

文章编号:1673-0062(2017)03-0101-05

GC-MS 法测定分析吴茱萸挥发油的有效化学成分

李 斐,周立分,董嘉皓,陈 洋,曹 岚,袁金斌*

(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)

摘 要: 尝试快速分析吴茱萸果实中的挥发油组分,为后续的吴茱萸功效-毒性物质基础研究提供依据.通过水蒸气蒸馏法提取挥发油,运用气相色谱—质谱(GC-MS)联用技术测定了吴茱萸挥发油中所含的化学成分和其相对含量.结果表明:一共含有48种化合物,占吴茱萸挥发油含量的93.99%,其中相对含量较高的成分有(Z)-罗勒烯(60.57%)、(E)-罗勒烯(9.11%)、月桂烯(5.94%)、石竹烯(1.78%)、 β -榄香烯(2.04%).吴茱萸挥发油中的化学成分十分丰富,使用GC-MS方法可以快速高效地鉴别它的有效挥发油成分.

关键词: 吴茱萸;挥发油;气相色谱—质谱(GC-MS)联用技术

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A

Analysis of Volatile Oil of *Euodia rutaecarpa* by GC-MS Method

LI Fei, ZHOU Li-fen, DONG Jia-hao, CHEN Yang, CAO Lan, YUAN Jin-bin *

(Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education,
Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330004, China)

Abstract: It is to analyze the volatile oil of *euodia rutaecarpa* (ER), and provide the experimental data for the subsequent efficacy and toxicity research of ER. The volatile oils were extracted from ER by steam distillation. The component analysis and the relative content of volatile oil were carried out by GC-MS under the optimum conditions. A total of 48 compounds were identified in this experiment, accounted for 93.99% of the total volatile oil. Some relatively higher content compounds consist of (Z)-Ocimene (60.57%), (E)-Ocimene (9.11%), Myrcene (5.94%), Caryophyllene (1.78%), and β -Elemene (2.04%). The volatile oil of ER contains abundant chemical composition. GC-MS method is a fast, sensitive and reliable tool for the component analysis of volatile oil.

key words: *Euodia rutaecarpa*; volatile oil; GC-MS

收稿日期:2017-08-14

基金项目:国家自然科学基金项目(81560648)

作者简介:李 斐(1994-),女,硕士研究生,主要从事于药物分析方面的研究.E-mail:lfzhy0408@163.com. * 通讯作者:袁金斌,E-mail:kings2008@163.com

0 引言

吴茱萸为常用中药,产自我国秦岭以南各地的低海拔山地疏林或灌木丛中,为芸香科植物吴茱萸或疏毛吴茱萸干燥的近成熟的果实^[1].吴茱萸主要含有生物碱和挥发油等生物活性成分,具有治疗中风、呕吐、吞酸、心腹冷疼、小肠疝气、妇女阴寒、久不受孕等功效^[2-3].现代研究表明吴茱萸具有镇痛止呕、抗菌、调节血压、抗肿瘤等药理作用^[4-5].

吴茱萸富含挥发油,挥发油成分中罗勒烯、 α -蒎烯早已被证明具有良好的抑菌作用^[4],但更多的挥发性化合物及其药理活性仍需进一步研究.已有文献采用 GC-MS(气相色谱-质谱联用技术)对吴茱萸挥发油中的化合物进行了分析^[6-8],但吴茱萸挥发油随产地、采收期、储存时间等变化而变化,所以结果不一致.前期研究发现,吴茱萸挥发油有显著的镇痛功效和伴随性毒副作用.为明确其具体的活性物质基础,本文采用水蒸气蒸馏法提取吴茱萸挥发油,并用气相色谱—质谱联用技术进行有效化学成分分离和分析鉴定,获得了理想的结果.

1 材料

1.1 材料与试剂

吴茱萸药材采集于江西新干县淦川镇,经江西中医药大学曹岚副教授鉴定为芸香科植物吴茱萸(*Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.)的干燥近成熟果实.

