

SPME-GC/MS 法对水线草挥发性成分的研究

薛鹏, 张东, 杨立新, 曹英夕, 杨岚*

中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

摘要:首次利用不同固相萃取纤维(SPME)结合GS-MS分析水线草挥发油成分。利用SPME共检测出化合物83个,其中PA检测出45个,PDMS-DVB检测出51个,100 μmPDMS检测出20个,三者同时检测到邻苯二甲酸二丁酯、2,6,10,14-四甲基-十七烷、十七烷、十六烷、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮五种成分;PA和PDMS-DVB共同检测化合物21个,PDMS与PDMS/DVB、PA共同检测的化合物分别为7个和9个。研究结果为利用SPME-GS/MS检测水线草挥发油成分提供了试验依据。

关键词:水线草;HPME-GS-MS;PA;PDMS-DVB;PDMS;挥发性成分

中图分类号:R284.1;Q946.91

文献标识码:A

Study on the Volatile Constituents of *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam. by SPME-GC/MS

XUE Peng, ZHANG Dong, YANG Li-xin, CAO Ying-xi, YANG Lan*

Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: The analysis of volatile components extracted from *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam. using different solid phase microextraction fibers (SPME-fibers) coupled with GC-MS was reported for the first time. All 83 compounds identified by SPME-GC/MS includes 45 compounds for fiber PA, 51 compounds for fiber PDMS-DVB, 20 compounds for fiber PDMS. In term of chemicals, Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl, Heptadecane, Dibutyl phthalate, Hexadecane, 2-Pentadecanone 6,10,14-trimethyl- could be tested by the three fibers, the numbers of common compounds of PA/PDMS-DVB, PDMS-DVB/PDMS and PA/PDMS were 21, 9 and 7 separately. The results show SPME-GS/MS can be applied to analysis of aromatic compounds in *Hedyotis corymbosa*.

Key words: *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam.; HPME-GS/MS; PA; PDMS/DVB; PDMS; volatile constituents

茜草科 Rubiaceae 耳草属 *Hedyotis*. L 植物数量众多,广泛分布于亚热带地区,在我国耳草属有 72 种植物(包括其变种)^[1-3],水线草来源为茜草科耳草属植物水线草 *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam. 的干燥全草临床试验发现水线草具有抗肿瘤,抗氧化,肝保护作用^[4-6]。王丽提取水线草的挥发油成分进行研究,共鉴定化合物 16 个,主要成分为十六烷酸、亚油酸、叶绿醇、肉豆蔻酸等物质^[7]。近年来,随着固相微萃取(SPME)技术的进步,HP-SPME-GS-MS 技术在中药挥发性成分研究中得到广泛应用^[8-11]。与传统的水蒸气蒸馏法相比,固相微萃取方法操作时间短、样品用量小、无有机试剂参与,具有简单、快速、经济、无毒害的优势。本文首次采用 HP-SPME-GC/MS 方法分析鉴定水线草的挥发性成分。

1 仪器条件

气相色谱-质谱联用仪 QP2010 Ultra(日本岛津公司);HS-2 型顶空进样器(北京中惠普有限责任公司);手动固相萃取(SPME)装置,萃取纤维头:65 μm poly(dimethylsiloxane)-divinylbenzene(PDMS/DVB),100 μm poly(dimethylsiloxane)(PDMS),85 μm poly(acrylate)Pa,由 Supleco 公司生产。

水线草于 2013 年 10 月购于安徽亳州药物市场,样品经北京中医药大学刘春生教授鉴定为水线草 *Hedyotis corymbosa* (L.) Lam. 的干燥全草,标本存放于中国中医科学院中药研究所。

2 试验方法

水线草粉碎,过 40 目筛,称取 0.4 g 置于 15 mL 顶空瓶中,密封,将经老化处理过的萃取头插入顶空瓶中,于 80 °C 顶空萃取 40 min,取出,立即插入色谱

仪进样口(250 °C)解吸 2 min,进行 GC-MS 分析。

3 GC/MS 分析条件

色谱条件:Rtx-5MS 石英弹性毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);载气为 He(99.999%),流量控制模式;线速度流量 1.0ml/min,进样口温度:250 °C;色谱柱初始温 80 °C,以 3 °C/min 升温到 140 °C,以 2 °C/min 升至 200 °C,以 10 °C/min 升至 280 °C,最后保持 10 mins;不分流 3.0 mins,分流比 1 进样。

质谱条件:电离方式;EI 源,能量 70eV;离子源温度 250 °C,接口温度 280 °C,溶剂延迟时间:3.0 mins,检测器增益方式:相对,检测器增益:0.82 kv + 0.00 kv。质量范围 35-500 amu;全程扫描,时间间隔:0.3 s,扫描速度:1666。

