

# HS-SPME-GC-MS 法分析不同产地菟丝子中的挥发性成分

裴学军<sup>1\*</sup>, 卢金清<sup>2#</sup>, 黎强<sup>2</sup>, 郭胜男<sup>2</sup>(1.健民药业集团股份有限公司, 武汉 430052; 2.湖北中医药大学湖北省药用植物研发中心, 武汉 400065)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-3006-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.42

**摘要** 目的:建立分析菟丝子中挥发性成分的方法,并比较不同产地菟丝子中挥发性成分的差异。方法:采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法(HS-SPME-GC-MS)。HS-SPME条件:取样量为1.0 g,萃取纤维头种类为65 μm PDMS/DVB,平衡温度为120 ℃,平衡时间为15 min,萃取时间为30 min,解析时间为3 min;GC条件:色谱柱为HP-5MS石英毛细管柱,程序升温,进样口温度为230 ℃,载气为高纯氦气,载气流速为1.0 ml/min,不分流进样;MS条件:离子源为电子轰击离子源,离子源温度为230 ℃,四极杆温度为150 ℃,电子能量为70 eV,倍增管电压为1.2 kV,接口温度为280 ℃,质谱扫描范围为 $m/z$  35~550。结合惠普化学工作站对不同产地菟丝子中的挥发性成分进行定性分析,以峰面积归一化法计算各成分的相对含量,采用主成分分析法和聚类分析法对数据进行分析。结果:共鉴定出52种挥发性成分,其中9种为不同产地菟丝子中的共有成分,分别为叶醇、1-辛烯-3-醇、3-辛醇、麦芽醇、酞酸二乙酯、石竹烯、壬醛、正辛醇、棕榈酸。样品1、2、3聚为一类后再与样品4、5、6聚为一类,7、8、9聚为一类后再与样品10、11、12聚为一类,样品13、14、15单独聚为一类。结论:该方法稳定可靠,适用于菟丝子中挥发性成分的快速分析;不同产地菟丝子中挥发性成分差异较大。

**关键词** 菟丝子;挥发性成分;顶空固相微萃取;聚类分析;主成分分析

## Analysis on Volatile Components in *Cuscuta chinensis* from Different Habitats by HS-SPME-GC-MS

PEI Xuejun<sup>1</sup>, LU Jinqing<sup>2</sup>, LI Qiang<sup>2</sup>, GUO Shengnan<sup>2</sup> (1.Jianmin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Wuhan 430052, China; 2.Hubei University of Chinese Medicine/Research and Development Center of Medicinal Plant in Hubei Province, Wuhan 400065, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for analyzing the volatile components in *Cuscuta chinensis*, and compare the difference of the volatile components in *C. chinensis*. METHODS: HS-SPME-GC-MS was adopted: sampling amount was 1.0 g, extracting fibers was 65 μm PDMS/DVB, equilibrium temperature was 120 ℃, equilibrium time was 15 min, extraction time was 30 min, resolution time was 3 min; GC conditions: the column was HP-5MS quartz capillary column, programmed temperature, inlet temperature was 230 ℃, carrier gas was high purity helium, the flow rate was 1.0 ml/min, splitless injection; MS conditions: ion source was electron ionization, temperature was 230 ℃, quadrupole temperature was 150 ℃, electron energy was 70 eV, photomultiplier tube voltage was 1.2 kV, the interface temperature was 280 ℃, and scanning range was  $m/z$  35-550. Combined with the qualitative analysis for volatile components of *C. chinensis* from different habitats by HP ChemStation, the relative content was calculated by peak area normalization, and the data was analyzed by principal component analysis and cluster analysis. RESULTS: Totally 52 components were identified, 9 of which were the common components in *C. chinensis*, namely leaf alcohol, 1-octene-3-ol, 3-octanol, malt alcohol, diethyl phthalate, caryophyllene, nonaldehyde, octanol and palmitic acid. sample 1, 2, 3 were clustered into a group, then clustered with 4, 5, 6 into a group, sample 7, 8, 9 was clustered into a group, then clustered with 10, 11, 12 into a group, and sample 13, 14, 15 clustered into a group individually. CONCLUSIONS: The method is stable and reliable, and suitable for the rapid analysis of volatile components in *C. chinensis*; and differences of volatile components in *C. chinensis* from different habitats are discernible.

