

固相微萃取-气质联用法分析贵州产贯叶连翘叶挥发性成分

孙建勋¹, 杨飞², 王金梅¹, 康文艺^{1*}

(1. 河南大学中药研究所, 河南 开封 475004; 2. 郑州市食品药品检验所, 郑州 450006)

[摘要] 目的: 研究贯叶连翘叶挥发性成分。方法: 采用固相微萃取技术从贯叶连翘叶中提取挥发油, 并用气相色谱-质谱法 (GC-MS) 结合保留指数法对化学成分分析鉴定, 并用峰面积归一化法测定其相对质量百分含量。结果: 从贯叶连翘叶中鉴定了 41 个化合物, 占挥发性成分的 97.03%。结论: 贯叶连翘叶挥发性成分主要有 γ -衣兰油烯 (12.70%)、 α -姜黄烯 (11.36%)、 δ -葑澄茄烯 (9.09%)、 β -反-金合欢烯 (6.95%)。

[关键词] 贯叶连翘; 挥发性成分; 气相色谱-质谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0096-04

Analysis of Volatile Constituents in Leaves of *Hypericum perforatum* in Guizhou by SPME-GC-MS

SUN Jian-xun¹, YANG Fei², WANG Jin-mei¹, KANG Wen-yi^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China;
2. Zhengzhou Institute for Food and Drug Control, Zhengzhou 450006, China)

[收稿日期] 20110210(004)

[基金项目] 河南省科技厅重点攻关项目(102102310019)

[第一作者] 孙建勋, 高级工程师, 从事中药活性成分及抗衰老药物研究, Tel:0378-3880680, E-mail:lyssjx@sina.com

[通讯作者] * 康文艺, 教授, 从事中药活性成分及新药研究, Tel:0378-3880680, E-mail:kangwenyi@hotmail.com

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 4 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1975:1996.
- [2] Woo M H, Do J C, Son K H. Five spirostanol glycosides from the subterranean parts of *Smilax sieboldii* [J]. J Nat Prod, 1992, 55(8):1129.
- [3] Kubo S, Mimaki Y, Sashida Y, et al. Steroidal saponins from the rhizomes of *Smilax sieboldii* [J]. Phytochemistry, 1992, 31(7):2445.
- [4] 冯峰, 文媛, 优生, 等. 菝葜中黄酮和芪类成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(2):119.
- [5] Yoshikawa M, Xu F M, Morikawa T, et al. Medicinal flowers. XII. ¹⁾ New spirostane-type steroid saponins with antidiabetogenic activity from *Borassus flabellifer* [J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55(2):308.

- [6] Ju Y, Zhong J J. Steroidal saponins from the rhizomes of *Smilax menisoermodia* [J]. Phytochemistry, 1992, 31(4):1349.
- [7] Hu K, Dong A J, Yao X S, et al. A furostanol glycoside from rhizomes of *Dioscorea colletii* var. hypoglauca [J]. Phytochemistry, 1997, 44(7):1339.
- [8] Satoshi Y, Kubo S, Mimaki Y, et al. Steroida saponins from *Smilax riparia* and *S. China* [J]. Phytochemistry, 1992, 31(7):2439.
- [9] Du S H, Liu W Y, Fu T J. et al. Isolation and identification of steroidal sapogenins from total sapogenin of *Dioscorea nipponica* Makino [J]. J Chin Pharmac Sci, 2002, 11(3):59.
- [10] 张均田. 现代药理实验方法学[M]. 北京: 北京医科大学 中国协和医科大学联合出版社, 1998:819, 1434.

[责任编辑 邹晓翠]

[Abstract] Objective: The volatile compounds from the leaves of *Hypericum perforatum* were studied. **Method:** Solid-phase micro-extraction (SPME) was used to extract the volatiles. The chemical constituents were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) coupled with Kovats index. A quantitative analysis in percent was performed by peak area normalization measurements. **Result:** Forty-one compounds (97.03%) were identified from the volatile constituents in the leaves of *H. perforatum*. **Conclusion:** The main constituents were γ -muurolene (12.70%), α -curcumene (11.36%), δ -cadinene (9.09%) and β -trans-farnesene (6.95%).

