

贵州两产地石楠藤中挥发油的GC-MS分析^Δ

吴莲花^{1*}, 孙庆文¹, 徐文芬^{1#}, 何顺志¹, 王道平²(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550002)

中图分类号 R284.1; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0249-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.20

摘要 目的: 分析贵州贵阳相思河与赤水桫欏所产石楠藤中挥发油成分并进行比较。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取石楠藤中挥发油, 气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术测定挥发油成分, 面积归一化法计算各成分的相对质量分数。结果: 从贵阳相思河产石楠藤中共分离出61种成分, 已鉴定54种, 其相对质量分数占挥发油总量的77.48%; 质量分数较高的成分有双环大牻牛儿烯(8.846%)、 α -律草烯(6.230%)、 δ -葑烯(5.410%)。从赤水桫欏石楠藤中共分离出58种成分, 已全部鉴定; 质量分数较高的成分有 β -细辛醚(24.352%)、双环大牻牛儿烯(9.979%)、 β -石竹烯(7.630%)。两者共有成分45种, 均含有较多的萜类、醇类, 但其相对质量分数有较大差异。结论: 石楠藤中挥发油成分的差异与其产地、生长环境密切相关。本试验结果可为进一步开发利用石楠藤资源提供理论依据。

关键词 石楠藤; 挥发油; 气相色谱-质谱联用技术; 产地

Analysis of Volatile Oil of *Piper wallichii* from 2 Producing Areas of Guizhou Province by GC-MS

WU Lian-hua¹, SUN Qing-wen¹, XU Wen-fen¹, HE Shun-zhi¹, WANG Dao-ping²(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 2. Guizhou Key Laboratory of Chemistry for Natural Products, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze and compare the volatile oil of *Piper wallichii* from Guiyang Xiangsihe and Chishui Suoluo. METHODS: The volatile oil was extracted from *P. wallichii* by steam distillation and the chemical components of them were identified by GC-MS and relative content of the components were calculated with normalization method. RESULTS: 61 compounds were extracted from *P. wallichii* in Xiangsihe of Guiyang, among which 54 compounds were identified, and the relative content accounted for 77.48% of the total volatile oil; the high content of components were bicyclogermacrene (8.846%), α -humulene (6.230%) and δ -cadinene (5.410%). 58 compounds were extracted and had identified from *P. wallichii* in Chishui Suoluo. The high content of components were β -Asarone (24.352%), bicyclogermacrene (9.979%) and β -caryophyllene (7.630%). 45 compounds were common in both, and usually contained plenty of terpenoid and alcohols, but there was great difference of relative content. CONCLUSION: The difference of volatile oil from *P. wallichii* is closely correlated to producing area and growing environment. The results of the studies can provide reference for further study and development of *P. wallichii* resources.

KEY WORDS *Piper wallichii*; Volatile oil; GC-MS; Producing area

石楠藤为胡椒科胡椒属植物石楠藤 *Piper wallichii* (Miq.) Hand.-Mazz. 的干燥带叶藤茎或全株, 是《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003版)收载品种, 具有祛风湿、强腰膝、补肾壮阳、止咳平喘、活血止痛的功效, 主治风寒湿痹、腰膝酸痛、痛经、阳痿、咳嗽气喘等, 为贵州少数民族常用药。石楠藤在我国甘肃南部、湖北、湖南、广西、四川、贵州、云南等地均有分布。

笔者前期野外调查发现, 贵州贵阳相思河和赤水桫欏石楠藤的产量较大, 且在民间应用较广。石楠藤中含有挥发油、玉兰脂B、山蒯素D、海风藤酮、南蒯素、山蒯素C、山蒯素B等成分^[1]。其药理研究表明, 石楠藤中的海风藤酮具有明显抑制血小板活化因子(PAF)诱导的血小板聚集作用^[2]。虽然文献曾报道贵阳花溪产石楠藤中挥发油的测定结果, 但是中药材的质

量与生长环境存在密切关系^[3], 中药材的化学成分为次生代谢产物, 受温度、光照、气候等生长环境因素影响较大。故本试验对在相同时间采收的贵阳相思河产和赤水桫欏产的石楠藤, 采用水蒸气蒸馏法提取其挥发油, 再采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术进行成分分析及其相对质量分数测定, 旨在为进一步开发利用石楠藤药材资源提供理论依据。