**KEYWORDS** *Cuscuta chinensis*; Volatile components; Headspace solid phase micro extraction; Cluster analysis; Principal component analysis

菟丝子是旋花科植物南方菟丝子 *Cuscuta australis* R. Br. 或菟丝子 *C. chinensis* Lam. 的干燥成熟种子,味辛、甘、平,性微温,归肝、肾、脾经,具有补益肝肾、固精缩尿、安胎、明目、止泻等功效,用于治疗肝肾不足、腰膝酸软、阳痿遗精、遗尿尿频、肾虚胎漏、胎动不安、目昏耳鸣、脾肾虚泻,外用还可治疗白癜风<sup>[1]</sup>。菟丝子富含油脂,现阶段对其研究主要涉及黄酮类成分,对其挥发性成分研究还不够深入,而不同产地菟丝子中挥发性成分差异研究更鲜见报道。故本试验采用顶空固相微萃

取(Headspace solid phase micro extraction, HS-SPME)与气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术,对中国四川、云南和韩国、朝鲜、日本5个产地共15批次菟丝子中的挥发性成分进行鉴别,并结合化学计量法进行统计分析,建立了快速分析其中挥发性成分的方法,旨在为不同产地菟丝子品质的客观评价提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

6890/5973型GC-MS联用仪(美国Hewlett-Packard公司);手动固相微萃取装置(德国IKA公司);65 μm聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(PDMS/DVB)萃取纤维头(美国Supelco公

\*药师。研究方向:药剂学。E-mail:pxj1975@163.com

#通信作者:教授。研究方向:中药及其天然产物活性成分。E-mail:ljq59169@163.com

司);ALC-210.2型电子天平(德国Sartorius公司)。

## 1.2 试剂

乙醚为分析纯,水为纯化水。

## 1.3 药材

中国四川产菟丝子(编号:1、2、3)、中国云南产菟丝子(编号:4、5、6)、韩国产菟丝子(编号:7、8、9)、朝鲜产菟丝子(编号:10、11、12)、日本产菟丝子(编号:13、14、15)均购自武汉黄鹤楼香精香料有限公司,经湖北中医药大学生药教研室胡志刚副教授鉴定为旋花科植物菟丝子*C. chinensis* Lam.的干燥成熟种子。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验条件

2.1.1 HS-SPME条件 取样量:1.0 g;萃取纤维头种类:65 μm PDMS/DVB;平衡温度:120 °C;平衡时间:15 min;萃取时间:30 min;解析时间:3 min。

2.1.2 GC-MS条件 (1)GC条件。色谱柱:HP-5MS石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序:初始温度50 °C,以5 °C/min升至100 °C,再以15 °C/min升至180 °C,保持3 min;进样口温度:230 °C;载气:高纯氦气(99.999%);载气流速:1.0 ml/min;进样模式:不分流进样。(2)MS条件。离子源:电子轰击离子源;离子源温度:230 °C;四极杆温度:150 °C;电

子能量:70 eV;倍增管电压:1.2 kV;接口温度:280 °C;质谱扫描范围:*m/z* 35~550。

### 2.2 菟丝子主成分分析和聚类分析

经惠普化学工作站数据处理并以峰面积归一化法从总离子流图(见图1)中计算各成分相对含量,按各峰的质谱图经美国国家标准与技术局(NIST)谱库检索,确定各个挥发性成分,结果初步鉴定了52种,详见表1。由表1可知,不同产地菟丝子挥发性成分种类和相对含量有一定的差异,但均含有叶醇、1-辛烯-3-醇、3-辛醇、麦芽醇、酞酸二乙酯、石竹烯、壬醛、正辛醇、棕榈醇9种共有成分。

