

顶空-气相色谱-质谱联用分析黄精炮制 过程化学成分的变化

魏征¹, 曾林燕², 宋志前², 曹玉娜¹, 张琳琳², 刘振丽^{2*}

(1. 天津中医药大学中药学院, 天津 300193;

2. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究炮制前后黄精中化学成分的变化。方法: 制备不同炮制时间的酒黄精, 顶空进样-气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术进行分析, 经数据库检索并参考正构烷烃标准品保留指数(RI), 确定化合物结构。应用色谱峰面积归一化法计算各成分的相对百分含量。结果: 生品与各炮制品共有的成分12个, 但每种成分含量不同。与生品比较, 炮制不同时间产生的成分20个, 检测不到的成分7个。结论: 黄精炮制后化学成分组成和含量发生变化。

[关键词] 黄精; 炮制; 顶空进样; 气相色谱-质谱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0115-04

Comparative Analysis of Chemical Constituent from Polygonati Rhizoma before and After Processing by Headspace Injection-GC-MS

WEI Zheng¹, ZENG Lin-yan², SONG Zhi-qian², CAO Yu-na¹,
ZHANG Lin-lin², LIU Zhen-li^{2*}

[收稿日期] 20120528(377)

[基金项目] 国家自然科学基金面上课题(81073050)

[第一作者] 魏征, 硕士研究生, 从事中药分析专业, Tel: 13501184304, E-mail: marshallwee@ hotmail. com

[通讯作者] * 刘振丽, 研究员, 从事中药质量标准研究, Tel: 010-64014411-2503, E-mail: zhenli_liu@ sina. com. cn

90% 折算为 0.27 mg·g⁻¹, 限度应定为每丸不得低于 2.4 mg。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 487.
- [2] Luo L F, Wu W H, Zhou Y J, et al. Antihypertensive effect of *Eucommia ulmoides* Oliv. extracts in spontaneously hypertensive rats [J]. *Journal of Ethnopharmacol*, 2010, 129: 238.
- [3] Hung M Y, Timothy Fu Y C, Shih P H, et al. Du-Zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) leaves inhibits CCl₄-induced hepatic damage in rats[J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44: 1424.
- [4] Zhang R, Liu Z G, Hu S J, et al. Du-Zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) cortex extract prevent OVX-induced osteoporosis in rats[J]. *Bone*, 2009, 45: 553.
- [5] Yen G C, Hsieh C L. Inhibitory effects of Du-Zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) against low-density

lipoprotein oxidative modification [J]. *Food Chem*, 2002, 77: 449.

- [6] Deyama T, Wishibe S, Nakazawa Y, et al. Constituents and pharmacological effects of *Eucommia* and Sibirian ginseng [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2001, 22: 1057.
- [7] Sih C J, Racikumar R R, Huang F C, et al. Letter: Isolation and synthesis of pinoresinol diglucoside, a major antihypertensive principle of Tu-Chung (*Eucommia ulonides* Oliv.) [J]. *American Chem Society*, 1976, 98: 5412.
- [8] 甄汉深, 辛宁, 陈勇, 等. 青娥丸质量控制的实验研究[J]. *中国中药杂志*, 1997, 22(2): 95.
- [9] Xiong Z L, Luo X, L i X Q, et al. RP-HPLC Determination of pinoresinol diglucopyranoside in Qing'e pill extract[J]. *Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2004, 13(2): 138.

[责任编辑 顾雪竹]

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. The Institute of Basic Theory; China Academy of Chinese Medical Sciences; Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the constituent changes of Polygonati Rhizoma before and after processing. **Method:** Polygonati Rhizoma was prepared with wine by stewing for different time. Headspace injection-GC-MS was used and the structures of compounds were identified by Data Base Retrieval and compared with the retention indexes of *n*-alkanes standards. The relative content of every constituent was obtained from the peak area normalization method of chromatographic peaks. **Result:** There are 12 common compounds between raw products and processed products, yet the relative content was different. Compared with raw products, 20 compounds produced and 7 disappeared after different processed for different time. **Conclusion:** The chemical constituents and content have changed in the root of Polygonati Rhizoma before and after processing.

