

香附挥发油的提取和 GC/MS 分析

林晓珊, 吴惠勤*, 黄芳, 黄晓兰

(中国广州分析测试中心, 广东省化学危害应急检测重点实验室, 广东 广州 510070)

摘要: 采用中药专用提取剂(PR 溶剂)超声波振荡从香附中提取挥发油, 用 GC/MS 法测定其化学成分和相对含量, 主要成分为 α -可巴烯(1.97%)、香附烯(15.73%)、 α -红没药烯(2.14%)、 α -古芸烯(1.29%)、2-甲氧基-8-甲基-1,4-萘二酮(4.01%)、 β -蛇床烯(17.99%)、氧化- α -依兰烯(3.00%)、4,4 α ,5,6,7,8-六氢-4 α ,5-二甲基-3-(1-甲基乙基)-2(3H)-萘酮(8.11%)、 α -香附酮(26.15%)、长叶松香芹酮(1.11%)等, 这些含量较多的成分占香附挥发油总量的 81.50%, 为建立香附挥发油质量标准提供了科学依据。

关键词: 香附; 挥发油; 气相色谱-质谱法(GC/MS)

中图分类号: O657.63; R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2006)01-40-05

Analysis of Essential Oils from *Cyperus rotundus* L. by GC/MS

LIN Xiao-shan, WU Hui-qin*, HUANG Fang, HUANG Xiao-lan

(China National Analysis Center, Guangdong Key Laboratory of Chemical Emergency Test, Guangzhou 510070, China)

Abstract: The essential oil from *Cyperus rotundus* L. is extracted by supersonic with mixed solvent. The chemical components were identified and their relative contents were measured by GC/MS. The main components are α -copaene (1.97%), cyperene (15.73%), α -bisabolene (2.14%), α -gurjunene (1.29%), 2-methoxy-8-methyl-1,4-naphthalenedione (4.01%), β -selinene (17.99%), oxo- α -ylangene (3.00%), 4,4 α ,5,6,7,8-hexahydro-4 α ,5-dimethyl-3-(1-methyl ethylidene)-2(3H)-naphthalenone (8.11%), α -cyperone(26.15%), longipinocarvone (1.11%), etc. These high content compounds are the characteristic components of *Cyperus rotundus* L., which we recommend as the index of identification and quality estimation of the medicine.

Key words: *Cyperus rotundus* L.; essential oil; GC/MS

香附, 异名雀头香、莎草根, 为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎, 味辛、微甘苦、平。归肝、脾、三焦经。具有疏肝解郁、行气止痛、活血调经之功效。主治肝郁气滞、胸胁

胀痛、月经不调、寒凝气滞疼痛等症^[1]。历代许多医学家均称香附为妇科良药。香附主产于我国山东、浙江、湖南、河南、广东、广西等地。它的有效成分中含有多种单萜、倍半萜及其氧化

物^[1],主要在其挥发油中,因此,对其化学成分进行深入研究,对于指导临床用药和新药开发是非常重要的。因色谱指纹图谱不能反映定性信息,故作者通过对不同批次的香附药材进行反复试验,摸索了样品的前处理方法,采用中药提取剂(PR 溶剂),超声波振荡提取挥发油组分,气相色谱-质谱(GC/MS)测定香附挥发油成分,鉴定出 45 个化合物,既有色谱指纹信息又有定性信息,为香附药材的质量控制提供了科学依据。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

香附:由广州市药材公司提供,经鉴定为香附;中药专用提取剂(PR 溶剂),由广州分析测试中心提供。

美国惠普公司产 HP6890GC/5973iMS 型气相色谱-质谱联用仪。

1.2 样品提取

将粉碎成 20 目的粗粉香附各 50 g 置于 250 mL 烧杯中,分别加入 80 mL 正己烷、乙醚、丙酮、乙醇或 PR 溶剂浸泡,超声波振荡 1 h,过滤,加入 2×40 mL 溶剂重复提取 2 次,合并有机溶剂,加无水硫酸钠除水后分别浓缩至 1 mL,待测。

1.3 GC/MS 分析

1.3.1 GC 条件 色谱柱:DB-1701(30 m×0.35 mm×1.00 μm)弹性石英毛细管柱;升温程序:初始温度 70 ℃,恒温 1 min,以 8 ℃/min 升至 250 ℃,保持 20 min;载气 He;柱前压 50

kPa;分流比 50:1;进样量 1 μL。

1.3.2 MS 条件 EI 离子源;电子能量 70 eV;质量扫描范围 29~450 u;四极杆温度 150 ℃;离子源温度 230 ℃;电子倍增器电压 1 500 V;GC/MS 接口温度 280 ℃;标准质谱图库 Wiley7n.L。

1.3.3 分离与鉴定 香附的 PR 溶剂提取物经气相色谱石英毛细管柱分离,质谱仪记录质谱图,得到 GC/MS 总离子流图。各色谱峰相应的质谱图经计算机谱库检索及人工解析确定其化学结构,并用峰面积归一化法测定其相对含量。