乙醚(国药集团化学试剂有限公司)、无水硫酸钠(天津市大茂化学试剂厂)均为市场上公开销售的分析纯;水蒸气蒸馏装置(自制);蒸馏水(自制).

1.2 仪器与设备

气相色谱—质谱联用仪(GC-MS)(Agilent 7890A/5975C,美国);色谱柱为石英毛细管柱(DB-5,0.25 μm \times 250 μm \times 30.0 m);调温电热套(MH-1000,上海亚荣生化仪器厂);万分之一精度的电子天平 MAX 220G(BT224S,北京赛多利斯仪器有限公司).

2 分析与测定结果

2.1 分析方法

2.1.1 提取方法

取干燥的吴茱萸果实,粉碎,过 10 目筛,称取 100 g 粗粉,加水 500 mL 放置在 1 000 mL 烧瓶中

并放在电热套中加热 5 h,用挥发油提取装置提取挥发油.油层用乙醚萃取 3 次,经无水硫酸钠脱水,减压干燥后用乙醚定容备用.

2.1.2 气相色谱分析

石英毛细管柱(0.25 μm \times 250 μm \times 30.0 m),载气:高纯氮气(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 70 $^{\circ}\text{C}$,保持 3 min,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 130 $^{\circ}\text{C}$,再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 160 $^{\circ}\text{C}$,最后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 260 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min.分流比 20 : 1,进样量 1.0 μL .

2.1.3 质谱分析

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 : 30 ~ 500 amu,全扫描方式,NIST 11 质谱库^[9].

2.2 测定结果

气相色谱法的流动相是气体,主要用于分离分析挥发性成分,化合物以沸点的高低先后流出色谱柱,所以柱温是影响分离的重要参数^[10].为了改善复杂体系中的化合物的分离和缩短分析时间,一般采用程序升温^[11].本次实验对升温程序进行了梯度优化,获得了前述的气相色谱分离条件.如图 1 所示,吴茱萸挥发油中各化合物得到了较好的分离,且峰形较好,分析所用时间适中.

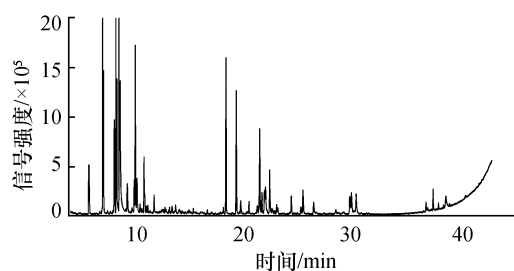


图 1 吴茱萸挥发油的 GC-MS 总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of volatile oil of euodia rutaecarpa

化合物的鉴定过程如下:图 1 中的质谱图是经质谱扫描后得到的,经过质谱数据系统检索(质谱数据库:NIST11 库),参照相关文献及保留时间确定其归属.在默认的积分设置下,吴茱萸挥发油中可检测到 127 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% 以上化合物并进行结果鉴定,其匹配度均大于 85%,合计为 48 个化合物(如表 1 所示),默认积分设置下的归一化计算结果作为相对含量.

