

地耳草挥发性成分 HSGC/MS 分析及其动态研究

韩 乐, 刘训红, 王丽娟, 傅兴圣

(南京中医药大学, 江苏 南京 210046)

摘要:探讨地耳草挥发性成分的动态积累, 为确定地耳草的最佳采收期提供依据。采用 HSGC/MS 法分析不同采收时间地耳草挥发性成分, 并用峰面积归一化法确定各成分的相对百分含量, 以其中 6 种主要活性成分为指标, 考察它们的动态变化。初步分离鉴定出 48 种成分, 其中共有成分 22 种, 不同生长期地耳草挥发性成分积累具有一定规律。地耳草挥发性成分积累曲线最大峰值与传统采收期基本一致。

关键词:地耳草; 挥发性成分; 顶空气相色谱-质谱; 动态变化

中图分类号: O 657. 63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2010)04-0247-05

Study on the Dynamic Change of Volatile Components in Herba Hyperici Japonici by HSGC/MS

HAN Le, LIU Xun-hong, WANG Li-juan, FU Xing-sheng

(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract: To reaserarch the dynamic change of volatile components in Herba Hyperici Japonici, and provide scientific basis for determining the best collecting time, the volatile components of Herba Hyperici Japonici from different harvesting time were analyzed by HSGC/MS. The relative content of the components were determined with peak area normalization method, and the dynamic change of 6 main boiactive components were determined. The results show that 48 constituents are separated and identified. There are 22 co-containing compounds in Herba Hyperici Japonici from different harvesting time. The accumulation of volatile components show a regular pattern. The main volatile components in Herba Hyperici Japonici are the highest in the traditional harvesting time.

Key words: Herba Hyperici Japonici; volatile components; HSGC/MS; dynamic change

地耳草为较常用中药, 系藤黄科植物地耳草 *Hypericum japonicum* Thunb. 干燥全草, 具有清热利湿、解毒消肿之功效, 主治湿热黄疸、泄泻、痢疾、疮痍肿痛、急性肾炎、血吸虫病等病症,

其注射液已广泛用于临床, 治疗急、慢性肝炎, 效果显著^[1]。现代药理研究表明, 地耳草具有增强免疫和抗肿瘤的作用^[2], 地耳草挥发性成分中, 顺式-氧化芳樟醇有镇静、降血压、抗菌等作

收稿日期: 2009-08-02; 修回日期: 2009-12-17

基金项目: 南京中医药大学“药用生物资源研究与利用”优秀科技创新团队支持计划

作者简介: 韩 乐(1985~), 男(汉族), 硕士研究生, 从事中药品质评价研究。E-mail: winner2243@sohu.com

通信作者: 刘训红(1959~), 男(汉族), 教授, 从事中药材质量分析及中药鉴定学教学与研究。E-mail: liuxunh1959@sohu.com

用^[3]; *D*-柠檬烯能够有效地抑制癌细胞的生长以及诱导凋亡^[4]; α -蒎烯和 β -蒎烯有抗病毒、抗菌作用^[5]; 氧化石竹烯(β -石竹烯)有平喘、镇静、抗癌作用^[6]; 糠醛有较强的抗菌作用。本研究在地耳草品质鉴定、指纹谱分析的基础上^[7-8], 用 HSGC/MS 法分析不同采收时间的地耳草挥发性成分, 并用峰面积归一化法确定各成分的相对百分含量, 以其中主要活性成分为指标, 考察它们的动态变化, 为确定药材的最佳采收期提供科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890/5975B 型气相-质谱联用仪; 美国 Agilent 公司产品, G1701DAD. 03. 00. 611 工作站; Agilent G1888 顶空自动进样器; 美国 Agilent 公司产品, NIST05 标准质谱检索库。

不同采收时间的地耳草样品(080513、080523、080603、080613、080623、080703、080713、080723): 采自福建省尤溪县台溪乡台溪村第二洋, 经作者鉴定为藤黄科植物地耳草 *Hypericum japonicum* Thunb. 全草。留样凭证存放于南京中医药大学中药鉴定实验室。

1.2 实验条件与方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱: HP-5MS(5% 苯甲基聚硅氧烷弹性石英毛细管柱, 30. 0 m \times 250 μ m \times 0. 25 μ m); 进样口温度 150 $^{\circ}$ C; 程序升温: 初温 40 $^{\circ}$ C, 保持 5 min, 以 2 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹ 升至

100 $^{\circ}$ C, 保持 6 min, 再以 2. 5 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹ 升至 180 $^{\circ}$ C; 载气(He)流量 1. 0 mL \cdot min⁻¹; 分流比 20 : 1。

