

剑叶耳草挥发油的 GC-MS 分析

潘为高, 李勇, 朱小勇, 朱意麟, 李耀华, 罗彭*
(广西中医药大学, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 研究剑叶耳草挥发油的化学成分组成。方法: 分别采用水蒸气蒸馏法(SD)和超临界 CO₂ 萃取法(SFE)提取制备两种挥发油; 通过气质联用分析其化学成分组成, 用面积归一化法确定各成分的相对百分含量。结果: 水蒸气蒸馏法挥发油中分离出 67 个色谱峰, 鉴定其中 32 个化合物, 占挥发油总量的 73.76%; 超临界 CO₂ 萃取法挥发油中分离出 82 个色谱峰, 鉴定其中 45 个化合物, 占挥发油总量的 61.62%。结论: 剑叶耳草挥发油主要包括脂肪族含氧衍生物、芳香族含氧衍生物和萜含氧衍生物, 但两种提取方法的挥发油成分组成和含量有差异。

[关键词] 剑叶耳草; 挥发油; 超临界萃取法; 水蒸气蒸馏法; GC-MS

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)15-0130-05

GC-MS Analysis of Volatile Oil from *Hedyotis lancea*

PAN Wei-gao, LI Yong, ZHU Xiao-yong, ZHU Yi-lin, LI Yao-hua, LUO Peng*
(Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of volatile oil from *Hedyotis lancea*. **Method:** Two kinds of volatile oil were separately prepared by steam distillation (SD) and supercritical CO₂ extraction (SFE). The constituents were separated and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry with the area normalization method to determine the relative percentage content of each component. **Result:** Sixty-seven compounds were isolated and 32 compounds were identified by SD that composed about 73.76% of the total essential oil; and 82 compounds were isolated and 45 compounds were identified by SFE that composed about 61.62% of the total essential oil. **Conclusion:** The principal chemical constituents of the volatile oil from *H. lancea* are aliphatic derivatives, aromatic derivatives and terpene derivatives. There are some differences in the principal chemical constituents and content of the volatile oil extracted by SD and SFE.

[Key words] *Hedyotis lancea*; volatile oil; supercritical fluid extraction; steam distillation; GC-MS

剑叶耳草为茜草科耳草属直立分枝的灌木状草本, 生于山地林下或山谷溪旁, 分布于广西、广东、湖南、江西、福建、浙江(南部)、贵州等省区^[1-2]。剑叶耳草又名咳嗽癆、癆病草、少年劳、小柴胡、山甘草、硬杆野甘草、柳枝红、千年茶、甜茶、产后茶、山溪黄草、天蛇木、铁扫把、长尾耳草等^[3-5]。剑叶耳草的

药性甘、平、凉、无毒, 具有润肺、止咳化痰、消积止血、健脾消积、疏风退热、止泻的作用, 主治支气管炎及哮喘、肺癆咳嗽咳血、小儿疳积、跌打损伤(肿痛)及外伤出血、火眼、小儿发烧、咽喉痛、腹泻等^[3,5]。

剑叶耳草目前仅有根、茎、叶显微结构的鉴别研究^[6], 生药学上的化学特征尚未确定, 药理活性的物质基础需要阐述。本文采用水蒸气蒸馏法(SD)及超临界 CO₂ 萃取法(SFE)提取剑叶耳草的挥发油, 采用气相色谱-质谱联用技术分离鉴定了剑叶耳草的化学成分, 并采用面积归一化法确定了各成分的相对百分含量, 对 2 种方法下提取的剑叶耳草挥发性成分进行分析对比。

1 材料

华黎 HL-(5+1)L/50 MPa-II AQ 型超临界流体

[收稿日期] 20120227(018)

[基金项目] 广西中医学院院级课题(P2009044)

[第一作者] 潘为高, 博士, 副教授, 从事天然药物化学与药物合成研究, Tel: 15994351094, E-mail: 81706672@qq.com

[通讯作者] * 罗彭, 硕士, 讲师, 从事天然药物与民族药研究, Tel: 15907715150, E-mail: agao81706672@163.com

(CO₂)萃取设备,美国 Agilent6890/5973N 型 GC-MS 联用仪(HP-SMS 毛细管柱,0.25 mm × 30 m,0.25 μm),METTLER AE100 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),LG16-W 型高速微量离心机(北京医用离心机厂)。分析纯无水乙醚、无水硫酸钠(国药集团化学试剂有限公司)。

