

顶空固相微萃取-气质联用法分析新鲜假蒟挥发性化学成分

王道平¹, 危莉², 彭小冰², 蒋太白², 冯靖², 危英^{2*}

(1. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550002;
2. 贵阳中医学院药理学系, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 研究新鲜假蒟的挥发性化学成分。方法: 采用顶空固相微萃取-气质联用技术(HS-SPME-GC-MS)。结果: 共鉴定出 48 种化合物, 按峰面积比占假蒟挥发油化学成分的 88.7%, 其中 β -月桂烯(34.4%)、 α -水芹烯(5.5%)、柠檬烯(8.9%)、芳樟醇(6.0%)为主要化合物。结论: 方法具有简便、快速、准确、样品量小等特点, 适用于新鲜假蒟挥发性化学成分的快速测定。

[关键词] 假蒟; 顶空固相微萃取; 气质联用; 挥发性成分;

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0142-04

[doi] 10.11653/syfyj2013100142

SPME-GC-MS Analysis of Volatile Constituents from Fresh *Piper sarmentosum*

WANG Dao-ping¹, WEI Li², PENG Xiao-bing², JIANG Tai-bai², FENG Jing², WEI Ying^{2*}

(1. Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and
Chinese Academy of Science, Guiyang 550002, China;

2. Department of Pharmacy, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the volatile constituents from fresh *Piper sarmentosum*. **Method:** The volatile constituents from fresh *P. sarmentosum* were analyzed by head-space solid micro-extraction, coupled with gas chromatography-mass spectrometer (SPME-GC-MS) for the first time. **Result:** Forty-eight compositions were separated and identified, among which β -myrcene acetate, α -phellandrene, limonene, *L*-linalool were major compounds, the content was 34.4%, 5.5%, 8.9%, 6.0%, respectively. **Conclusion:** Comparing with traditional steam distillation, the present method is simple, rapid and less sample-demanding, can be used for the fast analysis of volatile compounds in fresh *P. sarmentosum*.

[Key words] *Piper sarmentosum* Roxb; SPME; C-MS; volatile constituents

假蒟别名蛤蒟、假蒟、哈蒟、荜拔子、猪拔菜、钻骨风, 是胡椒科胡椒属多年生匍匐草本, 在我国主要分布在福建、广东、海南、广西、贵州、西藏南部等地。其味苦, 性温, 具有祛风散寒、行气止痛、活络消肿的

功能, 其鲜叶或全草主治风寒咳嗽, 风湿痹痛, 脘腹胀满, 泄泻痢疾, 产后脚肿, 跌打损伤等病症^[1]。最新研究表明假蒟根的乙醇提取物具有抗感染、止痛和退热的作用^[2]。Hussain K 等研究发现假蒟叶乙醇提取物比水提物具有较好的抗氧化活性, 其 EC₅₀ 为 38 g·mL⁻¹, 所有提取物均有抗结核活性, MIC/MBC 达 12.5 g·mL⁻¹, 其中叶的乙醇提取物和乙酸乙酯提取物的抗结核活性为 MIC/MBC 3.12 g·mL⁻¹^[3]。Riditid W 等研究也发现假蒟叶乙醇提取物具有阻断鼠的偏侧隔神经作用^[4]。据报道在我国民间, 假蒟鲜叶或全草常用来治疗哮喘、腹痛腹

[收稿日期] 20120427(002)

[第一作者] 王道平, 助理研究员, 从事天然产物化学分析研究, Tel: 0851-3806848, E-mail: wdp_7897@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 危英, 博士, 教授, 从事中药与民族药化学及新药研究, Tel: 0851-5652704, E-mail: weiyi1969@hotmail.com

胀、跌打肿痛、外伤出血气等病症^[1],为进一步了解新鲜假葎全草化学成分,笔者采用顶空固相微萃取-气质联用法分析滇产新鲜假葎挥发性化学成分,为假葎药理活性的深入研究与开发提供理论依据。

1 材料

假葎于2012年2月采集于云南省保山市高黎贡山,经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为 *Piper sarmentosum* Roxb,实验样本(No. 02/2012/PS)保存于贵阳中医学院植化教研室。

HP6890/5975C型GC/MS联用仪(美国安捷伦公司),手动固相微萃取(SPME)装置(美国Supelco公司),StableFlex复合萃取纤维头:2 cm-50/30 μm DVB/CAR/PDMS(美国Supelco公司)。

2 方法

2.1 方法与结果

2.1.1 挥发性物质提取 取样品约1.0 g,置于10 mL固相微萃取仪采样瓶中,插入装有2 cm-50/30 μm DVB/CAR/PDMS StableFlex纤维头的手动进样器,在85 $^{\circ}\text{C}$ 左右顶空萃取30 min取出,快速移出萃取头并立即插入气相色谱仪进样口(温度250 $^{\circ}\text{C}$)中,热解析3 min进样。

