

蛇床子挥发性成分的 GC/MS 分析

赵富春¹, 廖双泉¹, 梁志群¹, 智 霞¹, 曾 志²

(1. 海南大学材料与化工学院, 海南 儋州 571737; 2. 华南师范大学化学与环境学院, 广东 广州 510631)

摘要:用超临界二氧化碳和水蒸气蒸馏法提取蛇床子挥发性化学成分, 采用毛细管气相色谱-质谱联用技术对 2 种提取方法所提取的挥发性成分进行分析鉴定。共鉴定出 48 个挥发性化合物, 从水蒸气蒸馏提取物中鉴定出 31 个化学成分, 从超临界二氧化碳提取物中鉴定出 21 个化学成分, 超临界二氧化碳提取方法对蛇床子挥发性成分的提取具有较高的选择性。从蛇床子中检测到蛇床子素、欧前胡素、异虎尔草素、佛手内酯、花椒毒素和花椒毒酚 6 个香豆素类化合物, 并应用质谱学规律对蛇床子中的有效成分蛇床子素的结构进行鉴定和讨论。

关键词:蛇床子; 超临界二氧化碳提取; 挥发性成分; 蛇床子素; 香豆素

中图分类号: O 657. 63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2008)06-361-06

The Volatile Constitutes of *Cnidium Monnieri* by GC/MS

ZHAO Fu-chun¹, LIAO Shuang-quan¹, LIANG Zhi-qun¹, ZHI Xia¹, ZENG Zhi²

(1. College of Matiral Science and Chemical Engineering, Hainan University, Danzhou 571737, China;

2. School of Chemistry and Environment, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: The volatile constitutes of *Cnidium monnieri* were extracted by hydro-distillation and supercritical CO₂ extraction. 48 compounds are determined in these extracts, and are identified by capillary gas chromatography combined with mass spectrometric detection. 31 components are identified by hydro-distillation, while 21 components are identified by supercritical CO₂ extraction. 6 coumarins including osthole, imperatorin, isopimpinellin, bergapten, xanthotoxin and xanthotoxol are detected in *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. The results show that supercritical CO₂ extraction for the volatiles from *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. is more selective. The structure identification of osthole was discussed by mass spectrometry.

Key words: *Cnidium monnieri* (L.) Cuss; supercritical CO₂ extraction; volatile constituents; osthole; Coumarins

蛇床子系伞形科植物蛇床(*Cnidium monnieri* (L.) Cuss.) 的干燥成熟果实,它具有温肾壮阳、燥湿祛风之功效。在蛇床子中已发现的有效成分为香豆素类物质,如蛇床子素等,此外还有氨基酸、酸萜、糖苷类物质^[1-2]。蛇床子具有广泛的药理活性,内外兼用,主要用于治疗阳痿宫冷、寒湿带下、湿痹腰痛等疾病,外治外阴湿疹、妇人阴痒等。经现代药理实验研究发现,蛇床子挥发油能有效地拮抗引起皮肤瘙痒的介质——组胺和肥大细胞脱颗粒作用^[3]。蛇床子中香豆素成分在抗心律失常、抗骨质疏松、抗艾滋病、抗真菌及抗诱变等方面均有一定的作用,其中蛇床子素是含量最多、活性最强的单体。Feng 等^[4]对麻醉狗的心电图和血液动力学研究发现,蛇床子素能扩张血管、降低动脉压、调节性激素水平。蛇床子中多种成分能有效地抵抗黄曲霉素 B1 诱发的移码突变,阻止环磷酰胺诱发的小鼠染色体损伤^[5]。蛇床子还具有钙拮抗作用,对神经系统、肠道、阴茎海绵体平滑肌均有作用;此外,还具有调节内分泌、抗肿瘤、抗病毒、抗肝损伤、抗氧化作用^[6]。

植物药挥发性成分传统上采用水蒸气蒸馏法提取,此法提取物可能受到化学试剂的影响,热敏性化合物易遭到破坏,提取物的质量相应会削弱。另外,使用有机溶剂从植物药中提取挥发性物质的方法在挥发溶剂时会造成某些挥发性有效成分的损失,因而很难得到“无溶剂化”的提取物^[7],这方面的不足可使用超临界流体提取进行弥补。超临界二氧化碳提取相对水蒸气蒸馏能够实现低温操作,避免不稳定化合物的降解,无溶剂残留,这对保证挥发性物质的质量有积极的意义。近年来,超临界流体提取技术由于其操作条、可控性,提取的高效性、高选择性和产品“无污染”,对环境绿色环保等特点受到日益广泛的关注。本实验试图对采用超临界 CO₂ 和水蒸气蒸馏提取的蛇床子挥发性化学成分进行比较研究,以期对蛇床子的质量控制及制剂开发提供有价值的参考。