[Key words] Polygonati Rhizoma; processing; headspace injection; GC-MS

黄精为百合科植物滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl、黄精 *P. sibiricum* Red. 或多花黄精 *P. cyrtoneuma* Hua 的干燥根茎。按形状不同,习称“大黄精”、“鸡头黄精”、“姜形黄精”^[1]。采用酒制后用于临床,具有养阴、健脾、补气、补肾润肺等功效^[2],主要用于治疗脾胃气虚,体倦乏力,胃阴不足,口干食少,肺虚燥咳,劳嗽咳血,精血不足,腰膝酸软,须发早白,内热消渴^[1]。黄精中含有多糖、萜醌、皂苷和挥发油等化学成分^[3-5]。黄精炮制后化学成分的变化已进行了一些研究。如黄精与酒黄精水提取液二氯甲烷部分存在成分差异^[6],黄精炮制后多糖含量下降^[7]。

本文采用顶空进样,通过 GC-MS 法,对黄精炮制过程中化学成分的变化进行了研究,为阐明黄精炮制原理提供参考。

1 仪器与材料

GC-MS-QP2010 型气相-质谱联用仪(日本岛津公司),Rxi-5ms 石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),HSS. 86. 50 型顶空进样器(北京博赛德科技有限公司),CX-250 型超声波清洗器(北京医疗设备二厂),Scout II 型电子天平(HAUS 美国)。

黄精采自贵州省黔西南布依族苗族自治州兴仁县,经北京中医药大学中药学院刘春生教授鉴定为百合科植物多花黄精 *P. cyrtoneuma* Hua 的根茎。黄精和酒黄精为实验室依照中国药典方法制备。C₈~C₂₀ 正构烷烃混合标准品(批号 1443129)购自美国 Sigma 公司,氦气购自北京兆格气体科技有限公司。

2 方法

气相色谱条件:Restek Rxi-5 ms 石英毛细管柱

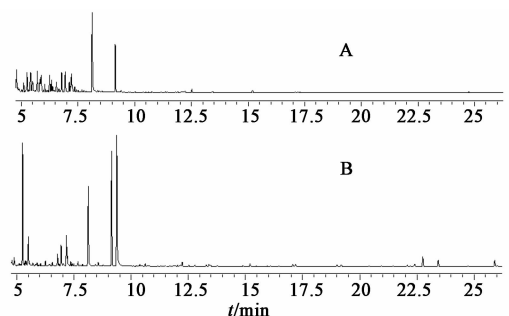
(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),进样口温度为 220 ℃,程序升温(起始温度为 41 ℃,以 10 ℃ · min⁻¹ 升至 160 ℃,保留 1 min,再以 5 ℃ · min⁻¹ 升至 250 ℃,保留 2 min,再以 8 ℃ · min⁻¹ 升至 300 ℃,再保留 8 min),分流比为 1:20,载气为氦气。

质谱分析条件:电离方式 EI,离子源温度 200 ℃,接口温度 220 ℃,电子能量 70 eV,电离电压 1 760 V,质量扫描范围 *m/z* 45 ~ 550。

静态顶空条件:取各供试品 4.0 g,置 10 mL 顶空瓶中,根据预实验结果,120 ℃ 加热 30 min,抽取顶空气体 1 μL。

3 结果

3.1 黄精挥发性成分的总离子流 按上述 GC-MS 条件对挥发性成分进行分析,得其总离子流图,见图 1。



A. 生品; B. 炮制品

图 1 黄精生品与炮制品总离子流

3.2 黄精生品与各炮制品挥发性成分分析 对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得到各组分的质谱图,经过质谱计算机数据检索系统(质谱数据库 NIST05. LIB, NIST05s. LIB, NIST08. LIB, NIST08s.

LIB 和 Wiley9. LIB) 仅计算匹配度 > 80% 的鉴定结果,同时参考 C₈-C₂₀ 正构烷烃混合标准品在此实验条件下的保留指数 (retention index, RI)^[8],用峰面积归一化法计算样品中各组分的相对含量,从而确