1.2.2 质谱条件 EI 离子源, 离子源温度 230 $^{\circ}$ C, 四极杆温度 150 $^{\circ}$ C, 接口温度 280 $^{\circ}$ C, 电子倍增器电压 1 329. 4 V, 电子能量 70 eV, 质量扫描范围 m/z 45~600。

1.2.3 分析方法 用 HP-5MS 色谱柱对色谱分离条件进行优化, 确定最佳分离条件。通过对药材粉碎粒度、体积装样量、顶空加热温度及顶空加热时间进行考察, 确定地耳草挥发性成分优化的顶空条件。样品按选定的顶空条件及分析条件进行 HSGC/MS 分析, 利用 NIST05 标准质谱检索库进行检索, 峰面积归一化法测定各组分的相对百分含量。

1.2.4 样品分析 取 3 g 地耳草粉末(过 80 目筛), 精密称定, 置于顶空瓶中, 密封, 放入顶空进样器, 110 $^{\circ}$ C 加热平衡 60 min, 对地耳草挥发性成分进行 GC/MS 分析, 获得地耳草挥发性成分的总离子流色谱图, 示于图 1。所得质谱图经计算机数据处理和标准质谱图库检索鉴定, 并与有关标准谱图核对, 初步鉴定出 48 种组分; 将总离子流图中各峰面积进行归一化处理, 测得地耳草顶空气体中各组分的百分含量; 以顺式-氧化芳樟醇、*D*-柠檬烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯、氧化石竹烯、糠醛等 6 种主要活性成分为指标, 考察它们的动态变化, 结果示于表 1, 图 2。

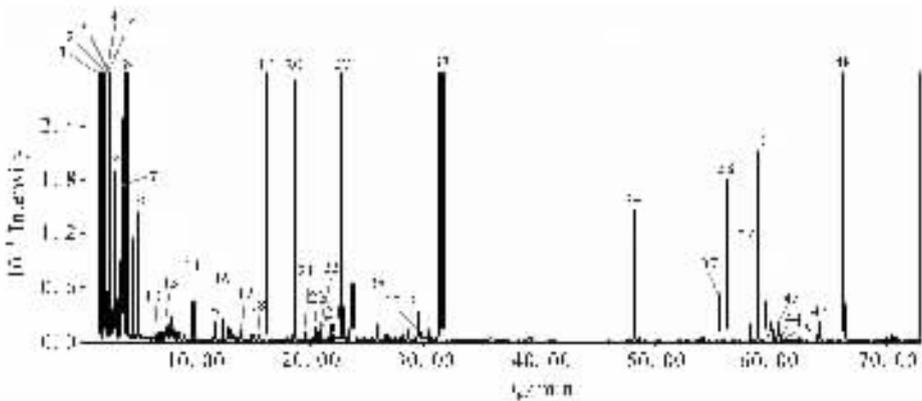


图 1 地耳草挥发性成分总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of volatile components in Herba *Hyperici Japonici*

表 1 不同采收时间地耳草挥发性成分鉴定结果

Table 1 Identified components of volatile in Herba Hyperici Japonici at different harvest time