2 结果

通过对不同批次的药材进行反复试验,结果相对稳定,从中选出最有代表性的一批,其香附提取物中共分离出 48 个化合物,总离子流图如图 1 所示。经人工解析质谱图与计算机标准图谱对照,共鉴定出 45 个化合物,采用峰面积归一化法,计算出这些化合物的相对含量(见表 1),其中 α-可巴烯(1.97%)、香附烯(15.73%)、α-红没药烯(2.14%)、α-古芸烯(1.29%)、2-甲氧基-8-甲基-1,4-萘二酮(4.01%)、β-蛇床烯(17.99%)、氧化-α-依兰烯(3.00%)、4,4α,5,6,7,8-六氢-4α,5-二甲基-3-(1-甲基乙烯基)-2(3H)-萘酮(8.11%)、α-香附酮(26.15%)、长叶松香芹酮(1.11%)等,这些含量较大的成分占香附挥发油总量的 81.50%,为建立香附挥发油质量标准提供了科学依据。

表 1 香附挥发油化学组成及其相对含量

Table 1 The qualitative and quantitative results of components of the volatile oil from *Cyperus rotundus* L.

峰号 No.	保留时间 <i>t_R</i> /min	化合物 Compound	分子式 Molecular	<i>M_r</i>	含量/%
1	3.54	α-蒎烯 α-pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.07
2	4.24	β-蒎烯 β-pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.05
3	4.90	柠檬烯 limonene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.07
4	9.34	α-紫罗兰酮 α-ionene	C ₁₃ H ₂₀ O	192	0.27
5	10.01	α-可巴烯 α-copaene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.97
6	10.19	脱氢香树烯 dehydroaromadrene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.28
7	10.39	β-榄香烯 β-elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.48
8	10.57	香附烯 cyperene	C ₁₅ H ₂₄	204	15.73
9	10.69	9,10-脱氢异长叶烯 9,10-dehydro-isolongifolene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.24

续表

峰号 No.	保留时间 t_R /min	化合物 Compound	分子式 Molecular	M_r	含量/%
10	10.99	反式-石竹烯 <i>trans</i> -caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.37
11	11.11	α -蛇床烯 α -selinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.21
12	11.28	别香树烯 alloaromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.14
13	11.37	4-甲基-6,7,8,9-四羟基萘并[2.1-b]噻吩 4-methyl-6,7,8,9-tetrahydronaphtho[2.1-b]thiophene	C ₁₃ H ₁₄ S	202	0.21
14	11.46	α -红没药烯 α -bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.14
15	11.56	α -古芸烯 α -gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.29
16	11.67	8,9-二氢内异长叶烯 8,9-dehydroneoisolongifolene,	C ₁₅ H ₂₂	202	1.48
17	11.73	γ -蛇床烯 γ -selinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.17
18	11.88	2-甲氧基-8-甲基-1,4-萘二酮 2-methoxy-8-methyl-1,4-naphthalenedione	C ₁₂ H ₁₀ O ₃	202	4.01
19	11.98	β -蛇床烯 β -selinene	C ₁₅ H ₂₄	204	17.99
20	12.08	δ -杜松烯 δ -cadinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.43
21	12.15	环状异长叶烯 cycloisolongifolene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.04
22	12.20	1,2,3,5,6,7,8,8 α -八氢-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)-[1S-(1. α , 7. α , 8 α . β)] 萘 1,2,3,5,6,7,8,8 α -octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-[1S-(1. α , 7. α , 8 α . β)]azulene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.13
23	12.33	(3E,5E,8E)-3,7,11-三甲基-1,3,5,8,10-十二碳五烯 (3E,5E,8E)-3,7,11-trimethyl-1,3,5,8,10-dodecapentaene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.74
24	12.91	顺式-菖蒲萜烯 <i>cis</i> -calamenene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.33
25	13.20	α -甜旗烯 α -calacorene	C ₁₅ H ₂₀	200	0.38
26	13.60	甲氧沙林 methoxsalen	C ₁₂ H ₈ O ₄	216	0.26
27	14.18	环氧化马兜铃烯 aristolenepoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.29
28	14.64	香树烯 aromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.53
29	14.99	马兜铃酮 aristolone	C ₁₅ H ₂₂ O	218	1.01
30	15.08	1(5),3-香树二烯 1(5),3-aromadenedradiene	C ₁₅ H ₂₂	202	0.29
31	15.58	环氧化异香树烯 isoaromadendrene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.44
32	15.68	氧化石竹烯 caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.27
33	15.77	葎草烷-1,6-二烯-3-醇 humulane-1,6-dien-3-ol	C ₁₅ H ₂₂ O	218	0.90
34	15.96	2,6-二叔丁基-2,5-环己二烯-1,4-二酮 2,6-di- <i>t</i> -butyl-2,5-cyclohexadiene-1,4-dione	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220	0.28
35	16.00	未知物 unknown			0.85
36	16.10	氧化- α -依兰烯 oxo- α -ylangene	C ₁₅ H ₂₄ O	204	3.00
37	16.27	异长叶烯-5-酮 isolongifolene-5-one	C ₁₅ H ₂₂ O	218	0.81
38	16.38	4,4 α ,5,6,7,8-六氢-4 α ,5-二甲基-3-(1-甲基乙烯基)-2(3H)-萘酮 4,4 α ,5,6,7, 8-hexahydro-4 α ,5-dimethyl-3-(1-methylethylidene)-2(3H)-naphthalenone	C ₁₅ H ₂₂ O	218	8.11
39	16.70	α -香附酮 α -cyperone	C ₁₅ H ₂₂ O	218	26.15
40	16.79	未知物 unknown			0.51
41	16.94	8-氧化-9H-环状异长叶烯 8-oxo-9H-cycloisolongifolene	C ₁₅ H ₂₂ O	218	0.74
42	17.30	1,4-二氢-1,1,4,4-四甲基-2,3-萘二酮 1,4-dihydro-1,1,4,4-tetramethyl-2,3- naphthalenedione	C ₁₄ H ₁₆ O ₂	216	0.69

