

厚朴炮制前后挥发油化学成分的 GC-MS 分析

林茵¹, 王麟², 张静², 袁珂^{3*}

(1 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008;

3 浙江林学院天然药物研发中心, 浙江 临安 311300)

摘要:目的 分析厚朴炮制前后的挥发油化学成分, 为其质量评价提供科学依据。方法 分别采用固相微萃取 (SPME) 法及水蒸气蒸馏 (SD) 法提取挥发油化学成分, 采用气相色谱-质谱联用技术分离鉴定化学成分, 采用峰面积归一化法测定相对质量分数。结果 采用 SPME 法从厚朴生品及炮制品中分别鉴定了 59 种和 60 种成分, 其中相对质量分数在 0.5% 以上的分别为 23 种和 22 种; 采用 SD 法从厚朴生品及炮制品中分别鉴定了 60 种和 66 种成分, 其中相对质量分数在 0.5% 以上的分别为 24 种和 12 种。结论 两种方法提取得到的挥发油成分不尽相同, 同一方法提取炮制前后的挥发油化学成分在质量分数上有所变化, 炮制后个别成分的量有所降低, 提示厚朴在炮制时要考虑尽量采用低温操作, 避免造成挥发油化学成分的散失。

关键词: 厚朴; 固相微萃取法; 水蒸气蒸馏法; GC-MS 法

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)08-1261-04

厚朴为木兰科植物厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 或凹叶厚朴 *M. officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 的干燥干皮、根皮及枝皮^[1]。载于《神农本草经》, 又名厚皮、川朴、紫油厚朴。性温, 味苦、辛, 具有燥湿消痰、下气除满的功能。生品性味峻烈, 具有抗菌、消炎、抗胃溃疡、抗氧化等作用^[2], 厚朴生用辛辣, 有“棘人喉舌”的副作用, 在临床上较少生用, 姜制后可消除对咽喉的刺激性, 同时可增强宽中和胃的作用。厚朴中的主要成分厚朴酚与和厚朴酚为联苯型木脂素类^[3], 以游离态与植物胶、树脂等脂溶性成分共存。本实验采用固相微萃取法和水蒸气蒸馏法提取厚朴生品与厚朴炮制品中的挥发油, 采用毛细管气相色谱-质谱联用技术分离鉴定其化学成分, 并采用峰面积归一化法测定各成分的质量分数, 同时分析比较两种提取技术下的不同实验结果, 为明确其中挥发油的类型及分布情况, 进一步研究其活性成分及综合开发利用这一药用资源提供参考依据。

1 实验部分

1.1 仪器与材料: Varian CP3800/1200L 气相色谱-串联质谱联用仪(美国瓦里安公司); 色谱柱: HP-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱; 手动 SPME 进样器装置(美国 Supelco 公司); 75 μm CAR/PDMS 萃取头(美国 Supelco 公司)。厚朴药材采自浙江龙泉, 经浙江林学院林业与生物技术学院遗传学科斯金平教授鉴定为木兰科植物厚朴

M. officinalis Rehd. et Wils. 的干燥树皮; 厚朴饮片采用通过正交试验优化的工艺进行炮制加工, 即将厚朴洗净, 去粗皮, 软化后切丝自然晾干。加 5% 的姜汁煮至姜汁被吸尽, 然后在 55 °C 烘箱中烘干。

1.2 方法

1.2.1 固相微萃取 (SPME): 将固相微萃取的萃取头在气相色谱的进样口上老化, 老化温度为 270 °C, 载气流量为 0.8 mL/min, 老化时间为 10 min。分别称取 1.0 g 干燥的厚朴生品及厚朴炮制品粗粉, 置于 15 mL 固相微萃取专用样品瓶中。盖上盖子 28 °C 恒温, 将 75 μm CAR/PDMS 萃取头通过瓶盖的橡皮垫插入到样品瓶中, 70 °C 下顶空萃取保持 30 min, 随后从样品瓶中拔出萃取头, 立即插入色谱仪进样口(温度 250 °C)中, 脱附 3 min, 同时启动仪器采集数据。

1.2.2 水蒸气蒸馏 (SD): 分别将切成丝的厚朴生品及厚朴炮制品 300 g 放入 1 000 mL 的圆底烧瓶中, 加入 500 mL 蒸馏水, 采用挥发油提取器, 按照《中国药典》2005 年版一部挥发油项下方法提取挥发油, 提取 5 h。由于油水分层效果不够理想, 因此收集馏出液用乙醚萃取。将萃取液用无水硫酸钠干燥后回收乙醚得挥发油。挥发油为淡黄色油状液体, 具有浓郁香味。