序号	t_R /min	化合物	相对分子质量	质量百分含量/%								相似度/%
				080513	080523	080603	080613	080623	080703	080713	080723	
1	1.734	一氯甲烷 Methyl chloride	50	1.45	0.90	1.34	0.79	0.93	0.71	1.14	0.78	90
2	2.195	2-甲基-1,3-丁二烯 2-Methyl-1,3-butadiene	68	0.39	0.17	0.25	0.18	0.21	4.40	2.53	0.27	91
3	2.283	二甲基硫醚 1-(2-Furanyl)-ethanone	62	0.75	0.46	1.43	4.19	5.02	—	5.06	1.25	91
4	3.072	3-甲基呋喃 3-Methyl-furan	82	0.28	0.12	0.25	0.21	0.28	0.20	0.25	0.20	91
5	3.292	氯仿 Chloroform	119	0.14	0.09	0.10	0.08	0.10	0.10	0.10	0.10	93
6	3.690	4-甲基-1,3-戊二烯 4-Methyl-1,3-pentadiene	82	0.18	0.07	0.14	0.20	0.23	0.17	—	0.21	93
7	3.967	3-甲基丁醛 3-Methyl-butanal	86	—	0.37	0.20	0.87	1.05	1.33	1.86	0.69	86
8	4.188	2-甲基丁醛 2-Methyl-butanal	86	0.63	0.43	1.44	5.98	5.79	4.95	5.66	3.55	86
9	5.242	2-乙基呋喃 2-Ethyl-furan	96	0.71	0.38	0.85	0.46	0.59	0.47	0.62	0.37	91
10	5.456	2,5-二甲基呋喃 2,5-Dimethyl-furan	96	0.03	—	—	—	0.02	—	—	—	87
11	6.850	2-甲基-2-丁醛 2-Methyl-2-butenal	84	0.04	—	0.03	0.03	—	0.04	0.04	0.05	80
12	7.286	3-甲基-2-戊酮 3-Methyl-2-pentanone	100	—	—	0.03	—	0.04	—	—	—	80
13	7.910	甲苯 Toluene	92	0.08	0.06	0.09	0.07	0.08	0.08	0.10	0.07	93
14	9.658	正己醛 Hexanal	100	0.03	0.18	0.20	0.16	0.21	0.05	0.24	0.31	83
15	11.601	糠醛 2-Furfural	106	0.05	—	—	0.07	0.08	0.05	0.10	0.08	91
16	12.307	5-(1,1-二甲基)环戊二烯 5-(1,1-Dimethyl)-1,3-cyclopentadiene	92	0.50	0.19	0.35	0.27	0.36	0.25	0.08	0.23	91
17	13.967	1,4-二甲苯 <i>p</i> -Xylene	106	0.13	0.08	0.09	0.05	0.07	0.06	0.06	0.05	97
18	15.146	2,6-二甲基-1,5-庚二烯 2,6-Dimethyl-1,5-heptadiene	124	—	—	—	0.04	0.05	0.05	0.06	0.04	86
19	16.257	壬烷 Nonane	128	1.51	5.83	2.56	9.54	3.38	2.23	1.87	1.78	91
20	18.559	(+)- α -蒎烯 (+)- α -Pinene	136	1.26	4.58	3.11	3.45	4.24	4.81	3.09	4.58	96
21	19.619	莰烯 Camphene	136	—	—	—	—	—	—	—	0.05	93
22	20.496	安息香醛 Benzaldehyde	106	0.11	0.07	0.09	0.08	0.09	0.08	0.10	0.07	93
23	20.805	5-甲基糠醛 5-Methyl-2-furfural	110	0.24	—	—	0.12	0.11	0.05	0.10	0.05	91
24	21.739	β -蒎烯 β -Pinene	136	—	0.09	0.08	0.06	0.09	0.08	0.08	0.09	97
25	22.704	6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-Methyl-5-hepten-2-one	126	—	—	—	0.95	1.42	1.09	1.66	1.55	80
26	23.045	2-戊基呋喃 2-Pentyl-furan	138	0.64	0.32	0.51	0.31	0.34	0.33	0.35	0.37	81
27	23.682	癸烷 Decane	142	0.16	0.38	0.24	0.36	0.37	0.38	0.34	0.28	94
28	25.757	<i>D</i> -柠檬烯 <i>D</i> -Limonene	136	0.12	0.10	0.09	0.14	0.16	0.25	0.15	0.23	96
29	28.565	3,8-二甲基十一碳烷 3,8-Dimethyl-undecane	136	—	0.12	—	—	0.08	—	—	—	80
30	29.145	顺式-氧化芳樟醇 <i>cis</i> -Linaloloxide	170	0.13	—	—	0.07	0.09	0.07	—	0.09	91
31	29.486	2,6-二甲基-3,5-庚二酮 2,6-Dimethyl-3,5-heptanedione	156	0.92	0.24	0.42	0.25	0.27	0.30	0.30	0.34	91
32	30.337	顺式- $\alpha,\alpha,5$ -三甲基-5-乙烯基-2-糠醇 <i>cis</i> - $\alpha,\alpha,5$ -Trimethyl-5-ethyltetraphydro- 2-furanmethanol	170	—	—	0.04	—	—	—	—	—	80
33	31.366	十一碳烷 Undecane	156	72.29	71.72	68.78	56.98	58.62	64.27	60.40	67.19	95
34	48.166	正十三烷 Tridecane	184	0.54	0.37	0.51	0.43	0.44	0.50	0.63	0.71	95