表1 吴茱萸挥发油的有效化学成分及其相对含量

Table 1 Chemical composition and the relative quantity of volatile oil

序号	保留时间/min	化合物	分子式	分子量	相对含量/%
1	5.369	2,4,6-Octatrienal (2,4,6-辛三烯醛)	C ₈ H ₁₀ O	122	1.03
2	6.698	Myrcene (月桂烯)	C ₁₀ H ₁₆	136	5.94
3	7.622	O-Cymene(邻-异丙基甲苯)	C ₁₀ H ₁₄	134	0.06
4	7.746	p-mentha-1(7),3-diene (β-松油烯)	C ₁₀ H ₁₆	136	1.62
5	7.930	(E)-Ocimene (E)-罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136	9.11
6	8.265	(Z)-Ocimene (Z)-罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136	60.57
7	8.837	g-Terpinene (萜品烯)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.14
8	9.696	Linalool (里那醇)	C ₈ H ₁₈ O	154	2.14
9	9.853	6-Methylhepta-3,5-dien-2-one (6-甲基-3,5-戊二烯-2-酮)	C ₈ H ₁₂ O	124	0.73
10	10.150	1,2,4,4-Tetramethyl-1-cyclopentene (1,2,4,4-四甲基-1-环戊烯)	C ₉ H ₁₆	124	0.18
11	10.318	Cosmene (波斯菊萜)	C ₁₀ H ₁₄	134	0.10
12	10.518	(4E,6Z)-2,6-Dimethyl-2,4,6-octatriene (4E,6Z)-2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.98
13	10.874	3,4-Dimethyl-2,4,6-octatriene (3,4-二甲基-2,4,6-辛三烯)	C ₁₀ H ₁₄	134	0.14
14	12.565	2,5-Dimethylacetophenone (2,5-二甲基苯乙酮)	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.11
15	13.132	(Z)-Carveol (Z)-香芹醇	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.16
16	13.467	Isocarveol (异香芹醇)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.18
17	14.709	Phellandral (水芹醛)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.05
18	15.125	2-Hendecanone (2-十一酮)	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.09
19	16.443	4-ethenyl-4-methyl-1-(propan-2-yl)-3-(prop-1-en-2-yl)cyclohexene(4-乙烯基-4-甲基-1-异丙基-3-异丙烯基-环乙烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.04
20	17.648	1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-Naphthalene (1,2,3,4,4a,7-六氢化-1,6-二甲基-4-(1-甲基乙基)-萘)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.03
21	18.167	β-Element (β-榄香烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	2.04
22	19.128	β-Caryophyllene (β-石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.78
23	19.436	Cubebene (葶澄茄油烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.04
24	19.550	Elixene (甘香烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.24
25	20.317	α-Caryophyllene (α-石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.20
26	21.116	1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene (1-异丙基-7-甲基-4-亚甲基-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.20

续表

序号	保留时间/min	化合物	分子式	分子量	相对含量/%
27	21.327	Germacrene (吉玛烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.44
28	21.532	β-Eudesmene (β-桉叶烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.37
29	21.770	2-Tridecanone (2-十三酮)	C ₁₃ H ₂₆ O	198	0.41
30	21.862	(-)-α-Selinene (-)-α-芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.64
31	22.251	α-Farnesene (α-法尼烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.84
32	22.477	2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (2,6-二叔丁基对甲酚)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.10
33	22.575	1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-1-isopropyl-4,7-dimethylnaphthalene (1,2,4a,5,6,8a-六氢化-1-异丙基-4,7-二甲基萘)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.06
34	22.726	Eudesma-3,7(11)-diene (桉叶双烯酮)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.06
35	22.915	δ-Cadinene (δ-杜松萜烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.15
36	24.282	Farnesene (金合欢烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.33
37	25.168	Spathulenol (桉油烯醇)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.13
38	25.373	Caryophyllene oxide (氧化石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.46
39	30.332	2-Pentadecanone (2-十五酮)	C ₁₅ H ₃₀ O	226	0.52
40	38.019	Methyl hexadecanoate (棕榈酸甲酯)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.08
41	38.716	2,2'-Methylenebis(6-tert-butyl-4-methylphenol) (2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚))	C ₂₃ H ₃₃ O ₂	340	0.39
42	38.970	δ-Viridiflorol (δ-白千层醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.01
43	39.942	(+)-α-Bisabolol ((+)-α-没药醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.02
44	40.585	7-Oxabicyclo [4. 1. 0] heptane, 1-methyl-4-(2-methyl-2-oxiranyl) - (1-甲基-4-(2-甲基环氧乙烷基)-7-氧杂双环[4.1.0]庚烷)	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168	0.02
45	41.103	(13α)-D-Homo-5α-androstane (13α)-D-5α 雄甾酮	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	0.01
46	41.687	2-Dodecen-1-ylsuccinic anhydride (十二烯基丁二酸酐)	C ₁₆ H ₂₆ O ₃	266	0.01
47	42.108	as-Indaceno [4, 5-b] oxirene, dodecahydro-(1aa, 1ba, 4aa, 4bb, 7ab, 7ba)-(9CI) 盐(1:1)聚(氧代-1,2-乙二基), a-硫代-w-[(9z)-9-十八碳烯-1-氧基丁-, 钠]	C ₁₂ H ₁₈ O	178	0.01
48	42.351	farnesyl alcohol (法尼醇)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.02