2.1.2 分析条件

2.1.2.1 色谱条件 HP-5MS弹性石英毛细管柱(0.25 μm \times 0.25 mm \times 30 m),载气为高纯He(99.999%),载气流量1.0 mL \cdot min⁻¹,汽化室温度

250 $^{\circ}\text{C}$,色谱柱初始温度45 $^{\circ}\text{C}$ (保留2 min),以4 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至220 $^{\circ}\text{C}$,保持2 min,柱前压7.62 psi,不分流进样,溶剂延迟时间1.5 min。

2.1.2.2 质谱条件 电离方式为EI源,离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$,电子能量70 eV,四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$,接口温度280 $^{\circ}\text{C}$,发射电流34.6 μA ,倍增器电压1 125 V,质量扫描范围 m/z 20~450。对总离子流图中的各峰经质谱计算机数据系统检索及核对Nist2005和Wiley275标准质谱图,确定挥发性化学成分,用峰面积归一化法测定了各化学成分的相对质量分数。

3 结果与讨论

3.1 结果 假葎总离子流图见图1。从滇产新鲜假葎挥发性成分中分离鉴定出48种化合物,按峰面积比占总挥发性成分的88.7%,其中相对含量>3%的成分有 α -月桂烯(34.4%)、 α -水芹烯(5.5%)、柠檬烯(8.9%)、芳樟醇(6.0%),结果见表1。

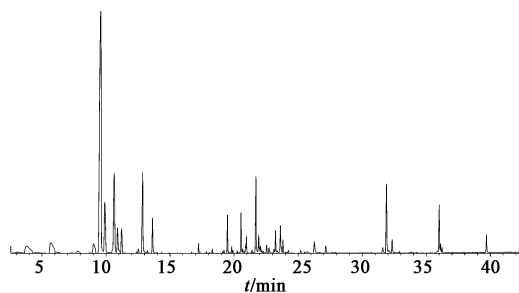


图1 SPME-GC-MS法测定新鲜假葎挥发性成分总离子流

表1 新鲜假葎挥发性成分

No.	成分	分子式	相对分子量	相对含量/%
1.	pyrrole 吡咯	$\text{C}_4\text{H}_5\text{N}$	67	2.861
2.	(<i>E</i>)-2-hexenal (<i>E</i>)-2-己烯醛	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$	98	2.898
3.	α -pinene α -蒎烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.460
4.	β -pinene β -蒎烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	1.601
5.	β -myrcene β -月桂烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	34.42
6.	α -phellandrene α -水芹烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	5.503
7.	limonene 柠檬烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	8.604
8.	(<i>E</i>)- β -ocimene (<i>E</i>)- β -罗勒烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	1.949
9.	(<i>Z</i>)-ocimene (<i>Z</i>)-罗勒烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	2.039
10.	α -terpinene α -萜品烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.120
11.	<i>Z</i> -nonanone 壬酮	$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}$	142	0.350
12.	<i>L</i> -linalool <i>L</i> -芳樟醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154	5.958
13.	(<i>E</i>)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (<i>E</i>)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯	$\text{C}_{11}\text{H}_{18}$	150	0.146
14.	allo-ocimene 异罗勒烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	2.076
15.	neoolocimene 别罗勒烯	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	136	0.047

续表 1

No.	成分	分子式	相对分子量	相对含量/%
16.	Z-methoxy-3-(1-methoxypropyl)-pyrazine 顺甲氧基-3-(1-甲氧基丙基)-吡嗪	C ₉ H ₁₄ N ₂ O	166	0.015
17.	linalyl acetate 乙酸芳樟酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.413
18.	(E)-citral 反式柠檬醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.021
19.	(-)-bomyl acetate 乙酸龙脑酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.061
20.	2-undecanone 2-十一烷酮	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.201
21.	methyl geranate 香叶酸甲酯	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182	0.094
22.	bicycloelemene 环榄香烯	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182	1.759
23.	α-cubebene α-萆澄茄烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.286
24.	neryl acetate 橙花醇乙酸酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.032
25.	cyclosativene 环苜蓿烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.123
26.	isolekene 异喇叭烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.038
27.	α-copaene α-可巴烯	C ₁₅ H ₂₄	204	1.962
28.	geranyl acetate 乙酸香叶酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	1.962
29.	β-bourbonene β-波旁烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.097
30.	β-elemene β-榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.908
31.	α-gurjunene α-古芸烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.161
32.	β-caryophyllene β-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	4.347
33.	β-cubebene β-萆澄茄烯	C ₁₅ H ₂₄	204	1.036
34.	(+)-calarene 白菖烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.242
35.	selina-7,(11)-diene 蛇床-7,(11)-二烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.365
36.	α-humulene α-葎草烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.425
37.	aromadendrene 香橙烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.255
38.	α-amorphene). α-紫穗槐烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.274
39.	germacrene D 吉马烯 D	C ₁₅ H ₂₄	204	1.203
40.	bicylogermacrene 环吉马烯	C ₁₅ H ₂₄	204	1.265
41.	α-farnesene α-金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.649
42.	β-cadinene δ-杜松萜烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.151
43.	nerolidol 橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.180
44.	caryophyllene oxide 石竹烯氧化物	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.147
45.	methyl palmitate 棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.081
46.	palmitic acid 棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.123
47.	methyl linoleate 亚油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	0.502
48.	methyl oleate 油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	0.280

