

千层塔挥发油成分的气相色谱-质谱法(GC/MS)分析

王婷婷¹, 赵丽娟², 何山^{1*}, 杨锐¹, 侯云丹¹, 严小军¹

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211; 2. 宁波中药制药有限公司, 浙江 宁波 315806)

摘要: 通过将千层塔挥发油经气相色谱-质谱法(GC/MS)分析, 首次研究其化学成分。结果表明: 千层塔挥发油成分复杂, 含量较高的为 3-羟基-2-甲基戊二酸二甲酯、苹果酸二甲酯、3-羟基-正丁酸甲酯、3-(4-羟苯基)-2-丙烯酸甲酯与 4-羟基- $\alpha, \alpha, 4$ -三甲基-环己甲醇。此外, 还鉴别到一种石松生物碱。千层塔挥发油中分子量较小的酯类与醇类物质较多, 并含有一种生物碱 Luciduline。

关键词: 千层塔; 挥发油; 气相色谱-质谱法(GC/MS); 生物碱; 化学成分

中图分类号: O652.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-5132 (2012) 04-0016-04

千层塔(*Huperzia serrata*)又名蛇足石杉、蛇足草, 是石松类石杉科石杉属植物, 为多年生草本植物, 始载于《植物名实图考》。千层塔味辛、平, 具有清热解毒、生肌止血、散瘀消肿的功效, 常用来治疗跌打损伤、瘀血肿痛、内伤出血以及毒蛇咬伤、烧烫伤等^[1]。但千层塔具有一定毒性, 中毒后可出现头昏、恶心、呕吐等症状。

除了与其他中草药配伍用于特定疾病的治疗, 千层塔的提取物也吸引着众多学者的关注。1986 年, 我国学者刘嘉森等首次从千层塔中分离得到石杉碱甲(Huperzine A)^[2]。经研究, 千层塔提取物富含生物碱石杉碱甲与石杉碱乙, 石杉碱甲是一种可逆性乙酰胆碱酯酶抑制剂, 对治疗重症肌无力、记忆力减退和早期老年痴呆具有较好的效果, 石杉碱乙的抑制活性稍弱, 但是具有更长的活性持续时间, 因此能表现出更高的治疗指数^[3-4]。此外, 石杉碱甲还被证明具有良好的横纹肌松弛作用, 对骨骼肌疾病等具有潜在的治疗功效^[5]。

挥发油, 又名精油, 是一类可随水蒸气蒸馏得到的与水不相溶的挥发性油状成分的总称, 广泛存在各种植物中, 尤以具有一定气味的植物中存在的可能性更大。挥发油主要是由萜类和芳香族化合物以及它们的含氧衍生物如醇、醛、酮、酚、

醚、内酯等组成, 此外还包括含氮及含硫化合物。实验证明, 中草药的挥发油具有良好的抗过敏、抗菌、抗癌和抗炎作用, 并且由于其具有特殊的气味, 对舒缓神经缓解疲劳具有一定的作用, 这也是校园绿化选择特定香味植物的原因之一^[6]。为人熟知的藿香正气水中的藿香便是取中草药的芳香治疗疾病。中草药挥发油成分复杂, 主要是小分子的醛类、酯类化合物, 单萜、倍半萜类化合物和小分子芳香化合物等, 极易挥发, 生物利用率高, 能够较快地发挥作用, 在未来的中草药制品研究方面具有广阔的发展空间。笔者对千层塔挥发油进行了气相色谱-质谱法(GC/MS)分析, 以确定其化学组成。

1 仪器、材料与方法

1.1 仪器

岛津 GCMS-QP2010 气质联用系统, 数据库为 NIST 和 WILEY 标准质谱图库。

1.2 材料与试剂

甲醇为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司(批号 20120315)。千层塔购自宁波市中药厂。

1.3 提取方法

参照 2010 版《中国药典》(一部)方法, 用水蒸

收稿日期: 2012-06-17.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://3xb.nbu.edu.cn>

基金项目: 宁波大学人才工程项目(RCL2011718); 宁波大学学科项目(XKL11D2103, XKC11002)。

第一作者: 王婷婷(1986-), 女, 河北张家口人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 天然药物化学。E-mail: happyjelly@yeah.net

*通讯作者: 何山(1982-), 男, 广东韶关人, 博士/讲师, 主要研究方向: 天然药物化学。E-mail: heshan@nbu.edu.cn

气蒸馏法(SD)提取挥发油^[7], 取千层塔 100 g 进行提取, 提取时间 6 h. 千层塔挥发油为棕色、粘油状体, 具有特殊香味. 测定千层塔挥发油含量为 0.33%. 将千层塔挥发油用甲醇溶解稀释后供 GC/MS 分析用^[8].

