

不同萃取纤维在半枝莲挥发性成分分析中的应用

曹英夕, 张东, 杨立新, 薛鹏, 杨岚*

(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:分析比较 3 种不同固相萃取纤维头 (PA, PDMS, PDMS-DVB) 对半枝莲挥发性成分的吸附性。方法:采用 PA, PDMS, PDMS-DVB SPME 萃取头, 与气相色谱-质谱联用, 分析半枝莲挥发性成分, 并用归一化法计算各成分相对含量。结果:共鉴别出 90 个化合物。PA 纤维头共鉴定出 41 个化合物, 占总峰面积的 83.61%。PDMS 纤维头共鉴定出 40 个化合物, 占总峰面积的 94.63%。PDMS-DVB 纤维头共鉴定出 53 个化合物, 占总峰面积的 89.10%。3 种纤维头共同检出化合物 13 个。结论:不同纤维头吸附的挥发性成分有较大差异。PDMS 对烷烃及酮类化合物有较高选择性;纤维头 PA 对酸类和酮类化合物有较高选择性;纤维头 PDMS-DVB 对萘类、烷烃、烯烃和酮类化合物有较高选择性。

[关键词] 半枝莲; 挥发性成分; 顶空固相萃取联用气相色谱-质谱法; PA; PDMS; PDMS-DVB

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)08-0051-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015080051

Analysis of Volatile Compounds in *Scutellaria barbata* Using Different Types of Fibers CAO Ying-xi, ZHANG Dong, YANG Li-xin, XUE Peng, YANG Lan* (Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To analysis of the volatile compounds in *Scutellaria barbata* using three types of fibers including PA, PDMS and PDMS-DVB. **Method:** A headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) method followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) is described for the analysis of volatile compounds in *S. barbata* using three types of fibers. The volatile compounds of *S. barbata* were extracted by PA, PDMS and PDMS-DVB fiber individually. The relative content of each component was calculated by the normalization method. **Result:** 90 volatile compounds were found in *S. barbata*., using three types of fibers. There were 41 volatile compounds (83.61%) identified in PA extract; 40 volatile compounds (94.63%) identified in PDMS extract; 53 volatile compounds (89.10%) identified in PDMS-DVB extract. Among them, 13 compounds were common peaks in three types of fibers. **Conclusion:** The results made by the three types of fibers are quite different. more alkanes and ketones can be identified for PA, more acids and ketones can be identified for PDMS, more naphthalenes, alkanes, olefins and ketones can be identified for PDMS-DVB.

[Key words] *Scutellaria barbata*; volatile compounds; HS-SPME-GC-MS; PA; PDMS; PDMS-DVB

半枝莲为常用中药, 收载于 2010 年版《中国药典》一部, 具有清热解毒、散瘀止血、利尿消肿的功效, 主治热毒痈肿、咽喉疼痛、肺痈、肠痈、瘰疬、毒蛇咬伤、跌打损伤、吐血、衄血、血淋、水肿、腹水及癌症^[1]。药理学研究发现半枝莲的二氯甲烷提取部分具有促使白血病细胞 U937 凋亡作用^[2], 乙醇提取物有抗肿瘤和抗血管生成活性^[3-4], 半枝莲提取

的挥发油对革兰氏阳性菌, 包括抗甲氧西林的金黄色葡萄球菌具有较强的抑制作用^[5]。因此, 研究半枝莲的活性成分具有重要的意义。

有文献报道采用水蒸气蒸馏法^[6-7]、超临界 CO₂ 萃取法^[8] 结合气相色谱-质谱分析鉴定半枝莲挥发性成分, 但固相微萃取技术应用于半枝莲挥发性成分的研究未见报道。固相微萃取技术 (SPME) 是在

[收稿日期] 20140704(017)

[基金项目] 国家科技部国际科技合作支持项目(2011DFA30870)