3.2 讨论 采用固相微萃取 (SPME) 样本采集技术, 经复合萃取纤维头的吸附/脱附, 富集了实验样品的挥发性和半挥发性成分, 准确地反映出新鲜假蒟挥发性组分的组成。由表 1 可以看出新鲜假蒟含有烯炔类 (72.5%)、醇类 (6.1%)、醛酮类 (3.5%)、杂环化合物 (2.9%)、酯类 (3.4%)、有机酸 (0.1%) 等 6 类成分, 其中单萜类成分 β-月桂烯含量高达

34.4%。宋艳平等采用常规水蒸气蒸馏法提取出假蒟精油, 经气相色谱-质谱联机分析, 鉴定出 67 种化合物, 它们主要是 2,4,5-三甲氧基-1-丙烯基苯 (23.20%), 顺-石竹烯 (13.33%), 1,2-二甲氧基-4-(1-丙烯基) 苯 (12.63%), 细辛脑 (9.94%), 4-甲氧基-6-(2-丙烯基)-1,3-苯并二恶茂 (5.71%), δ-杜松烯 (3.03%) 等^[5]。由此可见, 新鲜假蒟固相微萃取

10 个产地核桃仁中核苷类成分的含量测定

李中桂^{1*}, 郭小华², 曹丽萍³, 王新雨¹

(1. 广东岭南职业技术学院, 广州 510663;

2. 赣南医学院, 江西赣州 341000; 3. 深圳市宝安中医院, 广东深圳 518133)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 同时分离测定了核桃仁中胞苷、尿苷、鸟苷、腺苷的含量。方法: 采用 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以甲醇-10 mmol·L⁻¹ 乙酸铵为流动相梯度洗脱, 流速 0.5 mL·min⁻¹, 检测波长 260 nm, 柱温 30 °C, 测定了 10 个产地核桃仁中胞苷、尿苷、鸟苷、腺苷的含量。结果: 4 种核苷类成分在各自线性范围内, 峰面积值与进样量呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 3\sim 0.999\ 9$); 回收率为 98%~101% (RSD < 3%), 结论: 方法简便快速、结果准确、重复性和稳定性好, 可为核桃的含量测定提供参考。

[关键词] 核桃仁; 核苷类成分; 高效液相色谱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0145-04

[doi] 10.11653/syjf2013100145

Determination of Nucleosides Compounds in Walnut Kernel from 10 Different Regions

LI Zhong-gui^{1*}, GUO Xiao-hua², CAO Li-ping³, WANG Xin-yu¹

(1. Guangdong Lingnan Institute of Technology, Guangzhou 510663, China;

2. Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China;

3. Baoan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518133, China)

[收稿日期] 20120605(011)

[通讯作者] * 李中桂, 硕士, 助教, 从事中药新药开发与研究, Tel: 020-22305740, E-mail: lizhongguixiejia@163.com

与水蒸汽蒸馏法所得挥发性主要成分差异性较大。 β -月桂烯具有抗氧化活性和致癌作用, 口服 β -月桂烯将诱发鼠的肾、鼻和肝脏非肿瘤引起的病变^[6-7]。因此我国民间假药新鲜全草常用于外用, 而其水煎剂常作为内服药^[1], 具有科学的道理。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草第 3 卷. [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 2045.
- [2] Sireeratawong S, Vannasiri S, Sritiwong S, et al. Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antipyretic effects of the ethanol extract from root of *Piper sarmentosum* Roxb [J]. J Med Assoc Thai, 2010, 93 Suppl 7: S1.
- [3] Hussain K, Ismail Z, Sadikun A, et al. Antioxidant, anti-TB activities, phenolic and amide contents of standardised extracts of *Piper sarmentosum* Roxb [J]. Nat Prod Res, 2009, 23(3): 238.

- [4] Ridditid W, Rattanaprom W, Thaina P, et al. Neuromuscular blocking activity of methanolic extract of *Piper sarmentosum* leaves in the rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation [J]. J Ethnopharmacol, 1998, 61(2): 135.
- [5] 宋艳平, 徐明忠, 梁勇. 假药挥发油化学成分气质联用分析研究 [J]. 分析实验室, 2006, 25(1): 24.
- [6] Ciftci O, Ozdemir I, Tanyildizi S, et al. Antioxidative effects of curcumin, β -myrcene and 1,8-cineole against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver [J]. Toxicol Ind Health, 2011, 27(5): 447.
- [7] National Toxicology Program. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of beta-myrcene (CAS No. 123-35-3) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage studies) [J]. Natl Toxicol Program Tech Rep Ser, 2010, (557): 1.

[责任编辑 顾雪竹]