1 材料

HP6890/5975C GC-MS联用仪(美国安捷伦公司); 电热套(山东鄞城华鲁仪器公司)。

石楠藤药材为笔者于2011年5月采自贵阳相思河和赤水桫欏, 由贵阳中医学院何顺志教授鉴定来源为胡椒科胡椒属植物石楠藤 *P. wallichii* (Miq.) Hand.-Mazz., 阴干, 备用。

正己烷、无水硫酸钠均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取

取石楠藤药材粗粉50 g, 置于2 L圆底烧瓶中, 加入750 ml蒸馏水浸泡30 min, 用挥发油提取器按文献^[4]方法(甲法)提取, 直至挥发油量不再增加为止, 分别得到相思河产石楠藤的挥发油0.41 ml(收率为0.82%)、赤水桫欏产石楠藤的挥发油0.39 ml(收率为0.78%), 均为具有特殊气味的黄色油状物。将

^Δ 基金项目: 贵州省科学技术基金项目(黔科合J字[2010]2211号); 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(No. QZY2010-14); 贵阳市科技计划项目(筑科合同[2011201]大-3号)

* 硕士研究生。研究方向: 中药质量控制与新药研发。E-mail: wulianhualove@163.com

通信作者: 教授。研究方向: 中药质量控制。E-mail: wenfenxu@126.com

提取的挥发油用无水硫酸钠干燥,放入冰箱中,备用。

2.2 挥发油的测定条件

2.2.1 GC条件 色谱柱:AB-5MS 5%苯基-95%二甲聚硅氧烷弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);程序升温:初始温度为45℃,保留2 min,以5℃/min升温至290℃,保留2 min;汽化室温度:250℃;载气:高纯氦气(99.999%);柱前压:7.62 psi;载气流量:1.0 ml/min;进样量:1 μl(乙醚溶液);分流比:20:1;溶剂延迟时间:3 min。

2.2.2 MS条件 离子源:电轰击电离(EI)源;离子源温度:230℃;四极杆温度:150℃;电子能量:70 eV;倍增器电压:1 125 V;接口温度:280℃;质量扫描范围(*m/z*):20~450 amu。

2.3 GC-MS分析

将两产地所产石楠藤提取的挥发油按“2.2”项下测定条件进行GC-MS分析,得到的总离子流图分别见图1、图2。所得MS信息经计算机用NIST05和wiley275数据库检索并与标准图谱对照分析,确认了其中大部分化学成分;再采用面积归一化法确定各组分的相对质量分数,结果见表1。