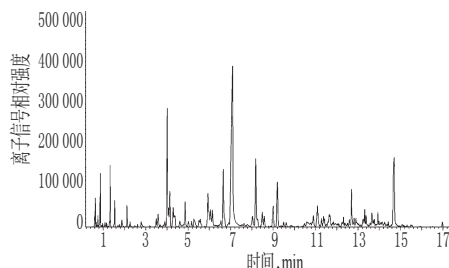


图1 菟丝子(编号1)总离子流图

Fig 1 Total ion chromatogram of *C. chinensis* (No.1)

2.2.1 主成分分析 以上述9个共有成分峰的峰面积为变量

表1 15批次菟丝子挥发性成分鉴定结果

Tab 1 Results of volatile component analysis in 15 batches of *C. chinensis*

序号	待测成分	相对含量,%														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	2-甲基丁醛	1.07	1.17	1.15										0.65		
2	甲苯	1.94	2.05	2.12	1.97	2.18	2.24					0.16				
3	3-乙基-2-己烯	1.78	1.23	1.11	0.98	0.58	1.21							1.38	1.21	1.66
4	3-己烯-2-酮			0.11					0.09					0.67	0.88	0.89
5	2,3,3-三甲基-1-丁烯				0.55	0.11	0.26						0.99			
6	2-庚酮			0.12	0.31	0.24										
7	2-环己烯-1-酮							0.95	0.56	0.23	0.35	0.21	0.11			
8	2-戊基呋喃								0.56	0.23	0.99					0.15
9	正己醛	0.98			0.57				0.25		0.38			0.51	0.23	0.39
10	叶醇	0.96	1.01	0.42	0.88	0.75	0.41	0.31	0.1	0.28	0.23	0.45	0.61	0.39	0.54	0.59
11	苯甲醛	1.83						0.11				0.31				
12	1-辛烯-3-醇	23.28	23.19	23.52	19.48	18.81	18.94	10.53	10.44	10.47	13.74	13.56	13.36	6.53	5.44	5.47
13	α-葎草烯	0.24	0.32	0.56	0.35	0.41	0.28	0.11							0.17	
14	3-辛醇	2.09	1.19	1.67	2.65	3.12	2.98	2.18	2.87	1.98	1.76	2.19	2.56	3.01	2.39	2.41
15	双戊烯	0.23						0.78	0.58	0.66	0.45	0.51	0.65			
16	萘			0.40							0.89			0.32	0.56	0.79
17	十二烷				0.91			0.24	0.26	0.31	0.38	0.27	0.33			
18	十四烷	1.07	1.33	0.67	0.57	0.76	1.45						0.78			
19	麦芽醇	27.05	27.14	28.09	22.15	22.17	22.78	37.15	36.89	37.17	33.10	33.72	33.89	44.65	45.19	46.18
20	异长叶烯	1.01	0.96	0.89	0.18	0.34	0.23							0.16		
21	2-戊基呋喃			0.16				0.42	0.34	0.56	0.28	0.33	0.19			
22	苯乙烯	0.36	0.25	0.78			0.15						0.11			
23	癸醛		0.11					0.39	1.24	0.21	0.75	0.69	0.78			
24	1-亚乙基-1H-萘	0.34					0.11							0.42	0.88	1.12
25	1-橙化基丙酮	0.52						0.78	0.41	0.87	0.89	0.11	0.78			
26	酞酸二乙酯	5.12	3.15	4.21	3.31	5.1	4.28	2.2	3.15	4.96	2.89	1.18	3.34	0.23	0.96	0.16
27	糠醛		0.18					0.47	0.67	0.88	0.89	2.11	1.56			
28	癸烷			0.31				0.59	0.47	0.41	0.65	0.67	0.41			0.47
29	十一烷			0.21							0.28	0.52	0.28	0.55		
30	十三烷				1.2	1.89	0.70				0.42	0.85	0.32			
31	2-呋喃甲醇	0.49	0.49	0.76	0.61	0.34	0.56				0.44					
32	3-丁烯-2-醇	0.18	0.54	0.15	0.23	0.28	0.34						0.79	0.51	0.62	
33	α-萘品醇			0.32				2.01	0.42	1.34	1.78	0.69	0.77			