采用峰面积归一化法计算各成分的相对百分含量;经 NIST08. 和 NIST8. 1 谱库检索鉴定化合物结构。

4 实验结果与讨论

表 1 利用 GC-MS 检测出的化合物
Table 1 Compounds are texted by GC-MS

No.	化合物 Compound	化学式 Formula	相对峰面积 RA(%)		
			Pa	PDMS/DVB	PDMS
1	己酸 Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	2.33	n. d	n. d
2	辛酸 Octanoic Acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.73	n. d	n. d
3	萘 Naphthalene	C ₁₀ H ₈	11.48	14.92	n. d
4	癸醛 Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	n. d	0.24	n. d
5	2-硝基-1 乙基苯 Benzene,1-ethyl-2-nitro-	C ₈ H ₉ NO ₂	3.87	4.96	n. d
6	壬酸 Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	1.15	n. d	n. d
7	1-甲基萘 Naphthalene,1-methyl-	C ₁₁ H ₁₀	3.48	4.87	n. d
8	2-甲基萘 Naphthalene,2-methyl-	C ₁₁ H ₁₀	0.70	0.93	n. d
9	2,4-二异氰酸基-1-甲基苯 Benzene,2,4-diisocyanato-1-methyl-	C ₉ H ₆ N ₂ O ₂	n. d	1.43	n. d
10	联苯 Biphenyl	C ₁₂ H ₁₀	1.56	1.53	n. d
11	正十四碳烷 Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	n. d	0.69	n. d
12	2,6-二甲基萘 Naphthalene,2,6-dimethyl-	C ₁₂ H ₁₂	n. d	2.21	n. d
13	十二醛 Dodecanal	C ₁₂ H ₂₄ O	n. d	1.19	n. d
14	1,3-二甲基萘 Naphthalene,1,3-dimethyl-	C ₁₂ H ₁₂	0.35	0.87	n. d
15	1,4-二甲基萘 Naphthalene,1,4-dimethyl-	C ₁₂ H ₁₂	n. d	0.65	n. d
16	乙酰基,1-(2-羟基-甲氧苯基) Ethanone,1-(2-hydroxy-4-methoxyphenyl)-	C ₉ H ₁₀ O ₃	1.28	1.39	n. d
17	6,10-二甲基-5,9-十一烷二烯-2-酮 5,9-Undecadien-2-one,6,10-dimethyl-	C ₁₃ H ₂₀ O	n. d	1.14	n. d
18	邻苯二甲酸二戊酯 3-Methoxybenzoic acid,2-pentyl ester	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	0.81	n. d	n. d
19	十二烷醇 1-Dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	n. d	0.27	n. d
20	蒽 Acenaphthene	C ₁₂ H ₁₀	n. d	0.64	n. d
21	4 甲基-1,1'-二联苯 1,1'-Biphenyl,4-methyl-	C ₁₃ H ₁₂	n. d	0.34	n. d
22	4(14),11-桉叶二烯 Eudesma-4(14),11-diene	C ₁₅ H ₂₄	n. d	n. d	0.85
23	2,6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)-双环[3.1.1]己-2-烯 Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6-(4-methyl-4-pentenyl)-	C ₁₅ H ₂₄	n. d	0.38	n. d
24	十五烷 Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	n. d	1.31	1.69
25	α-姜黄烯 a-Curcumene	C ₁₅ H ₂₂	n. d	0.33	n. d
26	十三醛 Tridecanal	C ₁₃ H ₂₆ O	n. d	0.61	n. d
27	二苯并呋喃 Dibenzofuran	C ₁₂ H ₈ O	0.61	0.60	n. d
28	5,6,7,7a - 四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)-苯并呋喃 2(4H)-Benzofuranone,5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	1.34	0.99	n. d

