

GC-MS 分析测定乌骨藤挥发性成分

李淳, 王晓杰*, 李双石, 曹奇光, 谢国莉
(北京电子科技职业学院, 北京 100029)

[摘要] 目的: 研究乌骨藤挥发性成分。方法: 采用石油醚和乙醚作为溶剂, 用索氏提取法提取挥发性成分, 气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)鉴定其化学成分。结果: 采用石油醚作为溶剂鉴定出 24 种化合物, 占挥发成分的 55.43%, 其中脂肪酸占 75.10%, 烷烃类占 11.91%; 乙醚作为溶剂提取鉴定出 24 种化合物, 占 60.43%, 脂肪酸占 38.98%, 烷烃类占 39.27%。结论: 测定了乌骨藤挥发性成分, 为进一步研究乌骨藤成分提供了理论依据。

[关键词] 乌骨藤; GC-MS; 索氏提取法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0094-04

GC-MS Analysis of Volatile Components of *Marsdenia tenacissima*

LI Bo, WANG Xiao-jie*, LI Shuang-shi, CAO Qi-guang, XIE Guo-li
(College of Bioengineering, Beijing Polytechnic, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To study volatile components of *Marsdenia tenacissima*. **Method:** Soxhlet extraction method with petroleum ether and ethyl ether were accompanied with gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) to analyze the volatile components respectively. **Result:** 24 compounds identified by GC-MS with petroleum ether accounted for 55.43% of all volatile components; fatty acids were 75.10% and alkanes were 11.91%; 24 compounds identified with ethyl ether accounted for 60.43%; fatty acids were 38.98% and alkanes were 39.27%. **Conclusion:** The study provides useful data for further analysis of components of *Marsdenia tenacissima*.

[Key words] *Marsdenia tenacissima*, GC-MS, Soxhlet extraction method

乌骨藤系萝藦科牛奶菜属植物通光藤的藤茎^[1], 分布于云南、贵州、广西等地; 性味苦, 微寒, 具清热解毒、止咳平喘、消炎镇痛等功效, 可用于治疗肺炎、慢性支气管炎、哮喘等^[2-3]。现代药理临床证实本品具有调节免疫功能、抗肿瘤等作用^[4], 目前其单味药材制成的注射液作为治疗消化道癌的一线药物广泛应用于临床^[5], 是临床应用的抗肿瘤药

物之一^[6-7]。关于乌骨藤中的化学成分研究报道很多, 其含有多种甾体酯苷、生物碱、有机酸、多糖、树脂及色素等化学成分, 能干扰癌细胞核酸以及 DNA 合成, 抑制癌细胞发展, 具有广谱抗癌作用^[8-9], 而关于采用索氏提取法提取并分析乌骨藤的挥发性成分详细分析研究没有见报道。

本研究采用索氏提取法, 溶剂分别为石油醚和乙醚, 对乌骨藤中的挥发性成分进行提取, 并利用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对挥发性成分进行分析与鉴定, 为综合评价乌骨藤的药用价值提供客观的理论依据和技术支持。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 7890A GC/5975C MS 气相色谱/质谱仪(美国 Agilent 公司); Laborato 4000 efficient 型旋转蒸发器(德国海道夫仪器有限公司); L600 型台式低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); ZKSY-6 型恒温水浴锅(郑州长城科工

[收稿日期] 20120701(007)

[基金项目] 北京市中青年骨干人才培养项目(201008102); 北京市教委科技计划面上项目(KM201110858003)

[第一作者] 李淳, 讲师, 工学博士, 从事生物化学及仪器分析研究, Tel: 010-84613032, E-mail: libo030409@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 王晓杰, Tel: 010-84642625, E-mail: wxj0045@126.com

贸有限公司)。

1.2 试药 乌骨藤购于亳州市常富药业销售有限公司,经中国中医科学院中药研究所生药学教研室何希荣老师鉴定为萝藦科植物通光藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb) Wight et Arn 的藤茎,凭证标本(20120416)存放于中国中医科学院中药研究所;乙醚、石油醚均为分析纯(北京化工厂),水为二次蒸馏水。

2 方法

2.1 样品的制备 准确称取乌骨藤粉 10.00 g 于滤纸筒中,放于索氏提取器中,分别加入 150 mL 乙醚和石油醚,于 80 °C 水浴中提取 8 h。放冷,过滤,将滤液放入旋转蒸发仪中浓缩至 1 mL,待用。