[Key words] *Hypericum perforatum*; volatile constituents; GC-MS

藤黄科金丝桃属植物贯叶连翘 *Hypericum perforatum* 又名小金丝桃、小叶金丝桃、夜关门和铁帚把,主要分布于贵州、四川、山东和江苏等地^[1]。贯叶连翘全草入药,味苦、辛、性平,可清热解毒、调经止血。化学研究发现萘啶二萜酮类、间苯三酚类和黄酮类化合物为贯叶连翘的主要化学成分^[2-4]。药理作用主要是具有抗抑郁,抗病毒等^[5]。

吕英刚等采用超临界二氧化碳萃取法对山东产贯叶连翘全草挥发油进行研究^[6];王小芳等采用水蒸气蒸馏法对甘肃产贯叶连翘全草挥发油进行了研究^[7];孟祥颖等采用水蒸气蒸馏法对贯叶连翘带花顶生部位和商品浸膏粉进行挥发油的提取和鉴定^[8];李惠成和张宾对利用水蒸气蒸馏法对采集于甘肃的贯叶连翘全草进行研究文献报道^[9];曾虹燕和周朴华采用水蒸气蒸馏法对湖南长沙产贯叶连翘的叶进行挥发油成分研究,发现果叶连翘全草的挥发油成分主要为单萜和倍半萜^[10]。为此,我们利用技术对贵州产贯叶连翘叶挥发性成分进行研究。

1 材料

贯叶连翘叶于2010年6月采集于贵州省贵阳市,由贵阳中医学院陈德媛教授鉴定,标本存于河南大学中药研究所。

美国安捷伦公司 GC 6890 N GC/5975 MS 气相色谱-质谱联用仪,美国 Supelco 公司手动固相微萃取 (SPME) 装置,萃取头为 65 μm 聚二甲基硅氧烷 (PDMS-DVB), C_6 - C_{26} 正构烷烃 (alfa aesar)。

2 方法

使用前先将 SPME 的萃取纤维头在气相色谱的进样口老化 10 min,老化温度 250 $^{\circ}\text{C}$,载气体积流量 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。取阴干贯叶连翘 0.7 g,置于 5 mL 的样品瓶中,盖上盖子,插入 65 μm PDMS 萃取纤维头,于 80 $^{\circ}\text{C}$ 下顶空取样 30 min 后,立即取出,在气相色谱仪进样口 (250 $^{\circ}\text{C}$),脱附 1 min。

2.1 色谱条件 HP-5 MS 石英弹性毛细管柱

(0.25 μm \times 250 μm \times 30.0 m),载气为高纯氮气 (99.999%),流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,色谱柱初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$ (保持 1.0 min),以 3 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 120 $^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min),最后以 4 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 210 $^{\circ}\text{C}$ (保持 10 min),不分流进样。

2.2 质谱条件 电离方式 EI 源,电离能量 70 eV,离子源温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,四级杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$,传输线温度为 280 $^{\circ}\text{C}$,四级杆温度为 150 $^{\circ}\text{C}$,电子倍增器电压 1 765 V。质量扫描范围 m/z 30 ~ 440,谱图检索采用 RTLPEST3.L 和 NIST05.L 进行检索。