剑叶耳草采集于广西金秀瑶族自治县,经广西中医学院药学院中药鉴定教研室朱意麟老师进行生药学鉴定为 *Hedyotis lancea* Thunb.。剑叶耳草药材全株,阴干、粉碎,于 4 °C 密闭保存待用。

2 方法

2.1 挥发油的提取 水蒸气蒸馏提取^[7]:剑叶耳草粗粉 30.0 g,加水 100 mL 置挥发油提取器中进行提取,用无水乙醚萃取馏出液,用无水硫酸钠干燥除水,挥去乙醚,得到有辛芳香味的无色油状液体。

超临界 CO₂ 萃取^[8,9]:剑叶耳草粗粉 100.0 g,经萃取得黄色油状物。提取条件为萃取釜 25 MPa,53 °C;分离釜 I 为 4 MPa,36 °C;分离釜 II 为 5 MPa,29 °C;CO₂ 流量 11.3 kg·h⁻¹,萃取时间 1.5 h。

2.2 挥发油 GC-MS 测定与分析 样品用重蒸乙醚稀释后进样,进行 GC-MS 测试,得总离子流图,并将所得色谱和质谱信息经计算机数据处理系统进行自动检索和质谱库(NIST08.L, Wiley275.L)对照,结合人工检索与解析,鉴定剑叶耳草挥发油中的化学成分,用面积归一化法确定各成分的质量分数。

气相色谱测试条件:进样量 1.0 μL,分流比 20:1(超临界 CO₂ 萃取法)或不分流(水蒸气蒸馏法),载气为 N₂,流速 1 mL·min⁻¹,接口温度 280 °C。程序升温:柱初温 80 °C,保持 3 min,以 10 °C·min⁻¹(超临界 CO₂ 萃取法)或 15 °C·min⁻¹(水蒸气蒸馏法)速率升温至 140 °C,保持 3 min,再以 8 °C·min⁻¹(超临界 CO₂ 萃取法)或 5 °C·min⁻¹(水蒸气蒸馏法)速率升温至 200 °C,保持 5 min,再以 8 °C·min⁻¹(超临界 CO₂ 萃取法)或 5 °C·min⁻¹(水蒸气蒸馏法)速率升温至 250 °C,保持 3 min。

质谱测试条件^[10]:接口温度 280 °C,电离方式为 EI 源,电子能量 70 eV,离子源温度 250 °C,四极杆温度 150 °C,扫描范围 *m/z* 45 ~ 550,加速电压 1 247 eV,扫描间歇每秒 2.94 次,溶剂延时 3 min。

3 结果与讨论

剑叶耳草挥发油 GC-MS 分析结果见表 1。水蒸气蒸馏法提取的挥发油中分离出 67 个色谱峰,鉴定其中 32 个化合物,占挥发油总量的 73.76%。超

临界 CO₂ 萃取法提取的挥发油中分离出 82 个色谱峰,鉴定其中 45 个化合物,占挥发油总量的 61.62%。两种提取方法所得挥发油成分主要包含脂肪族、萜类和芳香族的 3 大类衍生物。

脂肪族衍生物(表 1, No. 1 ~ 34)方面:水蒸气法与超临界法均获得多个饱和直链烷烃。超临界法得到不饱和链状脂肪烃、饱和或不饱和支链烷烃,而水蒸气法没有得到。水蒸气法得到环状脂肪烃,而超临界法得到环状脂肪烃及烯酮衍生物。水蒸气法得到饱和脂肪醇、饱和或不饱和脂肪醛,而超临界法没有得到。2 种方法都得到饱和直链脂肪酸、饱和或不饱和脂肪酸的酯。

萜类衍生物(表 1, No. 35 ~ 50)方面:超临界法所得单萜种类和数目远比水蒸气法丰富,前者得到环状单萜醇、环状单萜醚、环状单萜醛、环状单萜酮,而后者仅得环状单萜醇。倍半萜方面,水蒸气法相对丰富,得到链状倍半萜的脂肪酮、环状倍半萜,超临界法得到环状倍半萜。二萜方面,超临界法得到 1 个链状二萜醇,水蒸气法得到 2 个链状二萜醇,其中(*E*)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇占水蒸气法挥发油总量的 27.5%。另外超临界法还得到芳环萜类,而水蒸气法没有。