续表1  
Continued tab 1

序号	待测成分	相对含量, %														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
34	石竹烯	0.53	0.67	0.79	0.51	0.66	1.01	0.42	0.88	1.12	1.01	0.34	0.59	0.97	1.51	0.61
35	$\alpha$ -石竹烯	0.29	0.44	0.51	0.78	0.59	0.66								0.53	
36	苯甲醛	0.21	0.34	0.11	0.26	0.55	0.99				0.37	1.11	0.78	0.14	0.28	0.76
37	辛醛	0.42	0.52	0.45	0.28	0.31	0.21							0.11	0.32	0.38
38	柠檬烯	0.15	0.21	0.31	0.1	0.28	0.2								0.18	0.29
39	壬醛	0.23	0.45	0.17	0.31	0.28	0.52	0.15	0.49	0.13	0.27	0.31	0.39	0.12	0.31	0.24
40	苯乙醛				0.14									0.32	0.46	0.21
41	苯乙酮	0.53	0.44	0.47	0.74	0.56	0.36							0.28	0.35	0.59
42	2-正戊基呋喃							0.67	0.78	0.11	0.32	0.21	0.28			
43	苯酚	1.81	0.78	1.23				0.23								
44	十二烷													0.34	0.45	0.71
45	2-甲基丙醛							0.78	0.45	0.67	0.31	0.12	0.26			
46	正辛醇	0.55	2.03	1.77	0.85	0.32	1.56	1.03	0.91	0.56	0.23	0.49	2.07	0.78	1.69	0.31
47	丁酸甲酯				0.11			0.47	0.41	0.65	0.28	0.37	0.31			
48	棕榈酸	0.17	0.76	0.11	0.25	0.31	0.34	0.17	0.29	0.11	0.25	0.31	0.34	0.29	0.45	0.32
49	己酸甲酯				0.20	0.31	0.47	0.67	0.41	0.59						
50	2-正丁基呋喃	0.78	1.04	0.22	1.20	1.89	0.77	0.85	2.01	0.42				0.56	0.82	0.71
51	1-壬烯-3-醇	0.53				0.56	0.61	0.49	0.76	0.44	0.34			0.77		0.84
52	丁酸丁酯	0.54	0.78	0.61	1.34	1.78	0.69					0.19				

拟合得到的15×9的数据矩阵导入SPSS 19.0统计软件进行多变量分析。第1主成分(麦芽醇)的方差贡献率为93.154%,第2主成分(1-辛烯-3-醇)的方差贡献率为6.654%,前两个主成分的累计贡献率为99.808%。一般来说,提取主成分的累计贡献率达80%~85%即为合格<sup>[2]</sup>。15批次菟丝子主成分分析见图2。由图2可知,中国四川、云南两个产地样品在分布上相对集中,韩国、朝鲜两个产地样品在分布上相对集中,而日本产地样品在分布上相对集中。结果表明,采用主成分分析法能反映出不同产地样品的成分差异,可有效区分不同产地菟丝子。

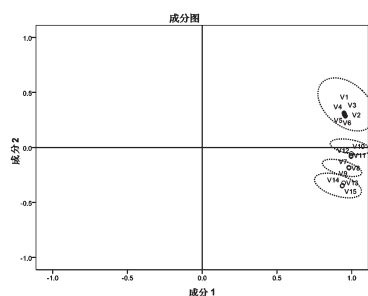


图2 15批次菟丝子的主成分分析图

Fig 2 Principal component analysis of the 15 batches of *C. chinensis*

2.2.2 聚类分析 利用SPSS 19.0统计软件,采用Ward's聚类法,以Euclidean距离为测度、峰面积百分率为基准,对15批次5个产地菟丝子进行聚类分析,详见图3。结果,样品1、2、3聚为一类后再与样品4、5、6聚为一类,样品7、8、9聚为一类后再与样品10、11、12聚为一类,而样品13、14、15则单独聚为一类。这说明了同一产地不同批次菟丝子的挥发性成分具有相似性,而不同产地菟丝子中挥发性成分的种类和含量存在一定差异。