2.2 气相色谱-质谱联用仪分析条件 气相色谱: J&W DB-5 石英毛细柱(0.5 μm × 0.25 mm, 30 m);升温程序(100 °C 保持 2 min,以 5 °C · min⁻¹ 升至 200 °C,然后以 2 °C · min⁻¹ 升至 260 °C,保持 10 min);载气(He)流速 1 mL · min⁻¹,压力 7.157 4 Psi,进样量 1 μL,不分流。

质谱条件:电子轰击(EI)离子源,电子能量 70 eV,传输线温度 250 °C,离子源温度 230 °C,母离子 *m/z* 285,激活电压 1.5 V,质量扫描范围 *m/z* 35 ~ 450。

3 结果与讨论

3.1 样品鉴定结果 分别吸取乌骨藤样品溶液

1 μL 进样,将两种溶剂提取的挥发性成分用 GC-MS 进行分析鉴定。采用石油醚以及乙醚索氏提取法测定的总离子流图如图 1,2 所示,基本上实现了峰的分。

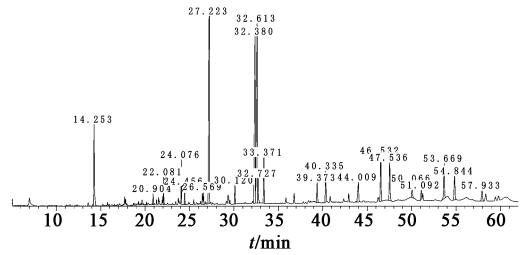


图 1 石油醚提取乌骨藤中挥发成分的总离子流

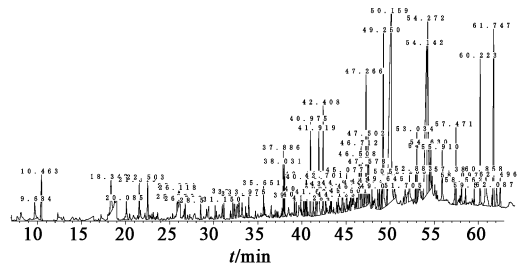


图 2 乙醚提取乌骨藤中挥发成分的总离子流

根据石油醚、乙醚提取乌骨藤中挥发成分各峰对应的质谱图,经过计算机质谱数据库(NIST08.L)检索,与标准谱图对照、比较,确认了挥发成分的组成,并按面积归一化计算各峰面积的相对百分含量,结果见表 1,2。

表 1 石油醚提取乌骨藤中挥发成分的鉴定

No.	保留时间 /min	化合物	分子式	相对含量 /%
1	14.253	3-苯基 2-丙烯酸 2-propenoic acid, 3-phenyl	C ₉ H ₈ O ₂	4.47
2	20.904	2-萘甲醇 2-naphthalenemethanol	C ₁₁ H ₁₀ O	0.86
3	22.081	十四酸 tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1.11
4	24.076	9-十二碳烯酸 9-dodecenoic acid	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	1.38
5	24.450	十五酸 pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	1.24
6	26.569	棕榈油酸(Z)-9-hexadecenoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	0.72
7	27.223	棕榈酸 hexadecanoic acid ¹⁾	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	8.84
8	29.399	顺-10-十七碳烯酸 cis-10-heptadecenoic acid	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	0.88
9	30.120	十七酸 heptadecanoic acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.84
10	32.380	亚油酸(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z) ¹⁾	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	10.35
11	32.613	油酸(9-十八碳烯酸)9-octadecenoic acid(Z) ¹⁾	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	10.45
12	32.727	8-十八碳烯酸 8-octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1.22
13	33.371	硬脂酸(十八酸)octadecanoic acid ¹⁾	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1.44
14	35.851	二十二烷 docosane	C ₂₂ H ₄₆	0.53
15	36.781	十九酸 nonadecanoic acid	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.50