1 实验

1.1 药材与仪器

蛇床子购于广州清平中药市场,经华南师范大学化学与环境学院曾志教授鉴定为植物蛇床(*Cnidium monnieri* (L.) Cuss.) 的干燥果实;

HA-121-50-01 型超临界提取装置由两个解析釜进行二级分离;磨口水蒸气蒸馏装置(自制);HP 6890 型气相色谱仪;美国惠普公司产品;Platform II GC/MS 联用仪;英国 Micromass 公司产品。

1.2 超临界二氧化碳提取

取 500 g 蛇床子药材投入提取釜中,对提取釜、解析釜分别进行加热或冷却,当提取釜温度达到 32 ℃ 时,解析釜 I 的温度为 52 ℃。当解析釜 II 的温度达到 37 ℃ 时,打开 CO₂ 气瓶;当提取釜压力达 25 MPa,解析釜 I 的压力达到 8.62 MPa,解析釜 II 的压力达到 8.62 MPa 时,开始循环提取,CO₂ 流量为 23 kg · h⁻¹ 左右,提取 1.5 h 后,从解析釜出料口出料,得到淡黄色油状物,收率为 9.6%。

1.3 水蒸气蒸馏提取

称取 50 g 蛇床子药材,用磨口水蒸气蒸馏装置提取 3 h,提取物用无水硫酸钠干燥,得到淡黄色油状物,收率为 0.74 %。

1.4 GC 和 GC/MS 分析

1.4.1 色谱条件 色谱柱:DB1 毛细管熔融石英柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);升温程序:60 ℃ 保持 5 min,以 2 ℃ · min⁻¹ 升温至 240 ℃,再以 23 ℃ · min⁻¹ 升温至 290 ℃,保持至完成分析;进样温度:280 ℃;分流比:20 : 1;载气(He)流速:1 mL · min⁻¹。

1.4.2 质谱条件 电离方式:EI;电离能:70 eV;离子源温度:180 ℃;离子流:200 μA;质量扫描范围: m/z 30 ~ 800;质谱数据库:NIST Mass Data Base (1994)。

2 结果与讨论

2.1 水蒸气蒸馏和超临界二氧化碳提取结果的比较

对水蒸气蒸馏和超临界二氧化碳提取的蛇床子挥发性成分进行比较,发现两种提取方法所提取蛇床子的挥发性成分有明显差异。蛇床子的水蒸气和超临界 CO₂ 提取物的化学组成及相对含量列于表 1。从表 1 可以看出,水蒸气蒸馏提取挥发性成分有 31 个,而超临界二氧化碳提取挥发性成分仅有 21 个。水蒸气蒸馏提取的主要化学成分为冰片乙酸酯、D-柠檬烯、 α -蒎烯、三环[4.4.0.0(2,8)]癸-4-醇、三环[4.3.1.0(3,8)]癸-10-醇、萜烯-3,5-异丙烯基-2-甲基-环

己-2-烯基丙酸酯、2, 2-二甲基-5-异丙烯基-2-甲基-环己-2-烯基丙酸酯、冰片、石竹烯、3, 7-二甲基-1, 6-辛二烯-3-醇, 而超临界二氧化碳提取的主要成分为 (*Z,Z*)-9, 12-十八碳二烯酸、蛇床子素、*E*-9-十四烯酸、正十六酸、花椒毒酚、花椒毒素、欧前胡素、冰片乙酸酯、异虎耳草素、(*Z*)-3-十七烯-5-炔。结果表明, 超临界二氧化碳提取的挥发性化合物中香豆素类成分含量较高, 提取和检测到的挥发性香豆素类化合物包括蛇床子素、花椒毒酚、花椒毒素、佛手内酯、欧前胡素、异虎耳草素, 占提取挥发性成分相对含量的 34. 82%; 而水蒸气蒸馏提取的挥发性香豆素类成分仅检测到蛇床子素, 其含量占提取物总量的 0. 40%。可见, 超临界二氧化碳提取法比水蒸气蒸馏法具有更大的选择性。萜类及其含氧衍生物, 如 α -蒎烯、 β -蒎烯、1, 2, 3, 5, 6, 8a-六氢-4, 7-二甲基-1-异丙基-萜、7, 11-二甲基-3-亚甲基-1, 6, 10-十二烷三烯、三环[4. 4. 0. 0 (2, 8)] 癸-4-醇、