29	6-环己基-十二烷 Dodecane,6-cyclohexyl-	C ₁₈ H ₃₆	n. d	0.35	n. d
30	反式-橙花叔醇 trans-Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.36	0.46	n. d
31	3,7,11-三甲基-1-十二醇 1-Dodecanol,3,7,11-trimethyl-	C ₁₅ H ₃₂ O	n. d	0.28	n. d
32	1,4-Methanoazulen-9-ol,decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.,9S*)]-	C ₁₅ H ₂₆ O	n. d	1.04	n. d
33	5,5,8a-三甲基-3,,5,6,7,8,8a-六氢-2H-色烯	C ₁₅ H ₂₆ O	0.79	n. d	n. d
34	月桂酸 Dodecanoic acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	0.35	n. d	n. d
35	十六烷 Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	0.45	2.85	2.07
36	十四醛 Tetradecanal	C ₁₄ H ₂₈ O	0.37	0.71	n. d
37	2-己醇-3,3,5-三甲基-2-(3-甲苯) 2-Hexanol,3,3,5-trimethyl-2-(3-methylphenyl)-	C ₁₆ H ₂₆ O	0.52	n. d	n. d
38	香橙烯 Aromadendrene	C ₁₅ H ₂₄	n. d	1.32	n. d
39	长叶烯 1,4-Methanoazulene,decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.)]-	C ₁₅ H ₂₄	1.46	n. d	n. d
40	Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene-3-methanol, 1-methyl-8-(2-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄ O	n. d	4.43	n. d
41	9-Isopropyl-1-methyl-2-methylene-5-oxatricyclo[5.4.0.0(3,9)]undecane	C ₁₅ H ₂₄ O	7.28	n. d	n. d
42	二苯醚 Benyl ether	C ₁₄ H ₁₄ O	0.59	0.50	n. d
43	T-杜松醇 T-Cadino	C ₁₅ H ₃₆ O	0.53	n. d	n. d
44	1,1'-联苯,2,2',5,5'-四甲基 1,1'-Biphenyl,2,2',5,5'-tetramethyl-	C ₁₆ H ₁₈	n. d	0.45	n. d
45	2-乙基-2-甲基-十三醇 Tridecanol,2-ethyl-2-methyl-	C ₁₆ H ₃₄ O	n. d	0.96	n. d
46	2-己基-1-癸醇 1-Decanol,2-hexyl-	C ₁₆ H ₃₄ O	0.59	n. d	n. d
47	环十四烷 cyclo-tetradecane	C ₁₄ H ₂₈	0.44	n. d	0.71
48	Tetracyclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]tridecan-9-ol,4,5-dimethyl-	C ₁₅ H ₂₄ O	n. d	0.23	n. d
49	Spiro[5.5]undeca-1,8-diene,1,5,5,10-tetramethyl-,(R)-	C ₁₅ H ₂₄	0.49	n. d	n. d
50	1,3-Cyclopentadiene,5-(2-methylpentylidene)-	C ₁₁ H ₁₆	0.72	n. d	n. d
51	2-十五烷酮 2-Pentadecanone	C ₁₅ H ₃₀ O	n. d	0.22	n. d
52	十七烷 Heptadecane	C ₁₇ H ₃₇	0.80	2.62	2.91
53	2,6,10,14-四甲基-十五烷 Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl-	C ₁₉ H ₄₀	0.32	3.71	1.62
54	2-十八烯-1-醇 Z-2-Octadecen-1-ol	C ₁₈ H ₃₆ O	n. d	1.35	n. d
55	7-羟基-香橙烯 7-hydroxy-Aromadendrene	C ₁₅ H ₂₄ O	n. d	2.68	n. d
56	澳白檀醇 cis-Lanceol	C ₁₅ H ₂₄ O	2.51	n. d	n. d
57	1-(4-Isopropylphenyl)-3-(tetrahydrofuryl-3) propane	C ₁₆ H ₂₄ O	n. d	1.65	n. d
58	2,5,5-三甲基-3-苯基-环己酮 2,5,5-Trimethyl-3-phenyl-cyclohexanone	C ₁₅ H ₂₀ O	2.25	n. d	n. d
59	3-甲基-十七烷 Heptadecane,3-methyl-	C ₁₈ H ₃₈	n. d	0.27	n. d
60	十四烷酸 Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1.49	n. d	1.98
61	Bicyclo[5.3.0]decane,2-methylene-5-(1-methylvinyl)-8-methyl-	C ₁₅ H ₂₂ O	n. d	7.51	n. d
62	4,6,6-Trimethyl-2-(3-methylbuta-1,3-dienyl)-3-oxatricyclo[5.1.0.0(2,4)]octane	C ₁₅ H ₂₀ O	12.65	n. d	0.93
63	Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	C ₁₅ H ₂₄	2.08	1.26	n. d
64	正十八烷 Octadecane	C ₁₈ H ₃₈	n. d	n. d	1.63
65	8-Isopropenyl-1,3,3,7-tetramethyl-bicyclo[5.1.0]oct-5-en-2-one	C ₁₅ H ₂₂ O	1.49	2.42	n. d
66	2,6,10,14-十六烷 Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl-	C ₂₀ H ₅₂	n. d	n. d	1.69
67	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 2-Pentadecanone,6,10,14-trimethyl-	C ₁₈ H ₃₆ O	7.60	5.27	11.41
68	邻苯二甲酸二异丁酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid,bis(2-methylpropyl) ester	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	1.97	0.69	n. d