定黄精生品和不同炮制时间酒黄精中的化学成分以及各化学成分相对含量。生品与各炮制品共有的成分及相对含量见表 1。

表 1 生品与各炮制品共有的成分及相对含量

| No. | 化合物 | RI | 面积/% | | | | | |
|-----|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 生品 | 4 h | 8 h | 16 h | 24 h | 32 h |
| 1 | 5-甲基糠醛 | 979 | 5.82 | 7.50 | 7.10 | 13.76 | 17.47 | 22.24 |
| 2 | 2-乙酰基-4,5-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷 | 1 028 | 1.81 | 1.44 | 0.50 | 0.44 | 0.35 | 0.34 |
| 3 | 2-羟基-1-甲基环戊烯-3-酮 | 1 041 | 4.57 | 1.61 | 1.77 | 0.94 | 0.74 | 0.81 |
| 4 | 苯基乙醛 | 1 060 | 3.37 | 2.79 | 2.17 | 1.15 | 0.48 | 0.34 |
| 5 | 2-乙酰吡咯 | 1 074 | 5.41 | 3.29 | 4.45 | 2.38 | 1.68 | 1.89 |
| 6 | 正辛醇 | 1 084 | 6.03 | 4.95 | 5.70 | 5.39 | 3.33 | 3.14 |
| 7 | 咪喃羟甲基甲酮 | 1 098 | 1.46 | 1.95 | 1.88 | 3.94 | 4.71 | 3.24 |
| 8 | 2,3-二氢-5-羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮 | 1 101 | 4.97 | 2.00 | 2.29 | 1.64 | 1.43 | 1.86 |
| 9 | 3-乙基-2-羟基-2-环戊烯-1-酮 | 1 110 | 1.81 | 0.89 | 1.09 | 1.19 | 0.99 | 1.10 |
| 10 | 苯乙醇 | 1 130 | 2.07 | 3.58 | 2.25 | 1.02 | 0.68 | 0.82 |
| 11 | 3,5-二羟基-6-甲基-2,3-二氢-4H-吡喃-4-酮 | 1 158 | 25.72 | 25.51 | 22.66 | 16.12 | 13.20 | 12.46 |
| 12 | 2-乙基己基乙酸酯 | 1 223 | 12.21 | 23.05 | 30.23 | 24.81 | 16.39 | 17.78 |
| 总计 | | - | 75.25 | 78.56 | 82.09 | 72.78 | 61.45 | 66.02 |

与生品比较,不同炮制时间新产生的成分及相对含量见表 2。

与生品比较,不同炮制时间检测不到的成分及相对含量见表 3。

表 2 炮制不同时间新产生的成分及相对含量

| No. | 化合物 | RI | 面积/% | | | | | |
|-----|------------------------------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 生品 | 4 h | 8 h | 16 h | 24 h | 32 h |
| 1 | 5-甲基-2(5H)-咪喃酮 | 956 | - | 1.28 | - | - | - | - |
| 2 | 5-甲基咪喃-2(3H)-酮 | 955 | - | - | 0.82 | 1.25 | 1.19 | 1.22 |
| 3 | 四氢化-3,3-二甲基-2-甲基烯咪喃 | 983 | - | - | - | 0.23 | 0.34 | - |
| 4 | 2,4-二羟基-2,5-二甲基-3(2H)-咪喃-3-酮 | 994 | - | - | 2.87 | 3.23 | 4.97 | 3.99 |
| 5 | 2-咪喃基甲乙酮 | 1 024 | - | 0.48 | - | - | - | - |
| 6 | 1-(5-甲基-2-咪喃基)-2-丙酮 | 1 079 | - | - | - | - | 0.23 | 0.34 |
| 7 | 苔黑素 | 1 091 | - | - | - | 0.24 | 0.39 | 0.47 |
| 8 | 2-咪喃基-5-甲基吡咯 | 1 136 | - | - | - | - | - | 0.13 |
| 9 | 茨醇 | 1 186 | - | 0.84 | 1.05 | 0.99 | 0.56 | 0.80 |
| 10 | 5-羟甲基糠醛 | 1 238 | - | 2.46 | 1.26 | 12.79 | 22.92 | 21.51 |
| 11 | 5-乙酰氧基甲基-2-咪喃甲醛 | 1 322 | - | - | - | - | 0.30 | 0.45 |
| 12 | 正十二醇 | 1 420 | - | - | 0.45 | 0.36 | - | - |
| 13 | β -鲨烯 | 1 433 | - | 0.78 | 1.38 | 1.41 | 0.71 | 0.54 |
| 14 | 二异癸邻苯二甲酸酯 | 1 607 | - | - | 0.70 | 0.66 | 0.44 | - |
| 15 | 正十八烷 | 1 710 | - | - | - | - | 0.33 | - |
| 16 | 7,9-二甲基十六烷 | 1 716 | - | - | - | - | 0.49 | - |
| 17 | 辣木子油酸 | 1 967 | - | - | - | - | - | 0.44 |
| 18 | β -榄香烯 | 1 984 | - | - | - | 0.72 | 0.37 | - |
| 19 | 棕榈酸乙酯 | 2 003 | - | 2.19 | 3.07 | 2.02 | 1.87 | 1.80 |
| 20 | 亚油酸甲酯 | 2 164 | - | 0.44 | 1.76 | 1.13 | 1.20 | 1.29 |
| 总计 | | - | - | 8.47 | 13.36 | 25.03 | 36.31 | 32.98 |