芳香族衍生物(表 1, No. 51 ~ 67)方面:水蒸气法得到苯的共轭烯酮,超临界法没有得到。2 种方法均获得苯酚类、邻苯二甲酸的酯类。超临界法获得苯丙酸的酯类、单苯核的烷基或烷氧基衍生物、多苯核的烯、炔、醇、醚衍生物、苯与稠环芳香烃的酮、醚衍生物,而水蒸气法没有获得这些成分。

水蒸气提取法依据挥发性原理,用水蒸气加热药材,使易挥发成分释放出来,所得成分具有易挥发性;超临界 CO₂ 萃取法依据极性相似相溶原理,用非极性 CO₂ 超临界流体对药材进行提取,提取物具有低极性特点。由于提取原理不同,2 种方法所得成分的类型和含量存在差异。同时易挥发成分一般具备相对分子质量小、极性低的特点,故而 2 种方法所得剑叶耳草的挥发油又有相同之处,即均是脂溶性成分。但低极性成分未必均是易挥发成分,所以超临界法所得化合物种类和数目比水蒸气法丰富。

水蒸气和超临界 CO₂ 提取的挥发油在一定程度上能代表剑叶耳草的脂溶性化学部位,首次对其化学成分种类进行阐述,为剑叶耳草多种药理活性的物质基础研究提供了借鉴。

表 1 剑叶耳草挥发油的 GC-MS 分析

No.	<i>t</i> /min		CAS 号	化合物	分子式	相对分子质量	质量分数/%	
	SD	SFE					SD	SFE
1	10.63	-	000124-18-5	<i>n</i> -decane(正癸烷)	C ₁₀ H ₂₂	142	0.34	-
2	8.41	-	000629-50-5	<i>n</i> -tridecane(正十三烷)	C ₁₃ H ₂₈	184	0.35	-
3	15.15	-	000629-59-4	<i>n</i> -tetradecane(正十四烷)	C ₁₄ H ₃₀	198	0.26	-
4	36.35	14.18	000629-62-9	<i>n</i> -pentadecane(正十五烷)	C ₁₅ H ₃₂	212	0.59	2.11
5	12.80	16.16	000544-76-3	<i>n</i> -hexadecane(正十六烷)	C ₁₆ H ₃₄	226	1.22	0.56
6	32.20	17.88	000629-78-7	<i>n</i> -heptadecane(正十七烷)	C ₁₇ H ₃₆	240	0.71	1.04
	-	21.03					-	0.76
7	-	19.42	000593-45-3	<i>n</i> -octadecane(正十八烷)	C ₁₈ H ₃₈	254	-	0.98
	-	23.07					-	0.73
8	12.60	-	000629-92-5	<i>n</i> -nonadecane(正十九烷)	C ₁₉ H ₄₀	268	0.45	-
	17.11	-					0.39	-
9	-	29.36	000629-94-7	<i>n</i> -heneicosane(二十一烷)	C ₂₁ H ₄₄	296	-	0.50
10	-	25.62	000629-97-0	<i>n</i> -docosane(二十二烷)	C ₂₂ H ₄₆	310	-	0.97
11	-	27.69	000629-99-2	<i>n</i> -pentacosane(二十五烷)	C ₂₅ H ₅₂	352	-	0.67
12	17.64	-	000593-49-7	<i>n</i> -heptacosane(正二十七烷)	C ₂₇ H ₅₆	380	1.02	-
13	-	19.56	000630-02-4	<i>n</i> -octacosane(正二十八烷)	C ₂₈ H ₅₈	394	-	0.45
	-	28.33					-	0.59
14	-	32.25	000638-68-6	<i>n</i> -triacontane(正三十烷)	C ₃₀ H ₆₂	422	-	3.64
15	13.82	-	007098-22-8	<i>n</i> -tetratetracontane(正四十四烷)	C ₄₄ H ₉₀	619	0.63	-
16	-	21.59	074752-91-3	1-tetradecen-3-yne	C ₁₄ H ₂₄	192	-	0.76
17	-	30.79	000000-00-0	10-methylnonadecane	C ₂₀ H ₄₂	282	-	0.96
18	12.01	-	054833-48-6	heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-	C ₂₁ H ₄₄	296	0.47	-
19	-	17.98	000111-01-3	tetracosane, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-(2,6,10,15,19,23-六甲基二十四烷)	C ₃₀ H ₆₂	422	-	0.68
20	6.87	-	017865-32-6	silane, cyclohexyldimethoxymethyl-(环己基甲基二甲氧基硅烷)	C ₉ H ₂₀ O ₂ Si	188	0.34	-
21	-	30.58	006165-44-2	cyclohexane, 1,1'-(1,4-butanediyl) bis-	C ₁₆ H ₃₀	222	-	1.08
22	-	19.39	077846-84-5	2-cyclohexen-1-one, 4-hydroxy-3,5,6-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl)-	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	222	-	0.47
23	20.63	-	077899-11-7	(<i>Z</i>)6,(<i>Z</i>)9-pentadecadien-1-ol	C ₁₅ H ₂₈ O	224	1.39	-
24	19.91	-	000112-54-9	dodecanal(十二醛、月桂醛)	C ₁₂ H ₂₄ O	184	0.27	-
25	15.46	-	000124-25-4	tetradecanal(十四醛)	C ₁₄ H ₂₈ O	212	1.02	-
	17.73	-					4.2	-
26	21.52	-	056797-43-4	<i>cis,cis,cis</i> -7,10,13-hexadecatrienal(7,10,13-顺三烯-正十六醛)	C ₁₆ H ₂₆ O	234	4.4	-
27	18.68	-	000544-63-8	tetradecanoic acid(十四酸)	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.65	-
28	22.91	22.25	000057-10-3	<i>n</i> -hexadecanoic acid(十六烷酸)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	6.54	1.92
29	16.87	-	006222-02-2	tetradecyl trifluoroacetate(三氟乙酸十四酯)	C ₁₆ H ₂₉ F ₃ O ₂	310	2.1	-

