

石菖蒲挥发油化学成分的 GC - MS 分析*

★ 唐怡^{1**} 任刚¹ 黄群¹ 杨改红¹ 刘校妃¹ 袁金斌^{1***} 罗小泉² 陈海芳¹ 严志宏¹ (1. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室 江西 南昌 330004; 2. 江西中医药大学实验动物科技中心 江西 南昌 330006)

摘要: 目的: 对石菖蒲挥发油的化学成分进行分析。方法: 采用水蒸气蒸馏法从石菖蒲中提取挥发油, 通过优化程序升温条件, 运用气相色谱 - 质谱 (GC - MS) 联用技术鉴定挥发油中的化学成分, 并用气相色谱面积归一法测定了各成分的相对含量。结果: 鉴定出其中的 25 个成分, 占总挥发油含量的 93.27%, 其中 6 种成分在石菖蒲的相关 GC - MS 分析中未见报道。结论: 石菖蒲挥发油的主要成分为甲基丁香酚 (2.60%)、异丁香酚甲醚 (2.35%)、 α -细辛醚 (32.18%)、 β -细辛醚 (54.73%)。
关键词: 石菖蒲; 挥发油; α -细辛醚; β -细辛醚; 气相色谱 - 质谱
中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A

石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 (*Acorus Tatarinowii* Schott.) 的干燥根茎, 具有化湿开胃、开窍豁痰、醒神益智之功效^[1]。石菖蒲治疗老年性痴呆疗效显著, 在所有抗老年性痴呆中药中的使用频率最高, 而且大都为主药^[2]。有文献报道: 石菖蒲总挥发油是镇静、催眠、抗惊厥作用的主要药效部位^[3,4]。

研究人员已采用气相色谱 - 质谱联用技术 (GC - MS) 分离和鉴定了石菖蒲挥发油中的部分化合物^[5-8], 魏刚建立了石菖蒲的 GC - MS 指纹图谱^[7,8], 发现石菖蒲挥发油的主要成分为甲基丁香酚、顺式甲基异丁香酚、反式甲基异丁香酚、 γ -细辛醚、 β -细辛醚和 α -细辛醚等。本文采用水蒸汽蒸馏法提取石菖蒲根茎的挥发油, 应用 GC - MS 方法进行分离和分析鉴定, 并通过气相色谱面积归一法测定了各成分的相对含量。

1 仪器与试剂

Agilent 7890A/5975C 型气相色谱 - 质谱联用仪 (GC - MS) (美国安捷伦公司); 色谱柱为 DB - 5

石英毛细管柱 (0.25 μ m \times 250 μ m \times 30.0m); MH - 1000 型 1000mL 可调式电热套 (北京科伟永兴仪器有限公司); TG328A 型万分之一电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

乙醚 (西陇化工股份有限公司)、无水硫酸钠 (天津市大茂化学试剂厂) 均为市售分析纯; 水蒸气蒸馏装置 (自制); 蒸馏水 (自制)。

石菖蒲 2013 年 10 月购买于湖南振兴中药饮片公司, 产地为中国四川, 由江西中医药大学曹岚副教授鉴定为 *Acori Tatarinowii* Rhizoma 的根茎。购买后, 贮存于阴凉、干燥处备用。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 按 2010 版《中国药典》提取挥发油的方法^[1], 称取石菖蒲叶粉末 (过 2 号筛) 1g, 加水 500 mL 于 1000 mL 电热套中, 于挥发油提取器中提取 4 h, 取 0.1 mL 精油用少量乙醚将析出的挥发油反复溶出, 并用无水硫酸钠脱水过夜, 并经 0.45 μ m 的微孔滤膜滤过, 装入样品瓶中, 密封保存。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (81260605)。

** 作者简介: 唐怡, 女, 中药学专业在读硕士研究生。E-mail: 564694046@qq.com。

*** 通信作者: 袁金斌。Tel: (0791) 87118658 E-mail: kings2008@163.com。

2.2 气相色谱条件 石英毛细管柱(0.25 $\mu\text{m} \times 250 \mu\text{m} \times 30.0 \text{ m}$) ,载气为高纯氦气(99.999%) 柱流量 1.0 mL/min ,汽化室温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。升温程序为:柱温 90 $^{\circ}\text{C}$,保持 1min ,以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 120 $^{\circ}\text{C}$,后以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 140 $^{\circ}\text{C}$,保持 3 min ,然后以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 190 $^{\circ}\text{C}$,最后以 10 $^{\circ}\text{C}/$

min 的速率升至 260 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min。分流比 50:1 ,进样量 1.0 μL 。

2.3 质谱条件 电离方式为电子轰击(EI) ,电子能量 70 eV ,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,四级杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$,接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$,质量扫描范围 m/z 40 ~ 350 amu ,全扫描方式 ,NIST11 质谱库。