[第一作者] 曹英夕, 在读硕士, 从事中药化学研究, Tel:18201020144, E-mail:414241341@qq.com

[通讯作者] * 杨岚, 硕士, 研究员, 从事中药化学研究, Tel:010-64014347, E-mail:ylan_66@163.com

固相萃取 (SPE) 技术上发展而来的一种样品前处理方法,近年来发展迅速。SPME 以熔融石英光导纤维或其他材料作为基体支持,采取“相似相溶”的原理,在其表面涂渍不同性质的高分子固定相薄层,通过直接或顶空进样的方式,对待测样品进行提取、富集、进样和解析^[9]。SPME 中涂层是主宰萃取选择性、富集倍数、使用寿命等最重要的因素,具有操作简便、无需有机溶剂、萃取速度快、易与仪器联用等特点^[10]。顶空固相萃取联用气相色谱-质谱法 (HS-SPME-GC-MS) 已在中药挥发性成分分析中广泛应用,但有关不同性质固相萃取纤维对中药挥发性成分选择性吸附性的比较研究较少。本实验分别采用 PA, PDMS, PDMS-DVB 萃取头,与气相色谱-质谱联用,分析半枝莲挥发性成分,并用归一化法计算各成分相对含量,并分析各个纤维头对不同结构化合物的选择性。

1 材料

1.1 仪器 QP2010 Ultra 系列气相色谱-质谱联用仪 (日本岛津公司), HS-2 型顶空进样器 (北京中惠普有限责任公司); 手动固相萃取 (SPME) 装置, 萃取纤维头 poly (dimethylsioxane)-divinylbenzene (PDMS-DVB, 65 μm), polydimethylsiloxane (PDMS, 100 μm), poly (acrylate) (PA, 85 μm) (Supleco 公司)。

1.2 试药 半枝莲干燥全草 (产自江苏), 样品经

北京中医药大学刘春生教授鉴定为唇形科植物半枝莲 *Scutellaria barbata* 的干燥全草, 标本存放于中国中医科学院中药研究所。

2 半枝莲的 HS-SPME 和挥发油的 GC-MS 分析

2.1 样品的制备 取上述半枝莲干燥全草, 置粉碎机中粉碎, 过 6 号筛, 即得。

2.2 HS-SPME 条件 取半枝莲粉末 0.6 g, 置萃取瓶中, 于 80 $^{\circ}\text{C}$ 恒温加热, 分别将经老化处理过的 PDMS-DVB, PDMS, PA 萃取头插入顶空瓶中萃取 30 min, 迅速将萃取头置于进样口解吸 2 min, GC-MS 分析。

2.3 色谱条件 HP-INNOWAX 毛细管柱 (0.25 mm \times 30 m, 0.25 μm); 升温程序, 初始温度 80 $^{\circ}\text{C}$, 以 3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度升至 140 $^{\circ}\text{C}$, 以 2 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度程序升温至 200 $^{\circ}\text{C}$, 再以 10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度程序升温至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 10 min, 共计 68 min; 载气 He, 流速 1.0 mL $\cdot \text{min}^{-1}$, 手动进样, 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 分流比 1:1。

2.4 质谱条件 电子轰击 (EI) 离子源, 质谱电离能量 70 eV, 离子源温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 质量扫描范围 m/z 50 ~ 500, 使用数据库为 NIST05 数据库。

2.5 结果 3 种纤维头萃取联用 GC-MS 共从半枝莲中鉴别挥发性成分 90 个, 其中有 13 个化合物为 3 种纤维头共同检出。结果见表 1。

表 1 半枝莲全草挥发油成分及其相对含量

Table 1 Identified components and the relative content of the volatile oils in *Scutellaria barbata*