1.2.3 气相色谱条件: 色谱柱为 HP-5 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 弹性石英毛细管柱; 升温程序: 初始温度 45 °C, 保持 2 min, 然后以 10 °C/min 的速

* 收稿日期: 2009-10-30

基金项目: 浙江省科技厅重点科技攻关项目(2007C23024)

* 通讯作者 袁珂 Tel: (0571) 63743607 E-mail: yuan_ke001@163.com

度升至 250 ℃并保持 30 min; 进样口温度 250 ℃, 汽化室温度 250 ℃; 载气为氦气(He), 体积流量 0.8 mL/min; 不分流进样。

1.2.4 质谱条件: 电子轰击(EI)离子源; 电离能量 70 eV, 离子源温度 200 ℃, 检测器电压 350 V, 扫描质量范围 m/z : 33~450; 扫描速度 0.5 s; 检索的图谱数据库为 Willey 和 NIST 标准质谱图库。

2 结果与讨论

2.1 鉴定结果: 采用 HP-5 弹性石英毛细管柱, 分别取固相微萃取法和气态蒸馏法提取的挥发油

0.2 μL, 用气相色谱-质谱联用仪进行分析鉴定。化合物的定量采用面积归一化法, 使用 Hewlett-Packard 软件处理系统计算各峰面积^[4], 以测得挥发油各组分的相对质量分数; 按照上述 GC-MS 条件对厚朴生品与厚朴炮制品挥发油化学成分进行分析, 得其总离子流图。对总离子流图中的各峰经过质谱扫描后, 通过质谱数据系统(NIST 和 Willey 标准图谱数据库)检索对照^[5], 并查阅有关质谱资料^[6]结合人工解析, 鉴定出厚朴生品与厚朴炮制品中的挥发油化学成分, 结果见表 1 和表 2。

表 1 厚朴生品及炮制品中挥发油化学成分分析结果(固相微萃取)

Table 1 Analysis on chemical constituents of essential oil in raw *Magnoliae Officinalis Cortex* and processed ones by SPME

序号	保留时间/min	化合物名称	质量分数/%		序号	保留时间/min	化合物名称	质量分数/%	
			生品	炮制品				生品	炮制品
1	2.65	2-羟基-2-甲基丙腈	0.52	0.61	19	17.42	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-[(1-亚甲基)-(1 α ,4 α ,8 α)-萘	2.49	1.08
2	2.85	丙烯醛	0.93	0.88	20	17.89	十氢-4a-甲基-1-亚甲基-7-(1-甲基乙烯基)-[4aR-(4 α ,7 α ,8 α)]-萘	12.56	7.56
3	3.30	4-羟基-2-丁酮	3.10	2.47	21	17.95	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-4a,8-二甲基-2-(1-甲基乙烯基)-[2R-(2 α ,4 α ,8 α)]-萘	5.75	3.72
4	5.44	(1R)- α -蒎烯	1.09	—	22	18.22	1,2,4a,5,8,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-异丙基)-[1S-(1 α ,4 α ,8 α)]-萘	1.04	0.60
5	6.36	樟脑萜	1.00	—	23	20.81	石竹烯氧化物	0.55	—
6	6.82	正己醛	4.99	3.10	24	22.56	愈创木醇	3.20	3.60
7	8.94	α -月桂烯	0.50	5.53	25	22.66	沉香螺醇	1.40	1.71
8	9.91	异柠檬烯	14.21	38.58	26	23.22	十氢- α , β ,4a-三甲基-8-亚甲基-[2R-(2 α ,4 α ,8 α)]-2-萘甲醇	5.93	6.89
9	10.70	1-甲基-4-异丙基-1,4-环己二烯	—	1.38					
10	10.82	α -蒎烯	—	1.26					
11	11.18	1-甲基-3-异丙基苯	—	2.88					
12	11.21	1,3,8-对-薄荷三烯	12.89	—					
13	13.97	1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)-苯	0.53	0.55					
14	14.86	胡椒烯	4.83	1.70					
15	15.50	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇	1.63	0.50					
16	16.05	乙酸冰片酯	1.30	0.76					
17	16.29	丁香烯	3.63	0.72					
18	17.26	2-异丙基-4a,8-二甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘	2.95	1.11					