三环[4. 3. 1. 0 (3, 8)] 癸-10-醇等仅能在水蒸气蒸馏提取物中检测到。而长链不饱和有机酸类物质, 如 (*Z,Z*)-9, 12-十八碳二烯酸和 *E*-9-十四碳烯酸; 饱和烷烃, 如三十五烷和四十四烷; 香豆素类物质, 如花椒毒酚、欧前胡素、异虎耳草素, 仅能在二氧化碳超临界提取中得到, 其结构示于图 1。

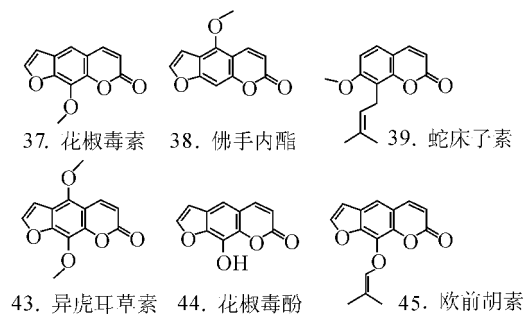


图 1 蛇床子中的香豆素类化合物
Fig. 1 The coumarin compounds of *Cnidium monnieri*

表 1 蛇床子水蒸气蒸馏和超临界 CO₂ 提取物的化学组成及相对含量

Table 1 The chemical composition and relative contents of extractions
by hydro-distillation and supercritical CO₂

序号	保留时间 /min	化合物	相似度/%	相对分子质量	相对含量/%	
					HD	SFE-CO ₂
1	6. 73	α -蒎烯 α -Pinene	85	136	13. 95	—
2	7. 38	3-蒎烯 3-Carene	83	136	4. 62	—
3	8. 75	6, 6-二甲基-2-双环[3. 1. 1] 庚烷 6, 6-Dimethyl-2-bicyclo [3. 1. 1] heptane	81	136	0. 38	—
4	10. 72	<i>D</i> -柠檬烯 <i>D</i> -Limonene	85	136	19. 20	0. 19
5	10. 89	1-甲基-4-异丙基-环己烯 1-Methyl-4-(1-methylethyl)-cyclohexene	84	136	—	0. 50
6	16. 76	1-甲基-4-异丙基-2-环己烯-1-醇 1-Methyl-4-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-ol	87	152	0. 28	—
7	17. 41	2, 6-二甲基-2, 4, 6-辛三烯 2, 6-Dimethyl-2, 4, 6-octatriene	77	136	0. 21	—
8	17. 69	2-异丙烯基-3-亚甲基-环己醇 2-Isopropenyl-3-methylene-cyclohexanol	74	152	0. 16	—
9	18. 21	1, 7, 7-三甲基-双环[2. 2. 1]庚-2-酮 1, 7, 7-Trimethyl-bicyclo [2. 2. 1] heptan-2-one	91	152	0. 37	—
10	19. 89	冰片 Borneol	84	154	0. 89	—
11	20. 53	4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol	72	154	0. 36	—
12	26. 56	冰片乙酸酯 Borneyl acetate	93	196	29. 51	1. 00
13	30. 57	2-甲基-5-异丙基-2-环己烯基乙酸酯 2-Methyl-5-isopropenyl-2-enyl ester acetic acid	85	194	0. 41	—