No.	保留时间 /min	化合物名称	相对峰面积/%		
			PDMS	PA	PDMS-DVB
1	13.23	2-甲基萘 naphthalene, 2-methyl-	0.94	1.34	5.97
2	13.79	1-甲基萘 naphthalene, 1-methyl-		0.62	2.02
3	17.43	1,7-二甲基萘 naphthalene, 1,7-dimethyl-			2.65
4	17.88	1,3-二甲基萘 naphthalene, 1,3-dimethyl-			0.91
5	18.03	2,6-二甲基萘 naphthalene, 2,6-dimethyl-			0.55
6	45.65	表迈诺醇 1-naphthalenepropanol, α -ethenyldecahydro- α , 5, 5, 8a-tetramethyl-2-methylene-, [1S-[1 α (R*), 4 α β , 8 $\alpha\alpha$]]		0.22	
7	64.65	胆固醇 cholesterol	0.58	0.91	
8	24.96	蓝桉醇(-)-globulol			0.51
9	48.50	叶绿醇 phytol	1.78	1.62	1.05
10	28.55	2-乙基-2-甲基十三醇 tridecanol, 2-ethyl-2-methyl-	1.27		
11	47.56	十九烷醇 n-nonadecanol-1	0.67		
12	47.56	二十一醇 1-heneicosanol		0.83	
13	48.26	2-己基-1-癸醇 1-decanol, 2-hexyl-	0.54	0.24	
14	10.76	邻硝基乙苯 benzene, 1-ethyl-2-nitro-			3.85

续表1

No.	保留时间 /min	化合物名称	相对峰面积/%		
			PDMS	PA	PDMS-DVB
15	15.35	2-甲氧基-3-(2-丙烯基)苯酚 phenol, 2-methoxy-3-(2-propenyl)-		0.84	1.37
16	16.37	联二苯 biphenyl			1.15
17	18.69	1-(2-羟基-4-甲氧基苯)乙醚 ethanone, 1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)-		0.65	1.05
18	51.51	4,4'-(1-甲基乙基)二苯酚 phenol, 4,4'-(1-methylethylidene) bis-		1.50	
19	17.56	十二醛 dodecanal			1.16
20	30.48	十六醛 hexadecanal		1.35	0.58
21	48.02	十三酸 tridecanoic acid		0.58	
22	15.69	无水乙酸 dehydroacetic acid		0.55	
23	12.81	壬酸 nonanoic acid		2.03	
24	16.48	癸酸 <i>n</i> -decanoic acid		1.36	
25	33.29	十六烷酸 <i>n</i> -hexadecanoic acid		2.02	
26	37.85	十五酸 pentadecanoic acid		0.75	
27	42.75	十六烷酸 <i>n</i> -hexadecanoic acid	11.52	28.46	
28	50.27	十八烯酸 oleic acid		1.43	
29	33.27	十四酸 tetradecanoic acid	2.17		
30	22.10	5,6,7,7a-四氢-4,7,7a-三甲基-2-(4H)-苯并呋喃酮 2(4H)-benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	1.25	3.59	2.71
31	33.65	长松香芹酮 longipinocarvone		2.28	
32	38.94	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸烯二酮 7,9-di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	0.70	0.73	0.29
33	36.10	2-十五烷酮 2-pentadecanone		1.11	
34	36.36	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	14.08	6.13	5.62
35	19.01	6,10-二甲基-5,9-十一烷二烯-2-酮 5,9-undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-	0.60		1.27
36	55.57	6,10-二甲基-2-十一烷酮 2-undecanone, 6,10-dimethyl		0.10	
37	16.57	1-异丙基-3a-甲基-6-亚甲基十氢环丁基[1,2:3,4]双环戊烯, decahydro-3a-methyl-6-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1 α ,3 α ,3b β ,6 $\alpha\beta$,6b α)-			0.54
38	23.27	5-环己基十二烷 dodecane, 5-cyclohexyl-			0.55
39	27.79	癸基环己烷 cyclohexane, decyl-			1.00
40	27.81	十一烷基环己烷 cyclohexane, undecyl-	0.75		
41	17.24	正十四碳烷 tetradecane	0.67		0.48
42	21.16	十五烷 pentadecane	1.25		1.17
43	23.52	4-甲基-十五烷 pentadecane, 4-methyl-			0.18
44	23.61	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇 1,6,10-dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, (<i>E</i>)-			0.19
45	24.07	2,6,10,14-四甲基十六烷 hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-			0.90
46	25.39	十六烷 hexadecane	3.43	0.53	3.66
47	27.48	2,6,10-三甲基十五烷 pentadecane, 2,6,10-trimethyl-	5.15		5.14
48	27.64	2,6,10-三甲基十四烷 tetradecane, 2,6,10-trimethyl-			0.51
49	27.91	2,6,11,15-四甲基十四烷 hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl-			0.54
50	27.93	4-甲基十四烷 tetradecane, 4-methyl-	0.51		
51	28.21	2-溴十四烷 2-bromotetradecane			1.34
52	28.23	2,6,11,14-四甲基十四烷 hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	1.47		
53	28.53	2,6,10-三甲基十二烷 dodecane, 2,6,10-trimethyl-			1.37
54	29.16	2-甲基-6-丙基十二烷 dodecane, 2-methyl-6-propyl-		0.86	
55	29.37	4,6-二甲基十二烷 dodecane, 4,6-dimethyl-		0.76	
56	29.91	十七烷 heptadecane	4.59		3.71