— 质量分数在 0.5% 以下的组分未列出(表 2 同)

— relative content under 0.5% was not listed (Table 2 is same)

表 2 厚朴生品及炮制品中挥发油化学成分分析结果(水蒸气蒸馏)

Table 2 Analysis on chemical constituents of essential oil in raw *Magnoliae Officinalis Cortex* and processed ones by SD

序号	保留时间/min	化合物名称	质量分数/%		序号	保留时间/min	化合物名称	质量分数/%	
			生品	炮制品				生品	炮制品
1	2.63	2-丙氧基乙醇	1.02	—	15	18.31	4a,8-二甲基-2-(1-甲基乙烯基)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢化萘	3.05	0.52
2	3.09	2,4,5-三甲基-1,3-二氧茂烷	12.74	—	16	18.39	α -芹子烯	1.61	0.65
3	3.93	甲苯	1.62	—	17	19.37	1,6-二甲基-4-异丙基-1,2,3,4-四氢化萘	0.79	—
4	4.37	3-乙氧基-2-丁酮	0.60	—	18	21.20	1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢- α , α ,4a,8-四甲基-2-萘甲基	2.61	9.80
5	5.20	2-乙酰基-1,3-二氧茂烷	18.44	19.72	19	21.31	1,2,3,4,5,6,7,8-八氢- α , α -3,8-四甲基-5-萘甲醇	—	3.81
6	5.33	2,3-丁二醇	2.16	—	20	21.35	苍术醇	0.50	0.92
7	5.89	邻二甲苯	1.05	—	21	21.70	α -桉叶醇	9.10	26.34
8	6.17	4-羟基-4-甲基-2-戊酮	1.37	—	22	21.79	十氢化萘-2-萘甲醇	15.86	25.32
9	7.00	草酸二乙酯	1.02	—	23	24.62	棕榈酸	0.51	1.35
10	8.13	α -过氧化氢-乙醚	11.79	1.88	24	27.10	9,12-十八二烯酸甲酯	0.72	0.76
11	11.03	2-甲氧基乙酸乙酯	2.79	—	25	30.04	厚朴酚	0.60	1.14
12	12.62	3-甲基-2-丁醇	1.03	—					
13	16.10	4-烯丙基苯酚	0.85	—					
14	17.94	2-异丙基-4A,8-二甲基-1,2,3,4,4A,5,6,7-八氢化萘	0.53	—					

由表1可以看出,采用固相微萃取法提取厚朴生品与炮制品中的挥发油,从厚朴生品中共分离鉴定出59个成分,所鉴定的组分占总峰面积的96.21%,其中相对质量分数在0.5%以上的共23种;从厚朴炮制品中共分离鉴定出60个成分,所鉴定的组分占总峰面积的93.78%,其中相对质量分数在0.5%以上的共22种。厚朴生品中量较高的成分为异柠檬烯(14.21%)、1,3,8-对-薄荷三烯(12.89%)、十氢-4 α -甲基-1-亚甲基-7-(1-甲基乙烯基)-[4aR-(4a Δ , 7 Δ , 8a Δ)]-萜(12.56%)、十氢- Δ , Δ , 24 α -三甲基-8-亚甲基-[2R-(2 Δ , 4a Δ , 8a Δ)]-2-萜甲醇(5.93%)、1,2,3,4,4a,5,6,8 α -八氢-4a,8-二甲基-2-(1-甲基乙烯基)-[2R-(2 Δ , 4a Δ , 8a Δ)]-萜(5.75%)、正己醛(4.99%)、胡椒烯(4.83%)、丁香烯(3.63%)、愈创木醇(3.20%)、4-羟基-2-丁酮(3.10%);厚朴炮制品中量较高的成分为异柠檬烯(38.58%)、十氢-4 α -甲基-1-亚甲基-7-(1-甲基乙烯基)-[4aR-(4a Δ , 7 Δ , 8a Δ)]-萜(7.56%)、十氢- Δ , Δ , 4 α -三甲基-8-亚甲基-[2R-(2 Δ , 4a Δ , 8a Δ)]-2-萜甲醇(6.89%)、 α -月桂烯(5.53%)、1,2,3,4,4a,5,6,8 α -八氢-4a,8-二甲基-2-(1-甲基乙烯基)-[2R-(2 Δ , 4a Δ , 8a Δ)]-萜(3.72%)、愈创木醇(3.60%)、正己醛(3.10%)。