表 1 石菖蒲的挥发油成分及相对含量

序号	保留时间/min	化合物	分子式	分子量	相对含量/%
1	3.642	2-Furfuraldehyde 2-糠醛	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	110.0	0.07
2	5.883	Phenol 2-methoxy 2-甲氧基苯酚	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$	124.1	0.02
3	7.327	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one 1,7,7-trimethyl-(1S) 左旋樟脑	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	152.1	0.01
4	7.869	endo-Borneol-2-茨醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154.1	0.05
5	8.172	Terpinen-4-ol- α -萜烯醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$	154.1	0.01
6	14.038	Tricyclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-ene 2,6,6,9-tetramethyl-(1R,2S,7R,8R)-(+) - α -长叶蒎烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.01
7	14.862	1,2,4-Methenoazulene,decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl-[1S-(1.alpha.,2.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.,9R*)]-(-)-长叶环烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.04
8	15.312	Di-epi-alpha-cedrene- α -柏木烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.01
9	15.698	Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-,[1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)] β -榄香烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.03
10	16.201	Methyleugenol-甲基丁香酚	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$	178.1	2.60
11	16.890	Caryophyllene-石竹烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.10
12	17.437	1H-Cyclopropa[a]naphthalene,1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-,[1aR-(1a.alpha.,7.alpha.,7b.alpha.)] β -白菖烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.03
13	17.870	Ethanone,1-(2-Hydroxy-4-methoxyphenyl) 丹皮酚	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	166.1	0.01
14	18.551	1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl) 异丁香酚甲醚	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$	178.1	2.35
15	19.327	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl) 隐绿原酸	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.01
16	19.925	Naphthalene,1,2,3,4,5,6,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-,[1R-(1.alpha.,7.beta.,8a.alpha.)] β -巴伦西亚橘烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.02
17	20.112	Isoledene 异喇叭烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.03
18	20.428	Benzene,1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl) 异丁香酚甲醚	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$	178.1	0.59
19	20.892	1H-Cyclopropa[e]azulene,1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-,[1aR-(1a.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,7b.alpha.)] β -古芸烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.04
20	21.612	1,2,3,5,6,8a,-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-,(1S-cis)- α -杜松烯	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	204.2	0.04
21	23.484	1,2,3-trimethoxy-5-(2-propenyl) 榄香素	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$	208.1	0.26
22	24.776	alpha-Asarone α -细辛醚	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$	208.1	32.18
23	26.619	Naphthalene,1,2,3,4-tetrahydro-1,5,7-trimethyl,1,2,3,4-四氢-1,5,7-三甲基萘	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}$	174.1	0.03
24	27.239	beta-Asarone β -细辛醚	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$	208.1	54.73
25	28.032	2-Naphthalenemethanol,decahydro-alpha,4a-trimethyl-8-methylene-,[2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.)] β -桉叶醇	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	222.2	0.04

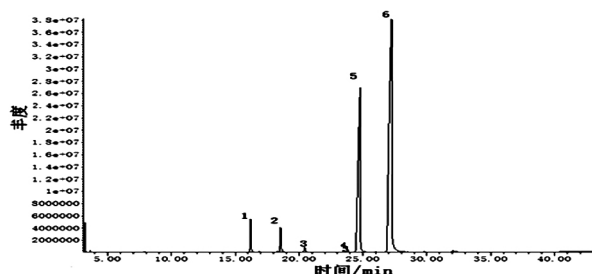


图 1 石菖蒲挥发油的 GC-MS 色谱图

化合物归属: 1. 甲基异丁香酚; 2. 异丁香酚甲醚; 3. 异丁香酚甲醚; 4. 榄香素; 5. α -细辛; 6. β -细辛醚

2.4 分析结果 在气相色谱法中,化合物一般按照沸点的高低先后流出色谱柱,柱温是最重要的分离参数。为改善复杂体系中化合物的分离和缩短分析时间,常采用程序升温。本实验对升温程序进行了系统优化,获得了 2.2 项下的色谱分离条件。如图 1 所示,各化合物得到了较好的分离,峰形较好,分析时间适中。

化合物的鉴定过程如下:总离子流色谱图中的各峰经质谱扫描后得到相应的质谱图,经过计算机

质谱数据系统检索(质谱数据库: NIST11 库),结合保留时间及相关文献资料,确定其归属。在默认的积分设置下,石菖蒲挥发油中可检测到 100 多个化合物,但相当一部分化合物的含量非常低。本文仅报道相对含量在 0.01% 以上的化合物的鉴定结果,合计为 25 个化合物(见表 1)。表 1 所给出的化合物鉴定结果的匹配度均大于 85%,相对含量为默认积分设置下的归一化计算结果。