续表 1

No.	t/min		CAS 号	化合物	分子式	相对分子质量	质量分数/%	
	SD	SFE					SD	SFE
30	22.13	21.52	000112-39-0	hexadecanoic acid, methyl ester(十六烷酸甲酯)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	0.98	0.12
31	-	22.96	000628-97-7	hexadecanoic acid, ethyl ester(十六酸乙酯)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	-	2.55
32	21.40	-	000544-35-4	9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-, ethyl ester ((Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸乙酯)	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	5.9	-
33	-	26.98	000544-35-4	9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-, ethyl ester (十八碳-9,12-二烯酸乙酯)	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	-	2.93
34	-	27.61	000111-61-5	octadecanoic acid, ethyl ester(十八酸乙酯)	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	-	1.06
35	-	8.16	000470-08-6	bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol,1,3,3-trimethyl-, (1S,2R,4R)-	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.24
36	-	7.79	000507-70-0	endo-borneol(2-茨醇)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.51
37	-	5.50	000470-82-6	2-oxa-1,3,3-trimethylbicyclo[2.2.2]octane (桉叶油醇)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.69
38	-	11.55	004501-58-0	3-cyclopentene-1-acetaldehyde, 2,2,3-trimethyl-(2,2,3-三甲基环戊-3-烯-1-乙醛)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	-	0.73
39	-	7.46	000464-49-3	bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1R)- (樟脑)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	-	0.31
40	7.00	-	010385-78-1	bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol,1,7,7-trimethyl-; borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.56	-
41	20.51	-	000502-69-2	2-pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-(6,10,14-三甲基-2-十五烷酮)	C ₁₈ H ₃₆ O	268	5.94	-
42	11.36	-	000087-44-5	l-caryophyllene(1-石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.61	-
43	13.42	-	017334-55-3	1H-cyclopropa[a]naphthalene,1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-, (1aR,7R,7aR,7bS)-	C ₁₅ H ₂₄	204	0.35	-
44	-	14.31	000489-39-4	1H-cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, (1aR,4aR,7R,7aR,7bS)-((+)-香橙烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.34
45	-	13.40	006753-98-6	1,4,8-cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (1E,2E,8E)- (α-石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.89
46	-	25.95	000150-86-7	(E)-3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol(叶绿醇)	C ₂₀ H ₄₀ O	296	-	2.19
47	22.61	-	1000262-55-5	1-hexadecen-3-ol, 3,5,11,15-tetramethyl-	C ₂₀ H ₄₀ O	296	0.71	-
48	27.06	-	000150-86-7	(E)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol ((E)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇)	C ₂₀ H ₄₀ O	296	27.5	-
49	-	29.89	000514-62-5	ferruginol	C ₂₀ H ₃₀ O	286	-	1.26
50	-	17.65	000483-78-3	naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₁₈	198	-	0.65
51	27.78	-	069390-24-5	3-ethyl-4-phenyl-3-buten-2-one	C ₁₆ H ₂₄ O	232	1.19	-
52	13.18	-	000096-76-4	phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-(2,4-二叔丁基苯酚)	C ₁₄ H ₂₂ O	206	1.2	-
53	13.29	-	000128-37-0	butylated hydroxytoluene(2,6-二叔丁基对甲苯酚)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.05	-
54	-	16.36	000642-71-7	phenol, 3,4,5-trimethoxy-(3,4,5-三甲氧基苯酚)	C ₉ H ₁₂ O ₄	184	-	0.71
55	21.03	-	1000309-06-1	phthalic acid, isobutyl octadecyl ester	C ₃₀ H ₅₀ O ₄	474	0.43	-