续表 1

No.	保留时间 /min	化合物名称	分子式	相对含量 /%
16	39. 373	四十三烷 tritetracontane	C ₄₃ H ₈₈	0. 88
17	40. 335	花生酸(二十酸) eicosanoic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	1. 26
18	46. 532	二十烷 eicosane ¹⁾	C ₂₀ H ₄₂	1. 42
19	47. 536	山嵛酸(二十二酸) docosanoic acid	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	1. 93
20	50. 065	二十三烷 tricosane	C ₂₃ H ₄₈	0. 73
21	51. 092	二十三酸 tricosanoic acid	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	0. 84
22	53. 669	三十烷 triacontane ¹⁾	C ₃₀ H ₆₂	1. 55
23	54. 844	二十四酸 tetracosanoic acid	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	1. 34
24	57. 933	二十一烷 heneicosane	C ₂₁ H ₄₄	0. 65

注: ¹⁾ 为石油醚和乙醚两种溶剂共同鉴定出的成分。

表 2 乙醚提取乌骨藤中挥发成分的鉴定结果

No.	保留时间 /min	化合物名称	分子式	相对含量 /%
1	18. 348	2-甲基-2-丁烯酸 2-butenic acid, 2-methyl-	C ₅ H ₈ O ₂	1. 24
2	20. 085	D-二戊烯 D-limonene	C ₅ H ₆	0. 63
3	20. 419	苯甲醇 benzyl Alcohol	C ₇ H ₈ O	0. 86
4	21. 353	壬酸 nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	1. 15
5	22. 113	十四酸 tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0. 88
6	23. 951	香兰素 vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	1. 24
7	25. 233	邻苯二甲酸异壬酯 phthalic acid, isobutyl nonyl ester	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	0. 83
8	25. 267	邻苯二甲酸二异丁酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	1. 52
9	27. 173	棕榈酸(十六酸) hexadecanoic acid ¹⁾	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	8. 30
10	32. 884	亚油酸(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸(Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid ¹⁾	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	9. 83
11	32. 975	油酸(9-十八烯酸) 9-octadecenoic acid ¹⁾	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	2. 65
12	33. 031	11-十八碳烯酸 11-octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0. 87
13	33. 332	硬脂酸(十八酸) octadecanoic acid ¹⁾	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1. 91
14	34. 321	十八烷 octadecane	C ₁₈ H ₃₈	2. 20
15	37. 886	二十八烷 octacosane	C ₂₈ H ₅₈	2. 73
16	40. 975	十八醛 octadecanal	C ₉ H ₁₆ O ₂	3. 35
17	41. 858	7-己基-二十二烷 docosane, 7-hexyl	C ₂₈ H ₅₈	3. 33
18	42. 408	二十五烷 pentacosane	C ₂₅ H ₅₂	3. 61
19	43. 526	4,4-二甲基-5α-胆甾-3-酮 cholestan-3-one, 4,4-dimethyl-, (5. alpha.)	C ₂₉ H ₅₂	0. 84
20	46. 712	二十烷 eicosane ¹⁾	C ₂₀ H ₄₂	2. 09
21	49. 645	二十四烷 tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	1. 03
22	50. 008	1-氯二十七烷 heptacosane, 1-chloro	C ₂₇ H ₅₅ Cl	0. 60
23	53. 034	三十烷 triacontane ¹⁾	C ₃₀ H ₆₂	4. 01
24	57. 471	十七烷 heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	4. 73

注: ¹⁾ 为石油醚和乙醚两种溶剂共同鉴定出的成分。

3.2 气相色谱条件的选择 尝试采用柱温 40 ℃, 保持 5 min, 然后以 4 ℃·min⁻¹ 速度升至 260 ℃, 保持 10 min, 结果各谱峰分离结果不理想, 未达到基线分离, 经过反复实验, 最终选定上述实验部分的色谱条件, 并按照优化的条件对石油醚和乙醚提取的成分分别进行了重复 5 次进样试验, 每次 1 μL, 仪器的重复性好, 各峰达到基线分离。