由表2可以看出,采用水蒸气蒸馏法提取厚朴生品与炮制品中的挥发油,从厚朴生品中共分离鉴定出60个成分,所鉴定的组分占总峰面积的94.15%,其中相对质量分数在0.5%以上的共24种;从厚朴炮制品中共分离鉴定出66个成分,所鉴定的组分占总峰面积的96.52%,其中相对质量分数在0.5%以上的共12种。厚朴生品中量较高的成分为2-乙酰基-1,3-二氧茂烷(18.44%)、十氢化萜-2-萜甲醇(15.86%);2,4,5-三甲基-1,3-二氧茂烷(12.74%)、 α -桉叶醇(9.10%)、DL-甲基羟基丙二酸(8.98%);厚朴炮制品中量较高的成分为 α -桉叶醇(26.34%)、十氢化萜-2-萜甲醇(25.32%)、2-乙酰基-1,3-二氧茂烷(9.80%)、1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢- α , α , 4a,8-四甲基-2-萜甲醇(9.59%)、1,2,3,4,5,6,7,8-八氢- α , α , 3,8-四甲基-5-萜甲醇(3.81%)。

2.2 讨论:经GC-MS分析结果可以看出,无论采用哪种方法萃取,凡相同方法萃取厚朴生品及炮制品中的挥发油化学成分,其成分类型基本上是一致的,仅在质量分数上有所差别。实验结果还发现,两种不同的萃取方法萃取出的挥发油化学成分的种类

差别较大,如采用SD法能提取出少量的厚朴酚,而SPME法则没有;而采用SPME法能提取出大量的 α -桉叶醇,而SD法则没有。这种差别主要是由于萃取方法的萃取原理不同,顶空固相微萃取的萃取头所用的涂层的性质和萃取出的化合物的类型有很大的关系。

比较厚朴生品与炮制品中的挥发油化学成分,尤其是采用水蒸气蒸馏法提取的挥发油成分,发现虽然炮制前后挥发油化学成分的类型基本一致,但炮制品与生品相比,前者所含挥发油成分的数量及相对质量分数明显下降,这一实验结果提示厚朴在采用姜煮法进行加工炮制过程中有可能由于温度过高导致其中部分挥发油成分的破坏或散失,需要在以后的炮制加工中引起关注。

在SPME的应用中,涂层的性质要和被分析物的性质相匹配,选用的固定相涂层首先要对有机分子有较强的萃取富集能力,使分析物在涂层中有较快的扩散速度,并在热解析时能迅速脱离固定相涂层,而不会造成峰的扩宽。同时,由于分析物在高温下易于解吸,因此针对不同的分析物可选择多种涂层,以适应各种需要。

在进行SPME取样时,对多种萃取头做了筛选。包括100 μ m 聚二甲基硅烷,85 μ m 聚丙烯酸酯,65 μ m 聚乙二醇二乙烯基苯和75 μ m 聚二甲基硅烷固相微萃取头。经实验证实75 μ m 聚二甲基硅烷固相微萃取头萃取效果最好,本次实验选择了75 μ m CAR/PDMS 萃取头,极性挥发性化合物通常选用此萃取头。

通过对固相微萃取技术和传统水蒸气蒸馏法的比较发现,传统的水蒸气蒸馏法需要用大量的样品(100~1000 g),并耗时5~8 h。而SPME使样品预处理过程大为简化,提高了分析速度和灵敏度。具有操作时间短,样品用量小,无需萃取溶剂,适于分析挥发性物质,重现性好等优点,目前固相微萃取已经广泛地应用于环境、生物、食品分析^[7-9]和中药挥发油领域中^[10-11]。由于不同萃取方法得到的挥发油化学成分在类型及量上有所区别,因此,要想了解清楚厚朴炮制前后的挥发油化学成分,以对其进行合理的质量评价,还需结合两种萃取方法进行综合分析。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005
- [2] 李杰萍,梁统,周克元,等.厚朴酚对趋化三肽激活的大鼠中性粒细胞功能的影响[J].中国药科大学学报,2003,