69	十五烷酸 Pentadecanoic acid	$C_{15}H_{30}O_2$	1.01	n. d	1.39
70	4-十八基-吗啉 Morpholine,4-octadecyl-	$C_6H_{14}NO_2$	n. d	n. d	0.84
71	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸烯二酮 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	$C_{17}H_{24}O_3$	0.44	n. d	n. d
72	二十一烷 Heneicosane	$C_{22}H_{46}$	n. d	n. d	1.76
73	邻苯二甲酸二丁脂 Dibutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	4.6	0.87	1.67
74	正十六烷酸 n-Hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O$	6.75	n. d	15.1
75	二十四烷 Tetracosane	$C_{24}H_{50}$	n. d	n. d	2.69
76	亚油酸甲酯 9,12-Octadecadienoic acid(Z,Z)-,methyl este	$C_{19}H_{34}O_2$	0.42	n. d	n. d
77	二十六烷 Hexacosane	$C_{26}H_{54}$	n. d	0.54	3.27
78	叶绿醇 Phytol	$C_{20}H_{40}O$	0.50	0.25	n. d
79	十八碳二烯酸 9,12-Octadecadienoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	0.42	n. d	n. d
80	二十八烷 Octacosane	$C_{28}H_{58}$	n. d	n. d	2.2
81	二十九烷 Nonacosane	$C_{29}H_{60}$	n. d	0.34	n. d
82	1,3,5-三氧杂环己烷,2,4,6-三丙二醇单甲醚 1,3,5-Trioxane,2,4,6-tripropyl-	$C_{12}H_{24}O_3$	n. d	n. d	3.70
83	2,5-二甲基-4-羟基-环己酮 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3-hexanone	$C_8H_{16}O_2$	0.42	n. d	n. d

注:1. 图中所列数字为归一化法下的相对含量;2. n. d 表示未检测到。

Note:1. the date were determined by using the normalization method;2. n. d was not identified.

固相微萃取法(3种不同的萃取头)的挥发性成分的GS-MS分析鉴定结果见表1。

实验发现三个纤维头检测出的水线草的挥发油三者相差较大。其中PA纤维头鉴定化合物45个,占总峰面积的92.35%,主要含有4,6,6-Trimethyl-2-(3-methylbuta-1,3-dienyl)-3-oxatricyclo[5.1.0.0(2,4)]octane(12.65%)、萘(11.48%)、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮(7.60%)、9-Isopropyl-1-methyl-2-methylene-5-oxatricyclo[5.4.0.0(3,8)]undecane(7.28%)、正十六烷酸(6.75%)、邻苯二甲酸二丁脂(4.60%)、2-硝基-乙基苯(3.87%)、1-甲基萘(3.28%)、溴白檀醇(2.51%)、己酸(2.33%)、2,5,5-三甲基-3-苯基-环己酮(2.25%)、Cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-(2.08%);PDMS/DVB纤维头鉴定化合物50个,占总峰面积的87.72%,主要含有萘(14.92%)、Bicyclo[5.3.0]decane,2-methylene-5-(1-methylvinyl)-8-methyl(5.71%)、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮(5.27%)、2-硝基-1-乙基苯(4.96%)、1-甲基萘(4.87%)、Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene-3-methanol,1-methyl-8-(1-methylethyl)-(4.43%)、2,6,10,14-四甲基-十五烷(3.71%)、十六烷(2.85%)、7-羟基-香橙烯(2.68%)、十七烷(2.62%)、2,6-二甲基萘(2.21%);PDMS纤维头鉴定化合物20个,占总峰面积的60.11%,主要含有正十六烷酸(15.10%)、

6,10,14-三甲基-2-十五烷酮(11.41%)、1,3,5-三氧杂环己烷,2,4,6-三丙二醇单甲醚(3.70%)、二十六烷(3.27%)、十七烷(2.91%)、二十四烷(2.69%)、二十八烷(2.2%)、十六烷(2.07%)。利用SPME共检测出化合物83个,三者同时检测到邻苯二甲酸二丁脂、2,6,10,14-四甲基-十七烷、十七烷、十六烷、6,10,14-三甲基-2-十五烷酮五种成分,PA和PDMS-DVB共同检测出有21个,PDMS与PDMS/DVB、PA共同接触出化合物分别为7个和9个,固相微萃取法中三种纤维头对水线草中的挥发性成分具有不同的吸附性能,PA和PDMS/DVB性质相似,偏重于吸附中等极性的化合物,PDMS较前二者对较弱极性化合物的吸附能力较强。

水线草中的萘系列以及联苯类化合物可以利用固相微萃取技术测得,而王丽^[7]利用水蒸气蒸馏法则尚未检测出;其报道的十六烷酸、亚油酸、植物醇、肉豆蔻等的主要成分也可以由固相微萃取法测定。

总之,固相微萃取技术可以使我们快速简便的检测植物中挥发油的成分类型,此技术与水蒸气蒸馏法结合可更全面的研究水线草中的挥发油成分。

参考文献

- 1 Wang RJ(王瑞江),Zhao NX(赵南先). The origin and distribution on genus *Hedyotis* L. *J Trop Subtrop Botany* (热带亚热带植物学报),2001,9(3):219.