续表

序号	t_R /min	化合物	相对分子质量	质量百分含量/%								相似度/%
				080513	080523	080603	080613	080623	080703	080713	080723	
35	55.604	月桂醛 Dodecanal	184	—	0.34	0.25	0.13	—	0.19	0.08	—	91
36	55.730	正十二硫醇 1-Dodecanethiol	202	—	—	0.07	—	—	—	—	—	86
37	55.768	α -柏木烯 α -Cedrene	204	0.19	—	—	—	—	—	—	0.12	96
38	56.260	β -石竹烯 β -Caryophyllene	204	0.55	0.47	0.63	0.37	0.71	0.72	0.73	0.87	96
39	58.278	α -石竹烯 α -Caryophyllene	204	0.31	0.35	0.46	0.24	0.37	0.41	0.40	0.48	99
40	59.048	菖蒲二烯 Acoradiene	204	1.30	3.99	5.84	3.02	—	0.98	3.24	0.96	83
41	59.420	十三醇 1-Tridecanol	204	0.61	1.50	—	—	—	—	—	—	91
42	59.528	环癸烷 Cyclodecane	144	—	—	0.86	0.70	0.62	0.72	0.37	—	91
43	60.152	4(14),11-桉叶二烯	204	—	—	—	—	—	—	0.17	0.18	99
		4(14),11-Diene-eudesma										
44	60.651	α -芹子烯 α -Selinene	204	—	—	—	—	—	0.11	0.06	0.10	93
45	60.821	十五烷 Pentadecane	180	0.06	—	0.04	—	0.04	0.07	0.06	0.07	93
46	61.042	(Z)- α -没药烯 (Z)- α -Bisabolene	204	—	0.15	0.14	—	—	0.04	0.09	—	94
47	64.209	橙花叔醇 Nerolidol	222	—	0.31	0.26	0.11	0.18	0.08	0.14	0.10	90
48	66.435	环十二烷 Cyclododecane	168	1.38	0.59	0.42	1.09	1.01	1.28	0.95	1.77	96

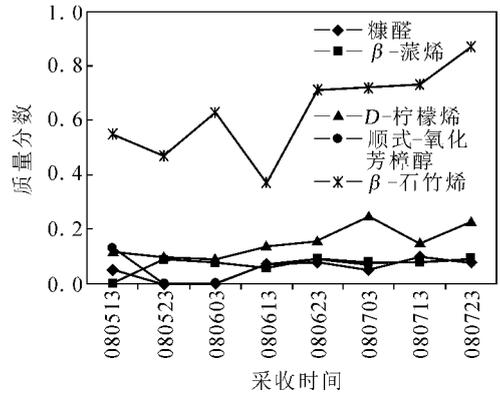
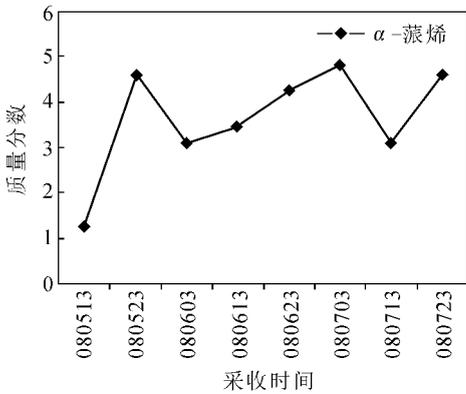


图 2 不同采收时间地耳草挥发性成分中 6 种主要活性成分的含量变化

Fig. 2 Seasonal variation of 6 main bioactive components in Herba Hyperici Japonici

2 讨论

2.1 挥发性成分顶空条件的优化

2.1.1 药材粉碎粒度的考察 分别称取 2 g 30、40、60、80、100 目药材粉末,精密称定,置于顶空瓶中,密封,放入顶空进样器,120 °C 加热 30 min。结果表明,40、30 目药材粉末所得色谱峰数比 60 目药材峰数明显要少,80 目所得色谱峰数、峰高较 60 目要高,100 目所得色谱峰数与 80 目所得色谱峰数基本相近,但峰高较 80 目低。可见药材粉碎的粒径越细,目数越大,比表面积越大,粉末中的挥发性成分越易散发出来,但是粒径过细则容易吸附在进样针上,造成污染,故

粉碎粒度选择 80 目药材粉末。

2.1.2 体积装样量的考察 分别称取 4、3、2、1.5 g(占顶空瓶体积 2/3、1/2、1/3、1/4 的量)80 目药材粉末,精密称定,置于顶空瓶中,密封,放入顶空进样器,120 °C 加热 30 min。结果表明,1.5 g 药材所测出的色谱峰数较少;2 g 药材峰面积较小;3 g 药材测出的色谱峰较多,峰面积较大;4 g 药材测出的色谱图不理想。原因可能是装样量过多,进样瓶底粉末中挥发性成分不容易散发出来,造成进样针的污染,过多的粉末会吸附在进样针上,故体积装样量选择 3 g。