3.3 提取方法的比较 分别采用石油醚、乙醚为提取溶剂, 通过索氏提取法对乌骨藤的挥发成分进行提取, 提取到的成分各有不同。经鉴定, 石油醚溶剂提取出 24 种化合物, 占峰面积的 55.43%, 其中脂肪酸占 75.10%, 烷烃类占 11.91%; 乙醚溶剂提取出 24 种化合物, 占峰面积的 60.43%, 脂肪酸占 38.98%, 烷烃类占 39.27%。两种溶剂各自提取的挥发性成分中, 脂肪酸和烷烃占主要成分, 石油醚作为溶剂提取到的脂肪酸含量较多, 占提取物总含量的 50% 以上, 而乙醚提取到的烷烃类化合物较多些。在石油醚和乙醚两种溶剂都提取到的化合物中, 主要包括亚油酸 (10.35%, 9.83%)、棕榈酸 (8.84%, 8.30%)、油酸 (10.45%, 2.65%) 以及硬脂酸 (1.44%, 1.91%) 等脂肪酸以及二十烷 (1.42%, 2.09%)、三十烷 (1.55%, 4.01%) 等烷烃类化合物。在两种溶剂提取的不饱和脂肪酸中, 除了油酸含量有一定的差别外, 亚油酸及棕榈酸含量基本类似。

3.4 挥发性成分的活性分析 棕榈酸、油酸和亚油酸是乌骨藤中的主要脂肪酸, 其中油酸、棕榈酸等具有调节血脂、降低胆固醇、保护心脏等作用^[10]。亚油酸是人体不能合成的, 亚油酸与其他维生素共同作用下, 有明显的抗癌作用, 能明显抑制淋巴瘤、腹水癌、乳腺癌的生长; 降低血液和肝脏胆固醇的浓度, 抑制动脉粥样硬化; 预防高血压; 抗氧化和改善肉品质; 强化免疫功能; 抑制脂肪沉积, 减肥增肌等作用^[11]。

结果表明, 以石油醚和乙醚作为溶剂, 采用索氏提取法提取到挥发性化合物成分各有不同。石油醚鉴定出 24 种化合物, 占峰面积的 55.43%, 其中脂肪酸占 75.10%, 烷烃类占 11.91%; 乙醚溶剂提取出 24 种化合物, 占峰面积的 60.43%, 脂肪酸占 38.98%, 烷烃类占 39.27%。由于不同产地的乌骨

藤成分含量不同, 以及乌骨藤放置时间较长, 本方法提取到的挥发性成分含量不是很高, 因此有待于进一步研究不同产地以及放置时间长短对乌骨藤含量的影响。研究结果表明采用不同的提取溶剂, 鉴定出的脂肪酸以及烷烃类化合物的含量有较大差别, 可以考虑综合利用提取溶剂, 优化提取方法。乌骨藤挥发性成分含有多种不饱和脂肪酸, 能够降低血脂、降低高血压、软化血管、减少心脏和脑血管栓塞、促进人体免疫机能以及抗炎、保护视力、健脑、调控基因表达、降低胆固醇、抗肿瘤等作用^[12], 关于其药理活性有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 刑旺兴, 程荣珍, 陈斌, 等. 乌骨藤常用混用品种辨析[J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(1): 33.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典. 下册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 1976.
- [3] 赵陆华, 相秉仁, 李晓晶, 等. 乌骨藤药材脂溶性成分的 GC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(20): 2146.
- [4] 王月敏, 夏素霞. 乌骨藤药材中绿原酸的含量测定方法研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(7): 12.
- [5] 刑旺兴, 程荣珍, 陈园昕, 等. 通光藤的药理作用与临床应用[J]. 中南药学, 2003, 1(4): 229.
- [6] 张慧, 裴志, 张修亚, 等. 乌骨藤脂溶性成分抗肿瘤活性及其成分分析[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(24): 3325.
- [7] 倪冲, 裴志东, 张稼小, 等. 乌骨藤中白桦醋酸的提取分离及抗肿瘤活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 172.
- [8] 聂丽华, 沈婷, 余波, 等. 乌骨藤多糖的提取及含量测定[J]. 安徽医药, 2010, 14(2): 167.
- [9] 赵陆华, 相秉仁, 陆红柳. 乌骨藤药材 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2008, 30(8): 1093.
- [10] 王炜, 张伟敏. 单不饱和脂肪酸的功能特性[J]. 中国食物与营养, 2005, (4): 44.
- [11] 杨继红, 李元瑞, 蒋晶. 苹果籽油的超临界 CO₂ 萃取及其脂肪酸含量分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(3): 195.
- [12] 毛峰, 秦振华. 长链多不饱和脂肪酸与人体健康[J]. 中国医药导报, 2006, 3(3): 40.

[责任编辑 顾雪竹]