1.4 色谱条件

色谱柱: SPB-50 石英毛细管柱(30 m×0.25 μm×0.25 mm); 载气: 高纯氮; 柱温: 程序升温, 起始温度 35 °C, 保持 3 min; 35→40 °C (3 °C·min⁻¹), 40 °C保持 1 min; 40→210 °C (5 °C·min⁻¹), 210 °C保持 15 min; 进样量 1.0 μL.

1.5 质谱条件

分流模式进样, 分流比 30:1, 进样口温度: 200

°C, 离子源温度: 200 °C; 电离方式: EI; 电子电量: 70 eV; 扫描质量范围: 45~1 000 amu.

2 结果

2.1 挥发油总离子流色谱图

将千层塔挥发油按照上述检测条件进行 GC/MS 分析, 从而得出千层塔挥发油不同成分的 MS 峰. 气相色谱-质谱总离子流色谱图(图 1).

2.2 挥发油化学成分分析结果^[9]

取 200 μL 千层塔挥发油, 溶于 1 600 μL 甲醇中, 进行 GC/MS 分析. 将得到的挥发油总离子流图与 NIST 和 WILEY 标准质谱图库中的标准图谱进行

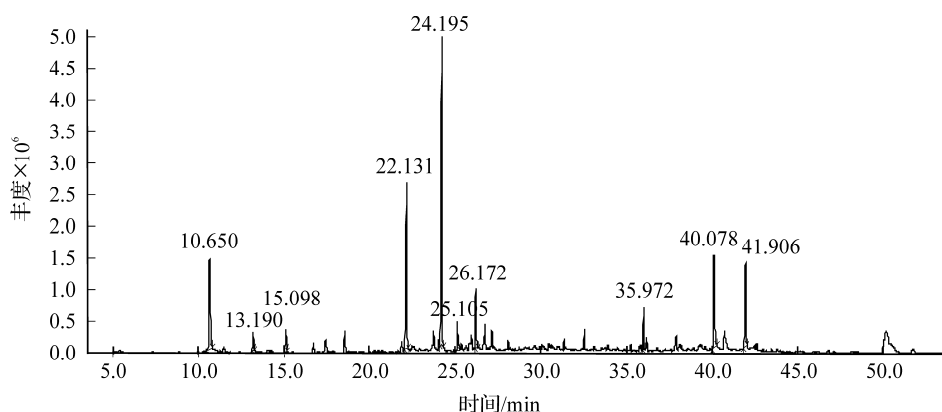


图1 挥发油总离子流

表1 挥发油化学成分 GC/MS 分析结果

化合物名称	分子式	相对分子质量	相对含量/%	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对含量/%
3-羟基-正丁酸甲酯	C ₅ H ₁₀ O ₃	118	9.10	乙基琥珀酸甲酯	C ₇ H ₁₂ O ₄	160	0.06
1,1,3-三甲氧基丁烷	C ₇ H ₁₆ O ₃	148	0.46	3-氨基丙醇环丁基硼酸盐	C ₇ H ₁₆ BNO	141	0.14
1,1,2,2-四氯乙烷	C ₂ H ₂ Cl ₄	166	1.60	3-甲基-2,5-呋喃二酮	C ₅ H ₄ O ₃	112	0.59
2,5,6-三甲癸烷	C ₁₃ H ₂₈	184	0.18	1-甲基-螺戊烷羧基酸甲酯	C ₈ H ₁₂ O ₂	140	0.14
3-羟基-戊酸甲酯	C ₆ H ₁₂ O ₃	132	0.13	苹果酸二甲酯	C ₆ H ₁₀ O ₅	162	12.24
丙二酸二甲酯	C ₅ H ₈ O ₄	132	1.59	甲氧基琥珀酸二甲酯	C ₇ H ₁₂ O ₅	176	0.29
4-羟基丁酸	C ₄ H ₈ O ₃	104	0.65	α,α,4-三甲基苯甲醇	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.18
3-羟基-己酸甲酯	C ₇ H ₁₄ O ₃	146	1.16	6-乙基-3-辛醇	C ₁₀ H ₂₂ O	158	0.33
二甲基砷	C ₂ H ₆ O ₂ S	94	0.07	2-丙氧基-琥珀酸二甲酯	C ₉ H ₁₆ O ₅	204	1.70
丁二酸二甲酯	C ₆ H ₁₀ O ₄	146	1.35	羟基琥珀酸二乙酯	C ₈ H ₁₄ O ₅	190	0.80
二氢-3-亚甲基-2(3H)-呋喃酮	C ₅ H ₆ O ₂	98	0.20	3-羟基-2-甲基戊二酸二甲酯	C ₈ H ₁₄ O ₅	190	23.91
十二甲基环己硅烷	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	444	0.11	己二酸二甲酯	C ₈ H ₁₄ O ₄	174	0.11
5-乙基二氢-2(3H)-呋喃酮	C ₆ H ₁₀ O ₂	114	0.09	甲基麦芽酚	C ₇ H ₈ O ₃	140	2.40