2.3 保留指数测定 按照文献 [11-12] 进行 KI (Kovats 保留指数) 计算。

3 结果

按上述实验条件,得到贯叶连翘挥发性成分,采用计算机检索和人工解析各峰相应的质谱图,共鉴定了 42 个化合物,定性结果和相对含量见表 1。

4 讨论

作者利用固相微萃取技术对贵州产贯叶连翘叶挥发性成分的研究与文献报道结果相差极大。吕英刚等利用二氧化碳超临界萃取法对产自山东的贯叶连翘全草挥发油进行研究,鉴定了 47 个化合物 (65%),主要成分是氧化石竹烯 (5.81%)^[6];王小芳等利用水蒸气蒸馏法对采集于甘肃天水的贯叶连翘全草挥发油进行研究,鉴定了 75 个化合物 (76.11%),其中萜类化合物 35 个 (37.8%),主要成分为氧化石竹烯 (7.10%)^[7];孟祥颖等对采集于甘肃通县的贯叶连翘全草水蒸气整理提取挥发油,鉴定了 41 个化合物 (95%),18 个萜类化合物 (42.86%),主要成分为正-十六碳酸 (25.047%) 和植醇 (7.702%)^[8];李惠成和张兵利用水蒸气蒸馏法对甘肃产贯叶连翘全草挥发油的研究,鉴定了 63 个化合物 (69.85%),有 11 个萜类化合物,占所鉴定组分的 23.06%,主要成分为氧化石竹烯 (6.94%)^[9];曾虹燕和周朴华利用水蒸气蒸馏法对

表 1 贯叶连翘叶挥发性成分

No.	化合物	质量分数	KI
1	(Z)-3-hexen-1-ol (Z)-3 己烯-1-醇	1.03	648
2	nonane 壬烷	0.47	699
3	β -myrcene β -月桂烯	0.64	986
4	α -cubebene α -葎澄茄油萜	0.54	1 337
5	ylangene 衣兰烯	0.54	1 358
6	copaene 古巴烯	5.81	1 365
7	bourbonene 波旁烯	0.29	1 371
8	α -gurjunene α -古芸烯	0.28	1 393
9	trans-(-)-5-methyl-3-(1-methylethenyl)-cyclohexene trans-(-)-5-甲基-3-(1-甲基乙烯基)-环己烯	0.37	1 403
10	caryophyllene 石竹烯	3.46	1 405
11	β -cubebene β -葎澄茄油萜	0.51	1 414
12	γ -elemene γ -榄香烯	1.61	1 417
13	α -caryophyllene α -石竹烯	1.22	1 438
14	(+) aromandendrene (+) 香橙烯	1.62	1 442
15	β -trans-farnesene β -反-金合欢烯	6.95	1 448
16	neoisolongifolene 新异长叶烯	1.04	1 459
17	1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene 1,2,4a,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-萘	6.34	1 464
18	di-epi- α -cedrene-(1) 二-表- α -柏木烯	6.90	1 470
19	α -curcumene α -姜黄烯	11.36	1 475
20	β -patchoulene β -绿叶烯	1.97	1 482
21	α -selinene α -蛇床烯	2.07	1 483
22	epizonarene 表圆线藻烯	0.54	1 486
23	α -muurolene α -衣兰油烯	1.90	1 488
24	neo-alloocimene 别罗勒烯	0.55	1 498
25	γ -muurolene γ -衣兰油烯	12.70	1 502
26	δ -cadinene δ -葎澄茄烯	9.09	1 510
27	L-calamenene L-菖蒲萜烯	1.98	1 512
28	cadine-1,4-diene 葎澄茄 1,4-二烯	1.77	1 522
29	β -panasinsene β -人参烯	0.85	1 524
30	α -cadinene α -葎澄茄烯	0.91	1 526
31	γ -selinene γ -蛇床烯	1.37	1 529
32	caryophyllene oxide 氧化石竹烯	0.81	1 567
33	γ -gurjunene γ -古芸烯	0.37	1 588
34	hexadecane 十六烷	0.23	1 598
35	[1aR-(1 α ,7 α ,7 β ,7 β .)]-1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-1H-cyclopropanaphthalene [1aR-(1 α ,7 α ,7 β ,7 β .)]-1a,2,3,5,6,7,7a,7b-八氢-1,1,7,7a-四甲基-1H-环丙基萘	0.79	1 616
36	(-)-aristolene (-)-马兜铃烯	0.82	1 619
37	hinesol 苍术醇	0.35	1 626
38	(+)-epi-bicyclosesquiphellandrene (+)-表-二环倍半水芹烯	1.37	1 630
39	(2R-cis)- α , α ,4a,8-tetramethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-2-naphthalenemethanol 2R-cis)- α , α ,4a,8-四甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢-2-萘甲醇	5.22	1 643
40	humulane-1,6-dien-3-ol 律草烷-1,6 二烯-3-醇	0.24	1 677
41	heptadecane 十七烷	0.15	1 697