表 3 与生品相比炮制不同时间消失的成分及相对含量

| No. | 化合物 | RI | 面积/% | | | | | |
|-----|------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|
| | | | 生品 | 4 h | 8 h | 16 h | 24 h | 32 h |
| 1 | 2-丙基-四氢吡喃-3-醇 | 994 | 5.06 | 4.43 | - | - | - | - |
| 2 | 香豆酮 | 1014 | 1.90 | 1.22 | 0.44 | 0.28 | - | - |
| 3 | 柠檬烯 | 1046 | 3.00 | 0.52 | - | - | - | - |
| 4 | 3-乙酰吡啶 | 1049 | 1.57 | 0.74 | - | - | - | - |
| 5 | 2,5-二甲基-4-羟基-3(2H)-呋喃酮 | 1066 | 0.93 | 0.42 | 0.58 | - | - | - |
| 6 | 3-乙基-2,5-二甲基吡嗪 | 1095 | 2.58 | - | - | - | - | - |
| 7 | 正庚醇 | 1175 | 0.67 | 0.53 | - | - | - | - |
| 总计 | - | 15.71 | 7.86 | 1.02 | 0.28 | - | - | - |

4 讨论

从黄精生品, 4, 8, 16, 24, 32 h 炮制品中, 分别鉴定出 20, 26, 24, 26, 28, 25 个化合物。这些化合物为杂环类、酸类、酯类、烷烃类、醇类、酮类和烯烃类等。主要化学成分包括 5-甲基糠醛, 3, 5-二羟基-6-甲基-2, 3-二氢-4H-吡喃-4-酮, 2-乙基己基乙酸酯和 5-羟甲基糠醛。

表 1 显示生品与各炮制品共同含有的 12 个化合物。其中 5-甲基糠醛、呋喃羟甲基甲酮和 2-乙基己基乙酸酯相对含量随着炮制时间延长基本呈现增加趋势, 而其他 9 个成分基本呈现降低趋势。

表 2 显示 5 个不同炮制时间点共新产生了 20 个化合物, 其中 4, 8, 16, 24, 32 h 酒黄精分别有 7, 9, 12, 15, 12 个, 有些成分只在特定的炮制时间检测到。随着炮制时间的延长含量基本呈现增加趋势的化合物有 6 个, 包括 5-甲基呋喃-2(3H)-酮、四氢化-3, 3-二甲基-2 甲基烯呋喃、苔黑素、5-羟甲基糠醛、棕榈酸乙酯和亚油酸甲酯。随着炮制时间的增加含量先升后下降的成分为 2, 4-二羟基-2, 5-二甲基-3(2H)-呋喃-3-酮和 β -鲨烯。研究表明, 5-羟甲基糠醛随着炮制时间的增加含量是先升后降的, 在 50 h 处含量达到最大^[9]。本实验中, 5-羟甲基糠醛也是随着炮制时间的增加含量先升后降, 但是在 24 h 处含量达到最大。

表 3 显示炮制后检测不到的 7 个化合物, 随着炮制时间的延长这些化合物逐渐检测不到, 至炮制 24 h 全部消失。

本文研究表明, 黄精炮制过程存在化学成分的组成变化, 既有新的成分产生, 也存在已有成分的消失, 同时各成分比例也发生了变化。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010;288.
- [2] 刘玉萍, 付桂芳, 曹晖. 黄精玉竹及其制剂的药学研究进展[J]. 时珍医药国药, 1998, 9(4):371.
- [3] 余红, 张小平, 邓明强, 等. 多花黄精挥发油分析及其生物活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5):4.
- [4] Kato A, Miura T. Hypoglycemic activity of Polygonati Rhizoma in normal and diabetic mice [J]. Biol Pharm Bull, 1993, 16(11):1118.
- [5] Liu F, Liu Y H, Meng Y W, et al. Structure of polysaccharide from *Polygonatum cyrtoneuma* Hua and the antihyperpetic activity of its hydrolyzed fragments [J]. Antiviral Res, 2004, 63(3):183.
- [6] 钟凌云, 张莹, 霍慧君, 等. 黄精炮制前后成分及药效变化初步研究[J]. 中药材, 2011, 34(10):1508.
- [7] 喻雄华, 张大舜. 不同方法炮制的黄精中多糖含量的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(10):1306.
- [8] 张莹, 刘朋, 容蓉, 等. 顶空进样 GC-MS 结合保留指数分析墨旱莲挥发性成分[J]. 化学分析计量, 2010, 19(5):32.
- [9] 杨云, 许闯, 冯云霞, 等. 黄精不同炮制品中 5-羟甲基糠醛的含量测定[J]. 中药材, 2008, 31(1):17.

[责任编辑 顾雪竹]