### 3 讨论

笔者采用HS-SPME-GC-MS法对中国四川、云南和韩国、朝鲜、日本5个产地菟丝子中挥发性成分进行分析,该方法前处理简单,无需采用有机试剂,样品用量少,快速、准确、稳定、可靠。共鉴定出了52种挥发性成分,9种为共有成分,依次为

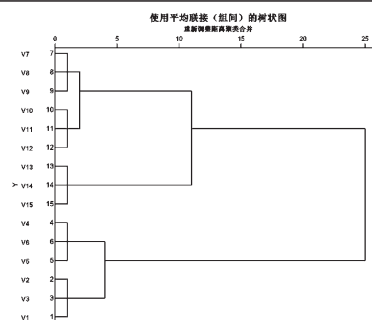


图3 15批次菟丝子的聚类分析结果

Fig 3 Cluster analysis results of the 15 batches of *C. chinensis*

叶醇、1-辛烯-3-醇、3-辛醇、麦芽醇、酞酸二乙酯、石竹烯、壬醛、正辛醇、棕榈酸,含量最高的成分为麦芽醇,其次为1-辛烯-3-醇。麦芽醇对红细胞氧化损伤具有保护作用,可清除 $H_2O_2$ - $Fe^{2+}$ 体系产生的 $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH^{\cdot}$ 、 $H_2O_2$ <sup>[3]</sup>,主要通过抗自由基,维持细胞膜的完整性,减轻肾小管上皮细胞的损伤,减轻组织损伤,从而发挥保护作用。研究表明,麦芽醇对脑缺血-再灌注损伤有保护作用,其机制与清除自由基、抑制凋亡因子和神经元凋亡有关;并认为其对缺血-再灌注损伤导致的肾功能衰竭可能有保护作用<sup>[4]</sup>。由此说明麦芽醇可能与菟丝子补肾固精、补益肝肾的功效有直接的关系。而不同产地菟丝子中麦芽醇相对含量不同,原因可能是由于其种植土壤、气候等环境条件不同,使植物次生代谢过程存在差异所致。石竹烯具有止痛功效,还可平喘;棕榈酸可抗癌、降血脂,并可延缓衰老、促进细胞再生和预防心脑血管疾病;叶醇可镇静、促进植物生长<sup>[5-7]</sup>。

采用主成分分析法对HS-SPME-GC-MS法所得数据进行处理,样品在主成分空间中聚集成为4个不同类别,基本实现不同产地菟丝子的鉴别;聚类分析树状图能进一步区分不同产地菟丝子,反映相同产地菟丝子间的相似性,并在一定程度上反映其亲缘关系。总之,采用这两种方法对HS-SPME-GC-MS法所得数据进行分析,可全面、客观反映不同产地药材间的差异,可作为一种快速鉴别不同产地菟丝子的方法。

### 参考文献

# 藏药酸藤果的质量标准研究

邢洁<sup>1\*</sup>,孔倩倩<sup>2</sup>(1.中山市人民医院药学部,广东中山 528403;2.山东明仁福瑞达制药股份有限公司,济南 250104)

中图分类号 R284.1;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-3009-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.43

**摘要** 目的:建立藏药酸藤果的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对药材进行定性鉴别。采用高效液相色谱法(HPLC)测定药材中酸藤果素的含量;色谱柱为 Waters C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-5%甲酸(90:10, V/V),流速为 0.9 ml/min,检测波长为 288 nm,柱温为 40 ℃,进样量为 10 μl。结果:酸藤果的 TLC 图斑点清晰、分离度好。酸藤果素检测质量浓度线性范围为 4.012~40.12 μg/ml ( $r=0.9994$ );精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<2%;加样回收率为 96.54%~99.57% (RSD=1.20%,  $n=6$ )。结论:该研究所建标准可用于酸藤果的质量控制。

