T 波、R 波电压在不同时相变化率不同, 提示其敏感性不同, 且 T 波、R 波电压在不同时相与 ST 段电压变化相关性不同; Q 波电压与时程, 以及心率(HR)、血压(BP)无明显变化。结论 采用清醒比格犬与遥控实时检测技术建立的心肌梗死超急性期缺血模型, 其特点与临床一致, 方法科学、可靠。

关键词:清醒犬; 心肌梗死; 心肌缺血; 超急性期; 动物模型

中图分类号: R965.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)01-0035-06

Ischemia model for hyperacute-phase myocardial infarction in conscious Beagle Dogs

WANG Wei-ting, XU Xiang-wei, ZHAO Zhuan-you*, HE Xiao-yun, TANG Li-da

(State Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: **Objective** To establish the ischemia model for hyperacute-phase myocardial infarction. **Methods** Conscious Beagle dogs were chosen as the experimental animals. Remote real-time detection technology was applied to measure the electrophysiological characteristics of myocardial ischemia and changes in blood pressure after anterior descending coronary artery stenosis with balloon tamponade. **Results** With the decline in coronary blood flow, voltage of ST segment was depressed firstly (depressed stage), and then elevated (slow lift stage, acute lift stage), accompanied with T and R wave voltage increasing in different degrees. The variation rates of ST, T and R-wave voltage were various in different stage, suggesting a characteristic sensitivity of electrophysiological wave. In addition, there was difference in the relevance of change between T or R-wave and ST segment in different stage. However, in this model, there was no significant change in Q-wave voltage, heart rate and blood pressure. **Conclusion** It is scientific and

基金项目 国家科技支撑计划项目(NO. 2007BAI41B02); 系列化、国际化的国家生物医药国际创新园新药研发综合性大平台建设项目(2009ZX09301-008)

作者简介 王维亭(1974—), 男, 医学硕士, 副研究员, 主要从事心脑血管药理与新药评价研究。
Tel: 022-23006858, E-mail: 23006858@163.com

* **通讯作者** 赵专友 022-23006859, zhaozy@tjipr.com
汤立达 022-23006908, tangld@tjipr.com