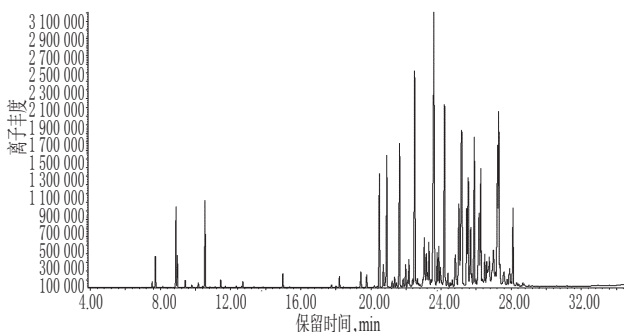


图1 贵阳相思河产石楠藤的挥发油总离子流图

Fig 1 TIC of volatile oil from *P. wallichii* in Guiyang Xiangsihe

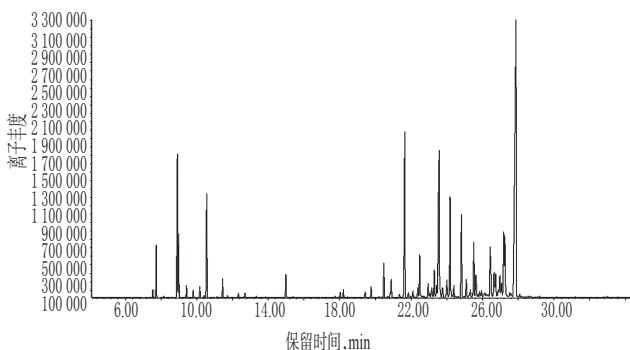


图2 赤水杪楞产石楠藤的挥发油总离子流图

Fig 2 TIC of volatile oil from *P. wallichii* in Chishui Suoluo

通过对贵州两产地石楠藤药材的挥发油分析可知,从贵阳相思河产石楠藤中分离出61种组分,鉴定了其中54种,其相对质量分数占挥发油总量的77.48%;质量分数较高的成分有双环大牻牛儿烯(8.846%)、 α -律草烯(6.230%)、 δ -葑澄茄烯(5.410%)。从赤水杪楞产石楠藤中分离出58种组分并全部鉴定,质量分数较高的成分有 β -细辛醚(24.352%)、双环大牻牛儿烯(9.979%)、 β -石竹烯(7.630%)。两产地石楠藤的共有成分有45种,主要有 α -崖柏烯、 α -蒎烯、苜烯、香桉烯、 β -蒎烯等。

3 讨论

笔者分别考察了3种料液比(1:10、1:15、1:30, *m/V*)对挥发油提取率的影响。结果表明,随着溶剂用量的增加,挥发油的提取率逐渐升高,但料液比增加至1:30(*m/V*)以后,其挥发

表1 石楠藤挥发油的化学成分及其相对质量分数

Tab 1 Chemical constituents of volatile oil from *P. wallichii* and relative content

| 编号 | 化学成分 | 化学结构式 | 分子量 | 相对质量分数(相思河),% | 相对质量分数(赤水),% |
|----|---|--|-----|---------------|--------------|
| 1 | α -Thujene α -崖柏烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.122 | 0.277 |
| 2 | α -Pinene α -蒎烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.623 | 1.815 |
| 3 | Camphene 苜烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.021 | 0.049 |
| 4 | Sabinene 香桉烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1.706 | 5.752 |
| 5 | β -Pineene β -蒎烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.638 | 2.113 |
| 6 | Myrcene 香叶烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.154 | 0.431 |
| 7 | α -Phellandrene α -水芹烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.048 | 0.267 |
| 8 | α -Terpinene α -松油烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.096 | 0.398 |
| 9 | <i>p</i> -Cymene 对伞花烃 | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 0.035 | 0.09 |
| 10 | β -Terpinene β -松油烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1.952 | 4.297 |
| 11 | (<i>E</i>)- β -Ocimene 反式- β -罗勒烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.022 | 0.048 |
| 12 | γ -Terpinene γ -松油烯 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0.164 | 0.671 |
| 13 | (<i>Z</i>)-Sabinene hydrate 顺式-水合香桉烯 | C ₁₀ H ₁₆ O | 154 | 0.035 | 0.072 |
| 14 | (<i>E</i>)-Sabinene hydrate 反式-水合香桉烯 | C ₁₀ H ₁₆ O | 154 | 0.024 | 0.039 |
| 15 | Linalool L 芳樟醇L | C ₁₀ H ₁₆ O | 154 | 0.133 | 0.179 |
| 16 | Terpinen-4-ol 松油烯-4-ol | C ₁₀ H ₁₆ O | 154 | 0.319 | 0.942 |
| 17 | α -Terpineol α -松油醇 | C ₁₀ H ₁₆ O | 154 | - | 0.057 |
| 18 | (-)-Bornyl acetate (-)-乙酸龙脑酯 | C ₁₅ H ₂₄ O ₂ | 196 | 0.038 | 0.226 |
| 19 | 2-Undecanone 甲基正壬酮 | C ₁₁ H ₂₀ O | 170 | 0.254 | 0.302 |
| 20 | δ -Elemene δ -榄香烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.439 | 0.264 |
| 21 | α -Cubebene α -毕拔烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.296 | 0.432 |
| 22 | Cycloisotavene 环异酒蒎烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.038 | 0.043 |
| 23 | α -Copaene α -古巴烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 2.692 | 1.373 |
| 24 | β -Bourbonene β -波旁老鹤草烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.612 | 0.072 |
| 25 | β -Elemene β -榄香烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 3.272 | 0.747 |
| 26 | Zingiberene 姜烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.137 | - |
| 27 | α -Gurjunene α -古芸烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.252 | 0.156 |
| 28 | α -Bergamotene α -香柠檬烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.117 | 0.021 |
| 29 | β -Caryophyllene β -石竹烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 3.892 | 7.630 |
| 30 | β -Cubebene β -毕拔烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.192 | 0.214 |
| 31 | (+)-Aromadendrene (+)-香澄烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.128 | 0.286 |
| 32 | β -Sesquiphellandrene β -倍半水芹烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.720 | 0.035 |
| 33 | α -Humulene α -律草烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 6.230 | 1.734 |
| 34 | Alloaromadendrene 别香澄烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.152 | - |
| 35 | α -Amorphene α -桉烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 1.790 | 0.149 |
| 36 | Germacrene D 大根香叶烯D | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.925 | 0.374 |
| 37 | (<i>E</i>)- β -Farnesene 反式- β -法尼烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.342 | - |
| 38 | β -Selinene β -芹子烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 1.259 | 1.247 |
| 39 | Bicyclogermacrene 双环大牻牛儿烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 8.846 | 9.979 |
| 40 | Bicyclosesquiphellandrene 双环倍半水芹烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | - | 0.584 |
| 41 | α -Murolene α -衣兰油烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.838 | 0.464 |
| 42 | β -Bisabolene β -没药烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 1.004 | 0.560 |
| 43 | γ -Cadinenene γ -杜松烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.451 | 0.961 |
| 44 | δ -Cadinenene δ -葑澄茄烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 5.410 | 4.371 |
| 45 | Cadina-1,4-diene 1,4- β -葑澄茄二烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.457 | 0.484 |
| 46 | α -Calacorene α -白菖烯 | C ₁₅ H ₂₄ | 204 | 0.201 | - |
| 47 | Elemol 橄榄醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 1.304 | 3.727 |
| 48 | 未定 | | 220 | 3.009 | - |
| 49 | 未定 | | 220 | 2.794 | - |
| 50 | 未定 | | 220 | 4.214 | - |
| 51 | 未定 | | 202 | 2.117 | - |
| 52 | Nerolidol 澄花椒醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | - | 0.787 |
| 53 | Elemicin 苯基丙烯 | C ₁₅ H ₁₆ O ₃ | 208 | - | 0.339 |
| 54 | (+)-Spathulenol (+)-匙叶桉油烯醇 | C ₁₅ H ₂₄ O | 220 | 3.476 | 2.503 |