**关键词** 酸藤果;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准

## Study on the Quality Standard of *Embelia laeta*

XING Jie<sup>1</sup>, KONG Qianqian<sup>2</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Zhongshan Municipal People's Hospital, Guangdong Zhongshan 528403, China; 2. Shandong Mingren Freda Pharm. Co., Ltd., Jinan 250104, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard for *Embelia laeta*. METHODS: TLC was adopted for the qualitative identification. HPLC was adopted for the content determination of embelin: the column was Waters C<sub>18</sub> with mobile phase consisted of methanol-5% methanoic acid (90:10, V/V) at a flow rate of 0.9 ml/min, the detection wavelength was 288 nm, the column temperature was 40 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The TLC of *E. laeta* showed clear spots and good separation. The linear range of embelin was 4.012-40.12 μg/ml ( $r=0.9994$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 96.54%-99.57% (RSD=1.20%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The established standard can be used for the quality control of *E. laeta*.

**KEYWORDS** *Embelia laeta*; TLC; HPLC; Quality standard

酸藤果 *Embelia laeta* 为紫金牛科植物叶酸藤果 *E. oblongifolia* Hemsl. 的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>,民间多以其根部入药,用于妇女闭经、跌打损伤等,而藏族多用其秋季成熟果实入药,常用于杀虫、提升胃温等<sup>[2-3]</sup>。有多种藏药制剂均以酸藤果为主药,如复方酸藤消痔胶囊、复方藤果痔栓等。其质量标准现在执行藏药部颁标准 WS<sub>3-BC-0118-95<sup>[1]</sup>,但该标准仅介绍了一种理化鉴别方法,专属性强,不能全面控制药材质量,使其资源有效利用受到限制。为确立藏药酸藤果的质量标准,本试验采用薄层色谱法(TLC)对其进行定性鉴别,并采用高效液相色谱法(HPLC)对其中的酸藤果素进行含量测定。</sub>

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-450 型 HPLC 仪(包括 LC-20AT 泵、SPD-M20A 检测

器、SIL-20A 进样器)、AUW220D 电子天平(日本 Shimadzu 公司);KQ-300B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

酸藤果素对照品(山东金诃药物研究开发有限公司,批号:20151101,纯度>99.0%);酸藤果对照药材(金诃藏药股份有限公司,批号:20150101);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 药材

药材在广西省玉林市郊区采集,共计 3 批(批号:20150703、20150708、20150730),经青海省藏医院尼玛教授鉴定为真品。

## 2 方法与结果

### 2.1 定性鉴别<sup>[4-5]</sup>

取样品粉末 0.5 g,加 95% 乙醇 10 ml,超声(功率:120 W,

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015 年版.北京:中国医药科技出版社,2015:309.

[2] 马威,方莹.BP 网络模型在财务危机预警中的应用[J].财会月刊,2009,5(6):51.

[3] 杨旭辉,朱敏恒,吴越.植物源性天然抗氧化成分研究进展[J].农垦医学,2004,26(4):298.

[4] 王璟,吴小燕,姚涛.麦芽醇对缺血性急性肾功能衰竭的影响[J].武汉大学学报:医学版,2010,31(4):514.

[5] 吴彩霞,刘红丽,卢素格,等.固相萃取法与水蒸气蒸馏法提取蜘蛛香挥发油成分的比较[J].中国药房,2008,19(12):918.

[6] 王洁,杨志玲,杨旭,等.不同花期厚朴雌雄蕊和花瓣香气组成成分的分析 and 比较[J].植物资源与环境学报,2011,20(4):42.

[7] 陶翠.油樟叶提取物的抗菌、镇痛和抗炎活性及其作用机理研究[D].雅安:四川农业大学,2011.

(收稿日期:2015-12-15 修回日期:2016-04-11)

(编辑:张静)

\* 主管药师。研究方向:医院药学。电话:0760-89880373