续表

化合物名称	分子式	相对分子质量	相对含量/%	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对含量/%
5-甲氧基-2-戊酮	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.17	2,5,5-三甲基-3,6-庚二烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.48
1,2-环氧烷	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.04	L-葡萄糖酸-N-乙酰-二甲酯	C ₉ H ₁₅ NO ₅	217	2.49
β-倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.23	二氢-5-异丙基-3(2H)-呋喃酮	C ₇ H ₁₂ O ₂	128	0.18
7-甲氧基-3,7-二甲基辛醛	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	0.38	反式-1,4-二乙氧基环庚烷	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172	0.72
石松生物碱	C ₁₃ H ₂₁ NO	207	0.08	1,3-二甲基-6-胍-尿嘧啶	C ₆ H ₁₀ N ₄ O ₂	170	0.83
6-庚酸甲酯	C ₈ H ₁₄ O ₂	142	0.21	甲基-P-对羟基肉桂酸乙酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	178	0.41
乙基高香草酸	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	210	0.41	3-甲酰-2,2-二甲基-环丙酸甲酯	C ₉ H ₁₄ O ₃	170	0.10
柠檬酸三甲酯	C ₉ H ₁₄ O ₇	234	1.12	4-羟基-3,5-二甲氧基-苯甲醛	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	2.53
4-羟基-3-甲基-苯乙酮	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	0.22	3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-2-丙烯酸甲酯	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208	0.17
4-羟基-苯乙酸甲酯	C ₉ H ₁₀ O ₃	166	0.18	3-(4-羟基苯基)-2-丙烯酸甲酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	178	8.00
7-十六碳烯酸甲酯	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	0.24	地支普内酯	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	196	6.74
郁金酮	C ₁₅ H ₂₂ O	218	0.35	2-甲氧基-2-丁烯二酸二甲酯	C ₇ H ₁₀ O ₅	174	0.39
4-羟基-苯丙酸甲酯	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	180	0.27	2-[[2-[(2-乙基环丙基)甲基]丙基]甲基]-丙基辛酸	H ₂₂ H ₃₈ O ₂	334	0.16
α-郁金酮	C ₁₅ H ₂₀ O	216	1.40	3-异丁基六氢吡咯[1,2-噻吡嗪-1,4-二酮	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂	210	0.18
棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.52	3,9-双氮双环[7.3.0.0(3,7)]十二醇-2,8-二酮	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₂	194	0.54
4-羟基-3-甲基-苯甲酸甲酯	C ₉ H ₁₀ O ₄	182	0.47				

比对, 对其中的化学成分进行鉴别, 最终确定不同成分化合物的种类、名称以及相对百分含量。

在千层塔挥发油中共鉴定出 63 种化学成分, 其中, 3-羟基-2-甲基戊二酸二甲酯的相对含量最高, 为 23.91%; 苹果酸二甲酯的相对含量次之, 为 12.24%; 3-羟基-正丁酸甲酯的相对含量为 9.1%; 3-(4-羟基苯基)-2-丙烯酸甲酯的相对含量为 8%; 4-羟基-α,α,4-三甲基-环己甲醇的相对含量为 6.46%。其余的成分相对含量均较低, 石松生物碱相对含量为 0.08%。结果见表 1。