续表 1

No.	保留时间 /min	化合物名称	相对峰面积/%		
			PDMS	PA	PDMS-DVB
57	30.08	2,6,10,14-四甲基十五烷 pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	9.69		7.53
58	32.50	4-甲基十四烷 tetradecane, 4-methyl-			0.50
59	32.80	2-甲基十七烷 heptadecane, 2-methyl-			0.63
60	32.83	二十八烷 octacosane	1.01		
61	33.14	3-甲基十七烷 heptadecane, 3-methyl-			0.53
62	34.53	十八烷 octadecane	1.85	0.80	1.67
63	34.78	2,6,10,14-四甲基十五烷 pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-			2.37
64	34.80	2,6,10,14-四甲基十六烷 hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	3.97	1.36	2.26
65	34.87	二十烷 eicosane	3.34		
66	39.20	二十一烷 heneicosane	0.60		
67	39.92	2,6,10-三甲基十六烷 hexadecane, 2,6,10-trimethyl		1.59	
68	54.07	二十二烷 docosane	0.93	0.51	0.28
69	56.75	二十九烷 nonacosane		1.04	0.38
70	56.77	二十五烷 pentacosane	0.82		
71	58.72	三十二烷 dotriacontane			0.21
72	58.75	四十烷 tetracontane	0.53		
73	9.39	甘菊环 azulene	1.45	2.63	11.62
74	33.59	石竹烯 caryophyllene	2.11		2.11
75	39.93	1-二十六烯 1-hexacosene	3.58		
76	49.95	(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-		1.21	
77	59.91	反式角鲨烯 2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-	0.48	1.32	0.64
78	24.69	2-甲基-1-(1,1-甲基乙基)-2-甲基丙二醇丙酸 propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester			0.29
79	21.64	二苯并呋喃 dibenzofuran			0.34
80	27.32	8-烯 6,6,7,7-四氧乙炔三环[3.2.2.0(2,4)]壬烷 tricyclo[3.2.2.0(2,4)]non-8-ene-6,6,7,7-tetracarbonitrile			0.84
81	38.23	4-十八烷基吗啉 morpholine, 4-octadecyl-	1.87		
82	41.32	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	3.28	5.51	0.82
83	57.05	邻苯二甲酸二异辛酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester		1.14	0.29
84	37.05	邻苯二甲酸二异丁酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	2.09	2.15	1.07
85	47.71	十一烷酸异丙酯 undecanoic acid isopropyl ester, 10-hydroxy-11-morpholin-4-yl-	0.98		
86	54.01	4-十八烷基吗啉 morpholine, 4-octadecyl-			0.20
87	57.08	邻苯二甲酸二(a-乙基己酯) 1,2-benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	0.42		
88	40.27	十六烷酸甲酯 hexadecanoic acid, methyl ester	0.66	0.39	0.53
89	61.03	3,5-二烯胆甾 cholesta-3,5-diene		0.57	
90	39.48	二甲十八胺 1-octadecanamine, N,N-dimethyl-	1.09		