如表 1 所示,已鉴定的 25 个化学成分占石菖蒲挥发油总量的 93.27%。从化学类型来看,石菖蒲挥发油中主要含单萜氧化物、倍半萜氧化物、苯丙素类衍生物以及脂肪族醛酮类。结果显示石菖蒲挥发油主要含有甲基异丁香酚、异丁香酚甲醚、 β -细辛醚、 α -细辛醚等 4 个特征成分,占挥发油总量的 91.86%。 β -细辛醚和 α -细辛醚和榄香素互为同分异构体(分子式 $C_{12}H_{16}O_3$,分子量 208.1),三者占挥发油总量的 87.18%。其中,含量最高的是 β -细辛醚(54.73%),能明显降低动脉粥样硬化症、改善老年血症以及降低心肌组织损伤程度和坏死率;其次是 α -细辛醚(32.18%),其常用作抗癫痫病的治疗等。

3 讨论

气相色谱柱的柱温是最重要的分离参数。实验中,为改善石菖蒲挥发油中组分的分离和缩短分析时间,对升温程序进行了系统优化。程序升温的速率、初温和终温的设置是根据样品的组成与含量而确定的。柱温的初温一般要设为组分里面所有物质的最低沸点,终温则是所有物质的最高沸点。参考

魏刚等^[7,8]的数据,设置初温和终温分别为 90℃ 和 260℃。结果发现,石菖蒲挥发油在 120℃ ~ 140℃ 时流出色谱柱的成分居多,所以降低了该区段的升温速率,使得分离度得到改善。

对比参考文献^[5-8],本实验检测到了六个新的化合物: β -榄香烯、白菖烯、隐绿原酸、丹香酚、巴伦西亚橘烯和异喇叭烯(见表 1)。其中, β -榄香烯具有降低肿瘤细胞有丝分裂能力,诱发肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤细胞生长的作用。隐绿原酸具有良好抗氧化、抗炎、抗微生物等生物活性^[9]。这些新组分的发现有利于进一步解释石菖蒲的药理活性。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 57.
- [2] 刘柳芳, 魏刚, 张琼丹, 等. 含石菖蒲复方煎剂中 β -细辛醚的含量测定研究[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(2): 194-197.
- [3] 胡锦涛, 顾健, 王志旺. 石菖蒲及其有效成分对中枢神经系统作用的实验研究[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(3): 19.
- [4] 林晨, 安红梅. 石菖蒲的中枢神经系统药理作用研究[J]. 长春中医药大学学报, 2014, 30(2): 230-233.
- [5] 王睿, 费洪新, 李晓明, 等. 石菖蒲的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(7): 1606-1610.
- [6] 吴奇端, 王淑英, 袁德俊, 等. 石菖蒲挥发油质量研究[J]. 广州中医药大学学报, 2013, 30(1): 72-76.
- [7] 魏刚. 石菖蒲挥发油 GC-MS 特征指纹图谱在复方制剂中的应用模式研究[J]. 中成药, 2006, 28(10): 1411-1413.
- [8] 魏刚, 林双峰, 方永奇, 等. GC-MS 建立石菖蒲挥发油质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10): 794-796.
- [9] 张鞍灵, 马琼, 高锦明. 绿原酸及其类似物与生物活性[J]. 中草药, 2001, 32(2): 173-176.

(收稿日期: 2014-08-18) 编辑: 曾文雪

(上接第 39 页)

$t = 2.236$, $P > 0.05$ 。

4 讨论

高效液相测定胶囊中铬含量具有三高一快的特点,即高效柱、高选择性、高灵敏度、分析速度快^[5]。与药典规定的原子光谱法测定比较,两者结果无显著差异,所需仪器价格适中,稳定准确,重现性好。

参考文献

- [1] Yao LK. Effect of Quality of Pharmaceutical Gelatin on Safety of Capsules[J]. The Science and Technology of Gelatin, 2006, 12(4):

204-206.

- [2] 肖俊辉, 周玉生. 比色法快速检测药用胶囊铬限量[J]. 中南医学科学杂志, 2012, 40(6): 621-623.
- [3] 黄辉, 李本涛, 邵鸿飞. 微波消解-石墨炉原子吸收光谱法测定胶囊中的痕量铬[J]. 化学分析计量, 2011, 20(3): 30-32.
- [4] 许春树. 皮革六价铬含量的检测方法及改进[J]. 轻工标准与质量, 2005(2): 34-35.
- [5] Hossain M A, Kumita M, Michigami Y, et al. J Chromatogr Sci [J]. 2005, 43(2): 98-103.

(收稿日期: 2014-08-24) 编辑: 薛铁瑛