3 讨论

笔者对千层塔挥发油化学成分和相对百分含量进行了考察。结果表明, 千层塔挥发油中含有大量的小分子酯类、醇类等物质, 其中含量最高的为 3-羟基-2-甲基戊二酸二甲酯(23.91%), 相对分子量为 190。在鉴别中, 相对分子质量最大的为 2-[[2-[(2-乙基环丙基)甲基]丙基]甲基]-丙基辛酸, 为 334。这与前人在挥发油化学成分方面的研究结果基本

一致^[10-12]。此外, 研究发现千层塔挥发油中含有一种石松生物碱 Luciduline, 为一种含氮的化合物, 相对分子量为 207, 袁珊琴等^[13]在对千层塔生物碱成分研究中获得的 2 种生物碱同样为含氮化合物。

4 结论

由实验可知, 千层塔挥发油中含有大量的小分子酯类、醇类物质, 以及一定量的石松生物碱, 因此, 对千层塔挥发油的药理作用研究具有重大的市场前景。然而, 本实验中, 在对样品进行 GC/MS 分析之后, 将得出的总离子流图谱与标准图谱比对的过程中, 有一些物质含量较低, 与数据库中物质相似度较低, 因而无法归属其种类, 从而影响了实验的客观性。在以后的实验中需要针对这点加以改进, 以保证样品化学成分分析的全面性和准确性。

参考文献:

[1] 浙江省药用植物志编写组. 浙江药用植物志[M]. 杭州:

- 浙江科学技术出版社, 1980.
- [2] 谭昌恒, 朱大元. 石松生物碱研究进展[J]. 中国天然药物, 2003, 1(10):1.
- [3] Tang X C, He X C, Bai D L. Huperzine A: A novel acetylcholinesterase inhibitor[J]. Drug Future, 1999, 24:647.
- [4] 王洪新, 王键. 石杉碱甲的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(6):4.
- [5] 鲁润龙, 周忠泽, 鲍时来, 等. 药用植物蛇足石杉的生物学特性[J]. 中国科学技术大学学报, 1999, 29(1):118.
- [6] 倪穗, 周乐斌, 黄左安, 等. 宁波市高校校园植物现状调查与评价[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2009, 22(1): 138-142.
- [7] 国家药典委员会. 《中国药典》(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [8] Peng L Y. Constituents from *Lonicera Japonica*[J]. Fitoterapia, 2000, 71(6):713.
- [9] Ogunwande I A, Saroglou V, Skaltsa E, et al. Constituents of some essential oil bearing plants from Nigeria[J]. Journal of Essential Oil Research, 2009, 21(1): 61-66.
- [10] 樊秦, 李应东, 赵磊, 等. 岷当归挥发油提取方法及其化学成分研究[J]. 中国现代应用药学, 2012, 4:88-90.
- [11] 陈明磊, 陈军, 方芸. 雪荔组方挥发油成分分析及体外抑菌活性研究[J]. 中国现代应用药学, 2012, 4:136-139.
- [12] 邢学锋, 陈飞龙, 罗佳波. 金银花、连翘药对配伍挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(4):358-360.
- [13] 袁珊琴, 赵毅民. 蛇足石杉生物碱成分的研究(VI)[J]. 中草药, 2003, 34(7):595-596.

Chemical Constituents of Volatile Oils from *Huperzia serrata* by GC/MS

WANG Ting-ting¹, ZHAO Li-juan², HE Shan^{1*}, YANG Rui¹, HOU Yun-dan¹, YAN Xiao-jun¹

(1.School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2.Ningbo Traditional Chinese Pharmaceutical Co. Ltd, Ningbo 315806, China)

Abstract: In this experiment-based report, GC/MS was used to investigate the chemical constituents of the volatile oil from *Huperzia serrata* for the first time. The results show that the content of 3-hydroxy-2-methylglutaric acid dimethyl ester, Dimethyl malate, 3-hydroxy-methyl butanoic acid ester, 4-hydroxy-3-methoxymethyl cinnamic acid ester, 4-hydroxy- $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl cyclohexanemethanol were found to be relatively higher than expected. Also detected was luciduline. The volatile oil from *Huperzia serrata* is rich in esters and alcohols with low molecular weight. Luciduline, an alkaloid, has been detected in the experiment.

Key words: *Huperzia serrata*; volatile oil; GC/MS; alkaloids; chemical constituents

(责任编辑 史小丽)