续表

序号	保留时间 /min	化合物	相似度/%	相对分 子质量	相对含量/%	
					HD	SFE-CO ₂
14	32.30	橙花醇苯甲酸酯 Neryl phenylacetate	72	272	0.18	—
15	34.63	石竹烯 Caryophyllene	86	204	0.85	0.12
16	38.18	7,11-二甲基-3-亚甲基-1,6,10-十二烷三烯	77	204	0.21	—
		7,11-Dimethyl-3-methylene-1,6,10-dodecatriene				
17	38.68	4(14),11-桉叶二烯 4(14),11-Eudesma diene	89	204	—	0.33
18	39.91	3-甲基-2-苯乙基丁酸酯	79	206	0.16	—
		3-Methyl-2-phenylethyl butanoic acid ester				
19	40.13	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇 3,7-Dimethyl-1,6-octadiene-3-ol	86	154	0.49	—
20	41.35	α -法呢烯 α -Farnesene	88	204	0.19	—
21	41.51	3,7-二甲基-2,6-辛二烯基丁酸酯	71	224	0.25	—
		3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl butanoic acid ester				
22	41.88	1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-异丙基-萘 1,2,3,5,6,8a-Hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene	83	204	0.24	—
		5-异丙烯基-2-甲基-环己-2-烯基丙酸酯				
23	42.63	5-Isopropenyl-2-methyl-cyclohex-2-enyl propionic acid ester	79	208	1.35	—
24	43.98	1,4-二甲基-3-环己烯基-1-乙醇	74	154	0.15	—
		1,4-Dimethyl-3-cyclohexene-1-ethanol				
25	44.97	三环[4.4.0.0(2,8)]癸-4-醇	71	152	12.64	—
		Tricyclo[4.4.0.0(2,8)]decan-4-ol				
26	46.75	1,4-二甲基-1,4-二乙基-2,5-环己二烯	79	164	0.44	—
		1,4-Diethyl-1,4-dimethyl-2,5-cyclohexadiene				
27	48.17	1H-吲哚-3-位-丁酸酯 1H-Indol-3-yl butanoic acid ester	72	203	—	0.16
28	49.02	6-异丙烯基-3-甲基-环己烯醇	73	152	0.38	—
		6-Isopropenyl-3-methyl-cyclohex-1-enol				
29	49.47	2-(4a-甲基-8-亚甲基-十氢萘-2-位)-丙醇-2 2-(4a-Methyl-8-methylene-decahydro-naphthalene-2-yl)-propan-2-ol	72	222	0.25	—
30	50.09	三环[4.3.1.0(3,8)]癸-10-醇	74	152	9.31	—
		Tricyclo[4.3.1.0(3,8)]decan-10-ol				
31	50.55	2,2-二甲基-5-异丙烯基-2-甲基-环己-2-烯基丙酸酯 2,2-Dimethyl-propionic acid 5-isopropenyl-2-methyl-cyclohex-2-enyl ester	74	236	0.98	—
32	51.77	苯氧基乙酸烯丙基酯 Allyl phenoxyacetate	79	192	—	0.61
33	52.04	5,5-二甲基-8-亚甲基-1,2-环氧环辛-3-烯	84	164	—	0.33
		5,5-Dimethyl-8-methylene-1,2-epoxycyclooct-3-ene				
34	52.80	6-异丙烯基-3-三甲基-环己-2-烯醇	72	152	0.26	—
		6-Isopropenyl-3-methyl-cyclohex-2-enol				
35	59.84	2-十五酮 2-Pentacosanone	81	366	0.16	—
36	64.98	正十六酸 <i>n</i> -Hexadecanoic acid	92	256	—	2.84

续表

序号	保留时间 /min	化合物	相似度/%	相对分 子质量	相对含量/%	
					HD	SFE-CO ₂
37	67.15	花椒毒素 Xanthotoxin	88	216	—	1.16
38	68.17	佛手内酯 Bergapten	86	216	—	0.50
39	72.39	蛇床子素 Osthole	79	244	0.40	29.23
40	73.59	(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸 (Z,Z)-9,12-Octadeca-diennoic acid	92	280	—	31.44
41	74.14	E-9-十四烯酸 E-9-Tetradecenoic acid	86	226	—	24.29
42	74.44	十八酸 Octadecanoic acid	87	240	—	0.50
43	75.90	异虎尔草素 Isopimpinellin	80	246	—	0.88
44	80.57	花椒毒酚 Xanthotoxol	85	202	—	2.01
45	87.05	欧前胡素 Imperatorin	65	270	—	1.04
46	97.59	三十五烷 Pentatriacontane	92	492	—	0.23
47	98.53	(Z)-3-十七烯-5-炔 (Z)-3-Heptadecen-5-yne	84	234	—	0.87
48	99.25	四十四烷 Tetratetracontane	96	618	—	0.48