芪葛通络丸的质量标准研究^Δ

张 飞*, 陈随清#, 王红霞, 孙孝亚, 季 琳(河南中医学院, 郑州 450008)

中图分类号 R283.64;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0251-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.21

摘 要 目的:建立芪葛通络丸的质量标准。方法:采用显微鉴别法对方中羌活、粉葛、天麻、地龙、桂枝、延胡索和僵蚕进行显微鉴别;采用薄层色谱(TLC)法对方中秦艽、羌活、川芎、粉葛进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定龙胆苦苷的含量。结果:显微鉴别法专属性强;TLC斑点清晰、分离度好;龙胆苦苷进样量在48.45~193.80 μg范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 9$),平均加样回收率为102.27%,RSD=1.80%($n=6$)。结论:所建标准可用于芪葛通络丸的质量控制。

关键词 芪葛通络丸;质量标准;显微鉴别法;薄层色谱法;高效液相色谱法;龙胆苦苷

Quality Standard of Qige Tongluo Pills

ZHANG Fei, CHEN Sui-qing, WANG Hong-xia, SUN Xiao-ya, JI Lin (Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Qige tongluo pills. METHODS: Notopterygh Rhizoma et Radix, *Pueraria thomsonii*, *Gastrodia elata*, Pheretima, *Cinnamomum cassia*, *Corydalis yanhusuo*, Bombyx Batryticatus in the prescription were identified under microscope; Notopterygi Rhizoma et Radix, Gentianae Macrophyllae Radix, *Ligusticum chuanxiong* and *P. thomsonii* were identified by TLC; HPLC method was established to determine the content of gentiopierin. RESULTS: The chromatograms of microscope were strong specificity and TLC spots were clear and well-separated; the linear range of gentiopierin was 48.45-193.80 μg ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 102.27% (RSD=1.80%, $n=6$). CONCLUSION: The standard can be used for quality control of Qige tongluo pills.