3 结 论

吴茱萸挥发油化学成分的 GC-MS 分析中柱温是十分重要的参数,不同的程序升温条件会造成不同的分析结果.本次实验中为了缩短分析时间和改善吴茱萸挥发油有效化学成分的分离,根据吴茱萸挥发油中化学成分的组成和含量来摸索

程序升温的速率、初始温度和最终温度,最终发现在进样 130 ℃ 至 160 ℃ 温度内(进样 15~30 min 的温度),由于成分较多且繁杂导致各组分峰相互重叠,减缓了温度上升的梯度,而在 160 ℃ 至 260 ℃ 温度内(进样 30~40 min 的温度)由于化学成分较少且成分分离度较好而加快了升温速率.

吴茱萸挥发油中的主要化合物包含 β-月桂

烯、 α -水芹烯、 β -罗勒烯、 α -蒎烯、 β -芳樟醇、石竹烯、吉马烯和氧化石竹烯等。除了上述化合物外,本文还发现了一些在吴茱萸挥发油中属首次报道的化合物,如潜在的活性成分 β -松油烯、里那醇等,这表明吴茱萸挥发油还有待进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中国药典:第一部[M].2015版.北京:中国医药科技出版社,2015,171.
- [2] LIANG J, CHEN Y, REN G, et al. Screening hepatotoxic components in *Euodia rutaecarpa* by UHPLC-QTOF/MS based on the spectrum-toxicity relationship[J]. *Molecules*, 2017, 22(8):1264.
- [3] LI W L, SUN X M, CHEN C, et al. Analysis of *Euodia rutaecarpa* hepatotoxic part and absorbed components in rat serum based on UPLC-Q-TOF MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2017, 38(3):282-293.
- [4] 李雯婧, 李国军, 王智, 等. 吴茱萸挥发油抑菌活性及其化学成分研究[J]. *湖南农业科学*, 2014(10):16-18.
- [5] SHI L, YANG F, LUO F, et al. Evodiamine exerts anti-tumor effects against hepatocellular carcinoma through inhibiting β -catenin-mediated angiogenesis[J]. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology & Medicine*, 2016, 37(9):1-13.
- [6] 刘应蛟, 徐贝, 喻亚飞, 等. 三种不同方法提取吴茱萸果实挥发油成分的GC-MS分析[J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(2):27-30.
- [7] 郑会丹, 林崇良, 蔡进章, 等. 浙产吴茱萸挥发油化学成分的分析[J]. *中国中医药科技*, 2012, 19(2):148-149.
- [8] 娄方明, 李群芳, 黄燮南, 等. 固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析吴茱萸挥发油成分[J]. *药物分析杂志*, 2010, 30(7):1248-1253.
- [9] 蒋军辉, 徐小娜, 于军晖, 等. 气相色谱-质谱联用技术分析藿香挥发油化学成分[J]. *南华大学学报(自然科学版)*, 2016, 30(1):77-81.
- [10] 唐怡, 任刚, 黄群, 等. 石菖蒲挥发油化学成分的GC-MS分析[J]. *江西中医药*, 2014, 45(12):60-62.
- [11] 徐小娜, 蒋军辉. GC-MS联用技术分析徐长卿挥发性化学成分[J]. *南华大学学报(自然科学版)*, 2011, 25(2):84-88.
- [12] 姜冬梅, 朱源, 余江南, 等. 芳樟醇药理作用及制剂研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(18):3530-3533.