续表

峰号 No.	保留时间 t_R /min	化合物 Compound	分子式 Molecular	M_r	含量/%
43	17.74	长叶松香芹酮 longipinocarvone	$C_{15}H_{22}O$	218	1.11
44	17.80	邻苯二甲酸二异丁酯 diisobutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	278	2.48
45	17.94	诺卡酮 nootkatone	$C_{15}H_{22}O$	218	0.73
46	18.30	未知物 unknown			0.15
47	18.76	绿花白千层醇 viridiflorol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.80
48	22.98	8-甲氧基补骨素 xanthotoxin	$C_{12}H_8O_4$	216	0.33

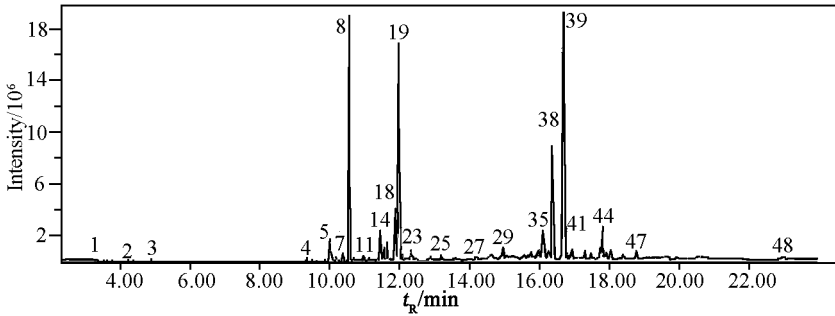


图 1 香附挥发油 GC-MS 总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram (TIC) curve of volatile oil from *Cyperus rotundus* L.

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

选择了正己烷、乙醚、丙酮、乙醇以及 PR 溶剂等不同极性的有机溶剂作提取剂,结果表明,极性弱的正己烷、乙醚利于提取极性较弱的化合物,如单萜、倍半萜类 α -蒎烯、香附烯等;极性较强的丙酮、乙醇利于提取极性较强的化合物,可将脂肪酸等极性大的、非挥发性成分提取出来,干扰分析,所以单一溶剂不理想;而结合了不同极性的混合溶剂则能达到较好的提取效果。经反复试验,摸索出将不同极性的溶剂以一定的比例相混合复配而成,作为中药专用提取剂(PR 溶剂)^[2],能将中药材中复杂的挥发油成分提取出来,结果令人满意。

3.2 本法与其它方法的比较

(1)据文献[3]报道,CO₂ 超临界萃取分离了 123 个峰,但经 GC/MS 鉴定出的只有 32 个化合物;水蒸气蒸馏法共分离了 79 个峰,经 GC/MS 鉴定出的只有 28 个化合物。而本文中用 PR 试剂浸泡并辅于超声提取共鉴定了 45 个化合物,其中 α -紫罗兰酮、 α -红没药烯、 α -古芸烯、2-甲氧基-8-甲基-1,4-萘二酮、 β -蛇床烯、氧化- α -依兰烯、4,4 α ,5,6,7,8-六氢-4 α ,5-二甲基-3-(1-甲基乙烯基)-2(3H)-萘酮、长叶松香芹酮等均未见文献报道。与 CO₂ 超临界提取、水蒸