2.1.3 顶空加热温度的考察 称取 3 g 80 目

药材粉末,精密称定,置于顶空瓶中,密封,放入顶空进样器,分别在 90、100、110、120 ℃ 下加热平衡 60 min。结果表明,90 ℃ 和 100 ℃ 加热温度下检出的色谱峰明显要少,110 ℃ 和 120 ℃ 加热检出的色谱峰中前者峰高较大,故样品加热温度选择 110 ℃。

2.1.4 顶空加热时间的考察 称取 4 份 3 g 80 目药材粉末,精密称定,置于顶空瓶中,密封,放入顶空进样器,120 ℃ 分别加热 30、40、50、60 min,取样分析。结果表明,4 种不同加热时间下的峰数相差不多,加热 60 min 的峰高较高,故样品加热平衡时间选择 60 min。

2.2 挥发性成分分析及其动态变化

不同采收时间地耳草挥发性成分共分离出 48 个色谱峰,初步鉴定出 48 种成分,其中共有成分 22 种,分别为一氯甲烷、2-甲基-1,3-丁二烯、3-甲基咪喃、氯仿、2-甲基丁醛、2-乙基咪喃、甲苯、正己醛、5-(1,1-二甲基)环戊二烯、1,4-二甲苯、壬烷、 α -蒎烯、安息香醛、2-戊基咪喃、癸烷、D-柠檬烯、2,6-二甲基-3,5-庚二酮、十一碳烷、正十三烷、 β -石竹烯、 α -石竹烯、环十二烷。

不同采收时间地耳草挥发性成分中 6 种主要活性成分分析显示,糠醛含量以 6、7 月份较高, α -蒎烯含量以 7 月较高, β -蒎烯含量以 6、7 月较高,D-柠檬烯含量以 7 月份较高,顺式-氧化芳樟醇含量以 6、7 月份较高, β -石竹烯(氧化石竹

烯)含量以 7 月份较高;6 种主要活性成分的总含量以 7 月份较高。

综上,地耳草挥发性成分积累曲线最大峰值与传统采收期基本一致,初步认为 6、7 月份为适宜采收期。

参考文献:

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:2 208.
 [2] 肖培根. 新编中药志:第三卷[M]. 北京:化学工业出版社,2002:90.
 [3] 姚 雷. 吐露芬芳却为谁[J]. 生命世界,2007,(12):64-69.
 [4] 王 玲,张秀珍. D-柠檬烯对人胃癌 MGC803 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 生命科学仪器,2009,7(1):26-28.
 [5] 孙田江,玄振玉,陆宏国,等. GC 法测定连翘子挥发油中 α -蒎烯和 β -蒎烯的含量[J]. 药学与临床研究,2009,17(1):75-77.
 [6] 范维刚,解成喜,李 锋,等. 罗布麻叶挥发油的气相色谱-质谱分析[J]. 质谱学报,2005,26(2):93-95.
 [7] 宋建平,刘训红,朱育凤,等. 地耳草及其混伪品的鉴定研究[J]. 中药材,2008,31(5):663-665.
 [8] 李仕海,刘训红,韩 乐,等. 地耳草的 HPLC 指纹图谱鉴定研究[J]. 新疆中医药,2008,26(3):72-73.

=====
 (上接第 234 页)

[8] GOMEZ E, MARTINEZ A, LAENCINA J. Localization of free and bound aromatic-compounds among skin, juice and pulp fractions of some grape varieties[J]. Vitis, 1994, 33(1): 1-4.
 [9] MATTHEIS J P, BUCHANAN D A, FELLMAN J K. Identification of headspace volatile compounds from 'Bing' sweet cherry fruit[J]. Phytochemistry,1992, 31: 775-777.
 [10] MATTHEIS J P, BUCHANAN D A, FELLMAN J K. Volatile compounds emitted by sweet cherries(*Prunus avium* Cv. Bing) during fruit development and ripening[J]. J Agric Food Chem, 1992, 40: 471-474.
 [11] GIRARD B, KOPP T G. Physicochemical characteristics of selected sweet cherry cultivars [J].

Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1998, 46: 471-476.
 [12] 张 序,姜远茂,彭福田,等. “红灯”甜樱桃果实发育进程中香气成分的组成及其变化[J]. 中国农业科学,2007,40(6): 1 222-1 228.
 [13] BERNALTE M J, HERNANDEZ M T, VIDAL-ARAGON M C, et al. Physical, chemical, flavor and sensory characteristics of two sweet cherry varieties grown in 'Valle del Jerte'(Spain) [J]. Journal of Food Quality, 1999, 22: 403-416.
 [14] MARAIS J. Terpene Concentrations and wine quality of vitis-vinifera cv Gewurztraminer as affected by grape maturity and cellar practices [J]. Vitis, 1987, 26(4): 231-245.