KEY WORDS Qige tongluo pills; Quality standard; Microscopic identification; TLC; HPLC; Gentiopierin

续表 1

Continued tab 1

| 编号 | 化学成分 | 化学结构式 | 分子量 | 相对质量分数 (相思河),% | 相对质量分数 (赤水),% |
|----|--------------------------------|--|-----|-------------------|------------------|
| 55 | Globulol 兰桉醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 1.418 | 0.488 |
| 56 | Viridiflorol 绿花醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 4.463 | 0.246 |
| 57 | 未定 | | | 2.792 | - |
| 58 | 未定 | | | 3.161 | - |
| 59 | lo-epi-γ-Eudesmol lo-epi-γ-桉叶醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 0.922 | - |
| 60 | α-Tumerone α-姜黄酮 | C ₁₅ H ₂₆ O | 218 | 0.676 | - |
| 61 | β-Eudesmol β-桉叶醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 5.249 | 3.357 |
| 62 | l-Murolol 碎花化合物 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 4.563 | - |
| 63 | Levomenol 没药醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 0.233 | - |
| 64 | (-)-Anymol (-)-红没药醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | 0.460 | - |
| 65 | 未定 | | | 2.228 | - |
| 66 | Guaiol 愈创木醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | - | 0.267 |
| 67 | (E)-Asarone 反式-细辛醚 | C ₁₂ H ₁₆ O ₂ | 208 | - | 3.077 |
| 68 | γ-Eudesmol γ-桉叶醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | - | 1.063 |
| 69 | Isospathulenol 异匙叶桉油烯醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 220 | - | 0.375 |
| 70 | α-Eudesmol α-桉叶醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 220 | - | 2.651 |
| 71 | Bulnesol 异愈创木醇 | C ₁₅ H ₂₆ O | 222 | - | 0.138 |
| 72 | β-Asarone β-细辛醚 | C ₁₂ H ₁₆ O ₂ | 208 | - | 24.352 |
| 73 | Asaronaldehyde 细辛醛 | C ₁₀ H ₁₂ O ₄ | 196 | - | 0.058 |

Δ 基金项目:河南省科技创新人才计划资助项目(No.114200510014)

* 硕士研究生。研究方向:中药品种整理与质量标准。电话:0371-65676686。E-mail: zhangfei200005@163.com

通信作者:教授。研究方向:中药品种整理与质量标准。E-mail: suiqingchen@sohu.com

油提取率反而下降,故选择料液比为1:15(m/V)。

从本试验结果可知,虽然两产地所产石楠藤的部分挥发油成分相似,其中有45个化合物为共有成分,均含有较多的萜类、醇类,但其相对质量分数却有较大差异,如:α-蒎烯(相思河为0.623%、赤水为1.815%)、香桉烯(相思河为1.706%、赤水为5.752%)、绿花醇(相思河为4.463%、赤水为0.246%)、β-桉叶醇(相思河为5.249%、赤水为3.357%)等,说明其相对质量分数差异与其生长环境有密切关系。

与文献^[3]相比较,本试验测定的两产地石楠藤挥发油中相对质量分数较高的成分双环大牻牛儿烯、δ-葑烯、α-蒎烯与(+)-匙叶桉油烯醇等,在文献^[3]的样品中均未检出;而文献^[3]的样品中相对质量分数较高的成分β-丁香烯、4-松油醇、二环大根香叶烯等在本试验样品中亦均未检出。

综上所述,石楠藤药材化学成分的差异与其产地、生长环境及采集时间等因素有关;化学成分及其质量分数的不同,所显示的药效可能有所不同,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 段书涛,张 鹏,俞培忠.石楠藤中木脂素和新木脂素成分的研究[J].中国中药杂志,2010,35(2):180.
- [2] 韩桂秋,黄 葵,魏丽华,等.石楠藤PAF受体拮抗剂活性成分的分离和鉴定: I [J].北京医科大学学报,1987,19(4):243.
- [3] 陈飞龙,谭晓梅,汤庆发,等.不同产地木香挥发油成分的GC-MS分析比较[J].中国药房,2011,22(23):2187.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录63.

(收稿日期:2012-02-01 修回日期:2012-04-16)