2.2 有机质谱学在蛇床子素结构鉴定中的应用

用于研究各有机化合物的化学结构可以通过检索相应的质谱数据库来初步确定,然而,要准确确定各化合物的化学结构仅仅依据检索质谱数据库的结果是不够,还必须根据有机质谱学的

规律加以确证。文献[8-9]应用有机质谱学对厚朴酚与和厚朴酚等中药活性成分结构做了准确的鉴定,获得了化合物 39 的质谱图示于图 2,质谱数据库检索为 7-甲氧基-5-异戊烯基-2H-1-苯

骈吡喃-2-酮,相似度为 79 %。

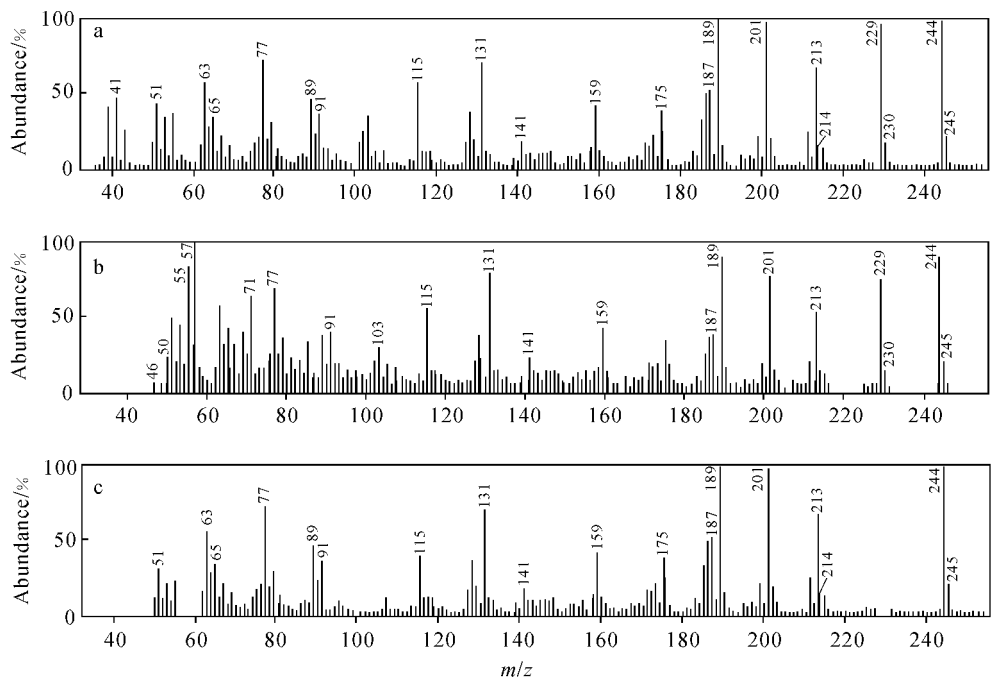


图 2 化合物 39 (蛇床子素) 与 7-甲氧基-5-异戊烯基-2H-1-苯骈吡喃-2-酮的质谱图比较

a. 化合物 39 的质谱; b. 蛇床子素的质谱; c. 7-甲氧基-5-异戊烯基-2H-1-苯骈吡喃-2-酮的质谱

Fig. 2 The mass spectra comparison between compound 38 (osthole) and 7-methoxy-5-(3-methyl-2-butenyl)-2H-1-benzopyran-2-one

a. mass spectrum of compound 39; b. mass spectrum of osthole;

c. mass spectrum of 7-methoxy-5-(3-methyl-2-butenyl)-2H-1-benzopyran-2-one

在化合物 39 的质谱图中除了有分子离子峰 m/z 244 $[M^+]$ 外, 还有碎片离子 m/z 229 $[M^+ - CH_3]$ 、213 $[M^+ - CH_3O]$ 、201 $[229 - CO]$ 、189 $[M^+ - C_4H_7]$ 、187 $[M^+ - C_4H_9]$ 、159 $[189 - CH_2O]$ 、131 $[159 - CO]$ 等, 但是碎片 m/z 229 在 7-甲氧基-5-异戊烯基-2H-1-苯并吡喃-2-酮质谱图中未出现, 说明化合物 39 不是 7-甲氧基-5-异戊烯基-2H-1-苯并吡喃-2-酮, 而是其同分异构体。根据质谱学规律, 在香豆素化合物结构