续表 1

No.	t/min		CAS 号	化合物	分子式	相对分子质量	质量分数/%	
	SD	SFE					SD	SFE
56	-	20.57	000605-45-8	1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(1-methylethyl) ester (邻苯二甲酸二异丙酯)	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250	-	0.31
57	-	33.11	004376-20-9	1,2-benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester(邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯)	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	-	6.64
58	-	12.98	000091-64-5	2H-1-benzopyran-2-one (香豆内酯)	C ₉ H ₆ O ₂	146	-	1.17
59	-	13.53	000103-36-6	2-propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester(肉桂酸乙酯)	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	176	-	0.45
60	-	17.29	001929-30-2	2-propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, ethyl ester (甲氧基肉桂酸乙酯)	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	206	-	1.81
61	-	18.85		(甲氧基肉桂酸乙酯)			-	5.99
62	-	5.37	000099-87-6	benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-(4-异丙基甲苯)	C ₁₀ H ₁₄	134	-	0.67
63	-	16.60	002883-98-9	(E)-1,2,4-trimethoxy-5-(1-propenyl) benzene(反式-2,4,5-三甲氧基-1-丙烯苯)	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208	-	0.33
64	-	29.28	106521-15-7	1-[2-(m-anisyl) ethylidene] acenaphthenone	C ₂₁ H ₁₆ O ₂	300	-	0.81
65	-	30.38	000000-00-0	cis-3'(or 4'or 4)-methoxy-2-styrylbiphenyl	C ₂₁ H ₁₈ O	286	-	2.02
66	-	31.44	000850-65-7	benzene, 1, 1', 1''-(3-methoxy-1-propyn-1-yl-3-ylidene) tris-	C ₂₂ H ₁₈ O	298	-	2.80
67	-	31.30	000096-65-1	phenol, 4, 4'-methylenebis [2-(1, 1-dimethylethyl)-6-methyl-	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	340	-	4.58

注:¹⁾1~34 为脂肪族衍生物,35~50 为萜类衍生物,51~67 为芳香族衍生物。

[参考文献]

[1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴. 第 4 册. [M]. 北京:科学出版社, 1994: 221.

[2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 71 卷. 第 1 分册. [M]. 北京:科学出版社, 1999: 47.

[3] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006:2376.

[4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 6 册,18 卷. [M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999:438.

[5] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编. 下册 [M].2 版:北京:人民卫生出版社, 1996:819.

[6] 蔡毅,朱意麟,龚方涵,等. 剑叶耳草的显微结构研

究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2):470.

[7] 邓超澄,朱小勇,韦建华,等. 水蒸气蒸馏法与超临界 CO₂ 萃取法提取青翘挥发油的化学成分比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(16):76.

[8] 朱小勇,潘立卫,卢汝梅,等. 超临界 CO₂ 萃取紫玉盘茎挥发油化学成分的分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21):121.

[9] 朱小勇,赵红艳,黄贵庆,等. 超临界 CO₂ 提取天茄子挥发油化学成分的分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7):139.

[10] 刘雪梅,杨秀芬,刘耀泉,等. 超临界 CO₂ 提取桂郁金挥发油的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19):114.

[责任编辑 邹晓翠]