- 34(3): 260-263
- [3] 王立青, 江荣高, 陈惠芳. 厚朴酚与和厚朴酚药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(10): 1591-1594
- [4] 张捷莉, 闫磊, 李铁纯, 等. 葡萄籽中挥发性成分的气相色谱-质谱分析 [J]. 质谱学报, 2005, 26(2): 99-100
- [5] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用 [M]. 北京: 科学出版社, 1987
- [6] 中国质谱学会有机专业委员会. 香料质谱图集 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1992
- [7] Mills G A, Walker V. Headspace solid-phase microextraction procedures for gas chromatographic analysis of biologic fluids and materials [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 902(1): 267-287
- [8] Ulrich S. Solid-phase microextraction in biomedical analysis [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 902(1): 167-194
- [9] Chafer-Pericas C, Campins-Falco P, Herraez-Hernandez R. Application of solid-phase microextraction combined with derivatization to the determination of amphetamines by liquid chromatography [J]. *Anal Biochem*, 2004, 333(2): 328-335
- [10] Deng C H, Song G X, Hu Y M, *et al*. Analysis of the volatile constituents of *Schisandra chinensis* (Turz.) bail by gas chromatography-mass spectrometry, using headspace solid-phase microextraction [J]. *Chromatographia*, 2003, 58(5-6): 289-294
- [11] Deng C H, Song G X, Zheng X H, *et al*. Analysis of the volatile constituents of *Apium graveolens* L. and *Oenanthe* L. by gas chromatography-mass spectrometry, using headspace solid-phase microextraction [J]. *Chromatographia*, 2003, 57(11-12): 805-809.

GC-MS 法对湖南产玉竹挥发油成分的分析研究

竺平晖, 陈爱萍*

(舟山市普陀区人民医院, 浙江 舟山 316100)

摘要: 目的 用 GC-MS 法分析湖南产玉竹挥发油的化学成分, 为该地玉竹的进一步开发提供基础依据。方法 采用水蒸气蒸馏法从玉竹中提取挥发油, 用峰面积归一法测定样品中各化学成分的质量分数, 并用气相色谱-质谱法对其进行鉴定。结果 通过玉竹挥发油的化学成分研究, 其 25 个峰对应的化学成分已经做了鉴定或结构推测, 占总出峰面积的 86.39%。在湖南产玉竹的挥发油成分中, 主要为酸类化合物、烯酸类化合物、醇类、烯类、醛类。其中质量分数较大的有: 十六酸(1)、9, 12-二烯十八酸(2)、雪松醇(3)、(*E*)-9-烯基十八酸(4)、正己醛(5)。结论 化合物 1~5 均为首次从玉竹中分离得到。

关键词: 玉竹; 挥发油; GC-MS

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)08-1264-02

玉竹为百合科植物玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce 的干燥根茎, 性平、味甘, 具养阴润燥、生津止渴之功效。用于肺胃阴伤, 燥热咳嗽, 咽干口渴, 内热消渴^[1]。药理学研究表明玉竹具有强心、扩张血管、降血压、降血糖、调血脂和加强免疫功能的作用^[2-4]。玉竹根茎中主要含有挥发油、甾体皂苷、多糖、黄酮及其糖苷以及多种蒽醌类化合物^[2, 5-6]。本实验采用 GC-MS 法研究提取得到的玉竹挥发油的主要成分, 根据理化常数和波谱分析, 得出在湖南产玉竹的挥发性成分中, 主要为酸类化合物、烯酸类化合物、醇类、烯类、醛类。其中量较高的有: 十六酸(1)、9, 12-二烯十八酸(2)、雪松醇(3)、(*E*)-9-烯基十八酸(4)、正己醛(5)。化合物 1~5 均为首次从玉竹中分离得到。本实验对湖南产玉竹开

展分析研究, 对进一步开发利用玉竹挥发油资源, 挖掘其用途, 确定其科学合理的制备技术提供理论依据。

1 材料与试药

TGL-16G 台式高速离心机(湖南星科科学仪器有限公司); AR3130 电子天平(OHAUS COPR Florham NJ 美国); FZ102 微型植物试样粉碎机(黄骅市齐家科学仪器); GCMS-QP2010 气相色谱质谱联用仪(日本岛津)。所用试剂均为分析纯。玉竹购于湖南邵东县玉竹生产基地, 由彭盼希鉴定。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取: 将玉竹粉碎, 过二目筛。取 100 g 玉竹粉末置于 2 000 mL 烧瓶中, 加入 1 000 mL 二次蒸馏水, 用挥发油提取器提取 6 h, 馏出液

* 收稿日期: 2010-01-20