中, 碎片 m/z 229 $[M^+ - CH_3]$ 强度是异戊烯基侧链与邻位基团关系的特征指示, 当香豆素类化合物结构中的异戊烯基侧链邻位没有甲氧基时, $[M^+ - CH_3]$ 离子一般较弱, 而化合物 39 的质谱中 m/z 229 出现且丰度为 92%, 据此推断化合物 39 是异戊烯基与甲氧基为邻位的蛇床子素, 化合物 39 的主要碎片与文献[10-11]报道的蛇床子素也基本一致。蛇床子可能的质谱裂解过程示于图 3。

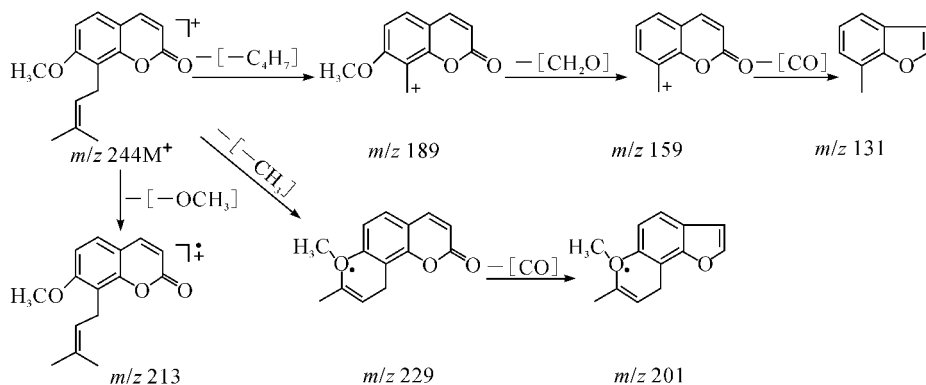


图 3 化合物 39 的主要碎片和裂解过程

Fig. 3 The cleavage mechanism of main fragments of compound 39

3 结 论

在鉴定一些化学物质的结构时, 仅仅依据计算机的质谱库检索, 有时会出现差错, 尤其在相似度不高的情况下, 应进一步应用有机质谱学规律和一些文献质谱数据来进一步确证这些成分的化学结构, 才能保证结论的正确性。在蛇床子素的结构鉴定中, 具有较高丰度的质谱关键碎片峰 m/z 229 的出现是蛇床子素质谱的典型特征。

参考文献:

- [1] WEI Y, ZHANG T, ITO Y. Preparative isolation of ostholand xanthotoxol from Common Cnidium Fruit (Chinese traditional herb) using stepwise elution by high-speed counter-current chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1033: 373-377.
- [2] KITAJIMA J, ISHIKAWA T, AKOKI Y. Glucides of Cnidium monnieri fruit [J]. Phytochemistry, 2001, 58: 641-644.
- [3] 周 然, 彭 涛, 玛 莉, 等. 蛇床子挥发油止痒作用相关机制研究[J]. 中国药物与临床, 2003, 3(1): 9-11.
- [4] FENG Y, ZHANG L, CAI J, et al. Analysis of

Cnidium monnieri fruits in different regions of China[J]. Talanta, 2001, 53: 1155-1162.

- [5] 向仁德, 张新勇, 韩 英, 等. 中药蛇床子水提物活性成分的研究[J]. 中草药, 1999, 30(11): 813-815.
- [6] 袁娟丽, 谢金鲜. 中药蛇床子药理研究进展[J]. 广西中医学院学报, 2004, 7(1): 73-76.
- [7] POURMORTAZAVI SM, BAGHAE P, MIRHOSSEINI M A. Extraction of volatile compounds from *Juniperus communis* L. leaves with supercritical fluid carbon dioxide: comparison with hydrodistillation[J]. Flavour Fragr J, 2004, 19: 417-420.
- [8] 曾 志, 赵富春, 蒙绍金. 有机质谱学在厚朴酚与和厚朴酚结构确定中的应用[J]. 质谱学报, 2006, 27(2): 65-70.
- [9] 赵富春, 曾 志, 刘雪英, 等. 没药挥发性化学成分的研究[J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2006(2): 69-74.
- [10] 刘江琴, 庄海旗, 莫丽儿, 等. 蛇床子香豆素的薄层分离-直接进样-质谱鉴定[J]. 分析测试学报, 1999, 18(4): 26-28.
- [11] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 571.