产自湖南长沙的贯叶连翘叶挥发油进行研究,鉴定了53个化合物(92.32%),萜类化合物占47.68%,主要成分为石竹烯(19.37%)和大根香叶烯(11.44%)^[10]。

从文献研究分析,国内对贯叶连翘挥发油的研究,主要采用水蒸气蒸馏法提取挥发油,研究材料主要采集于甘肃省境内,研究部位主要是全草,仅有曾虹燕对贯叶连翘叶挥发油进行了研究;从研究结果分析,文献报道中得到的主要成分为氧化石竹烯^[10]。

我们利用固相微萃取技术,从贵州产贯叶连翘叶中分离鉴定了41个化合物,占总组分的97.03%。其中,萜类化合物有37个,占95.15%,主要成分是 γ -衣兰油烯(12.70%)、 α -姜黄烯(11.36%)、 δ -葑澄茄烯(9.09%)和 β -反-金合欢烯(6.95%)等;其他成分为少量的烷烃类化合物(1.88%)。与文献比较,本研究得到的主要成分 γ -衣兰油烯、 δ -葑澄茄烯和古巴烯在文献中多为痕量成分,而文献中的主要成分氧化石竹烯在本研究中仅占鉴定组分的0.81%,并有许多成分未见有文献报道,如二-表- α -柏木烯(6.90%)、 α -姜黄烯(11.36%)和 β -反-金合欢烯(6.95%)等。

上述结果表明,贯叶连翘挥发油因提取方法、部位和产地的不同,挥发油成分的差别较大。

[参考文献]

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第50卷. 第2分册[M]. 北京:科学出版社,1990:67.
- [2] 殷志琦,叶文才,赵守训. 贯叶连翘的化学成分研究[J]. 中草药,2001,32(6):487.
- [3] Verma V, Smelcerovic A, Zuehlke S, et al. Phenolic constituents and genetic profile *Hypericum perforatum* from India [J]. Biochem System Ecology, 2008, 36(3):201.
- [4] Tatsis E C, Boeren S, Exarchou V, et al. Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPME/NMR and /or LC/MS [J]. Phytochemistry, 2007, 68(3):383.
- [5] Mennini T, Gobbi M. The antidepressant mechanism of *Hypericum perforatum*[J]. Life Sci, 2004, 75(9):1038.
- [6] 吕英刚,刘世安,吴敏菊. 山东贯叶连翘挥发油成分分析[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(8):42.
- [7] 王小芳,董晓宁,闫世才. 贯叶连翘挥发性化学成分研究[J]. 西北植物学报,2006,26(6):1259.
- [8] 孟祥颖,郭良,杨明,等. 贯叶连翘挥发油成分的分析[J]. 分析化学研究简报,2003,32(6):689.
- [9] 李惠成,张兵. 西北产贯叶连翘挥发性化学成分研究[J]. 宝鸡文理学院学报,2006,26(3):200.
- [10] 曾虹燕,周朴华. 贯叶连翘挥发性成分分析[J]. 中药材,2000,23(12):752.
- [11] 吴彩霞,邢煜君,曹乃峰,等. 宜昌胡颓子挥发性成分的HS-SPME-GC-MS研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):53.
- [12] 孙慧玲,张倩,李东,等. 固相微萃取/气象色谱法分析锦鸡儿茎挥发性成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):63.

[责任编辑 邹晓翠]