PA 纤维头共鉴定出 41 个化合物, 占总峰面积的 83.61%。其中含酸类化合物 8 个, 占总峰面积的 37.18%; 酮类化合物 6 个, 占总峰面积的

13.94%; 酯类 4 个, 占总峰面积的 9.19%; 烷烃 8 个, 占总峰面积的 7.45%; 烯烃 3 个, 占总峰面积的 5.16%。

PDMS 纤维头共鉴定出 40 个化合物, 占总峰面积的 94.63%。其中含烷烃 17 个, 占总峰面积的 40.56%; 酮类化合物 4 个, 占总峰面积的 16.63%; 酸类化合物 2 个, 占总峰面积的 13.69%; 酯类 5 个, 占总峰面积的 7.43%; 烯烃 4 个, 占总峰面积的 7.62%。

PDMS-DVB 纤维头共鉴定出 53 个化合物, 占总峰面积的 89.10%。其中含烷烃 25 个, 占总峰面积的 37.64%; 烯烃 4 个, 占总峰面积的 14.66%; 萘类化合物 5 个, 占总峰面积的 12.10%; 酮类化合物 4 个, 占总峰面积的 9.89%; 芳香族化合物 4 个, 占总峰面积的 7.42%。

3 讨论

PDMS 由聚二甲基硅氧烷构成, 主要用于分析非极性挥发性物质; PDMS-DVB 由二乙烯基苯构成, 主要用于分析极性挥发性物质; PA 由聚丙烯酸酯构成, 主要用于分析极性半挥发性物质。本实验显示 PDMS 对半枝莲挥发性成分中的烷烃及酮类有较高选择性; PA 对酸类和酮类有较高选择性; PDMS-DVB 对萘类、烷烃、烯烃和酮类化合物有较高选择性。可见不同的纤维头的吸附性能差异明显, 因此, 在用 HS-SPME-GC-MS 法进行中药挥发性成分分析过程中, 应针对不同的研究对象选择适用的萃取纤维。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 210-212.
[2] Cha Y Y, Lee E O, Lee H J, et al. Methylene chloride

fraction of *Scutellaria barbata* induces apoptosis in human U937 leukemia cells via the mitochondrial signaling pathway[J]. Clinica Chimica Acta, 2004, 348 (12): 41-48.

[3] Zhao Z H, Song W, Wei Y, et al. Antitumor and anti-angiogenic activities of *Scutellaria barbata* extracts *in vitro* are partially mediated by inhibition of Akt/protein kinase B[J]. Molecular Medicine Reports, 2012, 5(3): 788-792.
[4] Shiau A L, Shen Y T, Hsieh J L, et al. *Scutellaria barbata* inhibits angiogenesis through downregulation of HIF-1 α in lung tumor[J]. Environ Toxicol, 2012, 10: 1-8.
[5] Yu J Q, Lei J C, Yu H D, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Scutellaria barbata* [J]. Phytochemistry, 2004, 65: 8814.
[6] 王兆玉, 汪铁山, 陈飞龙, 等. 半枝莲全草挥发油的 GC-MS 分析[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(7): 1482-1483.
[7] 张福维, 回瑞华, 侯冬岩. 半枝莲挥发性化学成分分析[J]. 质谱学报, 2009, 30(3): 175-178.
[8] 杨文文, 胡金芳, 杨帅, 等. 正交试验优选半枝莲超临界二氧化碳萃取条件及 GC/MS 分析[J]. 现代仪器, 2012, 18(5): 11-14.
[9] 周珊, 赵立文, 马腾蛟, 等. 固相微萃取 (SPME) 技术基本理论及应用进展[J]. 现代科学仪器, 2006(2): 86-90.
[10] 孙海红, 钱叶苗, 宋相丽, 等. 固相萃取技术的应用与研究新进展[J]. 现代化工, 2011, 31(2): 21-24.

[责任编辑 顾雪竹]