气蒸馏法相比较,此法鉴定出的化学成分更多、更复杂,更能全面反映药材的质量。

(2)CO₂ 超临界萃取和水蒸气蒸馏法的提取需特殊装置。传统的水蒸气蒸馏法提取挥发油时,繁琐费时,有些物质由于分子质量大,沸点高,挥发性小而难于提取出,而且高温可能使某些化合物分解,无法保持化合物的原有结构。而 CO₂ 超临界萃取又会把极性大的脂肪酸等成分提取出来,干扰分析。用 PR 试剂提取香附挥发油简单、快捷、节省能量,大约需 1 h;溶解能力强,同时兼顾极性和弱极性化合物,能将香附药材中所含的各种组分有效地提取出来;在常温常压下进行,药物成分不会受热分解或挥发,较好地保存了药材的原有成分,更全面反映药材的质量。通过对不同批次药材的反复试验,证明此处理方法特异性、重现性和再现性好。

3.3 有效成分确定

用 PR 试剂提取香附中的挥发油,GC/MS 分析,发现有效成分为香附烯(15.73%)和 α -香附酮(26.15%)。据文献[4-6]报道, α -香附酮为较强的前列腺素生物合成抑制剂,具有明显的镇痛作用;同时,具有特异性的作用于电压敏感钙离子通道的硝苯吡啶样的钙离子拮抗作用,对消化系统有一定的作用。香附烯有轻度的雌激素作用,可用于治疗月经不调等妇科疾病。

4 结 论

香附的化学成分复杂,药理作用广泛,通过采用 GC/MS 分析手段,对香附挥发油成分进行定性、定量分析,从图谱全貌及化学组成可鉴别香附及确定其质量的优劣。依据此分析结果可有效地控制香附中成药生产过程中含量偏低或偏高的成分,保证同批次成品的质量稳定。本方法还适用于其它中药材挥发油的提取和分析,对提高中药整体水平,带动中药走向国际市场,有非常重要的意义。

编后语:此文实验中使用的中药专用提取剂(PR 溶剂),因涉及到技术保密问题,作者未能提供其组成与特点等详细信息。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 广东科技出版社,1995:附 62.
- [2] 吴惠勤,林晓珊,黄晓兰,等. 广防己挥发油的 GC-MS 指纹图谱研究[J]. 分析测试学报,2004,23(5):95-97.
- [3] 李卫民,高 英,曾建青,等. 香附 CO₂ 超临界萃取物的化学成分研究[J]. 中草药,2000,31(10):734-735.
- [4] 黄险峰,彭国平. 香附的化学成分及药理研究进展[J]. 中药材,2003,26(1):65-68.
- [5] 陈胜璜,蒋孟良,袁于军,等. 香附不同炮制品中 α -香附酮的含量测定[J]. 中成药,1999,21(7):349-350.
- [6] 三川潮. 国外医学中医中药分册[M]. 1984,(4):22.

书 讯

《生物有机质谱》

作者:赵玉芬 价格:45.00 元 出版社:郑州大学出版社 出版日期:2005 年 10 月

由我国著名有机化学家、中国科学院院士赵玉芬教授编著的《生物有机质谱》一书,于 2005 年 10 月由郑州大学出版社出版。

本书重点介绍了赵玉芬院士在生物有机质谱研究领域取得的最新成果及进展。主要内容包括氨基酸、核苷酸、肽、蛋白质及其含磷衍生物的质谱特征;分别介绍了质谱在蛋白质组学方面的应用;在磷试剂辅助下,质谱技术在新型液相均肽库构建中所起的作用;质谱技术研究具有生物活性含磷小分子和蛋白质弱相互作用所取得的相关成果;系列含磷化合物的电喷雾质谱裂解规律及其新型的电喷雾质谱重排裂解规律;液相色谱-质谱新技术在生命有机磷化学中的应用等;最后还简单介绍了电喷雾质谱及液质联用使用的注意事项。根据所研究的化合物类型,本书分十一章进行叙述。全书共 29 万字,插图 140 幅,16 开,精装,定价 45 元。为了便于读者阅读和参考,每章后均列出了引用的文献,书后还附有作者近十年来发表的 50 余篇相关文章目录。

本书内容精练,论述清晰,适用面广,是一本介绍新型质谱技术在生命有机化学领域应用研究的专著,具有较高的学术价值。可供从事化学生物学、有机化学、分析化学及药物化学等领域的科技工作者参考,并可作为大专院校、科研机构相关专业研究生的参考书。

欲购者请与郑州大学出版社杨秦予主任联系,通过邮局汇款,量大从优。

电话:0371-65275588(小灵通),13598800686。

通讯地址:郑州市大学路 40 号郑州大学出版社 邮编:450052;

E-mail:yqy@zzu.edu.cn。